

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,**  
**MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**

**IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE VIABILIDADE  
DE OVOS DE HELMINTOS EM UM SISTEMA DE  
TRATAMENTO DE ESGOTOS DOMÉSTICOS  
CONSTITUÍDO DE REATORES ANAERÓBIOS E  
RAMPAS DE ESCOAMENTO SUPERFICIAL**

**Adriana Molina Zerbini**

**Belo Horizonte**

**2000**

**IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE VIABILIDADE DE  
OVOS DE HELMINTOS EM UM SISTEMA DE  
TRATAMENTO DE ESGOTOS DOMÉSTICOS  
CONSTITUÍDO DE REATORES ANAERÓBIOS E  
RAMPAS DE ESCOAMENTO SUPERFICIAL**

**Adriana Molina Zerbini**

**Adriana Molina Zerbini**

**IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE VIABILIDADE DE  
OVOS DE HELMINTOS EM UM SISTEMA DE  
TRATAMENTO DE ESGOTOS DOMÉSTICOS  
CONSTITUÍDO DE REATORES ANAERÓBIOS E  
RAMPAS DE ESCOAMENTO SUPERFICIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Digestão anaeróbia e técnicas de tratamento e pós-tratamento de esgotos.

Orientador: Prof. Carlos Augusto de Lemos Chernicharo

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2000

Página com as assinaturas dos membros da banca examinadora, fornecida pelo Colegiado do Programa

*A Deus.*

*Aos meus pais e à minha irmã pelo amor e dedicação.*

*Ao meu querido Carlos, pelo carinho e estímulo.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Carlos Augusto de Lemos Chernicharo, pela orientação deste trabalho, pelo apoio, pela seriedade, pela dedicação e paciência nos momentos que se fizeram necessários.

Ao Centro de Pesquisa René Rachou, na pessoa do Dr Omar dos Santos Carvalho, que possibilitou a utilização da infra-estrutura do laboratório de Helmintos Intestinais, para treinamento e análises na Fase inicial desse trabalho.

Ao colega Cristiano Massara, pela colaboração durante a Fase inicial do trabalho, dividindo o espaço do laboratório, pelo bom humor e convívio que muito me acrescentaram.

Ao Zezinho, pela colaboração no treinamento.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao SAAE de Itabira, pelo apoio no período experimental.

À turma do PROSAB.

Aos amigos Eduardo e Reginaldo, pelo apoio na formatação das figuras.

À Michele, pela elaboração dos gráficos e amizade.

À Wilma Maria Coelho, pela disponibilização de algumas referências, que foram de grande valia para o início do trabalho.

À bolsista Roseli, pelo apoio nas análises de laboratório.

Ao bolsista Sérgio, pela dedicação, seriedade, colaboração e amizade.

À Evelin, pelo clima de amizade e sinceridade durante a realização da primeira etapa desse trabalho.

À professora Annemarie König, pela amizade, pelas críticas e sugestões, que foram de grande contribuição no desenvolvimento do trabalho.

Às minhas amigas Juliana, Campos, Anice, Maristela, Xanda e Sandrinha, pela compreensão durante o período de elaboração desse trabalho.

À minha amiga Valéria pela amizade e carinho.

Aos pesquisadores Matilde Galván e Jorge de Victorica, pelo interesse, pelas informações e esclarecimento da metodologia, na etapa final do trabalho.

À minha amiga Fátima, que rezou por mim.

## RESUMO

O presente trabalho aborda a identificação e análise de viabilidade de ovos de helmintos em um sistema de aplicação de esgotos domésticos no solo por escoamento superficial, aplicado ao pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. Buscou-se, ainda, avaliar a eficiência do sistema em relação à remoção de ovos de helmintos, coliformes totais (CT) e *Escherichia coli* (*E. coli*) analisando o enquadramento do efluente final às diretrizes da OMS para reúso de águas residuárias tratadas. O estudo, desenvolvido em duas fases, avaliou unidades implantadas junto à ETE Nova Vista, na cidade de Itabira/MG. Na Fase 1, o sistema foi constituído de um reator UASB (*escala real*), seguido de três rampas de escoamento superficial no solo (*escala de demonstração*), operando com vazão constante ao longo do dia. Nessa fase buscou-se avaliar a eficiência do sistema em relação à remoção de ovos de helmintos, e a identificação das espécies prevalentes, utilizando o método de BAILENGER (1979), modificado por AYRES & MARA (1996). Na Fase 2, o sistema foi constituído de um reator anaeróbio compartimentado (*escala de demonstração*), seguido das mesmas rampas de aplicação superficial no solo, porém operando com vazão variável ao longo do dia. Nessa fase, buscou-se avaliar a eficiência do sistema de tratamento em relação à remoção de ovos de helmintos, CT e *E. coli*, bem como estimar a fração viável dos ovos. Em geral, o sistema funcionou de forma bastante promissora em relação à remoção de ovos de helmintos, com eficiências médias no reator UASB de 71% e 82%, nas Fases 1 e 2, respectivamente. Em relação às rampas de escoamento superficial, os resultados parasitológicos obtidos na Fase 1 indicaram a ausência de ovos de helmintos no efluente final. Na Fase 2 foi obtida uma média de 0,2 ovo/L, indicando o atendimento às diretrizes da OMS ( $\leq 1$  ovo de nematóide/L). Nos estudos de viabilidade dos ovos de helmintos, durante a Fase 2, pela técnica da coloração rápida, foram observados tanto ovos viáveis, quanto não-viáveis. Os percentuais médios de ovos viáveis foram de 3,9% no esgoto bruto e 14,9% no efluente do reator anaeróbio. Ressalta-se que tais resultados devem ser vistos com ressalvas, devido às dificuldades de observação inerentes ao método utilizado. Em relação à remoção de CT e *E. coli*, foram observadas eficiências médias da ordem de 2 unidades logarítmicas no sistema UASB/rampas.

Embora a qualidade do efluente final das rampas ( $\leq 1$  ovo /L) indique a sua potencial utilização para a irrigação irrestrita, as concentrações de *E. coli* ( $10^6$  a  $10^8$  NMP/100 mL) indicam uma qualidade bacteriana insatisfatória, possibilitando sua utilização apenas para a irrigação restrita (cereais, culturas industriais, forrageiras, pastagens e árvores).

## ABSTRACT

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS.....</b>	<b>X</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
2.1 OBJETIVOS GERAIS .....	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>7</b>
3.1 REÚSO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS .....	7
3.1.1 Breve contextualização.....	7
3.1.2 Principais usos e benefícios.....	10
3.1.3 Aspectos epidemiológicos.....	11
3.2 HELMINTOS.....	19
3.2.1 Introdução .....	19
3.2.2 Nematóides .....	22
3.3 METODOLOGIAS PARA IDENTIFICAÇÃO E ENUMERAÇÃO DE OVOS DE HELMINTOS .....	44
3.3.1 Introdução .....	44
3.3.2 Caracterização das metodologias .....	45
3.3.3 Considerações em relação ao método de BAILENGER modificado .....	50
3.4 METODOLOGIAS PARA AVALIAÇÃO DE VIABILIDADE DE OVOS DE HELMINTOS .....	51
3.5 REATORES UASB E SISTEMAS DE APLICAÇÃO SUPERFICIAL NO SOLO .....	60
3.5.1 Reatores UASB.....	60
3.5.2 Disposição dos esgotos no solo .....	63
3.5.3 Remoção de ovos de helmintos em sistemas convencionais de tratamento .....	68
3.5.4 Remoção de ovos de helmintos em sistemas de escoamento superficial no solo.....	71
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>74</b>
4.1 APARATO EXPERIMENTAL .....	74
4.1.1 Fase 1 (julho/97 a abril/98).....	75
4.1.2 Fase 2 (novembro/99 a agosto/2000).....	76
4.2 PROGRAMA DE MONITORAMENTO .....	79
4.2.1 Análises parasitológicas.....	79
4.2.2 Análises bacteriológicas.....	80
4.2.3 Análises de viabilidade.....	80
4.3 ENUMERAÇÃO DE OVOS DE HELMINTOS .....	81
4.3.1 Preliminares .....	81
4.3.2 Fundamento.....	81
4.3.3 Equipamentos, materiais e reagentes .....	82
4.3.4 Preparação de soluções.....	83
4.3.5 Procedimentos para enumeração dos ovos .....	83
4.3.6 Expressão de resultados .....	85
4.3.7 Ilustração fotográfica dos procedimentos .....	86
4.4 ANÁLISES PARASITOLÓGICAS – IDENTIFICAÇÃO DE OVOS DE HELMINTOS .....	87
4.4.1 Considerações preliminares.....	87
4.4.2 Critérios para diferenciação de ovos de helmintos .....	87
4.4.3 Ilustração fotográfica de ovos de helmintos.....	90
4.5 ANÁLISES DE VIABILIDADE EM ÁGUAS RESIDUÁRIAS BRUTAS .....	92
4.5.1 Técnica da concentração por centrifugação .....	92
4.5.2 Fundamento.....	92
4.5.3 Equipamentos, materiais e reagentes .....	92
4.5.4 Preparação de soluções.....	93
4.5.5 Coleta de amostras .....	93

4.5.6	<i>Procedimento</i> .....	93
4.5.7	<i>Expressão dos resultados</i> .....	95
4.5.8	<i>Ilustração fotográfica dos procedimentos</i> .....	96
4.6	ANÁLISE DE VIABILIDADE EM ÁGUAS RESIDUÁRIAS TRATADAS .....	97
4.6.1	<i>Técnica de concentração por filtração</i> .....	97
4.6.2	<i>Fundamento</i> .....	97
4.6.3	<i>Equipamentos, materiais e reagentes</i> .....	97
4.6.4	<i>Preparação de soluções</i> .....	98
4.6.5	<i>Coleta de amostras</i> .....	98
4.6.6	<i>Procedimento</i> .....	98
4.6.7	<i>Expressão dos resultados</i> .....	100
4.6.8	<i>Ilustração fotográfica dos procedimentos</i> .....	101
4.7	ILUSTRAÇÃO FOTOGRÁFICA DE OVOS DE HELMINTOS PELA TÉCNICA DA COLORAÇÃO.....	102
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>103</b>
5.1	OVOS DE HELMINTOS .....	103
5.1.1	<i>Remoção de ovos de helmintos no sistema de tratamento</i> .....	103
5.1.2	<i>Espécies de ovos de helmintos prevalentes</i> .....	107
5.1.3	<i>Interferência dos sólidos sedimentáveis</i> .....	112
5.1.4	<i>Interferência dos sólidos suspensos</i> .....	115
5.1.5	<i>Viabilidade dos ovos de helmintos</i> .....	116
5.2	ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS .....	120
5.2.1	<i>Coliformes totais</i> .....	120
5.2.2	<i>Escherichia coli</i> .....	121
5.3	QUALIDADE DO EFLUENTE FINAL E REÚSO .....	122
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>125</b>
6.1	METODOLOGIA DE IDENTIFICAÇÃO E ENUMERAÇÃO .....	125
6.2	METODOLOGIA DE VIABILIDADE .....	125
6.3	SISTEMA DE TRATAMENTO DE ESGOTOS .....	126
6.4	QUALIDADE DO EFLUENTE FINAL E REÚSO .....	127
<b>7</b>	<b>RECOMENDAÇÕES</b> .....	<b>129</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>130</b>
<b>9</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>137</b>
9.1	TABELA A1 – Resultados de ovos de helmintos – Fase 1 .....	138
9.2	TABELA A2 – Resultados de ovos de helmintos – Fase 2 .....	140
9.3	TABELA A3 – Resultados de coliformes totais e Escherichia coli – Fase 2 .....	143

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Áreas irrigadas com águas residuárias (panorama mundial) .....	9
Tabela 3.2 - Diretrizes da Organização Mundial de Saúde de qualidade microbiológica recomendada para esgotos tratados utilizados para a irrigação de culturas agrícolas(a) .....	17
Tabela 3.3 - Principais métodos para enumeração de ovos de helmintos em esgotos .....	49
Tabela 3.4 - Principais critérios morfológicos para determinação de ovos viáveis e não viáveis de <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	53
Tabela 3.5 - Corantes utilizados para distinguir larvas e ovos de helmintos vivos e mortos.....	54
Tabela 3.6 - Incorporação e exclusão de corantes em diferentes espécies de ovos de helmintos .....	56
Tabela 3.7 - Incorporação e exclusão de corantes biológicos em ovos de <i>Ascaris suum</i> .....	57
Tabela 3.8 - Principais procedimentos para o processamento das amostras pelo método quantitativo .....	58
Tabela 3.9 - Eficiências de alguns processos de tratamento de esgotos sobre ovos de helmintos e cistos de protozoários .....	70
Tabela 4.1 – Características de alimentação do reator anaeróbio em escala real (Fase 1).....	75
Tabela 4.2 – Características de alimentação das rampas na Fase 1 .....	76
Tabela 4.3 – Características de alimentação do reator UASB Compartmentado (Fase 2) .....	77
Tabela 4.4 - Horário de alimentação das rampas na Fase 2.....	78
Tabela 4.5 – Características de alimentação das rampas na Fase 2 .....	78
Tabela 4.6 - Tamanho, densidade e velocidade de sedimentação de algumas espécies de ovos de helmintos.....	82
Tabela 4.7 – Principais características de alguns ovos de helmintos.....	88

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Representação esquemática de um reator UASB.....	61
Figura 3.2 - Ilustração esquemática de uma rampa de escoamento superficial.....	66
Figura 4.1 – Tratamento Preliminar (Gradeamento).....	74
Figura 4.2 – Tratamento Preliminar.....	74
Figura 4.3 – Vista do reator anaeróbio em escala real da ETE Nova Vista (Fase 1).....	75
Figura 4.4 – Vista das rampas de escoamento superficial no solo (Fase 1).....	76
Figura 4.5 – Vista do reator UASB compartimentado em escala piloto (Fase 2).....	77
Figura 4.6 – Vista das rampas de escoamento superficial no solo (Fase 2).....	78
Figura 4.7 – Remoção do sobrenadante após o período de sedimentação.....	86
Figura 4.8 – Etapas de centrifugação.....	86
Figura 4.9 – Separação de Fases da amostra.....	86
Figura 4.10 – Homogeneização da amostra c/ Vortex.....	86
Figura 4.11 – Transferência do sedimento homogeneizado para a câmara de McMaster.....	86
Figura 4.12 – Observação dos ovos no microscópio, em objetivas de 10x e 40x.....	86
Figura 4.13 - Tamanhos relativos dos ovos de helmintos.....	89
Figura 4.14 – Ovo fértil de <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	90
Figura 4.15 – Ovo infértil de <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	90
Figura 4.16 – Ovo de <i>Trichuris trichiura</i> .....	90
Figura 4.17 – Ovo de Ancilostomídeo.....	90
Figura 4.18 – Ovo de <i>Hymenolepis nana</i> .....	91
Figura 4.19 – Ovo de <i>Hymenolepis diminuta</i> .....	91
Figura 4.20 – Ovo de <i>Taenia</i> sp.....	91
Figura 4.21 – Ovo de <i>Enterobius vermicularis</i> .....	91
Figura 4.22 – Concentração da amostra por centrifugação.....	96
Figura 4.23 – Homogeneização da amostra com Vortex.....	96
Figura 4.24 – Nova centrifugação.....	96
Figura 4.25 – Filtração do sobrenadante em membrana de 25 mm e 8 µm.....	96
Figura 4.26 – Adição de 5 mL do corante Safranina.....	96
Figura 4.27 – Lâmina contendo a membrana para visualização no microscópio.....	96
Figura 4.28 – Filtração de 1 L da amostra em membrana de 47 mm e 8 µm.....	101
Figura 4.29 – Membrana contendo material filtrado (ovos).....	101
Figura 4.30 – Transferência do material (ovos) para o tubo da centrífuga.....	101
Figura 4.31 – Filtração do sobrenadante em membrana de 25 mm e 8 µm.....	101
Figura 4.32 – Adição de 5 mL do corante Safranina, seguida de filtração.....	101
Figura 4.33 – Lâmina contendo a membrana para visualização ao microscópio.....	101
Figura 4.34 – Ovo viável de <i>Trichuris trichiura</i> corado com Azul de Tripán.....	102
Figura 4.35 – Ovo não viável de <i>Trichuris trichiura</i> corado com Azul de Tripán.....	102

Figura 4.36 – Ovo viável de <i>Ascaris lumbricoides</i> corado com Azul de Tripan .....	102
Figura 4.37 – Ovo não-viável de <i>Ascaris lumbricoides</i> corado com Eosina Y .....	102
Figura 5.1 – Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	111
Figura 5.2 – Ovo de Ancilostomídeo.....	111
Figura 5.3 – Ovo de <i>Hymenolepis nana</i> .....	111
Figura 5.4 – Ovo de <i>Hymenolepis diminuta</i> .....	111
Figura 5.5 – Ovo de <i>Trichuris trichiura</i> .....	111
Figura 5.6 – Ovo de <i>Enterobius vermicularis</i> .....	111
Figura 5.7 – Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> não corado (corante Safranina – 3 mL).....	119
Figura 5.8 – Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> corado (corante Safranina – 3 mL).....	119
Figura 5.9 – Ovo de <i>Trichuris trichiura</i> corado (corante Safranina – 3 mL) .....	119
Figura 5.10 – Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> corado (corante Azul de Tripan – 2 mL).....	119
Figura 5.11 – Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> corado (corante Azul de Tripan – 2 mL).....	119
Figura 5.12 – Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> não corado (corante Azul de Tripan – 1 mL).....	119

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1.1 - Helmintoses mais freqüentes no mundo .....	2
GRÁFICO 3.1 – Infeções parasitárias no mundo .....	30
GRÁFICO 5.1 – Contagem de ovos de helmintos no esgoto bruto e no efluente do reator anaeróbico (Fase 1)..	103
GRÁFICO 5.2 – Contagens de ovos de helmintos no esgoto bruto .....	104
GRÁFICO 5.3 – Frequência de distribuição de ovos de helmintos no esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) – Fase 1 .....	107
GRÁFICO 5.4 – Frequência de distribuição de ovos de helmintos no efluente UASB (EUASB) – Fase 1.....	108
GRÁFICO 5.5 – Frequência de distribuição de ovos de helmintos no esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) – Fase 2 .....	109
GRÁFICO 5.6 – Frequência de distribuição de ovos de helmintos no efluente UASB (EUASB) – Fase 2.....	109
GRÁFICO 5.7 – Relação entre contagens de .....	113
GRÁFICO 5.8 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos sedimentáveis – $A_{UASB}$ (Fase 1) .....	113
GRÁFICO 5.9 – Relação entre contagens de .....	113
GRÁFICO 5.10 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos sedimentáveis – $E_{UASB}$ (Fase 1).....	113
GRÁFICO 5.11 – Relação entre contagens de .....	114
GRÁFICO 5.12 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos sedimentáveis – $A_{UASB}$ (Fase 2) .....	114
GRÁFICO 5.13 – Relação entre contagens de .....	114
GRÁFICO 5.14 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos sedimentáveis – $E_{UASB}$ (Fase 2).....	114
GRÁFICO 5.15 - Contagem de ovos de .....	115
GRÁFICO 5.16 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos suspensos – $A_{UASB}$ (Fase 2) .....	115
GRÁFICO 5.17 - Contagem de ovos de .....	115
GRÁFICO 5.18 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos suspensos – $E_{UASB}$ (Fase 2) .....	115
GRÁFICO 5.19 –Frequência de ocorrência de ovos viáveis e não viáveis .....	116
GRÁFICO 5.20 – Percentagem de ocorrência de ovos viáveis e não viáveis .....	116
GRÁFICO 5.21 – Concentrações de coliformes totais no esgoto bruto e nos efluentes do reator anaeróbico e das rampas (Fase 2) .....	120
GRÁFICO 5.22 – Concentrações de Escherichia coli no esgoto bruto e nos efluentes do reator anaeróbico e das rampas (Fase 2) .....	121

## 1 INTRODUÇÃO

É de conhecimento amplo a crise que atravessa o saneamento no Brasil, conforme identificado por pesquisas realizadas pela ABES e pelo IBGE no final dos anos 80 e 90. Os dados referentes ao esgotamento sanitário são alarmantes, indicando índices muito baixos de cobertura por redes coletoras (com atendimento de apenas 30% da população) e um percentual de municípios que possuem estações de tratamento inferior a 10% (BARROS *et al.*, 1995).

Hoje em dia o que se observa é uma grande disparidade no acesso que diferentes populações têm aos sistemas de saneamento e às condições dignas de sobrevivência em geral. Nos países em desenvolvimento, muitas vezes as condições de saúde pública estão aquém do que seria aceitável e sabe-se perfeitamente que a inexistência de serviços básicos de saneamento tem repercussões negativas sobre a saúde pública (SOCCOL, 1999).

Historicamente, os sistemas de tratamento de esgotos sanitários foram concebidos para remover constituintes físicos e impurezas químicas dos efluentes. A preocupação quanto à destruição de organismos patogênicos ocorreu posteriormente, quando se descobriu a correlação entre estes organismos e a transmissão de doenças. Segundo Feachem *et al.* (1983), o desenvolvimento dos sistemas de saneamento ocorreu antes que houvesse conhecimento suficiente acerca do papel dos esgotos na transmissão de doenças.

Doenças infecciosas causadas por patógenos são a principal causa de morbidade humana pelo mundo inteiro, particularmente em países em desenvolvimento, onde crianças abaixo de cinco anos são as que mais sofrem com os riscos de infecção. As doenças são usualmente transmitidas via alimentos contaminados, água não tratada e esgotos dispostos inadequadamente.

As helmintoses mais freqüentes no mundo são a ascariose, a ancilostomose, a tricuriase e a enterobiose (OMS, 1990; citado por SOCCOL *et al.*, 1999), com incidências variando de 103 a 900 milhões de casos por ano (vide GRÁFICO 1.1). Essas helmintoses afetam o homem, tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, contudo, a maior prevalência da doença e maior intensidade da infecção são usualmente encontradas em países em desenvolvimento.

Do ponto de vista médico e social, essas helmintoses representam importantes problemas de saúde pública que, além de ameaçarem constantemente a vida e bem-estar de grande parte da população, se caracterizam pelo prolongado estado mórbido, causando consideráveis perdas econômicas com assistência médica, redução da produtividade, ou incapacitação para o trabalho (REY, 1991).

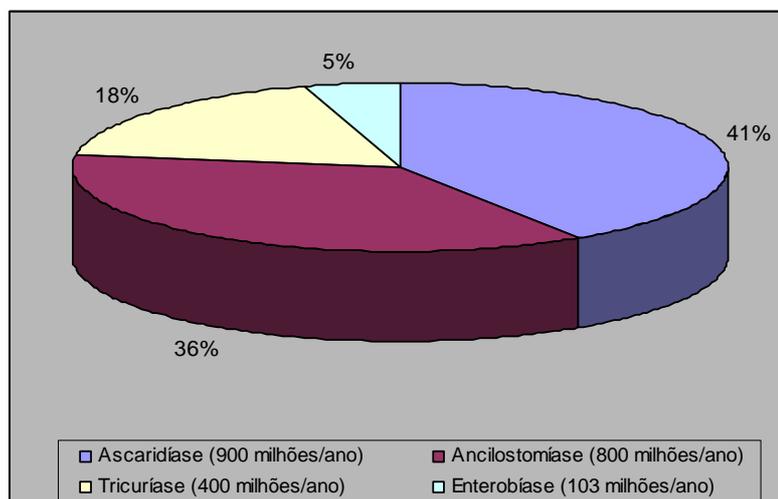


GRÁFICO 1.1 - Helmintoses mais frequentes no mundo  
 Fonte: OMS (1990)

Diante do enorme déficit sanitário existente no Brasil, aliado ao péssimo quadro epidemiológico e ao perfil sócio-econômico das comunidades brasileiras, constata-se a necessidade de sistemas simplificados de tratamento dos esgotos. Esses sistemas devem conjugar baixos custos de implantação e operação, simplicidade operacional, índices mínimos de mecanização e sustentabilidade do sistema como um todo, além de serem socialmente aceitáveis e garantirem uma proteção adequada à saúde pública.

Nesse sentido, o tratamento dos esgotos e a produção de efluentes adequados do ponto de vista sanitário e ambiental podem contribuir para o controle de helmintoses e doenças entéricas além de possibilitar a redução da contaminação do meio ambiente (STOTT *et al.*, 1996).

Uma das principais alternativas hoje utilizadas para o tratamento de esgotos domésticos no Brasil tem sido o tratamento anaeróbio, principalmente através de reatores de manta de lodo. São várias as características favoráveis desses sistemas, entre elas o baixo custo, simplicidade operacional e baixa produção de sólidos. Aliado a tais características estão o clima e as condições ambientais propícias do Brasil, que oferecem durante todo o ano temperaturas

relativamente elevadas, acelerando o mecanismo de tratamento. Entretanto, mesmo com tantas características favoráveis e propícias, o tratamento anaeróbio demonstra grande dificuldade em produzir um efluente dentro dos padrões estabelecidos pela legislação ambiental do país. Daí se observa a grande necessidade do uso de sistemas de pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios, adequando tal efluente aos requisitos da legislação ambiental. A função do pós-tratamento, portanto, é complementar a remoção de matéria orgânica (DBO e DQO) que se iniciou no reator anaeróbio e remover os nutrientes e patógenos que não foram removidos durante a fase inicial do tratamento.

A disposição de esgotos no solo, reconhecida como uma prática bastante antiga de tratamento de águas residuárias, tem se afigurado, atualmente, como uma das principais alternativas para o pós-tratamento de efluentes gerados por reatores anaeróbios, pois constitui um método natural de tratamento bastante eficiente, que envolve mecanismos físicos, químicos e biológicos de remoção da carga poluidora (PAGANINI, 1997).

O tratamento adequado, o destino final e o possível reúso dos efluentes das estações de tratamento de águas residuárias, na agricultura e aquacultura, principalmente em locais onde ocorrem baixos índices de pluviosidade e especialmente onde os recursos hídricos são escassos, têm sido uma das maiores preocupações no saneamento básico.

Em substituição à irrigação de áreas públicas com águas de abastecimento, os esgotos, tratados ou não, têm um importante papel como recurso a ser gerenciado, pois, além de preservar os mananciais como fonte de água para abastecimento e outros usos prioritários, o reúso dos esgotos apresenta também vantagens econômicas.

A água residuária, além de conter água, matéria orgânica e nutrientes, inevitavelmente contém patógenos oriundos das fezes humanas, e uma grande variedade desses patógenos estão relacionados com doenças que afetam o homem e os animais. Desses patógenos potencialmente encontrados em águas residuárias domésticas estão: vírus, bactérias, protozoários e helmintos. O conhecimento dos agentes patogênicos, da sua viabilidade e de sua sobrevivência em diferentes ambientes (efluentes líquidos, lodo, solo, vegetais, etc.) permite avaliar o potencial de risco de infecção a que o homem e outros animais estão expostos.

Nesse sentido, o conhecimento das vias de infecção e do ciclo biológico dos agentes patogênicos também contribuem para o entendimento da transmissão das doenças relacionadas com a ausência de serviços de saneamento, passando a constituir um instrumento de planejamento das intervenções, com vista à otimização de seu impacto sobre a saúde.

Dos patógenos encontrados nos esgotos, será dada ênfase aos helmintos, devido à ampla ocorrência de enteroparasitoses na população humana e à resistência apresentada pelos seus ovos no ambiente. A pesquisa de ovos de helmintos em amostras de águas residuárias, além de importante é também recomendada em estudos e programas de avaliação de monitoramento da qualidade de efluentes utilizados na irrigação.

Para efeito deste trabalho, será estudada a ocorrência e a viabilidade de ovos de helmintos em um sistema de disposição de esgotos no solo por escoamento superficial, como pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 *Objetivos gerais*

O presente trabalho foi desenvolvido em 2 fases, objetivando avaliar a eficiência de um sistema de tratamento de esgotos domésticos em relação à remoção de ovos de helmintos.

Na Fase 1, buscou-se avaliar a eficiência de um sistema constituído de um reator anaeróbio (em *escala real*) e de rampas de aplicação superficial no solo (em *escala de demonstração*), em relação à remoção de ovos de helmintos. Nesta fase, o sistema de tratamento foi operado em regime hidráulico permanente (vazão constante ao longo do dia), porém com diferentes taxas de aplicação em cada rampa.

Na Fase 2, buscou-se também avaliar a eficiência do sistema de tratamento em relação à remoção de ovos de helmintos, no entanto o sistema passou a ser constituído de um reator anaeróbio em *escala de demonstração*, mantendo-se as rampas de aplicação superficial no solo como unidades de pós-tratamento. Nesta fase, o sistema de tratamento foi operado em regime hidráulico transiente (vazão variável ao longo do dia), tendo sido ainda introduzidas algumas modificações nas unidades de tratamento, conforme descrito no Capítulo 4.

### 2.2 *Objetivos específicos*

- Implementação e utilização da metodologia de BAILENGER (1979) modificada por AYRES & MARA, 1996 para a identificação e enumeração de ovos de helmintos;
- Implementação e utilização da técnica de corantes biológicos para a avaliação da viabilidade de ovos de helmintos;
- Avaliação da eficiência do sistema de tratamento de esgotos domésticos, composto de um reator anaeróbio tipo UASB (em *escala real*) e de rampas de aplicação superficial no solo (em *escala de demonstração*), em relação à remoção de ovos de helmintos;
- Avaliação da eficiência do sistema de tratamento de esgotos domésticos, composto de um reator UASB compartimentado (em *escala de demonstração*) e rampas de aplicação superficial no solo (em *escala de demonstração*), em relação à remoção de ovos de helmintos;

## OBJETIVOS

---

- Identificação das espécies de parasitos presentes nas amostras de esgotos brutos e de esgotos tratados;
- Estimativa da fração viável de ovos de helmintos, com a finalidade de verificar o percentual de ovos que eventualmente completariam seu ciclo biológico.

Complementarmente a esses objetivos específicos, buscou-se ainda avaliar a eficiência do sistema de tratamento de esgotos domésticos, durante a Fase 2, em relação à remoção de coliformes totais e *Escherichia coli*. Tal avaliação objetivou fornecer subsídios adicionais visando à análise dos resultados em relação às diretrizes da OMS para reúso de águas residuárias tratadas.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Reúso de águas residuárias

##### 3.1.1 Breve contextualização

O reúso de águas residuárias na agricultura e na piscicultura é uma prática centenária e corrente em várias partes do mundo. Diversas publicações referem-se às experiências pioneiras das “fazendas de esgoto”, ainda no século XIX, em países como Austrália, Índia, Inglaterra, Estados Unidos e México; empregados mais no sentido de controle de poluição do que propriamente com intuito de produção agrícola (SHUVAL et al., 1986; MARA & CAIRNCROSS, 1993).

Em diversos países, o reúso é uma prática bastante disseminada, seja como parte integrante de políticas oficiais de gestão de recursos hídricos e programas de saneamento, ou de forma espontânea, sem o devido controle. Alguns exemplos bem ilustrativos são encontrados em Israel, onde cerca de 80% dos esgotos sanitários são utilizados na produção agrícola, principalmente no cultivo de algodão; alguns projetos são altamente tecnificados, apoiando-se em métodos modernos de irrigação (BASTOS, 1996).

Outro exemplo é encontrado na Austrália, onde a “Werrabee Farm”, em funcionamento desde 1897, opera um sistema de tratamento por escoamento superficial no solo, recebendo cerca de 250.000 m<sup>3</sup>/dia de efluentes em 10.000 ha e permitindo a pastagem de um rebanho de 13.000 bovinos e 3.000 ovinos. Não menos notável é a experiência da cidade do México, onde em 1995 um total de 102 m<sup>3</sup>/seg de águas residuárias eram utilizados na irrigação de 257.000 ha de terras em todo o país (JIMÉNEZ *et al.*, 2000). Desse total de águas residuárias, está incluída, também, uma parcela de águas pluviais que são distribuídas através de um complexo sistema de canais e reservatórios. As principais culturas irrigadas são forrageiras e cerealíferas, não sendo permitido o cultivo de hortaliças.

Outros exemplos de reúso planejado e controlado por autoridades governamentais são os da Arábia Saudita e Tunísia, que apresentam como meta o reúso da totalidade de efluentes domésticos produzidos. Enquanto o primeiro adota rígidos padrões de tratamento e controle rigoroso da distribuição e aplicação dos efluentes tratados (tratamento terciário associado à

restrição de culturas irrigadas), no segundo convivem o reúso planejado, com efluentes tratados, e o espontâneo, com águas residuárias brutas (BASTOS, 1996).

Na América Latina, a situação atual do reúso é muito diversificada. No Peru, se encontra um bom exemplo de transição entre o reúso indiscriminado e o reúso controlado. O Programa Nacional de Reúso de Águas Residuárias para Irrigação prevê a implantação por etapas de 18.000 ha de área irrigada. Entretanto, dos 4.300 ha hoje irrigados, cerca de 70% dessas águas são utilizadas para o cultivo de hortaliças, em sua maioria com águas residuárias brutas. Entende-se ser urgente a restrição desses cultivos, até que um sistema de tratamento de águas residuárias seja implantado. Nesse país, vale a pena destacar a estação experimental (lagoas de estabilização) de San Juan de Miraflores, coordenada pelo CEPIS (Centro Panamericano de Engenharia Sanitária e Ciências do Ambiente), objeto de pesquisa desde 1977 para tratamento e reúso, dos efluentes na agricultura, piscicultura e atividades agropecuárias (BASTOS, 1996).

No caso do Chile, todo o esgoto de Santiago é utilizado para irrigação em áreas vizinhas à cidade. Teoricamente, esse seria um caso de reúso indireto, pois, em tese, a água utilizada para irrigação provém dos corpos receptores contaminados com águas residuárias. Entretanto, em épocas de estiagem, alguns dos corpos receptores são praticamente esgotos a céu aberto, configurando, na prática, o reúso direto para irrigação de hortaliças (BASTOS, 1996).

Em relação ao Brasil, pouco ou nada se tem registrado sobre o reúso direto de efluentes sem tratamento com fins agrícolas, não significando, no entanto, que essa prática não ocorra. No caso do reúso indireto, que utiliza as águas superficiais contaminadas, é com certeza prática disseminada, ocorrendo de forma indiscriminada, e impondo grandes riscos à saúde pública, em função da quase inexistência de tratamento de esgotos na maioria dos municípios brasileiros.

No Brasil, as primeiras experiências com aplicação de esgotos com a intenção de fertilização do solo de canaviais foram feitas no estado do Pernambuco em 1918 (ARAÚJO, 1998). São poucas as experiências de reúso planejado no Brasil, podendo se destacar a irrigação de capim e cana-de-açúcar com efluentes tratados do Sistema Integrado de Tratamento de Efluentes Líquidos do Polo Petroquímico do Sul – SITEL (KÖNIG, 1998). Outro exemplo refere-se à

cidade de Populina/SP, que trata os esgotos em um sistema de aplicação superficial no solo, com reúso da biomassa vegetal para alimentação animal (PAGANINI, 1997).

Os poucos exemplos citados demonstram a diversidade de situações de reúso em algumas partes do mundo e revelam que, mesmo com o advento do reúso planejado e tecnificado, ainda persistem situações que não são ideais, ou de total descontrole, com a imposição de sérios riscos à saúde pública. Tais situações não podem ser creditadas unicamente a meros descasos de autoridades, pois muitas das vezes são fruto de imposições econômicas, escassez de água e necessidade de subsistência de pequenos agricultores (BASTOS, 1996).

Um panorama mundial de reúso de águas residuárias na irrigação é apresentado na Tabela 3.1, a seguir.

Tabela 3.1 - Áreas irrigadas com águas residuárias (panorama mundial)

<b>País</b>	<b>Área (ha)</b>
América Latina	400.000
Argentina (Mendoza)	3.700
Austrália (Melbourne)	10.000
Arábia Saudita	2.800
<b>Brasil</b>	<b>?</b>
Chile (Santiago)	16.000
China	1.300.000
Estados Unidos	14.500
Índia	73.000
Israel	8.800
Kuwait	12.000
México (DF)	90.000
Peru (Lima)	6.800
Tunísia	4.500

Fonte: BASTOS (1998)

Dessa forma, para que o reúso seja viável, aproveitando-se os melhores aspectos desta prática, esse deve ser praticado de forma controlada, objetivando-se eliminar o reúso clandestino e o indireto, proteger as águas superficiais e estabelecer um reúso planejado, com medidas de segurança para os trabalhadores e suas famílias, bem com para os consumidores em geral.

### 3.1.2 Principais usos e benefícios

Entre os diversos usos para as águas residuárias tratadas destacam-se (SANTOS *et al.*, 1993):

- a manutenção das vazões mínimas de cursos d'água, possibilitando a diluição dos esgotos lançados em águas superficiais;
- a irrigação de áreas verdes, parques, jardins públicos, campos de esporte e lagos ornamentais;
- os usos industriais, como refrigeração, alimentação de caldeiras, lavagem de gases etc.;
- a aquicultura, com o abastecimento de reservatórios para a criação de peixes;
- a agricultura, com a irrigação de diferentes culturas e forrageiras;
- a pecuária, com a dessedentação de animais;
- a recarga de aquíferos subterrâneos;
- o reflorestamento.

O reúso de águas residuárias na agricultura tem aumentado consideravelmente no mundo, especialmente em áreas áridas e semi-áridas. Isso se deve, principalmente, às limitações das fontes de água, ao aumento da demanda urbana por água potável, à necessidade crescente de produção de alimentos e ao reconhecimento do valor nutricional dos efluentes de esgotos (STRAUSS & BLUMENTHAL, 1989, citado por STOTT *et al.*, 1996).

A prática do reúso de esgotos apresenta inegáveis atrativos de ordem ambiental (reciclagem de nutrientes, controle de poluição) e econômica (economia de fertilizantes, fonte alternativa de água, aumento da produção agrícola), porém está associada a alguns inconvenientes de ordem sanitária e limitações de manejo agrônômico tais como:

- a presença de microrganismos patogênicos pode provocar riscos à saúde pública;
- a presença de alguns íons específicos (Sódio, Boro e Cloretos) pode provocar toxidez a algumas culturas;
- os teores elevados de sais dissolvidos podem provocar problemas de salinização do solo;
- o nitrogênio pode apresentar-se em teores excessivos para culturas pouco tolerantes;

Essas condições conferem alguns riscos que podem resultar na redução das taxas de crescimento da planta, na redução da produtividade, na diminuição da permeabilidade do solo e, em casos mais severos, na perda total da plantação. Nesse sentido, no monitoramento de efluentes com fins agrícolas outros parâmetros devem ser incluídos, como: condutividade elétrica, sódio, cálcio, boro, razão de adsorção de sódio - RAS, diferentes formas de nitrogênio e fósforo, cloretos e metais pesados. Todavia, esses parâmetros não devem ser considerados isoladamente, é necessário considerar as condições intervenientes como um todo, pois os fatores alteram-se acentuadamente de local para local, os quais podem vir a amenizar ou acentuar os efeitos da disposição de esgotos no solo (PAGANINI, 1997).

A utilização de águas residuárias na agricultura pode propiciar um grande incremento na produção, uma vez que fornece os nutrientes necessários às plantas, principalmente o nitrogênio e o fósforo. Naturalmente, o nível de incremento de produção dependerá de uma série de fatores, como tipo de cultura, disponibilidade de nutrientes nos esgotos e das demandas nutricionais das plantas, além das formas de manejo anteriormente praticadas, a exemplo da utilização ou não de adubação química.

Vários estudos demonstram as enormes economias de fertilizantes, ou mesmo sua dispensa, decorrentes da ferti-irrigação com águas residuárias. Por exemplo, Marecos do Monte (1995), citado por Bastos (1996), em estudos conduzidos em Portugal, registrou produções superiores de sorgo e girassol irrigados com efluentes de lagoas de estabilização, comparadas às obtidas pela irrigação com água e fertilização química, para essas mesmas culturas.

No entanto, no Peru, em estudos realizados pelo CEPIS (LÉON e MOSCOSO, 1995, citados por BASTOS, 1996), não existem referências de que a produtividade tenha aumentado pelo fato da utilização de águas residuárias. A produção obtida para diversas culturas (feijão, brócoli, repolho, milho, dentre outras) foi a mesma, quando comparada à irrigação com efluentes de lagoas de estabilização e com água e diversas doses de fertilizantes.

### **3.1.3 Aspectos epidemiológicos**

Estudos epidemiológicos têm indicado que graves doenças podem estar associadas à reutilização de águas residuárias parcialmente tratadas e, particularmente, com a utilização dessas sem qualquer tratamento.

Talvez seja o aspecto sanitário o mais polêmico em relação ao reúso de águas residuárias. O entendimento que a utilização de esgotos para irrigação envolve riscos à saúde parece ser unânime; a controvérsia reside na definição dos riscos aceitáveis, ou seja, na definição dos padrões de qualidade e graus de tratamento de esgotos que garantam a segurança sanitária (BASTOS, 1996).

Os estudos epidemiológicos associados ao uso das águas residuárias na agricultura, em algumas regiões do mundo, e em particular no México, têm evidenciado que existem riscos de enfermidades diarréicas e infecções intestinais ocasionadas por vírus, bactérias, protozoários e helmintos. Os resultados desses estudos confirmaram que a exposição às águas residuárias brutas aumentou os riscos de infecção por helmintos em geral, e em especial pelo nematóide *Ascaris lumbricoides*, entre crianças e adultos nas comunidades estudadas; e alguns destes riscos não diminuíram pelo fato do esgoto ser parcialmente tratada.

Esses estudos avaliam o risco à saúde associado a essas práticas, assim como sugerem orientações para o estabelecimento de restrições de culturas, padrões para a quantidade de microrganismos indicadores de contaminação fecal e ovos de helmintos em águas utilizadas na irrigação. No entanto, as restrições quanto aos tipos de cultivo que podem ser regados com águas residuárias tratadas foram insuficientes para proteger a saúde das famílias dos trabalhadores agrícolas expostos às águas residuárias (BLUMENTHAL *et al.*, 1989; SHUVAL *et al.*, 1986a e SCHWARTZBROD, 1989).

No Brasil, há pouco ou nenhum conhecimento acumulado sobre o assunto. Existem algumas referências bibliográficas com estudos sobre a qualidade de águas utilizadas para irrigação e de hortaliças comercializadas em mercados públicos, mas praticamente inexistem estudos sobre a avaliação dos riscos sanitários decorrentes do reúso com fins agrícolas (CEAGESP, 1991; CEBALLOS *et al.*, 1993; BASTOS & PERIN, 1995; COELHO, 1998).

Como mencionado anteriormente, a exposição dos trabalhadores agrícolas a águas residuárias brutas ou parcialmente tratadas aumenta os riscos de infecção pelos helmintos, mais propriamente pelos da classe Nematoda (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos). Isso decorre dos seguintes fatores principais:

- os ovos possuem um período de embrionamento no solo antes de atingirem o hospedeiro, com a capacidade de se tornarem viáveis e garantindo um potencial infectivo;

- os ovos persistem muito tempo no meio ambiente, com um período de latência que varia de acordo com a espécie;
- não necessitam de hospedeiro intermediário para completar o ciclo biológico.

Dessa forma, a importância de estudá-los deve-se à relação direta com o tipo de infecção que causam, seja pela inalação e ingestão de ovos viáveis ou pela penetração de larvas filarióides pela pele. Porém, o risco para a saúde humana depende do ciclo de vida e da rota de transmissão dos parasitos, além das condições ambientais que podem favorecer ou não a sobrevivência dos mesmos.

Na prática do reúso de águas residuárias, torna-se importante determinar não somente a quantidade de ovos de helmintos presentes, como também a fração desses ovos que possuem a possibilidade de completar seu ciclo biológico (fração potencialmente viável). Isso porque a água passa pelo solo e pelos cultivos, acumulando-se conforme se aplicam as lâminas de água, e possibilitando o desenvolvimento dos ovos de helmintos até a etapa infectiva. Como consequência, são impostos riscos para a saúde dos consumidores e dos trabalhadores agrícolas, incluindo sua família, além de outras pessoas que tenham contato primário com áreas verdes.

É muito importante controlar a disseminação destes parasitos, não somente do ponto de vista da ingestão de produtos agrícolas, mas também em áreas onde se tenha contato primário com solos cultivados com águas residuárias brutas ou parcialmente tratadas. Nos campos desportivos e parques públicos, por exemplo, se somam os aportes de ovos de helmintos por irrigação com os provenientes dos excrementos de cães e felinos domésticos, que constituem a chamada infecção geohelmíntica (GALVÁN & de VICTORICA, 1998a).

Estudos recentes têm demonstrado que, nos solos de parques recreativos, os ovos de helmintos, especificamente de *Toxocara* sp e *Toxocaris* sp, se distribuem em um estrato que vai da superfície até os primeiros 12 cm de profundidade, particularmente nos primeiros 8 cm. Entretanto, a maior parte dos ovos se localiza nos primeiros 3 cm de profundidade do solo, com uma concentração de 1,4 ovo/100 g de solo, com mais de 50% infectivos (O'LORCAIN, 1994, citado por GALVÁN & de VICTORICA, 1998a).

Estes e outros estudos confirmam que é necessário estabelecer um sistema de vigilância direta dos ovos de helmintos, já que estes apresentam as seguintes características (BUITRÓN & GALVÁN, 1995; ORTA *et al.*, 1995; citados por GALVÁN & de VICTORICA, 1998):

- suas doses infectivas são baixas (requerem poucos ovos para causar infecção nos humanos);
- apresentam pelo menos quatro formas de transmissão (direta, pelo solo, por alimentos e por moluscos);
- os sistemas de tratamento convencionais para águas residuárias não são efetivos para destruí-los e não necessariamente previnem a transmissão;
- até o momento não foram estabelecidas correlações confiáveis entre parâmetros físicos, químicos ou bacteriológicos com a presença e concentração de ovos de helmintos;
- os hospedeiros finais (neste caso os humanos) apresentam baixa imunidade;
- podem permanecer viáveis no ambiente por períodos que vão de dias a anos.

Entretanto, a simples presença do agente infeccioso nas águas residuárias não implica, necessariamente, na imediata transmissão de doenças. A sua presença caracteriza apenas um risco potencial. O risco real de um indivíduo ser infectado depende da combinação de uma série de fatores, dentre os quais (MARA & CAIRNCROSS, 1990, citado por BASTOS, 1998):

- resistência dos organismos patogênicos ao tratamento de esgotos e às condições ambientais;
- suscetibilidade e grau de imunidade do hospedeiro;
- grau de exposição humana aos focos de transmissão;
- dose infectiva;
- patogenicidade.

Na tentativa de identificar os riscos potenciais, diversos autores recorreram à sistematização das principais características dos diversos grupos de agentes etiológicos e ao tempo de sobrevivência desses, no meio ambiente (solo, fezes, água, superfície dos vegetais etc.), na busca de evidências de transmissão de doenças aos trabalhadores rurais e consumidores.

Com base neste levantamento, Shuval *et al.* (1986b) elaboraram a seguinte classificação para microrganismos patogênicos em ordem decrescente, segundo sua capacidade de impor riscos sanitários:

- alto risco (helmintos: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, ancilostomídeos);
- médio risco (bactérias e protozoários);
- baixo risco (vírus).

Nesse sentido, as infecções viróticas foram identificadas como as de menor risco, tendo como justificativa a facilidade com que são transmitidas por outras vias onde prevaleçam baixas condições sanitárias e de higiene pessoal, além do que, conferem imunização significativa. Em relação às bactérias e protozoários, o tempo de sobrevivência no meio ambiente é bem menor que dos ovos de helmintos, além de necessitarem de doses infectivas bem maiores para causar infecção. Inversamente, os helmintos foram enquadrados no outro extremo, já que apresentam baixa dose infectiva, longa sobrevivência no meio ambiente e imunidade insignificante.

A transmissão de doenças através da reutilização de águas residuárias na irrigação pode se dar pelo contato direto com efluentes ou pelo consumo de alimentos contaminados. Desta forma, pode-se identificar quatro grupos possíveis de serem classificados como de risco:

- consumidores de vegetais contaminados;
- consumidores de produtos de animais que pastam em áreas irrigadas com efluentes;
- trabalhadores rurais;
- público residente nas proximidades de áreas irrigadas com efluentes.

Como o modelo epidemiológico anteriormente descrito é eminentemente teórico, Shuval *et al.* (1986b) realizaram uma extensa revisão bibliográfica em busca de evidências concretas (risco real) de transmissão de doenças entre os quatro grupos citados. Porém, deve-se ressaltar uma importante conclusão dos autores de que todos os casos comprovados de transmissão de doenças estavam relacionados com a utilização de esgotos brutos ou tratados parcialmente. As principais evidências encontradas podem ser resumidas como a seguir (BASTOS, 1998):

- público consumidor de vegetais contaminados: existem evidências concretas de transmissão de ascariose, tricuriase, cólera e possivelmente de febre tifóide;
- público consumidor de produtos animais: evidências concretas de contaminação do gado (teníase e cisticercose), mas a contaminação indireta do público não pôde ser comprovada;
- trabalhadores rurais: transmissão comprovada de ancilostomose, ascaridíase e possivelmente infecções bacterianas e viróticas;
- público residente nas proximidades de áreas irrigadas: em geral não há provas de transmissão de doenças, nem mesmo pela via mais provável que são os aerossóis provocados pela irrigação por aspersão. Existem indícios duvidosos da transmissão de vírus.

A avaliação criteriosa das evidências disponíveis parece então confirmar o modelo epidemiológico desenvolvido, pois a previsão do alto risco de transmissão de nematóides intestinais é confirmada em diversos estudos. Em contrapartida, as evidências de transmissão de infecções bacterianas e, principalmente viróticas, são escassas e em sua maioria nem tão bem fundamentadas. De qualquer forma, a classificação sugerida para microrganismos patogênicos mostra-se apropriada para as condições normalmente encontradas em países em desenvolvimento, onde os parasitos intestinais são geralmente endêmicos, níveis significativos de imunidade às doenças viróticas são desenvolvidos nos primeiros anos de vida e as infecções bacterianas encontram os mais variados focos de transmissão.

Desse modo, é necessário incluir os ovos de helmintos em sistemas de vigilância sanitária, uma vez que a sua distribuição é cosmopolita. Porém, devem ser incluídos em tal sistema os helmintos representativos da região geográfica, já que a sua incidência é localizada por região e inclusive por grupos de população.

De acordo com o modelo epidemiológico proposto por Blumenthal *et al.* (1989), a prevenção pode ser feita aplicando-se ações que interrompam os sítios chave de fluxo do ciclo de transmissão dos helmintos. Estas ações se referem: i) ao tratamento das águas residuárias; ii) à restrição de culturas que podem ser irrigadas; iii) às práticas de irrigação; e iv) ao controle da exposição humana. Ações que aplicadas isoladamente não evitam a transmissão, mas que em diferentes combinações, e dependendo das condições particulares da região onde serão aplicadas, podem produzir resultados seguros.

Essa abordagem, considerando as evidências epidemiológicas disponíveis e o conceito de risco real, permitiu a formulação de critérios mais flexíveis para o reúso de água residuária na agricultura, à exemplo das recomendações da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1989), apresentadas na Tabela 3.2, a seguir.

Tabela 3.2 - Diretrizes da Organização Mundial de Saúde de qualidade microbiológica recomendada para esgotos tratados utilizados para a irrigação de culturas agrícolas<sup>(a)</sup>

Categoria	Condições de Reúso	Grupo de exposição	Nematóides intestinais (ovos/L) <sup>(b)</sup>	Coliformes fecais (Nº/100mL) <sup>(c)</sup>	Nível de tratamento esperado para se alcançar a qualidade biológica requerida
A	Irrigação de vegetais consumidos crus, campos de esporte, parques públicos	Trabalhadores, Consumidores, Público	≤ 1	≤ 1000 <sup>(d)</sup>	Série de lagoas de estabilização projetadas para se alcançar a qualidade biológica indicada, ou tratamento equivalente
B	Irrigação de culturas de cereais, culturas industriais, culturas forrageiras, pastagens e árvores <sup>(e)</sup>	Trabalhadores	≤ 1	Sem recomendação de padrão	Retenção em lagoas de estabilização por 8-10 dias ou remoção equivalente de helmintos e coliformes fecais
C	Irrigação localizada de culturas na categoria "B" sem exposição de trabalhadores e do público em geral	Não há	Não se aplica	Não se Aplica	Pré-tratamento, de acordo com os requisitos da tecnologia de irrigação empregada, mas não inferior à sedimentação primária

Fonte: Adaptado de WHO (1989) e BASTOS (1998)

Notas:

- Em situações específicas, fatores epidemiológicos, socioculturais e ambientais locais devem ser levados em consideração e as diretrizes modificadas de acordo com as necessidades;
- Espécies de *Ascaris*, *Trichuris*, *Necator* e *Ancylostoma*, média aritmética do número de ovos por litro;
- Média geométrica do número de CF por 100mL, durante o período de irrigação;
- Para a irrigação de parques e jardins onde o acesso de público é permitido, deve-se utilizar um padrão mais restritivo (≤ 200 coliformes fecais por 100 mL);
- No caso de árvores frutíferas, a irrigação deve ser interrompida duas semanas antes da colheita e nenhum fruto deve ser apanhado do chão. A irrigação por aspersão não deve ser utilizada.

A WHO (1989) enfatiza ainda a utilização de lagoas de estabilização, como um processo de tratamento de baixo custo e altamente eficiente na remoção de microrganismos patogênicos. Pretende assim, que suas recomendações estejam orientadas primordialmente para países em desenvolvimento, dado o quadro epidemiológico-sanitário e as possibilidades econômicas encontradas nos mesmos.

Os critérios da WHO (1989) foram desenvolvidos muito com base no conhecimento sobre a eficiência das lagoas de estabilização na remoção de patógenos, onde diversos estudos confirmaram a plena capacidade das lagoas em produzir efluentes com 10<sup>3</sup> coliformes fecais/mL e que com essa qualidade, a presença de ovos de helmintos e outros patógenos (no caso vírus e bactérias) seria pouco provável e garantida para cistos de protozoários.

Os ovos de helmintos são eficientemente removidos por sedimentação e o critério  $\leq 1$  ovo de helminto/L pode ser consistentemente atendido em lagoas em série, se bem dimensionadas e operadas. Nesse sentido, o padrão ovo de helminto, que refere-se mais estreitamente aos ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos, é um indicador da remoção de outros microrganismos sedimentáveis (ex.: outros ovos de helmintos, incluindo ovos de *Taenia* sp, *Schistosoma* sp e cistos de protozoários). Entretanto, Grimason *et al.*(1993) alertam para o risco da simplificação deste conceito, já que os cistos de protozoários possuem velocidade de sedimentação um pouco inferior e os métodos para detecção destes microrganismos em águas residuárias ainda são precários. Desde então, vários estudos questionam a suficiência de 8 a 10 dias de tempo de detenção para se obter um efluente com  $\leq 1$  ovo de helminto/L (CRISPIM & BARBOSA, 1995; GRIMASON *et al.*, 1995, citado por BASTOS, 1998).

Mais recentemente, Blumenthal *et al.* (1996) publicaram os resultados de estudos epidemiológicos realizados no México e no Brasil, onde concluíram que o tratamento das águas residuárias até um nível de  $\leq 1$  ovo de nematóide/L é suficiente para proteger os consumidores, mas não necessariamente os trabalhadores e suas famílias, principalmente as crianças. O risco é ainda maior quando estão presentes na água residuária ovos viáveis que têm o potencial de embrionar no solo e nos cultivos, quando os sistemas de tratamento não são estáveis o suficiente na remoção e quando existe uma recontaminação da água tratada por aportes de água sem tratamento.

Desta maneira, para garantir a proteção dos trabalhadores e dos consumidores deve existir um monitoramento freqüente dos sistemas de tratamento para avaliar a presença e a viabilidade de ovos de helmintos, e de outros indicadores microbiológicos, além da adoção de medidas integradas de manejo que passem pela escolha da técnica adequada de irrigação e do tipo de cultura a ser utilizada no solo.

No entanto, para a prática do reúso deve-se conhecer perfeitamente o nível de contaminação das águas que serão utilizadas, de forma a estabelecer medidas adequadas de proteção e tecnologias de irrigação apropriadas para minimizar os impactos negativos. Segundo Mara & Cairncross (1989), as medidas de proteção à saúde podem ser reunidas em 4 grupos:

- tratamento de esgotos;
- restrição das culturas;
- escolha dos métodos de irrigação;
- controle da exposição humana à infecção.

Conclui-se então que as melhores medidas sanitárias para dispor de uma irrigação sem riscos, qualquer que seja a fonte de água, se referem à redução do número de patógenos no meio ambiente, através de medidas integradas que incluem o tratamento dos esgotos, a proteção das fontes de água e a educação sanitária (LEON & CAVALLINI, 1996, citado por KÖNIG, 1998).

## **3.2 Helmintos**

### **3.2.1 Introdução**

Os helmintos ou vermes constituem um grupo muito numeroso, com espécies de vida livre e espécies parasitas, sendo os representantes desse grupo distribuídos em três filios:

- *Platyhelminthes* (vermes achatados dorsoventralmente);
- *Aschelminthes* (vermes com o corpo em geral de forma cilíndrica);
- *Acanthocephala* (vermes com o corpo cilíndrico ou ligeiramente comprimido lateralmente).

Dentre esses filios, é de interesse para o presente trabalho o filo *Aschelminthes*, notadamente a classe Nematoda, sendo abordadas apenas as espécies *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos (*Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* e *Ancylostoma ceylanicum*).

Os helmintos intestinais, durante a fase parasitária, vivem no trato gastrointestinal do hospedeiro (homem e/ou animal), e seus ovos chegam ao ambiente juntamente com as fezes. As ocorrências no homem são muito comuns, causando infecções que resultam em danos para o hospedeiro. O grau de infecção e a natureza do parasito têm papel importante na patogenicidade causada no hospedeiro. A capacidade patogênica é variável, podendo-se distinguir: agentes patogênicos estritos (são freqüentemente responsáveis por afecções) e

agentes patogênicos oportunistas (induzem a doença em caso de diminuição de imunidade do hospedeiro).

No caso do homem, particularmente, influem no parasitismo os seguintes aspectos principais (REY, 1991):

- hábitos higiênicos, comportamento, educação e grau de informação;
- estado nutricional e imunológico;
- condições que o cercam;
- política sanitária adotada por seus dirigentes.

Nem todos os helmintos apresentam interesse médico e apenas alguns grupos apresentam uma relação epidemiológica de importância capital no saneamento. Os nematóides *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*, e em especial os geo-helmintos que são os parasitos transmitidos por solos contaminados por larvas de *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale* e *Strongyloides stercoralis*, conferem maior interesse no contexto desse estudo, pelo fato dos ovos e larvas desses parasitos, possuírem um período de embrionamento e de latência no solo, antes de atingirem o hospedeiro.

Dependendo do ciclo biológico ou da rota de transmissão de cada parasito, a contaminação ocorre através da ingestão de ovos contendo a larva infectiva ou pela penetração de larvas infectivas através da pele do hospedeiro. A transmissão ocorre na maioria das vezes, através de vários veículos, especialmente pela ingestão de alimentos, água, mãos sujas, poeiras e solos contaminados.

Os principais nematóides de interesse sanitário estão classificados na categoria III (FEACHEM *et al.* 1983) que compreende os parasitos que não necessitam de hospedeiro intermediário, tendo como representantes dessa categoria as espécies *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos (*Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*). Além dos helmintos da categoria III, são também considerados helmintos de interesse sanitário os enquadrados na categoria IV e V. A categoria IV compreende os parasitos que necessitam de hospedeiro intermediário (suínos e bovinos), sendo os representantes desta categoria as espécies *Taenia solium* e *Taenia saginata*. Os parasitos que se enquadram na categoria V

necessitam de um hospedeiro intermediário aquático (moluscos), tendo como representante o gênero *Schistosoma*.

Os parasitos geralmente apresentam especificidade do hospedeiro e podem ser representados esquematicamente como a seguir (SOCCOL, 1999):

- específicos para um hospedeiro no caso de parasitos monoxênicos (necessitam de apenas um hospedeiro para completar o ciclo biológico), como *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, que são infectantes apenas para o homem;
- específicos para os hospedeiros intermediários no caso de parasitos heteroxênicos (precisam de mais de um hospedeiro para completar o ciclo biológico). Neste caso, o risco direto é para o hospedeiro intermediário, mas, na seqüência, representam risco para o hospedeiro definitivo. Exemplo disso é o ovo de *Taenia sp*, que é infectante para bovinos e suínos (hospedeiros intermediários) num primeiro instante, porém, se o homem (hospedeiro definitivo), ingerir carne infectada destes animais vai desenvolver o parasito adulto no intestino. No caso de *Taenia solium*, o homem pode ser tanto hospedeiro intermediário como hospedeiro definitivo. Para ser hospedeiro intermediário ele deve ingerir ovos de *Taenia solium* (através de verduras, frutas, mãos contaminadas com ovos), enquanto que para ser hospedeiro definitivo ele deve ingerir carne de suíno contendo *Cysticercos cellulosae*;
- hospedeiros acidentais quando certos parasitos de animais, como por exemplo (*Toxocara canis*), que parasitam habitualmente os cães. No entanto, o homem, ao ingerir ovos larvados destes parasitos, será hospedeiro acidental, uma vez que a evolução do ciclo é abortiva. Porém o início do ciclo, no homem, pode ter repercussão patológica grave, conhecida como larva migrans visceral.

Para cada helmintose, os riscos de infecção humana dependem das relações ecológicas que se estabelecem em cada caso, podendo variar de lugar para lugar, ou periodicamente no mesmo lugar. Evidentemente, há uma variabilidade na taxa de infecção nas respectivas populações. Entre os fatores de maior importância para a distribuição e a prevalência das helmintoses encontram-se (REY, 1991; NEVES *et al.*, 2000):

- características genéticas e fenotípicas, particularmente quanto à suscetibilidade e resistência às infecções;

- condições ambientais (temperatura, umidade e altitude favoráveis);
- os hospedeiros intermediários e os definitivos desses parasitos;
- presença de hospedeiros suscetíveis apropriados;
- sua distribuição geográfica;
- potencial biótico elevado;
- migrações humanas;
- densidade.

Além disso, hábitos religiosos, falta de conhecimento e baixas condições de vida favorecem a disseminação e podem elevar a prevalência das parasitoses em determinadas regiões. A maioria das parasitoses é ao mesmo tempo causa e conseqüência do subdesenvolvimento, não sendo possível dissociar a doença da subalimentação, da pobreza, e vice-versa. Portanto, a importância de um agente biológico como causador de doença está intimamente ligado ao *status social* do ambiente em que vive; e, para que permaneça estável numa população, há necessidade de que a mesma seja subdesenvolvida (NEVES *et al.* 2000).

### **3.2.2 Nematóides**

#### **3.2.2.1 Caracterização geral**

Os nematóides são vermes geralmente cilíndricos e filiformes (do grego *nema*, *nematos*, filamento), que apresentam um dos mais bem-sucedidos planos de organização funcional desenvolvidos pela natureza. O número de espécies existentes (estimado em cerca de 500 mil), a variedade de meios em que vivem e o tamanho geralmente considerável de suas populações são prova disso (REY, 1991).

Na maioria dos casos os sexos são separados, sendo que os espermatozóides fecundam os ovócitos em sua passagem pelo útero, onde se completa a formação do ovo. Na generalidade dos casos, possuem dimorfismo sexual em maior ou menor grau, sendo as fêmeas maiores que os machos, sendo que a reprodução e o processo de atingir o hospedeiro são bastante diversificados.

As localizações mais freqüentes de nematóides humanos ocorrem no aparelho digestivo, principalmente em sua luz ou nas vias excretoras das glândulas anexas. Os nematóides podem

atravessar incólumes o tubo digestivo do homem e outros animais, podendo viver aí temporariamente e, inclusive, produzir manifestações clínicas. No aparelho digestivo, do duodeno ao reto, alojam-se muitas espécies de nematóides, por ser um meio muito rico em materiais nutritivos facilmente assimiláveis. É importante, também, como sede dos processos que levam à eclosão de ovos desses helmintos, com a presença de CO<sub>2</sub> e de outros gases, como nitrogênio, hidrogênio e metano.

No desenvolvimento pós-embrionário os nematóides passam por cinco estádios, sendo que na passagem de um estágio para outro ocorre uma troca de cutícula. O embrião que se forma dentro do ovo é a larva de primeiro estágio L<sub>1</sub>, que se transforma em L<sub>2</sub>. Quando alcança o estágio de larva infectante (geralmente L<sub>3</sub>), há necessidade de infectar o hospedeiro definitivo para que ocorra a continuidade do desenvolvimento. A infecção pode ser passiva, quando ocorre a ingestão do ovo contendo a larva infectante (*Ascaris*, *Trichuris*, *Enterobius*), ou ativa, quando a larva infectante penetra na pele ou mucosa (*Strongyloides* e *Ancylostoma*).

Em alguns nematóides, como *Strongyloides* e *Enterobius*, o embrião se desenvolve dentro do ovo, ainda no útero da fêmea que o elimina larvado. No caso de *Ascaris*, *Trichuris* e *Ancylostoma*, o embrião se desenvolve dentro do ovo, mas no meio exterior ao útero da fêmea. Entretanto, para que ocorram estas transformações do embrião no meio exterior, são necessárias cinco condições básicas (NEVES *et al.*, 2000):

- radiação solar;
- temperatura;
- oxigênio;
- umidade;
- pH.

A ausência de uma destas condições, ou a sua alteração, pode comprometer a continuidade do desenvolvimento biológico do parasito, ou então ele permanece em latência até encontrar condições favoráveis para retornar seu ciclo biológico.

Nas espécies de vida livre e nos parasitos cujas larvas nascem no meio exterior, a eclosão é regulada, de um lado, pelo desenvolvimento larvário, e de outro, pelas condições ambientais, especialmente, pela temperatura e pela umidade. O processo de eclosão ocorre apenas quando

a temperatura e a quantidade de umidade do meio forem adequadas, assegurando, dessa maneira, certa proteção às formas juvenis e maior probabilidade de sobrevivência dos helmintos.

Em alguns casos, quando no interior dos ovos formam-se larvas de segundo e terceiro estádios, a eclosão fica na dependência de um estímulo específico, fornecido pelo hospedeiro, como a presença de agentes redutores, pH, temperatura, sais e presença de gases. O valor adaptativo desse processo é evidente, pois estádios larvários podem resistir melhor às condições desfavoráveis do meio, permanecendo dentro do ovo até que este seja ingerido por seus hospedeiros (REY, 1991).

Após a ingestão, os ovos contendo as larvas infectivas atravessam todo o trato digestivo e as larvas eclodem no intestino delgado. Entretanto, após a eclosão, a larva terá que efetuar um longo percurso migratório, através dos tecidos do hospedeiro, antes de ficar adaptada para viver em seu hábitat definitivo. Isso porque as larvas do estágio L<sub>3</sub> são aeróbias e não conseguem desenvolver-se na cavidade intestinal, onde o oxigênio é muito escasso ou totalmente ausente (REY, 1991).

Qualquer que seja a via de penetração do parasito, ingestão de ovos ou penetração pela pele, as migrações pelos tecidos do organismo do hospedeiro diferem segundo a espécie de parasito. No decorrer das migrações, as larvas crescem, passam por uma ou mais mudas, preparando-se para atingir o estado adulto de maturidade sexual no hábitat definitivo.

Os nematóides dependem, na fase de propagação sob a forma de ovos ou de larvas, de encontrar no meio externo condições que assegurem a sobrevivência e a maturação dos elementos infectantes, em quantidade suficiente para manter viável a população parasitária. Esta é, em geral, a fase mais crítica da sobrevivência da espécie, devido à sua exposição a inúmeros fatores de risco, à alta mortalidade e à expectativa de vida quase sempre muito curta do estágio larvário infectante.

Nesse sentido, a sobrevivência dos nematóides e a sua abundância em determinado meio ou população de hospedeiros depende de condições ambientais que variam frequentemente. Essas condições podem ser resumidas esquematicamente em quatro componentes (REY, 1991):

- os lugares onde vivem os parasitos;
- as relações com outros seres vivos;
- a disponibilidade de alimentos;
- os fatores climáticos.

Os fatores climáticos interferem decisivamente na transmissão de parasitoses, condicionando a existência de períodos mais favoráveis ou menos favoráveis para isso, ou interrompendo periodicamente a possibilidade de transmissão. Nesse sentido, são fatores importantes a temperatura, o grau de umidade, as precipitações e estiagens, as variações da cobertura vegetal e a insolação.

Diante de fatores desfavoráveis do meio, os nematóides, como outros parasitos, apresentam, por vezes, mecanismos de sobrevivência especiais. Algumas adaptações morfológicas, fisiológicas e biológicas, permitem aos nematóides sobreviverem em condições ambientais adversas. Essas adaptações são de tal forma tão acentuadas que constituem a “marca do parasitismo” (NEVES *et al.*, 2000). As principais modificações ou adaptações são as seguintes:

- o número elevado de ovos produzidos diariamente pelas fêmeas, para suplantar as dificuldades de atingir o novo hospedeiro e escaparem da predação externa;
- os diversos tipos de reprodução, que podem ser dióicos (sexos separados), hermafroditas (a mesma gônada produz, primeiro, o espermatozóide e, depois, os óvulos) e a partenogênese, assegurando a reprodução da espécie;
- os ovos e as fases larvárias contam com reservas nutritivas acumuladas durante a oogênese, que são utilizadas no processo de embrionamento;
- o entrosamento com os hábitos e comportamento dos hospedeiros, como a disseminação fecal e a penetração cutânea dos ancilostomídeos, em locais úmidos e sombreados;
- mecanismos de sobrevivência especiais, como dormência e latência;
- a espessa casca dos ovos de *Ascaris* e de *Trichuris*.

Dentre os mecanismos especiais de adaptação podem ser observados (REY, 1991):

- dormência ou hipometabolismo, que implica na redução da atividade metabólica;

- latência ou ametabolismo, que implica na paralisação da atividade metabólica .

A dormência é um estado em que a redução da atividade metabólica pode ser decorrente de fatores desfavoráveis do meio ambiente ou, em certos casos, pode ser uma etapa obrigatória do ciclo evolutivo do parasito. No primeiro caso, segundo o fator ambiental que a provoque, a dormência pode ocorrer por anidrobiose (falta de água), anoxibiose (escassez de oxigênio), cribose (frio) etc. O encerramento do período de dormência e o retorno à atividade normal são sinalizados pelo surgimento de fatores externos favoráveis, que disparam a fase evolutiva seguinte do helminto. Isto ocorre com ovos de muitas espécies e também com as larvas de terceiro estágio infectante de algumas delas.

O estado de latência corresponde a uma parada do desenvolvimento do helminto, em determinada Fase de seu ciclo evolutivo (geralmente uma muda), induzida por condições ambientais, mas agindo os fatores externos como sinais que desencadeiam o processo de bloqueio metabólico. Tal mecanismo é desenvolvido ou selecionado como adaptação às mudanças estacionais, manifestando-se como característica genética de populações, ou de indivíduos dentro de uma população. O *Ancylostoma duodenale*, que é um parasito humano próprio de regiões com invernos muito frios, apresenta latência em parte das larvas que fazem o ciclo histotrópico.

### 3.2.2.2 Cascas de ovos de nematóides

A transmissão de parasitoses envolve, freqüentemente, uma elevada mortalidade dos estágios de vida livre no meio ambiente externo ao hospedeiro. Esse decaimento natural pode ser compensado pelo elevado potencial biótico e adaptações dos ovos e larvas de nematóides, que assim garantem sua sobrevivência ou aumentam suas chances de infectar um novo hospedeiro.

Nesse contexto, a estrutura e funções das cascas dos ovos de nematóides devem ser levadas em consideração. Sua complexidade, resistência e variabilidade podem ser consideradas adaptações que possibilitam o aumento da sobrevivência do embrião e da larva no meio ambiente. A casca do ovo é também responsável pela resistência a anti-helmínticos e helmintocidas.

Os ovos variam consideravelmente quanto a forma, tamanho e estrutura. A casca do ovo de nematóide pode conter de 1 a 5 camadas, porém, em seu aspecto mais típico e pelo padrão mais freqüentemente observado consistem de (WHARTON, 1980):

- uma camada interna lipídica;
- uma intermediária de quitina;
- uma externa vitelina.

Essas camadas são formadas interiormente pelo processo de oogênese, sendo elaboradas pelo próprio ovo. Em adição, a casca do ovo pode possuir de uma a duas camadas externas, que são secretadas pelas células uterinas ainda na parede do útero da fêmea. A camada uterina pode conter mucopolissacarídeos e proteínas, sendo em geral grossa e irregular, responsável pelo aspecto típico de uma membrana mamilonada, como no caso dos ovos de *Ascaris lumbricoides*.

Existem, no entanto, variações consideráveis nas estruturas das cascas dos ovos, entre diferentes ordens de nematóides e até mesmo entre diferentes espécies, a exemplo dos ovos de *Trichuris* sp e *Strongyloides* sp, que não possuem a camada uterina externa. Dessa forma, a casca do ovo pode ser considerada uma das características mais variáveis na anatomia dos ovos de nematóides.

A *camada interna lipídica* é responsável pela extrema impermeabilidade de algumas cascas de ovos de nematóides. No caso de ovos de *Ascaris lumbricoides*, essa camada apresenta uma natureza química ímpar, sendo constituída de 25% de proteína e 75% de lipídeo (WHARTON, 1980).

A *camada intermediária de quitina* é freqüentemente a mais espessa da casca do ovo e sua composição proporciona a resistência estrutural ao ovo. Embora na maioria dos ovos a camada de quitina esteja usualmente associada à proteína, nos ovos de *Enterobius vermicularis* a proteína é aparentemente ausente nessa camada.

A *camada vitelina* é constituída de material lipoproteico, derivado da própria membrana vitelina do ovo, é espessa, e quando a camada vitelina molda a camada externa da casca do ovo, um material particulado tem sido observado aderido a superfície externa.

- **Função da casca do ovo**

A casca do ovo de nematóide é uma das estruturas biológicas mais resistentes, sendo impermeável à maioria das substâncias, com exceção a gases e solventes de lipídeos (ARTHUR & SANBORN, 1969, citado por WHARTON, 1980).

A principal função da camada de quitina é, provavelmente, a de fornecer resistência estrutural ao ovo. Se esta for removida, a camada lipídica estará sujeita a danos mecânicos, possibilitando, dessa forma, a penetração de produtos químicos prejudiciais (ARTHUR & SANBORN, 1969, citado por WHARTON, 1980).

A extrema resistência química da casca do ovo pode ser observada durante os testes de embrionamento, quando esses são incubados em meios contendo ácido sulfúrico 0,1 N e nenhuma alteração substancial é observada.

- **Permeabilidade da casca do ovo**

O embrionamento de ovos em uma variedade de soluções prejudiciais confirma a impermeabilidade da casca do ovo a compostos solúveis em água. Os ovos também desenvolvem-se normalmente em soluções hipo-osmótica e hiper-osmótica, sugerindo que a casca do ovo seja impermeável à água líquida (ARTHUR & SANBORN, 1969, citado por WHARTON, 1980). Entretanto, trabalhos recentes sobre o conteúdo de água em larvas de *Ascaris*, dentro do ovo, em soluções hiper-osmóticas, indicam que a casca do ovo permite a passagem de água líquida (CLARKE & PERRY, 1980, citado por WHARTON, 1980). Ovos de *Ascaris lumbricoides* expostos à dessecação perdem água a uma taxa que depende da umidade relativa e da temperatura, indicando que a casca do ovo possui uma baixa permeabilidade a vapores de água.

O desenvolvimento do embrião e da larva, dentro do ovo, é aeróbio, requerendo um suprimento externo de oxigênio e a permeabilidade da casca do ovo ao oxigênio (PASSEY & FAIRBAIN, 1955, citado por WHARTON, 1980).

A molécula de oxigênio é maior que a molécula da água, não sendo possível, dessa forma, se ter uma membrana biológica que seja permeável ao oxigênio, mas impermeável ao vapor de água (HINTON, 1969, citado por WHARTON, 1980). Consequentemente, a casca do ovo

deve ter uma baixa permeabilidade a vapores de água, embora isso possa expor o embrião, ou larva, no interior do ovo, aos perigos da dessecação.

O ovo de nematóide é pequeno, mas com uma grande relação área/volume. Assim, existe uma grande área superficial por unidade de volume disponível para a difusão de oxigênio para o interior do ovo, e também uma grande área superficial por unidade de volume para perda de água, pelo ovo. A difusão é dependente da área disponível e da permeabilidade da membrana através da qual a difusão ocorre. Dessa forma a casca do ovo pode apresentar uma permeabilidade muito baixa a trocas gasosas, restringindo perdas de água, ao mesmo tempo em que permite um adequado suprimento de oxigênio para o desenvolvimento do embrião.

- **Efeito da temperatura na permeabilidade da casca do ovo**

A taxa de perda de água dos ovos de nematóides é afetada pelas mudanças de temperatura verificadas no ambiente natural em que se encontram. O efeito da temperatura sobre a permeabilidade da casca do ovo é, desse modo, um importante fator de influência na capacidade desses ovos de sobreviverem às condições adversas do meio ambiente.

A taxa de perda de água dos ovos de *Ascaris lumbricoides* é maior à temperatura de 30°C que a 6,5°C. A taxa de perda de água aumenta exponencialmente em função da temperatura. A taxa de aumento é maior que a que poderia ser explicada pelo efeito da temperatura sobre a pressão de vapor da água, indicando um efeito da temperatura sobre a permeabilidade da casca do ovo.

A temperatura acima da qual a barreira de permeabilidade a corantes e fixadores parece se manifestar depende do tempo de exposição e se os ovos são resfriados antes da exposição ao corante. A temperatura, similarmente, afeta a capacidade da casca do ovo em diminuir a taxa de perda de água. Com base nessas observações, Wharton (1980) sugere que não se trata de um simples fenômeno crítico de temperatura, mas sim do derretimento gradual ou da transição das complexas misturas dos componentes que fazem parte da camada lipídica da casca do ovo.

### 3.2.2.3 Nematóides de interesse para o presente estudo

Em consonância com as diretrizes microbiológicas estabelecidas pela WHO (1989), a revisão bibliográfica apresentada no presente trabalho atém-se apenas a algumas espécies da classe Nematoda (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos).

#### a) *Ascaris lumbricoides*

Os *Ascaris lumbricoides* são citados, com freqüência, pela ampla distribuição geográfica e pelos danos causados aos hospedeiros. Este é o mais cosmopolita e o mais freqüente dos helmintos humanos. São popularmente conhecidos por lombriga, ou bicha, e causam a doença denominada ascariose. Dados recentes da OMS avaliam que na população mundial mais de 1 bilhão de pessoas apresentam-se infectadas por *Ascaris lumbricoides* (NEVES, 2000). O GRÁFICO 3.1 ilustra a distribuição de infecções parasitárias no mundo.

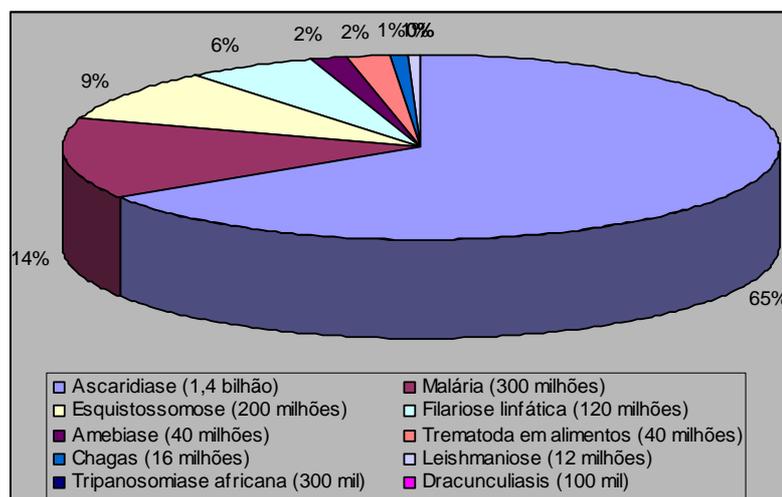


GRÁFICO 3.1 – Infecções parasitárias no mundo

(Fonte: Adaptado de <http://www.martin.parasitology.mcgill.ca/incidenc.htm>)

Na maioria dos casos, a infecção é leve e clinicamente benigna, se bem que um único verme possa responder por acidentes graves, de natureza obstrutiva, exigindo tratamento cirúrgico de urgência. Estima-se em seis a média de áscaris por pessoa, mas há também registros na literatura de casos com 500 a 700 parasitos. As crianças são as mais pesadamente atingidas, razão pela qual a ascaridíase constitui importante problema pediátrico e social (REY, 1991).

De acordo com Neves *et al.* (2000), a intensidade das alterações provocadas está diretamente relacionada com o número de formas presentes no hospedeiro, sendo as infecções classificadas em três categorias:

- infecções de baixa intensidade (3 a 4 vermes), o hospedeiro não apresenta alteração alguma;
- infecções médias (30 a 40 vermes), ou maciças (100 ou mais vermes), o hospedeiro apresenta várias alterações de natureza mecânica, tóxica e alérgica, ou até lesões hepáticas e pulmonares.

Muitas vezes o parasitismo é totalmente assintomático. Calcula-se que apenas um em cada seis indivíduos infectados acusa manifestações clínicas, tendo em vista que, na maioria dos casos, o número de vermes albergados é pequeno (REY, 1991). Mesmo no caso das formas sintomáticas, o diagnóstico clínico é difícil de ser feito, devido à semelhança do quadro clínico com outras parasitoses (NEVES *et al.*, 2000).

Usualmente são vermes longos, robustos e cilíndricos, apresentando as extremidades afiladas, sobretudo na região anterior. Os vermes adultos vivem no interior do aparelho digestivo do hospedeiro, principalmente jejuno e íleo, mas, em infecções intensas, podem ser encontrados em toda a extensão do intestino delgado. Se nutrem de microrganismos e materiais semidigeridos existentes na luz desse órgão, e dispõem das enzimas necessárias para a digestão de proteínas, carboidratos e lipídeos.

O tamanho dos exemplares de *Ascaris lumbricoides* depende do número de formas albergadas pelo hospedeiro e do estado nutricional deste. As fêmeas medem cerca de 30 ou 40 cm de comprimento e os machos cerca de 15 ou 30 cm de comprimento. Essas dimensões se referem a helmintos oriundos de crianças com baixas cargas parasitárias e bem nutridas. No entanto, quando muitos vermes ocupam o mesmo hábitat, as dimensões dos machos e das fêmeas são mais reduzidas, chegando as fêmeas a medir apenas cerca de 10 a 15 cm de comprimento. Nesse sentido, a sobrecarga parasitária pode vir a constituir um fator desfavorável para o helminto, levando a uma redução do seu tamanho, como também à diminuição de sua fecundidade. Um aspecto interessante é observado quando o próprio hospedeiro (homem) apresenta forte deficiência de vitamina A, ou estando muito debilitado, ocorrendo nesses casos a inviabilização ou retardamento do ciclo evolutivo do helminto.

Machos e fêmeas apresentam diferenças morfológicas e de tamanho. Os machos são facilmente reconhecidos pelo enrolamento ventral e espiralado de sua extremidade caudal. As fêmeas são maiores e mais grossas, tendo a parte posterior retilínea ou ligeiramente

encurvada, sendo capazes de ovipor, a cada dia, cerca de 200.000 ovos não embrionados, que chegam ao meio ambiente juntamente com as fezes.

Os ovos são muito típicos, em razão da membrana mamilonada que possuem externamente, embora, por vezes, os ovos possam apresentar-se sem esta membrana mamilonada. Sua cor castanho-amarelada é atribuída, por muitos autores, à impregnação pelos pigmentos fecais. Os ovos que são eliminados nas fezes podem ser férteis ou inférteis. Os ovos férteis medem, em média, 60 x 45  $\mu\text{m}$ , com variações entre 45 e 70  $\mu\text{m}$  no maior diâmetro, sendo que os ovos inférteis medem 80 a 90  $\mu\text{m}$  de comprimento.

As fêmeas que foram fecundadas pelo macho eliminam ovos férteis, que são envolvidos por uma casca grossa, possuindo forma oval ou quase esférica, contendo uma massa de células germinativas (célula ovo), capazes de evoluírem. Por outro lado, as fêmeas não fecundadas eliminam ovos inférteis, de forma mais alongada e com a casca mais delgada. Esses ovos possuem uma camada albuminosa muito reduzida, irregular ou ausente, sendo incapazes de evolução posterior; aparecem nas fezes quando fêmeas jovens e ainda não fecundadas começam a ovipor, ou quando a proporção de fêmeas por macho é muito grande. Mas ocorrem sobretudo nas infecções unissexuais, só por fêmeas, fato que ocorre geralmente quando o número de helmintos é muito reduzido.

O embrionamento dos ovos ocorre no meio exterior e requer a presença de oxigênio, pois nessa fase o parasito queima suas reservas lipídicas e apresenta metabolismo aeróbio, assim como respiração por meio do sistema citocromo-oxidase. Outros fatores que influem no desenvolvimento larvário são a temperatura e a umidade ambiente, mas, devido à proteção conferida pela casca espessa e impermeável, os ovos de *Ascaris* podem resistir muito tempo à insolação e à dessecação, promovendo a propagação da ascaridíase em regiões bastante áridas.

A transmissão da ascaridíase pode ocorrer através da ingestão de alimentos ou água contaminada com ovos contendo a larva infectante, poeiras e insetos (moscas e baratas são capazes de veicular mecanicamente ovos infectantes). Além desses mecanismos, em trabalhos recentes foi verificada a contaminação do depósito subungueal (material presente debaixo das unhas) com ovos deste parasito, em escolares de alguns estados brasileiros, verificando-se níveis de contaminação que variaram de 20% até 52%. Estes achados estão relacionados com a faixa etária e o nível social do indivíduo, como demonstrado em trabalhos realizados em

escolares do Rio de Janeiro e manipuladores de alimentos no Rio Grande do Sul (NEVES *et al.*, (2000).

Ainda sobre a dinâmica de transmissão, cabe ressaltar a importância das migrações humanas, aspecto relevante de ordem social e econômica, responsáveis pela introdução e disseminação do agente etiológico em áreas não endêmicas.

Em temperaturas ótimas, que estão entre 20° e 30 °C, umidade mínima de 70% e oxigênio, o embrionamento dos ovos ocorre em 15 dias. A primeira larva, L<sub>1</sub>, é rhabditóide e se forma dentro do ovo. Uma semana depois, a L<sub>1</sub> sofre uma muda e se transforma em L<sub>2</sub>; após nova muda transforma-se em uma larva filarióide L<sub>3</sub>, infectante (dentro do ovo). Durante vários anos, o ovo contendo a larva L<sub>2</sub> era considerado a forma infectante. Entretanto, trabalhos mais recentes demonstraram que, em *Ascaris lumbricoides* e em outros ascaridídeos, a forma infectante é a larva L<sub>3</sub>, dentro do ovo (ARAÚJO, 1972; ARTIGAS & UETA, 1989; AUSTIN *et al.*, 1990, citados por NEVES *et al.*, 2000). A larva L<sub>3</sub> pode manter seu poder infectante por vários meses, ou anos, se as condições do meio ambiente forem adequadas, esperando somente a oportunidade de serem ingeridas pelo hospedeiro.

Após a ingestão dos ovos contendo a L<sub>3</sub>, esses atravessam todo o trato digestivo e as larvas vão eclodir no intestino delgado, devido a presença de estímulos específicos fornecidos pelo hospedeiro. O estímulo mais importante para provocar a eclosão das larvas de ovos de *Ascaris* é o gás carbônico. Fatores coadjuvantes são a presença de agentes redutores, o valor do pH, a temperatura e a presença de sais. No entanto, sem a presença de CO<sub>2</sub> dissolvido, ou ácido carbônico não dissociado (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), não há eclosão (REY, 1991).

Após a eclosão, as larvas liberadas efetuam um longo percurso migratório através dos tecidos do hospedeiro, antes de se tornarem adaptadas para viver em seu hábitat definitivo. Isso porque essas larvas são aeróbias e não conseguem desenvolver-se na cavidade intestinal. Nesse percurso migratório, as larvas sofrem algumas mudas que são acompanhadas de transformações morfológicas e fisiológicas importantes, como o crescimento das larvas jovens até se tornarem adultos jovens (após 20 a 30 dias da infecção) e o desenvolvimento sexual até alcançarem a maturidade sexual, sendo capazes de ovipor (após 60 dias da infecção). Nos últimos estádios larvários, os vermes já são aeróbios facultativos e suportam demorados períodos em anaerobiose. Ainda que sejam aeróbios facultativos, desenvolvem na cavidade

intestinal um metabolismo que deve ser inteiramente anaeróbio, ou quase, pois o oxigênio é muito escasso nesse meio.

O período pré-patente, isto é, o período que decorre entre a infecção e o aparecimento das primeiras formas detectáveis do agente infeccioso, no caso, os ovos, em geral é de 60 dias. O verme adulto possui uma longevidade de 1 a 2 anos.

A ação patogênica desenvolve-se, habitualmente, em duas etapas: i) durante a migração das larvas; e ii) quando os vermes adultos já se encontram em seu hábitat definitivo. Em ambas as situações, a intensidade das alterações provocadas está diretamente relacionada com o número de formas presentes e com a sensibilidade do hospedeiro.

As evidências de uma imunidade protetora contra os *Ascaris*, no homem, são escassas, ainda que algumas observações indiquem a possibilidade de sua existência. A redução da prevalência e da carga parasitária na população adulta de áreas endêmicas, quando comparadas com as dos grupos etários mais jovens, poderiam ser atribuídas à imunidade adquirida. No entanto, estudos recentes não confirmam essa hipótese, indicando que a redução da prevalência e da carga parasitária em populações adultas estariam mais relacionadas a mudanças comportamentais, que reduziriam a exposição aos riscos de infecção (REY, 1991).

No entanto, Neves *et al.* (2000), correlacionam o fato de pessoas adultas raramente apresentarem a doença, à exposição e infecção, quando crianças, e o conseqüente desenvolvimento de forte e duradoura imunidade.

No ciclo biológico de *Ascaris lumbricoides*, como na maioria de outros helmintos, o solo desempenha um papel extremamente importante. É ele que recebe, através das fezes, os ovos com as larvas em estádios não infectivos, oferecendo-lhes condições para o seu desenvolvimento (embrionamento) até a Fase infectiva, além de protegê-los durante um determinado período (BEAVER, 1964 & CAMILLOCOURA, 1970; citados por MASSARA, 1988).

Durante o embrionamento dos ovos, a larva de primeiro estágio é mais sensível à falta de umidade e de oxigênio. Depois de formada a larva infectante, esta resiste a condições adversas mais facilmente e pode permanecer infectante por vários meses, ou anos, se as condições do meio ambiente forem favoráveis, reduzindo seu metabolismo ao mínimo,

aguardando a oportunidade de serem ingeridas. Experimentalmente, comprovou-se a infectividade após sete anos de permanência no solo, mas em condições naturais esse tempo pode ser menor (REY, 1991).

Os ovos, apesar de serem muito resistentes, não se tornam infectantes em meio seco e em anaerobiose. A sua vitalidade está relacionada com as condições climáticas e a textura do solo. O solo úmido e sombreado é muito favorável para a sobrevivência e embrionamento dos ovos, sendo melhor o solo argiloso que o arenoso, devido às condições higroscópicas da argila.

#### ***b) Trichuris trichiura***

Os *Trichuris trichiura* são vermes que apresentam uma distribuição cosmopolita e alta prevalência na população humana, apresentando uma forma típica semelhante a um chicote. Daí a denominação em inglês “*whipworms*”, que significa verme em forma de chicote. Esses vermes causam a doença denominada tricuriase.

A mais recente revisão publicada sobre a prevalência de *Trichuris trichiura* estima que 902 milhões de pessoas encontram-se infectadas, o que corresponde a uma prevalência mundial da ordem de 17% (NEVES *et al.*, 2000).

Durante o período pré-histórico, vários relatos da presença de ovos no solo, em coprólitos ou no intestino de múmias, sugerem que a tricuriase era endêmica por toda a Eurásia, mesmo em regiões de clima temperado. Na América, ovos de *Trichuris* foram identificados no intestino de um menino Inca da região do Chile, que viveu no ano 500, indicando que a infecção por *Trichuris trichiura* na população da América do Sul se estabeleceu antes da chegada dos colonizadores europeus.

Na maioria dos casos o parasitismo decorre silenciosamente, mas no caso de pacientes debilitados contraírem um elevado número de vermes, estes passam a sofrer de perturbações intestinais cuja gravidade chega inclusive a provocar a morte (REY, 1991).

A intensidade das alterações provocadas está diretamente relacionada com a carga parasitária presente no hospedeiro, sendo na maioria dos casos assintomáticos. Evidentemente, as condições em que se encontra o paciente constituem uma variável importante para o

aparecimento e gravidade do quadro clínico. As infecções podem ser classificadas em três categorias (NEVES *et al.*, 2000):

- infecções com menos de 100 vermes adultos, que compreende a maioria dos casos: a inflamação se apresenta localizada, não produzindo sintomatologia;
- infecções moderadas e intensas: a extensão e intensidade da inflamação aumenta, sendo relatadas ulcerações na mucosa intestinal e sangramento constante;
- infecções intensas (especialmente em crianças): ocorrem com frequência alterações sistêmicas, como anemia, má nutrição e retardamento do crescimento.

Os vermes adultos medem de 3 a 5 cm de comprimento, sendo os machos pouco menores que as fêmeas. A parte delgada anterior é mais longa que a posterior, fazendo com que se assemelhem a pequenos chicotes. Os vermes adultos vivem no intestino grosso do homem e, em infecções moderadas, estes vermes estão localizados principalmente no ceco e cólon ascendente. Nas infecções intensas ocupam também o cólon distal, reto e porção distal do íleo.

A sobrevivência dos vermes adultos no homem é estimada em cerca de 3 a 4 anos, com base no período de eliminação da infecção de populações que migram de uma área endêmica para outra área sem transmissão. No entanto, estimativas indiretas, com base na intensidade da infecção em diferentes faixas etárias da população de áreas endêmicas, indicam uma sobrevivência de 1 a 2 anos para os vermes adultos (NEVES *et al.*, 2000).

A fecundidade da espécie é muito grande, podendo cada fêmea eliminar 3.000 a 20.000 ovos por dia. O tamanho dos ovos varia entre 50 e 55µm de comprimento por 22 ou 23 µm de largura. Apresentam formato elíptico característico, pois tem a forma de um barril alongado, com poros salientes e transparentes em ambas as extremidades, preenchido por material protéico.

Os ovos recém-eliminados, não embrionados, chegam ao ambiente juntamente com as fezes, necessitando de um período de embrionamento (desenvolvimento) no meio ambiente, até que se tornem infectivos. O período de desenvolvimento do ovo depende das condições ambientais; à temperatura de 25 °C, o processo de embriogênese ocorre em cerca de 28 dias, enquanto a uma temperatura 34 °C a embriogênese ocorre em 13 dias. No entanto, condições

adversas como altas e baixas temperaturas podem retardar o processo de evolução, ou até mesmo não permitir o desenvolvimento dos ovos.

Os ovos, ao alcançarem o meio externo, começam a segmentação da célula-ovo, que leva à formação de uma larva. Essa etapa de desenvolvimento se estende por um período que pode variar de aproximadamente 3 semanas a vários meses, dependendo da temperatura e de outros fatores do meio. A larva não abandona o ovo, embora já esteja pronta para causar infecção no hospedeiro quando esse for ingerido com a poeira, a água ou alimentos contaminados. Em condições ambientais favoráveis, os ovos persistem viáveis no meio ambiente durante vários meses. Alguns estudos relatam que os ovos podem persistir viáveis por mais de 1 ano no solo (NEVES *et al.*, 2000).

Após a ingestão do ovo, esse segue para o esôfago e atinge o estômago, onde é semidigerido. Após aproximadamente 1 hora de ingestão dos ovos, a larva eclode no duodeno devido a estímulos específicos do hospedeiro, saindo por um dos poros presentes nas extremidades do ovo. A larva migra para o ceco, sofrendo 3 mudas durante o período de migração. Cerca de 1 mês após a infecção, as fêmeas iniciam a postura. Estima-se que o período pré-patente da tricuriase, tempo entre a infecção até a eliminação dos ovos nas fezes do hospedeiro, varia entre 60 e 90 dias, aproximadamente (NEVES *et al.*, 2000).

A distribuição geográfica do *Trichuris trichiura* segue, quase sempre, paralelamente à prevalência do *Ascaris lumbricoides*, devido à semelhança no modo de transmissão e à grande fertilidade desses helmintos. Embora a resistência dos ovos às condições do meio exterior sejam semelhantes, os ovos de *Trichuris trichiura* são mais sensíveis à dessecação e aos efeitos da insolação direta quando comparado com os ovos de *Ascaris*. De um modo geral, sabe-se que a prevalência é maior nos lugares de clima quente e úmido, onde as condições de saneamento básico são precárias (REY, 1991).

O homem é a única fonte de infecção para a tricuriase. Entretanto, cabe às crianças em idade pré-escolar papel destacado na transmissão, tanto por constituírem o grupo populacional mais suscetível ao parasitismo, como por serem grandes disseminadoras de ovos nas fezes, em vista de seus precários hábitos higiênicos e da falta de instalações sanitárias e de serviços de saneamento básico para grande parte da população urbana e/ou rural. Para as crianças, as mais importantes fontes de infecção são a prática da geofagia (comer terra) e alimentar-se com as

mãos sujas. O peridomicílio é a área de mais intensa transmissão. Em especial, se o terreno for úmido e sombreado, assegurando maior sobrevivência e longevidade aos ovos embrionados.

A intensidade da infecção por *Trichuris trichiura* varia com a idade do hospedeiro. As crianças se infectam dos 18 aos 24 meses de idade, atingindo níveis máximos em crianças com 4 a 10 anos, diminuindo em jovens e permanecendo baixa em adultos. A prevalência da tricuriase também diminui em adultos de populações que não apresentam uma intensidade de infecção muito elevada, entretanto, em populações onde a carga parasitária é muito elevada, a prevalência da infecção permanece alta entre jovens e adultos. Também existem alguns dados que sugerem que alguns indivíduos da população apresentam uma predisposição genética para adquirir infecções intensas (NEVES *et al.*, 2000).

Pouco se conhece da resposta imunológica humana à infecção por *Trichuris trichiura*. Estudos que avaliam a taxa de reinfecção de adultos após o tratamento sugerem que o desenvolvimento de uma imunidade protetora esteja envolvido na diminuição da intensidade da infecção observada em adultos. Como os vermes adultos sobrevivem cerca de 1 a 2 anos no hospedeiro, a diminuição na intensidade da infecção observada em adultos residentes em áreas endêmicas sugere que estas pessoas estejam menos expostas à infecção e/ou sejam mais resistentes à reinfecção pelo parasito. No entanto, a melhor caracterização da resposta imune destes indivíduos poderá ser de grande valia para o entendimento dos mecanismos protetores desenvolvidos pelo hospedeiro contra a tricuriase.

### **c) Ancilostomídeos**

Os ancilostomídeos possuem uma ampla distribuição geográfica. Duas espécies de ancilostomídeos, mais especificamente *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*, parasitam com frequência o homem e são responsáveis por uma doença tipicamente anemiantes, a ancilostomose. O nome *Ancylostoma* significa boca com ganchos (do grego *agkkylos*, curvo, e *stoma*, boca); *Necator* vem do latim e quer dizer matador, assassino. Em inglês, os ancilóstomas e necátors são chamados coletivamente de *hookworms*.

Dentre mais de 100 espécies de ancilostomídeos, apenas três espécies são agentes etiológicos das ancilostomoses humanas: o *Ancylostoma duodenale*, o *Necator americanus* e *Ancylostoma ceylanicum*. As duas primeiras espécies são os principais ancilostomídeos humanos, enquanto que o *Ancylostoma ceylanicum*, embora ocorra em humanos, tem os

canídeos e felídeos domésticos e silvestres como hospedeiros definitivos (NEVES *et al.*, 2000).

As ancilostomoses humanas, embora negligenciadas, têm grande importância no contexto universal, pois foi estimado que cerca de 900 milhões de pessoas são parasitadas por *A. duodenale* e *N. americanus*, e que dessa população 60 mil morrem anualmente (NEVES *et al.*, 2000). No Brasil, a ancilostomíase é mais frequente por *Necator americanus*, onde os mais recentes inquéritos coprológicos, feitos na década de 80, permitiram avaliar como ainda permanece alarmante em algumas regiões, a presença de ancilostomídeos.

O parasitismo costuma ser, muitas vezes, assintomático. Entretanto, o desenvolvimento freqüente de anemia, em pacientes sujeitos a infecções intensas, especialmente quando há também certo grau de deficiência alimentar, faz dessa verminose um dos mais sérios problemas médicos e sanitários, na maioria das regiões endêmicas (REY, 1991).

A ancilostomíase ocorre freqüentemente em crianças com mais de 6 anos, adolescentes e indivíduos mais velhos, independente do sexo. As lesões causadas no organismo humano, pelos ancilostomídeos, diferem segundo a carga infectante, que penetra em curto lapso de tempo, a Fase da infecção, a localização e o estágio em que se encontram os parasitos. Dependem da carga parasitária total e, em certa medida, também da espécie responsável pela infecção e da sensibilidade do hospedeiro, sendo observada quase todas as manifestações da doença, no período de parasitismo intestinal.

O *Ancylostoma duodenale*, considerado como ancilostoma do Velho Mundo, é predominante de regiões temperadas, embora ocorra também em regiões tropicais, onde o clima é mais temperado. Essa espécie foi introduzida no Novo Mundo através de imigrantes, todavia há indícios de sua presença na América, no pré-colombiano. Os vermes adultos, machos e fêmeas, são cilíndricos, com a extremidade anterior curvada dorsoventralmente e possuem dois pares de dentes quitinosos bem desenvolvidos na cápsula bucal, se destacam por exercer maior hematofagismo, podendo cada verme adulto sugar 0,05 a 0,3 mL/sangue/dia. Os machos medem de 8 a 11 mm de comprimento por 400 µm de largura, com bolsa copuladora bem desenvolvida na extremidade posterior. As fêmeas medem de 10 a 18 mm de comprimento por 600 µm de largura, com abertura genital (vulva) no terço posterior do corpo (NEVES *et al.*, 2000).

O *Necator americanus*, conhecido como ancilostoma do Novo Mundo, ocorre em regiões tropicais, onde predominam temperaturas altas, sendo introduzido no Brasil, através do tráfico de escravos, embora descrita originalmente na América. A coexistência de ambas as espécies pode ocorrer em uma mesma localidade, mas, geralmente, uma delas sobrepuja a outra. Os vermes adultos apresentam forma cilíndrica, possuem lâminas cortantes circundando a margem da boca e são capazes de sugar 0,01 a 0,04 mL/sangue/dia. As fêmeas são maiores que os machos, sendo que estes medem de 5 a 9 mm por 300 µm de largura, (NEVES *et al.*, 2000).

A distribuição geográfica de *Ancylostoma ceylanicum*, parasitando indivíduos humanos, não está totalmente esclarecida porque vários registros de identificação de adultos de *Ancylostoma braziliense* (parasito habitual de felídeos e canídeos), no intestino de humano, deveriam ter sido por *Ancylostoma ceylanicum*. No entanto, casos humanos de parasitismo por *Ancylostoma ceylanicum* foram registrados em vários países: Índia, Japão, Malásia, Suriname, Indonésia, Taiwan, Tailândia, Filipinas e Brasil (NEVES *et al.*, 2000).

Nos vermes adultos de *Ancylostoma ceylanicum*, a morfologia geral é semelhante à de *Ancylostoma duodenale*, mas com detalhes que facilmente permitem distinguí-lo. Apresenta cápsula bucal com dois pares de dentes ventrais, sendo um de dentes grandes e outro de dentes minúsculos. O volume de sangue ingerido não está ainda definido, mas se sabe que é bem menor do que o praticado por *Necator americanus*, onde a anemia aguda hemorrágica é extremamente rara. Os machos medem 8 mm de comprimento por 360 µm de largura e a fêmea mede 10 mm de comprimento por 440 µm de largura.

Os ancilostomídeos, como muito outros nematóides parasitos, apresentam um ciclo biológico direto, não necessitando de hospedeiros intermediários. Durante o desenvolvimento, duas Fases são bem definidas: a primeira, que se desenvolve no meio exterior, é de vida livre, e a segunda, que se desenvolve no hospedeiro definitivo, sendo obrigatoriamente de vida parasitária.

Os estágios de vida livre das três espécies de ancilostomídeos têm caracteres morfológicos distintos, e, também diferentes comportamentos biológicos, em função das condições climáticas envolvidas. Os ovos são eliminados juntamente com as fezes, chegando ao meio ambiente. O número de ovos que uma fêmea põe diariamente varia com a espécie, e com a

densidade parasitária. Segundo algumas estimativas, a oviposição de *Ancylostoma duodenale* é da ordem de 20.000 a 30.000 ovos, enquanto que a de *Necator americanus* está em torno de 9.000 ovos por dia (NEVES *et al.*, 2000).

Os ovos das várias espécies são muito parecidos, ovóides, com casca fina e transparente. Entre a casca e a célula ovo há sempre um espaço claro que diminui à medida que avança a segmentação. No meio exterior, os ovos necessitam de um ambiente propício, para o seu embrionamento, principalmente boa oxigenação, alta umidade (> 90%) e temperaturas de 21 a 27 °C para *Ancylostoma duodenale* e de 27 a 32 °C para *Necator americanus*.

Essas condições são indispensáveis para que se processe a embrionia, formação da larva de primeiro estágio L<sub>1</sub>, que em condições favoráveis pode estar completamente formada depois de 18 horas. Em tais condições, a eclosão ocorre em 12 a 24 horas. No ambiente, a larva do estágio L<sub>1</sub>, recém-eclodida, apresenta movimentos serpentiformes e se alimenta de matéria orgânica e microrganismos por via oral. Crescem de modo a alcançarem 300 µm de comprimento, devendo em seguida, perder a cutícula externa e ganhar uma nova, quando ocorrer a primeira muda, transformando-se em larva de segundo estágio L<sub>2</sub>, em três a quatro dias. A larva L<sub>2</sub>, é também do tipo rãbitóide, possui movimentos serpentiformes, se alimenta de matéria orgânica, chegando até um tamanho de 400 µm de comprimento.

Subseqüentemente, a larva de segundo estágio L<sub>2</sub>, começa a produzir uma nova cutícula internamente, que passa a ser coberta pela velha cutícula, passando então a se transformar em larva de terceiro estágio L<sub>3</sub>, após cinco dias. A cutícula do estágio anterior permanece como se fosse uma bainha, isolando-a mais ainda do meio exterior, chegando a um tamanho original de 600 µm de comprimento. Nessas condições, ela é uma larva infectante embainhada ou larva filarióide encistada. Nessa fase, vivem no solo, sem alimentar-se, consumindo suas reservas energéticas e correndo o risco de serem destruídas ou de exaurirem-se se o acaso não lhes oferecer a chance de um contato com o hospedeiro adequado.

A sobrevivência e o embrionamento dos ovos são favorecidos quando o solo é úmido e sombreado, sendo melhor o solo argiloso que o arenoso, devido às condições higroscópicas da argila. No entanto, para as larvas infectivas de ancilostomídeos L<sub>3</sub>, que são muito ativas no solo, deslocando-se para cima (geotropismo negativo), podendo subir cerca de 1 metro em busca da superfície e de posições sempre mais altas, a agilidade e movimentação, dependem

da textura do solo. No caso de solo argiloso, essa movimentação é quase nula, onde o tamanho extremamente pequeno dos grãos de argila torna o meio demasiado compacto. A presença de areia melhora as possibilidades de deslocamento, sendo tanto maior quando mais elevada for a proporção do componente arenoso (REY, 1991).

Neste sentido, os fatores decisivos para essa agilidade e movimentação são a porosidade do terreno e a quantidade de umidade. As larvas só se movimentam onde as partículas do solo encontram-se envoltas por uma película de água (hidrotopismo), sendo assim, quando sobem nunca ultrapassam os limites da película que molha o solo. A dessecação da superfície faz com que elas voltem a enterrar-se, sempre em busca de umidade, ou venham morrer desidratadas. Esse comportamento, tem grande importância para sua sobrevivência e para a epidemiologia das ancilostomíases.

As larvas infectantes do estágio L<sub>3</sub> podem permanecer viáveis por várias semanas em um microambiente favorável (NEVES *et al.*, 2000). Em ambientes naturais de zonas endêmicas, que ofereçam um microclima muito uniforme, como culturas sombreadas de café, cacau etc., pode ser que permaneçam viáveis por seis meses (REY, 1991). Porém, em regiões de clima semi-árido, onde há exposição ao sol, estios prolongados ou temperaturas muito altas, as larvas de ancilostomídeos e outros geo-helmintos não chegam a viver poucas semanas, sendo possível, que não ocorra o desenvolvimento no solo.

A infecção no homem só ocorre quando as larvas filarióides penetram ativamente, através da pele, conjuntiva e mucosas, ou passivamente por via oral. Quando a infecção é ativa, a penetração não demora mais do que 5 ou 10 minutos (REY, 1991) ou dura cerca de 30 minutos (NEVES *et al.*, 2000). Essa é a única via utilizada pelas larvas de *Necator americanus* para instalar-se no organismo de seu hospedeiro, visto não ser possível a infecção por via oral, entretanto pode utilizar-se das duas vias.

Os pontos de penetração mais frequentes estão na pele dos pés, especialmente em espaços interdigitais, no tornozelo, bordas e dorso, sendo a invasão facilitada pelo barro úmido que adere à pele. Mas qualquer área cutânea entrando em contato com o solo infectado propicia a invasão: mãos, pernas e nádegas de crianças que se arrastam ou sentam no chão; mãos de trabalhadores agrícolas, etc.

Logo após a penetração pela pele, as larvas alcançam a circulação sanguínea e/ou linfática, e chegam ao coração, indo pelas artérias pulmonares até os pulmões. Nesse circuito de migrações, as larvas adquirem mudanças morfológicas, e ao chegarem no intestino delgado, após oito dias da infecção, a larva L<sub>4</sub> começa a exercer o parasitismo hematófago, fixando a cápsula bucal na mucosa do duodeno. A transformação da larva L<sub>4</sub>, em larva de quinto estágio L<sub>5</sub>, ocorre aproximadamente 15 dias após a infecção.

As formas adultas exercem o hematofagismo, e iniciam a cópula seguida de postura, após 30 dias da infecção. O período de pré-patência, varia entre 35 a 60 dias para *Ancylostoma duodenale*, de 42 a 60 dias para *Necator americanus* e de 21 a 35 dias para *Ancylostoma ceylanicum*. Quando a infecção é oral, os períodos de pré-patência para *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*, são similares aos da infecção transcutânea e para *Ancylostoma ceylanicum* é menor, em torno de 14 a 17 dias.

Os vermes adultos de *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus* têm uma longevidade média de 5 anos, mas até 18 anos de sobrevivência foram observados em voluntários infectados pelo *Necator americanus*. Em relação aos processos imunológicos, os anticorpos são incapazes de conferir uma sólida imunidade às reinfecções, pois, o que ocorre é um registro imunológico na fase aguda, no período de migração das larvas. Porém os vermes adultos são menos antigênicos e estimulam apenas a produção de anticorpos não funcionais, isto é, anticorpos que não protegem o organismo do hospedeiro contra reinfecções. Porém, estudos experimentais como o de isolamento de antígeno espécie-específico de *N. americanus* darão novos rumos à imunologia da ancilostomíase, especialmente com vistas ao diagnóstico e controle por vacina (NEVES *et al.*, 2000).

### **3.3 Metodologias para identificação e enumeração de ovos de helmintos**

#### **3.3.1 Introdução**

Com o desenvolvimento da parasitologia médica, diversas técnicas foram propostas para a identificação de ovos de helmintos intestinais e larvas em fezes (FAUST *et al.*, 1939; BAILENGER, 1979), com os princípios básicos destas técnicas tendo sido adaptados para a identificação e enumeração de ovos de helmintos em águas residuárias (AYRES *et al.*, 1989; STIEN & SCHWARTZBROD, 1989; WHO, 1989; AYRES & MARA, 1996) e em lodo (MEYER *et al.*, 1978).

Diversos métodos para a identificação e enumeração de ovos de helmintos em águas residuárias são descritos na bibliografia especializada, cada um com suas vantagens e desvantagens geralmente citadas pelo próprio autor. Alguns apresentam uma elevada percentagem de recuperação, mas demandam grande tempo de análise; muitos não foram publicados em detalhes para permitir sua aplicação, ou suas taxas de recuperação não são conhecidas; alguns demandam reagentes químicos de custo muito elevado ou não são adequados para o uso em laboratórios com limitações de equipamentos; enquanto outros são capazes de recuperar apenas um número limitado de espécies de ovos de helmintos (ver Tabela 3.3). Fica claro, com isso, que não existe um método que seja universalmente útil, que recupere todos os ovos de helmintos de importância médica, e que tenha uma taxa de recuperação conhecida (AYRES & MARA, 1996).

Nesse sentido, os métodos empregados para análise parasitológica em águas residuárias variam de laboratório para laboratório, sendo que alguns são mais específicos para esgotos brutos e outros para efluentes tratados, que podem apresentar um número menor de ovos de helmintos. Alguns métodos possuem, ainda, aplicabilidade tanto para enumeração quanto para viabilidade de ovos de helmintos. A escolha do método a ser utilizado deve ser feita unicamente quando as facilidades e exigências particulares da situação são conhecidas. Deve-se levar em consideração o objetivo da pesquisa e o tipo de sistema que está sendo utilizado para o tratamento das águas residuárias, além da percentagem de recuperação e aplicabilidade do método utilizado.

Todos os métodos disponíveis baseiam-se em um dos dois princípios fundamentais: i) os ovos dos parasitos são separados, por flutuação, dos resíduos presentes na amostra, em uma solução de maior densidade relativa; ou ii) a gordura e outros materiais são separados em uma solução de interface (usualmente éter ou acetato de etila), enquanto os ovos sedimentam em uma solução não miscível, abaixo.

Ambos os procedimentos são baseados na força centrífuga. Os fatores que determinam se a concentração de determinadas espécies de ovos de helmintos será satisfatória dependerão do balanço hidrofílico-lipofílico dos ovos de helmintos e da densidade relativa destes em relação ao reagente de separação. Isso significa, na prática, que o pH, ou a presença de metais pesados ou álcoois nos reagentes utilizados, poderá alterar as propriedades das superfícies dos ovos de helmintos, e cada espécie responderá diferentemente a essas alterações: assim, nenhum método concentrará todas as espécies com a mesma eficiência (AYRES & MARA, 1996).

### **3.3.2 Caracterização das metodologias**

Diversos estudos foram efetuados comparando as metodologias para análises de ovos de helmintos em fezes, visando a sua adaptação para amostras de águas residuárias, mas a maioria apresentou desvantagens que inviabilizaram sua utilização. Bouhoum & Schwartzbrod (1989) compararam vários métodos para análises de ovos de helmintos em fezes, objetivando a adaptação destes para amostras de águas residuárias. Dos cinco métodos testados, três utilizavam o princípio da flutuação: i) *Janeckso & Urbanyi*; ii) *Faust*; e iii) *Arther*. Os outros dois métodos utilizavam o princípio da sedimentação: iv) *Bailenger*; e v) *Ritchie* (éter e 10% de formol).

Com base nos estudos comparativos realizados, Bouhoum & Schwartzbrod (1989) testaram uma ampla faixa de soluções de flutuação para a concentração de ovos de helmintos e chegaram às seguintes conclusões principais:

- em relação ao método *Janeckso & Urbanyi*, foi observado que o reagente de flutuação iodomercurato de potássio concentrava uma grande faixa de espécies de ovos de helmintos. No entanto, concluíram que o reagente era muito tóxico, corrosivo e caro para ser utilizado em testes de rotina;

- o método de *Faust*, que utilizou para flutuação a solução de sulfato de zinco a 33%, mostrou-se completamente inadequado para a concentração de algumas espécies de nematóides, a exemplo de *Trichuris* spp. e *Capillaria* spp.;
- o método de *Arther*, que utiliza a sacarose saturada como solução de flutuação, era mais barato, porém deformava os ovos rapidamente.

Bouhoum & Schwartzbrod (1989) concluíram que o método de *Bailenger*, que utiliza éter e solução tampão aceto-acética com pH 5 (BAILENGER, 1979), concebido originalmente para enumeração de ovos de helmintos em fezes, adaptado para amostras de esgotos, se mostrou o mais adequado, tendo em vista que o mesmo requeria reagentes baratos e era capaz de concentrar com sucesso uma ampla faixa de espécies de ovos de helmintos rotineiramente encontradas em esgotos sanitários.

Ayres (1989) encontrou uma boa correlação entre ovos inoculados e percentagem de recuperação, e sugeriu que a percentagem de recuperação pode ser mais afetada pela quantidade e qualidade da matéria orgânica do que pelo número absoluto de ovos presentes na amostra.

Ayres *et al.* (1991) testaram os seguintes métodos para a enumeração de ovos de helmintos em efluentes tratados:

- método correntemente recomendado pela WHO, mais comumente conhecido como método de *Bailenger*, processando 1 L e 10 L, separadamente;
- método correntemente utilizado pela Estação Experimental de Tratamentos Biológicos de Esgotos Sanitários (EXTRABES-UFPB), processando 500 mL da amostra;
- método desenvolvido especialmente para efluentes de lagoas, conhecido como método de *Leeds II*, onde 4 L da amostra foram processados em cada ocasião;
- método modificado de *Janeckso & Urbanyi*, processando 25 L da amostra, utilizando o tiosulfato de sódio (densidade específica 1,30) como solução de flutuação.

Com base nos estudos comparativos realizados, Ayres *et al.* (1991) chegaram às seguintes conclusões principais:

- quando foi utilizado o método de *Bailenger* processando 1L da amostra de esgoto tratado, este não foi eficiente, resultando em baixas contagens de ovos de helmintos. Porém, quando 10 L da amostra foram processados, observou-se taxas de detecção muito maiores, se comparadas com as taxas do método *Leeds II*. No método de *Bailenger*, a preparação da amostra é direta, e em termos de identificação no microscópio o tempo requerido é pequeno, em torno de 1 a 2 minutos, dependendo da qualidade do efluente. Podem ser feitas duplicatas e triplicatas, diminuindo assim a margem de erro. Poucos reagentes especiais são requeridos, sendo usualmente disponíveis e baratos. Utiliza-se a câmara de McMaster para a contagem dos ovos de helmintos, sendo que a câmara pode ser facilmente adquirida;
- o método da EXTRABES é o mais barato e o mais fácil de ser utilizado, sendo no entanto mais específico para amostras de esgoto bruto, onde a concentração de ovos é geralmente muito grande. Segundo Ayres *et al.* (1991), o método é inadequado para detectar ovos de helmintos presentes em baixas concentrações, devido ao fato de que o mesmo utiliza amostras de pequeno volume e etapa de subamostragem;
- o método *Leeds II* também é barato e de fácil utilização quando a concentração de sólidos suspensos totais é baixa, possibilitando que a contagem com a câmara de Doncaster seja efetuada em torno de 5 a 10 minutos. No entanto, a qualidade do efluente pode variar muito e, em algumas situações, algas e resíduos mais pesados não flutuarão em solução salina, deixando uma amostra final muito suja, dificultando sobremaneira a identificação e contagem dos ovos, uma vez que a análise torna-se muito cansativa e consome muito tempo. A principal vantagem dessa técnica é a sua elevada taxa de recuperação, devido ao fato de que não há nenhuma etapa de subamostragem e todos os ovos de cada amostra individual são contados diretamente;
- no método modificado de *Janecko & Urbanyi*, foram identificados ovos com a mesma frequência dos métodos de *Bailenger* (processando 10 L) e *Leeds II*. O método foi considerado ligeiramente mais difícil que os outros, pelo fato de manusear amostras de maiores volumes (25 L). Além disso, em sua última etapa, a eventual presença de resíduos flutuantes pode dificultar a amostragem do menisco superior que concentra os ovos;
- em trabalhos de rotina em laboratórios, o método de *Bailenger*, utilizando um volume de amostra de 10 L, parece ser o mais apropriado para a enumeração de ovos de helmintos em águas residuárias tratadas.

Crispim & Barbosa (1995) testaram e avaliaram o desempenho dos métodos EXTRABES e LEEDS I (citados por AYRES *et al.*, 1989 e WHO, 1989). Observou-se que o método WHO, 1989 apresentou uma eficiência 1,5 vezes maior que o método EXTRABES e 7,8 vezes maior que o método de LEEDS I e concluíram que o percentual de recuperação de ovos diminui à medida em que se aumenta o valor de sólidos sedimentáveis.

As principais características dos métodos mais comumente utilizados para enumeração e identificação de ovos de helmintos em águas residuárias brutas e tratadas são apresentadas na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Principais métodos para enumeração de ovos de helmintos em esgotos

Método	Princípio	Volume (L)	Período de Sedimentação	Centrifugação	Tampão ou Detergente	Flutuação	Cálculo	Taxa de recuperação	Observações	Referência
WHO (1989)	Sedimentação	≥ 1	De um dia para outro	1000 g por 15 minutos	Ácido acético (pH 4,5)	Sulfato de zinco (densidade relativa 1,18)	$\diamond N = \frac{X.V}{P.S}$	-	Esgotos brutos e tratados	WHO (1989)
WHO (1989)	Centrifugação e flutuação	1	De um dia Para outro	700 g por 10 minutos	-	Nitrato de sódio (densidade relativa 1,30)	No. total recuperado de 1 L	70% / 100 ovos 50% / 10 ovos 33% / 1 ovo	Esgotos brutos e tratados	WHO (1989)
Leeds I	Sedimentação	1	(Não há período de sedimentação)	2500 rpm por 10 minutos	0,01% Triton X100	MgSO <sub>4</sub> ou NaCl (densidade relativa 1,30)	-	24 ± 4%	Esgotos brutos	AYRES <i>et al.</i> (1989)
Leeds II	Sedimentação	4	1 hora	2500 rpm por 10 minutos	0,01% Triton X100	NaCl (densidade relativa 1,04)	Câmara de contagem de Doncaster	80%	Efluentes de lagoas de estabilização	AYRES <i>et al.</i> (1989)
Stien & Schwartzbrod	Sedimentação e flutuação	25	2 horas	1000 g por 15 minutos	Eter/butanol/ácido acético (pH 4,5)	*reagente Janeckso-Urbanyi (densidade relativa 1,42)	$\blacklozenge N = \frac{M.A}{P.V}$	50%	Esgotos brutos e tratados	STIEN & SCHWARTZBROD (1990)
BAILENGER Modificado	Sedimentação e flutuação	1 (esgoto bruto) 10 (esgoto tratado)	1 a 2 horas	1000 g por 15 minutos	Aceto-acético (pH 4,5) 0,1 Triton X100	Sulfato de zinco (densidade relativa 1,18)	$\blacklozenge N = \frac{A.X}{P.V}$	-	Esgotos brutos e tratados	AYRES & MARA (1996)

\* 100 g iodeto de mercúrio  
80 g iodeto de potássio  
250 mL água destilada

$\diamond N$  = número de ovos/L  
X = número de ovos contados  
V = volume do produto final (mL)  
P = volume do produto na câmara de contagem (mL)  
S = volume da amostra de esgotos (L)

$\blacklozenge N$  = número de ovos/L  
A = número de ovos contados  
M = volume do menisco (mL)  
P = volume da câmara de McMaster (mL)

$\blacklozenge N$  = número de ovos/L  
A = número de ovos contados (média)  
X = volume final do amostra (mL)  
P = volume da câmara de McMaster (mL)  
V = volume original da amostra (L)

### 3.3.3 Considerações em relação ao método de BAILENGER modificado

Em águas residuárias domésticas o método mais utilizado é aquele descrito em WHO (1989), conhecido como método da sedimentação, selecionado a partir de várias técnicas minuciosamente testadas em vários países. Das técnicas disponíveis citam-se o método da sedimentação, descrito em WHO, 1989 e o método modificado de BAILENGER (AYRES & MARA, 1996). Ambos utilizam o processo físico da sedimentação da matéria orgânica contendo os ovos de helmintos.

Embora a percentagem de recuperação do método de BAILENGER (1979) modificado não seja conhecida (AYRES & MARA, 1996) e este não seja adequado para a identificação de vários ovos de trematóides operculados e de alguns ovos de cestóides, estudos desenvolvidos por Ayres *et al.* (1991), Bouhoum & Schwartzbrod (1989), demonstraram que o método se compara favoravelmente em relação a outras técnicas, sendo capaz de recuperar uma quantidade maior de ovos de helmintos, incluindo *Ascaris* spp., *Trichuris* spp., *Capillaria* spp., *Enterobius vermicularis*, *Toxocara* spp., *Taenia* spp., *Hymenolepis* spp e Ancilostomídeos.

Nesse sentido, o método de BAILENGER (1979), modificado por Ayres & Mara (1996), foi escolhido na presente pesquisa, em função de sua simplicidade e baixo custo dos reagentes utilizados, além do que propicia a recuperação de uma ampla faixa de ovos de helmintos, particularmente ovos dos nematóides (*Ascaris* sp., *Trichuris* sp. e ancilostomídeos), que são especificados no guia da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1996) para o reúso na agricultura, conforme estudo específico desenvolvido por Ayres *et al.* (1991).

Adicionalmente, é uma metodologia reconhecida e recomendada pela Organização Mundial de Saúde para a enumeração de ovos de helmintos em águas residuárias brutas e tratadas. O método de BAILENGER (1979), modificado por Ayres & Mara (1996), é detalhado no Capítulo 4 (Material e Métodos).

### **3.4 Metodologias para avaliação de viabilidade de ovos de helmintos**

Na maioria dos sistemas de tratamento de águas residuárias, alguns ovos são removidos, enquanto outros, mais resistentes, como os ovos de *Ascaris*, *Toxocara*, *Toxocaris* e *Trichuris*, persistem nesses sistemas. As condições do meio ambiente em torno dos ovos de helmintos contribuem para o seu desenvolvimento ou morte, observando-se que, em condições adequadas, os ovos de *Ascaris lumbricoides* podem sobreviver por mais de 6 anos, pois estes são altamente resistentes aos agentes físicos e químicos (PAWLOWSKI, 1984, citado por CÁCERES *et al.*, 1987). Esses ovos são muito resistentes, sendo vulneráveis quase que exclusivamente ao calor e à dessecação (OGATA, 1925, citado por CACERES *et al.*, 1987, e FEACHEM *et al.*, 1983). Por essa razão, a determinação da viabilidade dos ovos de helmintos em sistemas de tratamento de águas residuárias é de grande relevância.

Em termos de saúde pública, os ovos de helmintos não-viáveis são irrelevantes; porém, quando esses organismos são infectivos ou viáveis, os riscos para a saúde pública são muito elevados. Dessa forma, a informação sobre a taxa de ovos viáveis é considerada de grande importância quando esses ovos são isolados do meio ambiente, seja no solo, no lodo ou em efluentes líquidos.

Existem diversas técnicas propostas para a avaliação da viabilidade de ovos de helmintos, podendo-se destacar as seguintes como as mais utilizadas:

- a técnica da incubação (MEYER *et al.*, 1978)
- a técnica de flutuação, com a utilização de n-butanol para separar os ovos férteis dos inférteis (STIEN & SCHWARTZBROD, 1988)
- a técnica de critérios morfológicos para a diferenciação entre ovos viáveis e não-viáveis (KAGEI 1982, CEMAT 1987 citados por CACERES *et al.*, 1987; REIMERS *et al.* 1989, citado por HINDIYEH, 1995)
- a técnica de inclusão ou exclusão de corantes biológicos (SHEPHERD, 1962; KAGEI, 1982; KANESHIRO & STERN, 1985; ZHOU *et al.*, 1985; GALVÁN *et al.*, 1998)

A técnica descrita por Meyer *et al.* (1978) e modificada por Carrington & Harman (1981), citados por Hindiyeh (1995), foi utilizada para enumerar e determinar a viabilidade de ovos de helmintos em amostras de lodo de esgoto, utilizando-se o procedimento de incubação. A

técnica é relativamente simples, onde 75 g de lodo são colocados em contato com 100 mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,62%. Após o contato com a solução de hipoclorito, o lodo é centrifugado e lavado várias vezes com detergente aniônico e, em seguida, o sedimento é tratado com solução de sulfato de zinco (33,2%) e centrifugado para a recuperação dos ovos do sobrenadante. Em seqüência, os ovos são concentrados por filtração em membrana 0,45 µm e 45 mm de diâmetro. Para recuperar os ovos da membrana é realizada uma raspagem com uma espátula. Os ovos são colocados em uma placa de Petri com uma solução de 0,1N de ácido sulfúrico e incubados durante um período 21 a 30 dias, a uma temperatura de 25 a 30 °C. Nesse período, as amostras devem ser mantidas em ambiente favorável ao desenvolvimento do embrião (compartimento escuro e com aeração intermitente). A principal desvantagem do método da incubação é o tempo de resposta, que demanda 3 semanas para o embrionamento dos ovos, sendo impraticável para o uso de rotina.

O método desenvolvido por Stien & Schwartzbrod (1988) utiliza o n-butanol como parte do procedimento para separar os ovos férteis dos inférteis. Os ovos férteis possuem alterações das estruturas da casca que permitem a esterificação de lipídeos pelo álcool. Dessa forma, verifica-se o aumento da densidade específica dos ovos férteis, possibilitando a sua sedimentação, enquanto os ovos inférteis permanecem em suspensão. Os trabalhos desenvolvidos em laboratório demonstraram uma elevada correlação entre ovos viáveis e férteis, demonstrando a aplicabilidade dessa técnica para a enumeração de ovos viáveis de *Ascaris*. No entanto, não se sabe se o mesmo procedimento se aplica a outras espécies de ovos de helmintos e o reagente utilizado para flutuação dos ovos (JANECKSO-URBANYI densidade específica 1,42) apresentou-se muito corrosivo e caro para ser utilizado com rotina. O n-butanol não pode ser utilizado em amostras de lodo ou de composto porque esse é absorvido pelo material sólido e torna impossível a verificação final do material, mesmo se a amostra for completamente lavada.

A técnica de avaliação de viabilidade pelos critérios morfológicos, para se distinguir entre ovos viáveis e não-viáveis de *Ascaris*, é baseada nas mudanças morfológicas que aparecem nos ovos mortos ou não-viáveis, conforme a seguir (KAGEI, 1982):

- descontinuidade e ruptura da membrana ou do revestimento da casca do ovo;
- citoplasma vacuolizado possivelmente devido à degeneração da gordura;

- encolhimento por inteiro do ovo ou do núcleo;
- citólise.

De acordo com o Centro para Estudos Mesoamericano em Tecnologia Apropriada CEMAT (1987), citado por Cáceres *et al.*, (1987), os critérios básicos para a determinação da viabilidade de ovos de *Ascaris*, com base nas alterações morfológicas, são os apresentados na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Principais critérios morfológicos para determinação de ovos viáveis e não viáveis de *Ascaris lumbricoides*

Ovos viáveis	Ovos não-viáveis
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Estruturas intactas com coberturas contínuas e simétricas</li> <li>▪ Continuação do desenvolvimento do ovo a estágios mais evoluídos, como células duplas, mórula, gástrula e larva</li> <li>▪ Diferenciação entre cada estágio indicando uma seqüência de maturação</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Estruturas mal definidas</li> <li>▪ Vacuolização do citoplasma e condensação celular</li> <li>▪ Ovo no estágio unicelular com citoplasma granuloso e vacuolizado</li> <li>▪ Contração, ruptura e perda de continuidade da membrana</li> </ul>

Fonte: CEMAT (1987), citado Cáceres *et al.* (1987)

Reimers *et al.* (1989) encontraram uma boa correlação entre a avaliação de ovos de *Ascaris* usando critérios morfológicos e o método de incubação, enquanto Ayres *et al.*, (1992a) observou que o método de diferenciação dos ovos viáveis e não-viáveis pelos critérios morfológicos não foi tão preciso quanto o método da incubação (HINDIYEH, 1995). O método para identificação dos critérios morfológicos no microscópio é simples, mas falta um padrão objetivo e requer habilidade e experiência, além de ser difícil para principiantes. No entanto, de acordo com a experiência do CEMAT, essa técnica tem sido utilizada há vários anos para a identificação de ovos de *Ascaris* provenientes de fossas secas (CÁCERES *et al.*, 1986, citado por CÁCERES *et al.*, 1987).

Vários autores relatam o uso de métodos com corantes biológicos para a determinação da viabilidade, embora no passado esses não tenham sido considerados suficientemente confiáveis para serem utilizados (WHO, 1967, citado por AYRES, 1989; HINDIYEH, 1995 e CACERES *et al.*, 1987). A determinação da viabilidade com o uso de corantes foi realizada inicialmente por Ogata (1923) e ainda é utilizada em pequenos laboratórios, apesar de suas limitações (CACERES *et al.*, 1987).

Desde o início da utilização desses testes, até os dias de hoje, diversos corantes vêm sendo utilizados, podendo-se destacar os seguintes:

- solução de Sudam III em 75% de álcool (OGATA, 1928, citado por CACERES *et al.*, 1987; e KAGEI, 1982, citado por AYRES, 1989);
- solução sulfato de azul nilo (MEYER *et al.*, 1978);
- azul de metileno eosina borax (ZHOU *et al.*, 1985, citado por AYRES, 1989 e GALVÁN *et al.*, 1998a);
- 0,06 % da solução de azul de metileno ou azul de Evans (CEMAT, 1984, citado por CACERES *et al.*, 1987);
- Safranina O, azul de Tripán e Eosina Y (GALVÁN *et al.*, 1998).

Um resumo de alguns corantes utilizados para distinguir entre ovos mortos e vivos e larvas de helmintos utilizando corantes biológicos é apresentado na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 - Corantes utilizados para distinguir larvas e ovos de helmintos vivos e mortos

Corante biológico	Concentração	Helminto	Referência
Sudam III	- Em 75% de álcool	Ovos de <i>Ascaris sp</i>	OGATA (1925) KAGEI (1982)
Iodo e Iodeto de potássio	0,025 g - 1%	Larva <i>Heterodera spp.</i>	BOYD (1941)
Chrysoidin	50 mg/L	Larva <i>Heterodera spp.</i>	DOLIWO (1956)
Phloxine B	5%	Ovos de <i>Meloidogyne</i>	FENNER (1962)
New blue R	0,05%	Ovos de <i>Heterodera</i>	SHEPHERD (1962)
Eosina Y	0,67%	Nematóides de vida livre	CHAUDHURI (1966)
Azul de metileno	0,05%	Larva infectiva de <i>Ascaris suum</i>	ARENE (1986)
Sais de tetrazolium	0,25%	Ovos de <i>Taenia</i>	OWEN (1984)
Azul de metileno – eosina-borax	-	Ovos de <i>Ascaris sp</i>	ZHOU <i>et al.</i> (1985)
Azul de metileno	0,05%	Larva infectiva de <i>Ascaris suum</i>	ARENE (1986)
Azul de Mendola	0.1%	Ovos de <i>Taenia</i>	STOREY (1987)
Safranina O, Azul de Tripán e Eosina Y	0,1%	Ovos de <i>Ascaris</i> e <i>Trichuris</i>	GALVÁN <i>et al.</i> a (1998)

Fonte: Adaptado de HINDIYEH (1995)

Ogata (1925) utilizou o corante Sudam III com o propósito de distinguir entre ovos vivos e ovos mortos de *Ascaris*. Em seu trabalho, foi observado que os grânulos dos ovos inférteis

apresentaram manchas de cor vermelha, enquanto os ovos férteis não ficaram corados de forma alguma. Os ovos férteis mortos com água fervente permaneceram com uma perfeita coloração vermelha.

Hudson & Hay 1980, citado por Hindiyeh (1995) utilizaram o corante Azul de Tripan para avaliar a viabilidade dos ovos, mas esse corante pode ser inadequado para a identificação de células mortas; os ovos devem ser contados entre 3 e 5 minutos, porque o número de células que se cora de azul aumenta com o tempo.

Kaneshiro & Stern (1985), citado por Hindiyeh (1995), após testar diferentes corantes (Tabela 3.6), concluíram que esses não se mostraram satisfatórios, pois nenhum corante, isoladamente, foi capaz de diferenciar entre ovos viáveis e não-viáveis de *Ascaris*, *Toxocara*, *Trichuris* e *Hymenolepis* sp. Contudo, foi observado que vários corantes eram excluídos de células vivas de algumas espécies de ovos, sendo dessa forma capazes de discriminar entre ovos viáveis e não-viáveis de determinadas espécie de parasito (Tabela 3.6). Com a utilização do corante Safranina O foi possível discriminar entre ovos viáveis e não-viáveis de *Trichuris* sp e *Hymenolepis* sp, enquanto para ovos de *Ascaris* sp e *Toxocara* sp não foi possível diferenciar os ovos viáveis dos não-viáveis, pois os ovos vivos também incorporaram o corante. Já com a utilização do corante Azul de Tripan, não foi possível discriminar entre ovos viáveis e não-viáveis de *Ascaris* sp, *Toxocara* sp, *Trichuris* sp e *Hymenolepis* sp, pois tanto os ovos vivos quanto os mortos de todas essas espécies incorporaram o corante. De acordo com esses resultados, conclui-se que nenhum corante é, isoladamente, adequado para todas as espécies de ovos, simultaneamente.

Hindiyeh (1995) avaliou a incorporação e a exclusão de quatro corantes biológicos em ovos de *Ascaris suum*, com e sem a membrana (ovos corticados e descorticados). Os ovos foram removidos de uma pequena parte do útero maduro de um fêmea de *Ascaris suum*, e foram centrifugados e lavados três vezes com água destilada antes de serem armazenados a 4° C. Para retirar a membrana dos ovos, esses foram misturados com hipoclorito de sódio (2%) e deixados em contato durante 30 minutos, com agitação freqüente; os ovos foram então lavados com água destilada pelo menos 5 vezes até se atingir o pH neutro. O método do n-butanol foi utilizado para a separação de ovos férteis e ovos mortos da suspensão contendo os ovos (STIEN & SCHWARTZBROD, 1988).

Tabela 3.6 - Incorporação e exclusão de corantes em diferentes espécies de ovos de helmintos

Corante	<i>Ascaris</i>		<i>Toxocara</i>		<i>Trichuris</i>		<i>Hymenolepis</i>	
	Morto	Vivo	Morto	Vivo	Morto	Vivo	Morto	Vivo
Azul de Tripan	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfato nilo azul	+	-	-	+	-	-	-	-
Azul de metileno	+	+	+	+	+	+	+	+
Metil violeta	+	+	+	+	+	+	+	+
Cristal violeta	+	-	+	-	+	+	+	+
Verde Janus	-	-	-	-	-	-	-	-
Vermelho brilhante	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzopurpurina	-	-	+	-	+	-	-	-
Safranina O	+	+	+	+	+	-	+	-
Carmim alum Lake	+	+	-	-	-	-	-	-
Br.Cresyl azul	+	+	+	+	+	+	+	-
Vermelho neutro	+	+	+	+	+	-	+	-

Legenda: + (incorporação do corante pelo ovo), (exclusão do corante pelo ovo)

Fonte: KANESHIRO & STERN (1985)

Com base nos resultados encontrados (Tabela 3.7), Hindiyeh (1995) concluiu que os corantes Violeta cristal, Azul de metileno-eosina borax e Sulfato de azul Nilo foram ineficientes para a determinação da viabilidade de ovos corticados de *Ascaris suum*, em diferentes estágios de desenvolvimento, uma vez que tanto os ovos vivos quanto os mortos mostraram a incorporação da cor azul. Isso aconteceu porque a casca do ovo absorveu o corante, não permitindo a entrada do corante. Somente o corante Azul de Meldola foi excluído dos ovos vivos e absorvido pelos ovos corticados mortos de *Ascaris*. Já os resultados para os ovos descorticados mostraram que todos os 4 corantes foram eficazes, uma vez que foram capazes de diferenciar entre ovos viáveis e não-viáveis de *Ascaris suum*. A estrutura interna dos ovos mortos, foram coradas em azul, enquanto os ovos viáveis permaneceram não corados.

Os resultados desse estudo demonstraram que não foi possível diferenciar entre ovos de *Ascaris suum* mortos e vivos que continham a casca. Após a remoção da casca dos ovos (descorticação), a diferenciação entre as células corada e não corada, dentro do ovo, pôde ser facilmente visualizada usando os corantes cristal violeta, Azul Meldola, Azul de metileno-eosina-borax e Azul Nilo.

Tabela 3.7 - Incorporação e exclusão de corantes biológicos em ovos de *Ascaris suum*

Estágio de desenvolvimento	Corante	Ovos descorticados		Ovos corticados	
		Vivo	Morto	Vivo	Morto
Estágio unicelular	Violeta cristal	-	+	+	+
	Azul de Meldola	-	+	-	+
	Azul de metileno-eosina borax	-	+	+	+
	Sulfato azul Nilo	-	+	+	+
Estágio com várias células	Violeta cristal	-	+	+	+
	Azul de Meldola	-	+	-	+
	Azul de metileno-eosina borax	-	+	+	+
	Sulfato azul Nilo	-	+	+	+
Estágio com a larva	Violeta cristal	-	+	+	+
	Azul de Meldola	-	+	-	+
	Azul de metileno-eosina borax	-	+	+	+
	Sulfato azul Nilo	-	+	+	+

Fonte: HINDIYEH (1995)

Galván *et al.* (1998) realizaram vários estudos objetivando o desenvolvimento de metodologias simples, rápidas e confiáveis para a determinação da viabilidade de ovos de helmintos em águas residuárias. Nesse sentido, desenvolveram um método rápido para determinar a viabilidade de ovos de helmintos, utilizando os corantes Azul Tripán, Eosina Y e Safranina O, em uma concentração de 0,1% em solução aquosa.

Este método é baseado no uso de corantes biológicos para detectar as trocas de permeabilidade da membrana vitelina dos ovos, que está relacionada com o metabolismo embrionário e a viabilidade, sendo que um ovo viável é impermeável a certos corantes e portanto não se cora, enquanto, um ovo que tenha perdido sua viabilidade é permeável e se cora.

Para a realização do método da coloração, este foi acoplado a dois procedimentos rápidos, eficientes e baratos, desenvolvido pelo Instituto de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Nacional Autônoma do México (UNAM), para a quantificação de ovos de helmintos em águas residuárias. Os procedimentos envolvem a concentração da amostra por centrifugação (esgoto bruto) e filtração em membrana (esgoto tratado). Para clarear a amostra, foi utilizado solução salina (NaCl 0,85%) ou solução de detergente (0,01%). Para a flutuação dos ovos de helmintos foi utilizado sulfato de zinco (densidade 1,20) ou sulfato de magnésio (densidade 1,30). Os principais procedimentos para a enumeração de ovos de helmintos presentes em águas residuárias brutas e tratadas, de acordo o método quantitativo são mostrados na Tabela 3.8 (GALVÁN *et al.*, 1996):

Tabela 3.8 - Principais procedimentos para o processamento das amostras pelo método quantitativo

Amostras de esgoto bruto	Amostras de esgoto tratado
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentração da amostra por centrifugação</li> <li>• Posterior filtração em membrana de 25 mm de diâmetro e 8 µm de porosidade</li> <li>• Adição de 10 a 20 mL de solução de lugol</li> <li>• Leitura em lâmina e lamínula</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentração da amostra por filtração em membrana de 47 mm de diâmetro e 8 µm de porosidade</li> <li>• Centrifugação da amostra com solução de flutuação</li> <li>• Posterior filtração em membrana de 25 mm de diâmetro e 8 µm de porosidade</li> <li>• Adição de 10 a 20 mL de solução de lugol</li> <li>• leitura em lâmina e lamínula</li> </ul>

Para validar a técnica da coloração, esta foi aplicada a amostras de águas residuárias brutas e tratadas provenientes de um sistema de tratamento da Universidade Nacional Autônoma do México (UNAM). O procedimento da coloração foi incorporado antes do último passo do método quantitativo, com a adição de 5 mL de corante.

Foram testadas oito amostras, sendo utilizado oito corantes diferentes. Para cada amostra, foram realizadas três réplicas. De todos os corantes utilizados, o Azul Tripán, a Eosina Y e a Safranina O tiveram os melhores resultados qualitativos e quantitativos, sendo os mais indicados para determinação de ovos viáveis e não-viáveis, já que foi perfeitamente possível diferenciar entre ovos corados e não corados, sem apresentar interferências com a matéria em suspensão ou particulada (GALVÁN *et al.*, 1998).

O método quantitativo, combinado com o procedimento da coloração, pode ser utilizado para determinar o número total de ovos de helmintos e, simultaneamente, a percentagem de viabilidade (GALVÁN *et al.*, 1998; ROJAS *et al.*, 1998). Ou seja, caso se deseje identificar e/ou quantificar os ovos de helmintos, deve-se filtrar de 10 a 20 ml de solução de lugol antes da observação ao microscópio. Caso se deseje, também, determinar a viabilidade, deve-se somente filtrar 5 mL de corante antes da leitura no microscópio.

O método da coloração fundamenta-se nas trocas de permeabilidade da camada externa dos ovos, provocadas pelas modificações das estruturas químicas dos componentes que envolvem o ovo, quando este perde sua viabilidade. Os ovos que são viáveis não permitem a entrada do corante, permanecendo, portanto, com a sua cor natural (castanho-amarelada), já os ovos não-viáveis, permitem a entrada do corante e portanto se coram. Meyer *et al.* (1978) e Zhou *et al.* (1985) citado por Galván *et al.* (1998) também demonstraram que, de acordo com sua fisiologia e morfologia, os ovos viáveis conservam sua impermeabilidade e portanto não incorporam os corantes.

O método é relativamente simples, mas recomenda-se que seja desenvolvido por técnicos com conhecimentos práticos e experiência na identificação dos ovos de helmintos. O mesmo demanda um tempo de 2 a 6 horas para se obter os resultados, além de apresentar baixo custo se comparado com outros métodos. Isto significa que o procedimento da coloração apresenta vantagens bastante relevantes. Nesse sentido, o método da coloração foi escolhido como objeto desse estudo e será detalhado especificamente no ítem 4.5.

No entanto, algumas limitações do método são apresentadas a seguir (ROJAS *et al.*, 1998):

- a detecção da viabilidade ocorre apenas no momento do teste. Ou seja, não possibilita o monitoramento do embrião, sendo por isso considerado um método que avalia a “viabilidade potencial”;
- o método é eficiente para determinar a viabilidade potencial de ovos de *Ascaris* e *Trichuris*. Havendo, porém, a necessidade de estudos mais aprofundados para possibilitar a avaliação da eficiência da técnica da coloração em outras espécies de helmintos.

### **3.5 Reatores UASB e sistemas de aplicação superficial no solo**

#### **3.5.1 Reatores UASB**

Embora com várias denominações no Brasil (RAFA, DAFA, RAFAALL, RALF etc.), este se consagrou no mundo todo como reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor*), nomenclatura original em inglês atribuída por um de seus pioneiros na Holanda, o Prof. Gatze Lettinga da Universidade de Wageningen. Essa nomenclatura passou a ser adotada também no Brasil (CHERNICHARO, 1997; CAMPOS, 1999).

Os reatores UASB não possuem qualquer material de enchimento para servir de suporte para o crescimento da biomassa. A imobilização dos microrganismos ocorre por meio de auto-adesão, formando flocos ou grânulos densos suspensos, que se dispõem em camadas de lodo. No fundo do reator localiza-se o lodo mais denso com partículas granulares de elevada capacidade de sedimentação (leito de lodo) e nas regiões próximas ao topo do compartimento de digestão localiza-se o lodo menos denso e mais leve (manta de lodo). O processo consiste na passagem de um fluxo ascendente de esgotos através do leito e da manta de lodo, que apresentam elevada atividade (CASSEB, 1996; CHERNICHARO, 1997; MACHADO, 1997, citados por ARAÚJO, 1998).

A estabilização da matéria orgânica ocorre em todas as camadas de lodo ao longo da altura do reator, sendo a mistura, responsável pela garantia do maior contato entre a biomassa e o substrato, conseguida pelo fluxo ascensional do esgoto e pelas bolhas de biogás formadas pela decomposição anaeróbia da matéria orgânica. Não se utiliza qualquer dispositivo mecânico de mistura, uma vez que esses dificultam a formação dos grânulos (CHERNICHARO, 1997).

A saída do esgoto se dá por um compartimento de decantação interno, localizado na parte mais alta do reator. O compartimento de decantação permite que os sólidos desgarrados da manta de lodo retornem ao compartimento de digestão. O líquido decantado sai do reator como efluente final (CHERNICHARO, 1997).

O reator UASB desempenha simultaneamente várias funções que, em outras estações de tratamento aeróbio convencional, são usualmente efetuadas em tanques separados. No reator UASB ocorre a retenção de uma parcela significativa dos sólidos suspensos presentes no esgoto bruto (inclusive ovos de helmintos), que, pela sua densidade e devido ao fluxo

hidráulico ascendente, ficam retidos no leito de lodo biológico espesso. Além dessa retenção de sólidos na parte inferior do reator, ocorre também a sedimentação do lodo biológico que eventualmente escapa do compartimento de digestão, mas para isso é essencial a instalação de um separador de sólidos na parte superior do tanque (ver Figura 3.1).

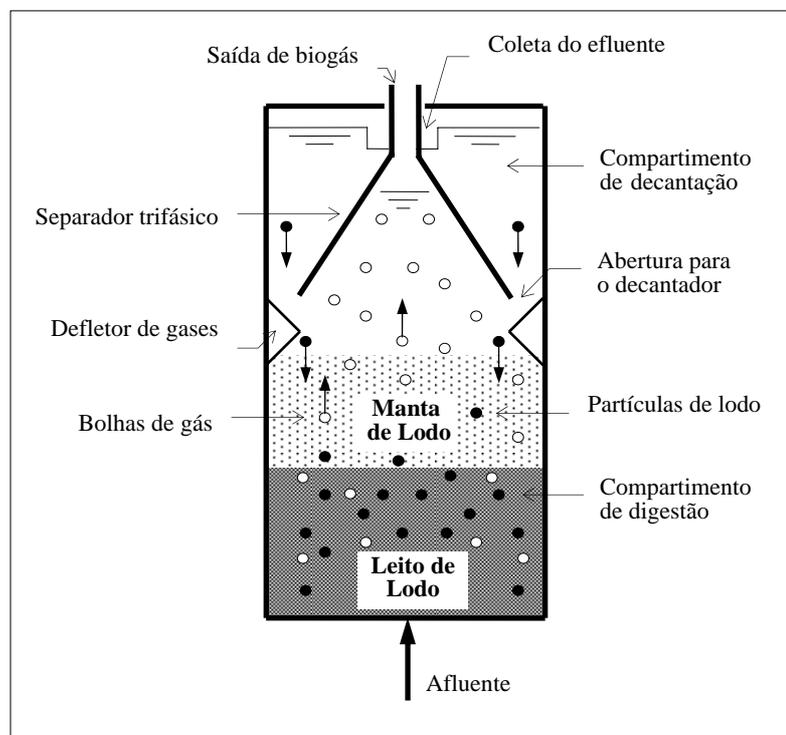


Figura 3.1 - Representação esquemática de um reator UASB

O reator UASB desempenha, portanto, o papel de digestor dos sólidos retidos, como também de parte da própria biomassa presente, daí resultando um lodo bastante estabilizado. Quando do descarte do lodo de excesso, torna-se necessário somente a sua desidratação e, eventualmente, a sua higienização (no caso de reúso agrícola do lodo). Além da digestão dos sólidos, ocorrem ainda reações de conversão da matéria orgânica presente nos esgotos. Portanto, o reator UASB desempenha, ao mesmo tempo, as funções de um decantador primário, de um reator biológico propriamente dito, de um decantador secundário e de um digestor de lodo.

Além do separador de sólidos, que funciona também como separador de gases que ascendem juntamente com o líquido, é essencial que o reator UASB tenha uma distribuição bem uniforme e adequada do esgoto afluente junto ao fundo. Isso para evitar os problemas de mau contato entre biomassa e esgoto, devido ao possível surgimento de zonas mortas, curtos-circuitos hidráulicos e caminhos preferenciais no interior do reator. Isso pode ocorrer porque

o lodo se mantém no interior do reator em camadas de espessura e densidade distintas. Apesar da configuração se aproximar mais daquelas com lodo em suspensão, com mobilidade vertical, as camadas mais próximas do fundo podem permanecer quase estacionárias, por se constituírem de lodo mais denso e com alta concentração de sólidos, ao passo que as superiores se constituem de lodo menos denso e com menor concentração de sólidos, devido à sua maior expansão.

#### • Fundamentos da digestão anaeróbia

O processo metabólico pelo qual as bactérias anaeróbias e facultativas produzem metano e gás carbônico a partir da degradação de compostos orgânicos complexos é denominado digestão anaeróbia. A digestão anaeróbia da matéria orgânica segue uma seqüência mais complexa do que o processo aeróbio. A ocorrência desse processo é muito comum em vários tipos de ecossistemas naturais, como áreas pantanosas, órgãos digestivos dos ruminantes e sedimentos de rios, lagos e mares (VAN HAANDEL & LETTINGA, 1994).

A digestão anaeróbia, de uma maneira mais simplificada, pode ser dividida em quatro estágios (CHERNICHARO, 1997):

1. O primeiro estágio é conhecido como hidrólise. Tal processo é considerado muito lento e é realizado por um grupo de bactérias facultativas e anaeróbias (aproximadamente 99% são anaeróbias e 1% facultativas) denominadas bactérias hidrolíticas, cuja função é quebrar as ligações dos compostos orgânicos complexos como carboidratos, proteínas e lipídeos.
2. O segundo estágio é conhecido como acidogênese. Com a presença das substâncias dissolvidas no interior da célula bacteriana, inicia-se a produção de ácidos. O principal ácido produzido nessa Fase é o ácido acético, pois a reação de formação desse ácido gera uma maior quantidade de energia para a célula.
3. O terceiro estágio é conhecido como acetogênese. É caracterizado pela formação de acetato, carbonato e hidrogênio a partir dos ácidos graxos voláteis e dos demais produtos da acidogênese. Tais compostos formados servirão como substrato para a formação de metano.

4. É no quarto estágio da digestão anaeróbia que ocorre a verdadeira estabilização da matéria orgânica. Os ácidos orgânicos e o hidrogênio são convertidos em produtos finais gasosos como metano e gás carbônico, que são removidos da Fase Líquida. Esta etapa é realizada por bactérias estritamente anaeróbias formadoras de metano.

É importante notar que não ocorre qualquer estabilização do resíduo durante os três primeiros estágios da digestão anaeróbia. Entretanto esses três estágios têm um caráter fundamental, pois convertem a matéria orgânica em uma forma mais apropriada para a utilização na quarta Fase da digestão anaeróbia.

### **3.5.2 Disposição dos esgotos no solo**

A prática de aplicar águas residuárias urbanas no solo possui origens bastante remotas. Os primeiros registros de tal prática datam de épocas da era cristã, na Grécia antiga, quando o esgoto era utilizado para a irrigação na agricultura. Com o passar do tempo e evolução das técnicas, a aplicação de esgoto no solo passou a ser utilizada em fazendas na Alemanha (século XVI) e Inglaterra (século XVII) também com o objetivo de beneficiar a agricultura (NUCCI *et al.*, 1978).

Entretanto, foi somente no século passado que a disposição dos esgotos no solo passou a ser utilizada com fins sanitários. Em 1857, a *Royal Comission on Sewage Disposal* de Londres concluiu que a melhor forma de se dispor dos esgotos gerados nas cidades era aplicá-los continuamente à terra, evitando-se a poluição dos rios. Até fins do século passado e início deste, a aplicação de esgotos no solo foi a solução mais utilizada e bem sucedida de tratamento e disposição dos esgotos resultantes da atividade urbana. Nessa época, surgiram vários sistemas de tratamento por aplicação no solo nas metrópoles de Berlim (1860), Paris (1870), Londres e Birmingham (1880), Melbourne (1896) e cidade do México (1900). Muitos desses sistemas atravessaram os anos e continuam a prestar excelentes serviços até hoje (NUCCI *et al.*, 1987, citado por ARAÚJO, 1998).

Até então, a aplicação de esgotos no solo havia sido usada exclusivamente como forma de tratamento direto dos esgotos. Foi na Alemanha, em 1910, mais especificamente no Vale do Ruhr, que se utilizou pela primeira vez a aplicação no solo como sistema de pós-tratamento do efluente de sistemas de tratamento convencionais. O objetivo dessa nova prática era reutilizar o esgoto para abastecimento público.

Com o crescimento das cidades e valorização das áreas periurbanas e a sedução exercida pelo desenvolvimento de alternativas tecnológicas mais sofisticadas, a opção pela disposição no solo, como método de tratamento, foi praticamente abandonada por volta do final da primeira metade deste século (PAGANINI, 1997). Outro fator também contribuiu para que essa alternativa se tornasse também praticamente desaconselhada em meados deste século, a exemplo das preocupações com a saúde pública em relação a transmissão de doenças.

Por outro lado, vários fatores vieram contribuir para que mais recentemente o interesse pela disposição no solo fosse renovado: a crescente escassez de recursos hídricos, a crescente deterioração dos mananciais de água, as limitações técnico-financeiras de implantar soluções mais complexas de tratamento, o avanço do conhecimento científico sobre o potencial e as limitações desta alternativa como método de tratamento e ou reúso de águas residuárias (BASTOS, 1999).

Atualmente o tratamento dos esgotos domésticos e industriais por disposição no solo tem se apresentado como uma importante alternativa de tratamento, seja com a função de “polimento” de efluentes (pós-tratamento), seja pela necessidade de reciclagem de recursos hídricos cada vez mais escassos, seja pela possibilidade de obtenção de subprodutos com alimentação animal ou carvão, seja pela importância da recarga do lençol freático e subterrâneo, ou pela adequação da qualidade da massa líquida antes que esta venha atingir os corpos receptores (PAGANINI, 1997).

A disposição de esgotos no solo disseminou-se por todo o mundo, juntamente com novas pesquisas que estudam a sua aplicabilidade em conjunto com outros sistemas de tratamento. Isso se deve ao fato de que os sistemas de tratamento de esgotos por disposição no solo apresentam elevada eficiência de remoção de matéria orgânica e nutrientes, respectivamente, compatíveis e bem superiores às dos demais processos convencionais de tratamento (PAGANINI, 1997).

Analisando-se economicamente, os sistemas de disposição de esgotos no solo possuem a vantagem de não necessitarem de edificações e equipamentos sofisticados para a sua operação. A realidade brasileira também contribuiu para a disposição de esgotos no solo, pois há grande disponibilidade de área no país, as condições climáticas são bastante favoráveis e esse é um método muito mais barato que os métodos convencionais, e que se encaixa

perfeitamente em um país que investe muito pouco em soluções alternativas para se tratar os esgotos.

Porém, apesar do seu grande potencial e elenco de vantagens, a aplicação de esgotos no solo tem sido pouco utilizado em nosso país. Talvez a principal razão para tal seja a pouca difusão da tecnologia em nosso meio. É de grande importância, portanto, que se aumente e dissemine o nível de conhecimento sobre esses sistemas, como forma de viabilização de sua maior utilização (CHERNICHARO,1997).

A aplicação de esgotos no solo como forma de tratamento ocorre de maneira controlada, fazendo-se uso ou não de vegetação, utilizando-se terrenos com solos de características diversas. O grau de tratamento depende de diversos fatores, ocorrendo fenômenos físicos, químicos e biológicos que naturalmente se desenvolvem ao longo do tempo e que dependem do tempo de contato que o esgoto permanece no solo.

O solo propicia a depuração natural dos esgotos através de mecanismos físicos e processos químicos e biológicos, resultando, desta estabilização da matéria orgânica, os macro e microelementos (PAGANINI,1997). Empregado para a disposição de esgotos, o biosistema solo depura a parcela não evaporada, funcionando como um “filtro vivo” que retém, absorve e transforma, em alimento e nutriente, a matéria orgânica e a água nele presentes.

A disposição de esgotos no solo, como na autodepuração dos corpos d’água e nos demais tipos de tratamento natural, compreende processos físicos, químicos e biológicos de remoção da carga poluidora (PAGANINI,1997). Tais processos devem ser controlados com o objetivo de se obter um determinado grau de tratamento. Basicamente, os esgotos podem ser dispostos no solo, de modo a depurá-los, de três formas diferentes:

- Infiltração rápida;
- Infiltração-percolação;
- Escoamento superficial.

A escolha do método de disposição no solo encontra-se relacionada com os objetivos pretendidos em primeira instância: disposição final dos esgotos, seu tratamento, ou produção agrícola (irrigação), os quais devem ser compatíveis com as características do solo, como topografia e composição físico-química.

Assim, a infiltração rápida é essencialmente um método de disposição final de esgotos, somente considerável em solos de elevada capacidade de infiltração e drenagem. Quando o objetivo é o tratamento de esgotos, pressupondo-se a existência de um efluente tratado em condições de ser lançado em um corpo receptor como disposição final, irão predominar a infiltração-percolação e escoamento superficial.

Das três modalidades de disposição de esgoto no solo apresentadas anteriormente, será dado ênfase somente ao método de escoamento superficial, objeto de estudo do presente trabalho.

### • Escoamento superficial

No processo de escoamento superficial no solo, o afluyente é lançado na parte superior de um plano inclinado por meio de aspersores, canaletas ou tubos perfurados, sendo que a parte líquida é recolhida na parte inferior através de canais de drenagem que transportam o líquido tratado ao corpo receptor (ver Figura 3.2).

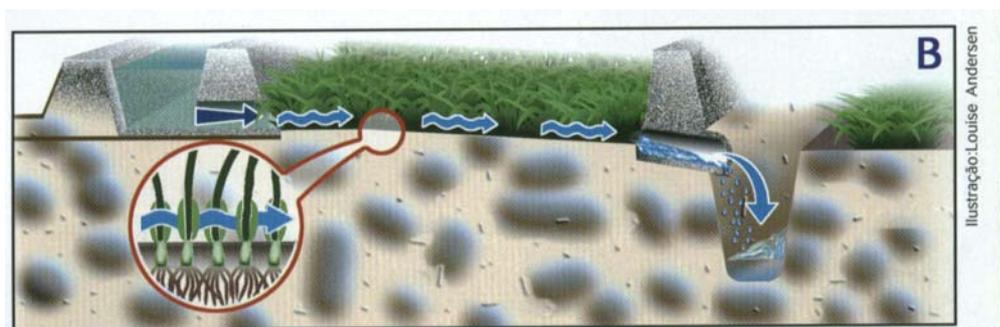


Figura 3.2 - Ilustração esquemática de uma rampa de escoamento superficial  
Fonte: BASTOS (1999)

O plano inclinado constituído de um sistema solo-plantas deve apresentar declividade variando de 2% a 8%, de forma a evitar-se, de um lado, a estagnação dos esgotos (empoçamento) que promove a digestão anaeróbia com liberação de gases, somada à proliferação de insetos e, de outro, as velocidades excessivas que provocam a erosão e os caminhos preferenciais (curto-circuito) que diminuem a eficiência do tratamento (PAGANINI, 1997).

Uma densa cobertura vegetal é de essencial importância para o bom desempenho do tratamento de esgotos por escoamento superficial. Algumas funções da cobertura vegetal são citadas a seguir (PAGANINI, 1997):

- proteção contra erosão – a vegetação proporciona uma superfície com obstáculos, o que reduz a velocidade do fluxo, além de redistribuí-los, evitando os caminhos preferenciais;

- remoção de nutrientes – a vegetação utiliza os macro e microelementos para seu desenvolvimento e reprodução;
- suporte de microrganismos – o colo da planta suporta a formação de um filme biológico que funciona como filtro biológico.

O tratamento dos esgotos é obtido à medida que estes avançam pelo plano inclinado, através de processos físicos, químicos e biológicos. O processo de disposição de esgotos no solo por escoamento superficial é o mais completo, ou seja, é o que utiliza de todos os fatores naturais que podem intervir numa disposição de esgotos no solo e apresenta o melhor desempenho ao interagir com a natureza, vindo a apresentar condições renováveis de tratamento, evitando assim a “exaustão” do sistema solo-planta como depurador.

Além da grande capacidade depuradora dos sistemas de disposição no solo, deve-se ressaltar que essa alternativa pode possibilitar benefícios financeiros advindos da utilização natural do nitrogênio e do fósforo, pela vegetação, cuja remoção usualmente requer sistemas de tratamento muito caros. Dessa forma, a aplicação no solo pode ser considerada uma atividade de reciclagem, pois se aproveita todo o potencial recondicionante dos esgotos (água, matéria orgânica e nutrientes) para o crescimento das plantas (ANDRADE NETO, 1997, citado por ARAÚJO, 1998).

Os objetivos do tratamento de esgotos por escoamento superficial no solo são (USEPA, 1981, citado por ARAÚJO, 1998):

- atingir um grau de tratamento secundário quando for aplicado esgoto bruto, efluente primário ou efluente de lagoas de estabilização;
- alcançar altos níveis de remoção de nitrogênio, DBO e sólidos.

Os mecanismos da remoção dos constituintes dos esgotos são essencialmente similares aos dos reatores biológicos em tanques artificiais, embora em meio completamente distinto. Predominam a sedimentação e a filtração e, naturalmente, as reações para oxidação da matéria orgânica, com formação da biomassa fixa no solo e plantas, com remoção de sólidos suspensos e DBO. Há ainda casos de remoção com boa eficiência de nitrogênio e fósforo.

Diversas culturas vegetais podem ser utilizadas intencionalmente para o aproveitamento da água e nutrientes, sendo muitas vezes a disposição de esgoto no solo associada ao aproveitamento agrícola ou ao reúso de efluentes.

No Brasil, há ainda uma difusão limitada dessa tecnologia, muito embora já se tenha alguma experiência prática e esteja em Fase de maior disseminação, tanto para tratamento, como para pós-tratamento ou disposição final.

Particularmente interessante pode ser a combinação de reatores anaeróbios com os sistemas de aplicação de esgotos no solo. Pelas características dos efluentes de reatores anaeróbios, o pós-tratamento através de sistemas de escoamento superficial no solo pode se mostrar bastante vantajoso e atrativo, para as mais variadas condições de clima, solo, vegetação etc., abrindo espaço para viabilizar a sua utilização em maior escala, o que vem demonstrando algumas pesquisas práticas no Brasil (CHERNICHARO, 1997; CAMPOS, 1999).

Os reatores anaeróbios, utilizados como primeira etapa de tratamento, preservam os nutrientes, que podem ser utilizados na revitalização do solo com fins produtivos (gramíneas, forrageiras, madeira e várias culturas vegetais), enquanto a disposição no solo remove microrganismos patogênicos, antes de alcançarem os corpos d'água. O reator anaeróbio seria suficiente para evitar que cargas excessivas de sólidos e matéria orgânica fossem aplicadas no solo; enquanto a disposição controlada no solo compensaria as principais deficiências do reator anaeróbio, já que os nutrientes eutrofizantes seriam benéficos e os patogênicos teriam decaimento natural significativo.

### **3.5.3 Remoção de ovos de helmintos em sistemas convencionais de tratamento**

Os sistemas de tratamento de esgotos sanitários foram originalmente concebidos para remover matéria orgânica e sólidos. Posteriormente, surgiu a preocupação em reduzir outros constituintes, como nutrientes e organismos patogênicos (FEACHEM *et al.*, 1983). Vários processos biológicos têm sido estudados para determinar a efetividade na inativação dos parasitos provenientes de água residuária doméstica. A eficiência de sistemas de tratamento convencionais na remoção de ovos de helmintos varia consideravelmente, dependendo da unidade de processo incluída no sistema de tratamento e das espécies de ovos de helmintos presentes no esgoto.

O conhecimento dos fatores que interferem na mortalidade de ovos de helmintos em processos de tratamento de esgotos é importante, no sentido de se poder propor medidas que tornem tais processos mais eficientes, com repercussões positivas sobre a saúde da população. As causas mais citadas como responsáveis pela remoção de parasitos em processos anaeróbios são (GASI *et al.*, 1993a):

- temperatura;
- tempo de detenção;
- efeito da sedimentação;
- morte natural em ambiente anaeróbio.

Os ovos de helmintos são amplamente removidos pela sedimentação, onde o efeito de um sistema de tratamento convencional é simplesmente a transferência dos ovos de helmintos do efluente para a parte sólida – lodo (FEACHEM *et al.*, 1983). Por essa razão, a percentagem de remoção citada nos processos de tratamento de águas residuárias não é um indicador real da destruição dos parasitos, uma vez que uma grande parcela desses ovos de helmintos continuam ainda presentes no lodo.

Quando se estuda a remoção de parasitos em unidades de tratamentos de esgotos, deve-se preferencialmente referir à sobrevivência dos mesmos ao sistema empregado. Dependendo do sistema de tratamento, podem ser esperados diferentes tempos de sobrevivência para os diversos grupos de patógenos. Por exemplo, cistos de protozoários podem ser encontrados em pequenas concentrações no lodo bruto e não sobrevivem ao processo de digestão; por outro lado, os ovos de *Ascaris* podem ser encontrados em elevadas quantidades nos lodos e sobrevivem à maioria dos processos de tratamento de lodos (FEACHEM *et al.*, 1983).

Processos de tratamento convencionais de águas residuárias domésticas podem não ser totalmente efetivos na ativação ou inativação dos parasitos (REIMERS *et al.*, 1981, citado por HINDIYEH, 1995). Estudos têm mostrado que os filtros biológicos, filtros de areia e lodos ativados promovem o embrionamento dos ovos, a exemplo de *Ascaris*, *Necator* e *Ancylostoma* (CRAM, 1943; NEWTON *et al.*, 1949; SILVERMAN & GRIFFITHS, 1955, citados por HINDIYEH, 1995). Os efeitos dos processos de tratamento de águas residuárias sobre os ovos de helmintos e alguns cistos de protozoários são mostrados na Tabela 3.9.

Tabela 3.9 - Eficiências de alguns processos de tratamento de esgotos sobre ovos de helmintos e cistos de protozoários

Unidade	Eficiência
	<b>Processos de remoção (não destroem o parasito)</b>
Decantadores primários e secundários	Remoção de 80% de ovos de <i>Ascaris</i> e 54% dos cistos de <i>Entamoeba</i> (incorporação ao lodo; a remoção depende das condições de operação)
Flotação	Remoção > 95% (incorporação ao lodo; a remoção depende das condições de operação e estágio de desenvolvimento dos ovos)
Tanque séptico	Remoção de 97% (incorporação ao lodo)
Filtro biológico	Remoção de 38% (promove o desenvolvimento dos ovos)
Filtração	Retém 99% dos ovos
Reator UASB	Remoção de 70 a 99% (incorporação ao lodo; a remoção depende das condições de operação).
	<b>Processos de estabilização (afetam o estágio dos ovos)</b>
Lodos ativados convencional	Promovem o desenvolvimento dos ovos
Aeração prolongada	Promovem o desenvolvimento dos ovos
	<b>Processos de desinfecção</b>
Cloração	Não tem efeito

Fonte: Adaptado de REIMERS *et al.* (1981), citado por HINDIYEH (1995)

Os ovos de helmintos são muito resistentes ao estresse ambiental e podem sobreviver aos procedimentos usuais de desinfecção, entretanto, estes são prontamente removidos por processos utilizados na prática do tratamento de esgotos, como a sedimentação, a filtração e os sistemas de lagoas de estabilização (PAGANINI, 1997).

Goulart *et al.* (1984) avaliaram a eficiência dos processos de tratamento de esgotos empregados nos municípios do Rio de Janeiro, onde foram investigadas oito das dezesseis estações em operação, que lançavam direta ou indiretamente seus efluentes nas águas da Baía de Guanabara. O objetivo do estudo foi verificar a percentagem de formas infectantes dos parasitos presentes no efluente final e no lodo residual. Uma das estações avaliada foi a Estação da Ilha do Governador (ETIG), que utilizava o processo de lodos ativados, considerada pela CEDAE como uma das mais modernas e eficientes das estações de tratamento.

Os ovos de helmintos das espécies *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* passaram por todos os estágios do tratamento, inclusive pela digestão do lodo, e foram liberados, em grande parte, como ovos viáveis para o meio ambiente. Os ancilostomídeos e *Strongyloides*

*stercoralis* não chegaram à etapa de decantação secundária, tendo sido removidos nas etapas anteriores. Ainda que as várias fases do tratamento promovam uma considerável redução do número de ovos de helmintos, tal fato não impediu que formas infectantes de várias espécies fossem lançadas na Baía de Guanabara, onde sobrevivem por um tempo variável. Os ovos de *Ascaris lumbricoides* resistiram por oito meses na água do mar, em condições de laboratório (JOURDAN, 1981, citado por GOULART *et al.*, 1984).

Em estudos desenvolvidos por Gasi *et al* (1993b), não foi encontrada uma correlação entre a sobrevivência de ovos de helmintos e o tempo de retenção hidráulica em um reator UASB. Segundo Feachem *et al.* (1980), citado por Gasi *et al.* (1993), a única forma de destruir patógenos em sistemas de tratamento com pequenos tempos de detenção (algumas horas) é através da elevação da temperatura na faixa de 55° a 65° C. Gasi *et al.*b (1993) concluíram que o processo de retenção física é o mecanismo principal de remoção de ovos de helmintos em reatores UASB, com o acúmulo dos mesmos no lodo. Obteve-se uma correlação entre ovos de helmintos e concentração de sólidos no efluente, no sentido que, a perda de sólidos em suspensão com o efluente do reator contribui para o aumento das contagens de ovos de helmintos no efluente.

### **3.5.4 Remoção de ovos de helmintos em sistemas de escoamento superficial no solo**

Dentre os mecanismos atuantes na remoção de microrganismos em sistemas de tratamento por escoamento superficial no solo destacam-se (USEPA, 1981; PAGANINI, 1997):

- exposição dos microrganismos a condições ambientais adversas, como teor de umidade do solo, temperatura, pH e insolação;
- filtração física através do biofilme formado sobre o solo e o caule das plantas;
- dessecação durante os períodos secos;
- adsorção às partículas do solo;
- sedimentação;
- predação.

No escoamento superficial, o tratamento ocorre principalmente na interface do colo das plantas e na superfície do solo, onde se forma uma película biologicamente ativa. A percolação dos esgotos através do colo da planta propicia a formação de um filme biológico

de aspecto gelatinoso, mantendo os organismos em equilíbrio suficiente para transformar as substâncias coloidais e dissolvidas.

A substância gelatinosa é povoada por um grande número de espécies de bactérias, fungos, algas, protozoários, ovos e larvas de helmintos, e outros microrganismos em menor quantidade. A composição microbiana varia com a espessura da lâmina de esgotos, com a característica do esgoto e com as estações do ano. Fungos, por exemplo, podem ser observados na superfície da lâmina, enquanto microrganismos nitrificadores são encontrados nas zonas mais profundas da mesma.

Em relação à predação biológica, as relações entre os parasitos e outros organismos vivos, tais como os fungos que atacam ovos e larvas de nematóides, os predadores das fases de vida livre, assim como os transportadores e disseminadores de ovos (minhocas, moscas e insetos coprófagos, moluscos, aves etc.), interferem de uma forma ou de outra sobre a biologia e a ecologia de muitos dos nematóides de importância médica ou veterinária.

Um fator determinante na eficiência da remoção de microrganismos dos esgotos é o tempo durante o qual ocorre a ação biológica no solo. Quanto maior for o tempo que o esgoto permanecer sob ação biológica do solo, maior será a eficiência de remoção dos microrganismos, ou seja, uma menor velocidade de percolação ou escoamento pelo solo é benéfica do ponto de vista de remoção de microrganismos.

Devido às suas dimensões relativamente maiores, os protozoários e os ovos de helmintos são removidos primeiramente por filtração física e pela atividade microbiológica na primeira camada orgânica, de aproximadamente de 1 cm de espessura. As bactérias também podem ser removidas por filtração, entretanto a sua adsorção às partículas de solo e a ação biológica de predação e competição são os mecanismos mais importantes (USEPA, 1981, citado por PAGANINI, 1997).

A ação biológica é particularmente efetiva nas camadas orgânicas superficiais do solo, onde a presença de oxigênio propicia o desenvolvimento dos processos aeróbios, mais intensivos que os anaeróbios, e onde a disponibilidade de alimentos possibilita a existência de uma população maior e mais diversificada de microrganismos. Estima-se que esse mecanismo represente cerca de 92 a 97% da remoção total dos microrganismos nos sistemas de disposição no solo, já que é nesta primeira camada superficial, de cerca de 1 a 1,5 cm de

espessura, que a dessecação, a radiação e a temperatura atuam de maneira mais efetiva (PAGANINI, 1997).

Essa remoção, para ser efetiva, depende de diversos fatores e, mesmo que se obtenha bons resultados, não significa a eliminação dos riscos à saúde pública de uma forma geral, pois os microrganismos estarão retidos no solo, ou percorrendo os lençóis subterrâneos e os corpos de água superficiais. Embora os cistos de protozoários e ovos de helmintos representem um grande risco sanitário, além de poderem sobreviver por meses e até anos no meio ambiente, não existem evidências conclusivas registradas que venham correlacioná-los a problemas com sistemas de disposição no solo, desde que resguardados cuidados operacionais (PAGANINI, 1997).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Aparato experimental

As unidades objeto da presente pesquisa foram implantadas junto à ETE Nova Vista, na cidade de Itabira/MG, fruto de um convênio firmado entre o DESA/UFMG e o Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) de Itabira, dentro do Programa de Pesquisa em Saneamento Básico (PROSAB).

Os esgotos afluentes à ETE Nova Vista, antes de serem encaminhados às unidades experimentais, passavam inicialmente pela etapa de tratamento preliminar, que por sua vez era constituída das seguintes unidades (ver Figuras 4.1 e 4.2):

- gradeamento;
- caixa de areia;
- calha Parshall.

Após a remoção do material grosseiro e da areia, pelas unidades do tratamento preliminar, o esgoto era conduzido para o poço de sucção de uma casa de bombas que abriga três conjuntos elevatórios de esgoto. Um dos conjuntos elevatórios é destinado para o rodízio e reserva, os outros dois são acionados de acordo com o nível do esgoto no poço de sucção. As bombas recalcam o esgoto para todas as linhas de tratamento da ETE Nova Vista.



Figura 4.1 – Tratamento Preliminar (Gradeamento)



Figura 4.2 – Tratamento Preliminar (Caixas de Areia)

#### 4.1.1 Fase 1 (julho/97 a abril/98)

Na Fase 1, o sistema de tratamento de esgotos domésticos foi constituído de um reator anaeróbio de fluxo ascendente (tipo UASB) em escala plena, responsável pela primeira etapa do tratamento, e de um conjunto de rampas de aplicação superficial no solo, em escala de demonstração, com a finalidade de polimento do efluente do reator anaeróbio.

O reator anaeróbio localizado na ETE Nova Vista foi projetado para atender a uma população de cerca de 5.000 habitantes em início de plano (7000 habitantes em final de plano) e apresenta um volume útil de 477 m<sup>3</sup>. O reator possui forma tronco-cônica invertida e encontra-se em operação desde o início de 1996 (ver Figura 4.3). As principais características operacionais do reator são apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Características de alimentação do reator anaeróbio em escala real (Fase 1)

<b>Característica operacional</b>	<b>Início de plano</b>	<b>Final de plano</b>
Vazão de projeto (L/s)	9,8	15,5
Tempo de detenção hidráulica médio (h)	13,5	9,8
Velocidade ascensional média à meia profundidade do reator (m/h)	0,33	0,52
Taxa de aplicação superficial média no decantador (m <sup>3</sup> / m <sup>2</sup> .d)	11,2	17,7



Figura 4.3 – Vista do reator anaeróbio em escala real da ETE Nova Vista (Fase 1)

Uma pequena parcela do efluente do reator anaeróbio (3,6 m<sup>3</sup>/h) era encaminhada a um conjunto de três rampas de aplicação superficial no solo, com cobertura vegetal de capim da

espécie *Brachiaria humidicola*. Cada rampa apresentava dimensões de 3,0 m x 25,0 m, construídas com declividade igual a 4% (ver Figura 4.4). O ciclo de operação das rampas previa a alimentação com esgotos no período de 7 às 15 horas (descanso de 15 às 7 horas), de acordo com as vazões e taxas de aplicação mostradas na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Características de alimentação das rampas na Fase 1

Característica operacional	Rampa 1	Rampa 2	Rampa 3
Vazão aplicada ( $\text{m}^3/\text{h}$ )	1,8	1,2	0,6
Taxa de aplicação ( $\text{m}^3/\text{mxh}$ )	0,60	0,40	0,20
Taxa de aplicação hidráulica ( $\text{cm}/\text{d}$ )	19,2	12,8	6,4

Nota: As rampas foram operadas em regime hidráulico permanente (vazão constante ao longo do dia), porém com diferentes taxas de aplicação em cada rampa.



Figura 4.4 – Vista das rampas de escoamento superficial no solo (Fase 1)

#### 4.1.2 Fase 2 (novembro/99 a agosto/2000)

Na Fase 2, foram realizadas algumas modificações no sistema de tratamento de esgotos. O reator em escala real foi substituído por um reator em escala de demonstração (reator UASB compartimentado), com um volume de  $9\text{m}^3$ . O reator anaeróbico foi operado em regime hidráulico transiente, ou seja, com vazões variáveis ao longo do dia. Para tal, foi feita a automação do sistema de alimentação e introduzido um hidrograma típico de vazões, de acordo com uma curva típica de vazões proposta por VON SPERLING (1995). Para as condições de vazões variáveis ao longo do dia foram obtidas as características operacionais do reator UASB compartimentado, conforme apresentado na Tabela 4.3. Este reator passou a constituir a primeira unidade do sistema de tratamento (ver Figura 4.5).

Tabela 4.3 – Características de alimentação do reator UASB Compartimentado (Fase 2)

Característica operacional	Mínima	Média	Máxima
Vazão aplicada (m <sup>3</sup> /h)	0,9	1,8	3,24
Velocidades ascensionais (m/h)	0,9	0,45	0,3
Taxas de aplicação superficial no decantador (m <sup>3</sup> / m <sup>2</sup> .d)	0,3	0,6	1,08

Nota: O reator UASB compartimentado foi operado em regime hidráulico transiente (vazão variável ao longo do dia)



Figura 4.5 – Vista do reator UASB compartimentado em escala piloto (Fase 2)

As três rampas de aplicação superficial no solo foram as mesmas da Fase 1, porém a cobertura vegetal foi substituída pela gramínea *Tifton 85*. Além da modificação da cobertura vegetal, foram introduzidas duas outras alterações no protocolo de operação das rampas:

- as rampas deixaram de ser irrigadas simultaneamente (em um único período: 7:00 às 15:00 horas), passando a receber os esgotos em seqüência (uma após à outra), conforme definido na Tabela 4.4
- as rampas passaram a ser operadas em regime hidráulico transiente, ou seja, com vazões variáveis ao longo do dia, conforme descrito anteriormente. Para as condições de vazões variáveis ao longo do dia foram obtidas as características operacionais das rampas, conforme apresentado na Tabela 4.5.

Uma vista das rampas de escoamento superficial no solo, com as modificações introduzidas na Fase 2, é apresentada na Figura 4.6.

Tabela 4.4 - Horário de alimentação das rampas na Fase 2

Rampa	Horário de alimentação
1	4 às 12 h
2	12 às 20 h
3	20 às 4 h

Tabela 4.5 – Características de alimentação das rampas na Fase 2

Característica operacional	Mínima	Média	Máxima
Vazão aplicada ( $m^3/h$ )	0,73	1,44	2,59
Taxa de aplicação ( $m^3/mxh$ )	0,24	0,48	0,86
Taxa de aplicação hidráulica (cm/dia)	7,8	15,4	27,5

Nota: As rampas foram operadas em regime hidráulico transiente (vazão variável ao longo do dia)



Figura 4.6 – Vista das rampas de escoamento superficial no solo (Fase 2)

## **4.2 Programa de monitoramento**

### **4.2.1 Análises parasitológicas**

#### **4.2.1.1 Fase 1**

O programa de monitoramento envolveu a realização de análises de ovos de helmintos no esgoto bruto e nos efluentes do reator anaeróbio e das rampas de escoamento superficial no solo. Para tal, foram coletadas amostras compostas no período que se estendeu de julho/97 a abril/98. Do volume total amostrado (cerca de 15 litros), foram tomadas alíquotas nas seguintes proporções (AYRES & MARA, 1996):

- esgoto bruto: 1 litro;
- esgoto tratado (efluente do reator UASB e das rampas): 10 litros.

As amostras eram então armazenadas em bombonas de plástico e transportadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia do DESA/UFMG. No laboratório as amostras eram homogeneizadas e transferidas para o béquer (1 L) e baldes (10 L) onde permaneciam por um tempo de 24 horas para o processo de sedimentação.

#### **4.2.1.2 Fase 2**

O programa de monitoramento da Fase 2 continuou a envolver a realização de análises de ovos de helmintos no esgoto bruto e nos efluentes do reator UASB compartimentado e das rampas de escoamento superficial no solo. Para tal, foram coletadas amostras compostas no período que se estendeu de novembro/99 a agosto/2000. Do volume total amostrado (cerca de 15 litros), foram tomadas alíquotas nas seguintes proporções (AYRES & MARA, 1996):

- esgoto bruto: 1 litro;
- esgoto tratado (efluente do reator UASB e das rampas): 10 litros.

As amostras eram então armazenadas em bombonas de plástico e transportadas imediatamente para o laboratório de Microbiologia do DESA/UFMG. No laboratório as amostras eram homogeneizadas e transferidas para o béquer (1 L) e baldes (10 L) onde permaneciam por um tempo de 24 horas para o processo de sedimentação.

## **4.2.2 Análises bacteriológicas**

### **4.2.2.1 Fase 2**

O programa de monitoramento da qualidade bacteriológica dos esgotos brutos e tratados foi implementado somente a partir da Fase 2 da pesquisa, tendo sido realizadas análises de coliformes totais e *Escherichia coli* no esgoto bruto e nos efluentes do reator UASB compartimentado e das rampas. Foram coletadas amostras pontuais durante o período que se estendeu de novembro/99 a agosto/2000, sendo o horário de coleta estipulado entre 8:00 e 10:00 horas.

Para o processamento das amostras foi utilizado o método de substrato definido QUANTITY-TRAY COLILERT, de acordo com os procedimentos descritos no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (AWWA/APHA/WEF, 1998).

## **4.2.3 Análises de viabilidade**

### **4.2.3.1 Fase 2**

Assim como para as análises bacteriológicas, o programa de monitoramento para as análises de viabilidade de ovos de helmintos foi implementado somente a partir da Fase 2 da pesquisa. Para essas análises, foram coletadas amostras compostas do esgoto bruto e dos efluentes do reator UASB compartimentado e das rampas de escoamento superficial no solo.

As amostras eram armazenadas em bombonas de plástico e transportadas para o laboratório de Microbiologia do DESA-UFMG. Do volume total amostrado (cerca de 15 litros) foram tomadas alíquotas nas seguintes proporções (GALVÁN *et al.*, 1998):

- esgoto bruto: 5 litros;
- esgoto tratado: 5 litros.

### **4.3 Enumeração de ovos de helmintos**

#### **4.3.1 Preliminares**

Para o processamento e preparação das amostras, bem como para a enumeração de ovos de helmintos, foi utilizado o método de BAILENGER (1979), modificado por Ayres & Mara (1996). Este método foi escolhido em função de sua simplicidade e baixo custo dos reagentes utilizados, além do que propicia a recuperação de uma ampla faixa de helmintos usualmente encontrados em águas residuárias (AYRES *et al.*, 1991).

#### **4.3.2 Fundamento**

As amostras de esgotos a serem processadas passam pelas seguintes etapas: sedimentação, centrifugação e flutuação. Após sucessivas centrifugações da amostra, com descarte do sobrenadante, o sedimento é tratado com solução tampão aceto-acética (pH 4,5) e éter (ou acetato de etila) para a separação do material gorduroso. Posteriormente, com a adição de uma solução de sulfato de zinco de alta densidade ( $ZnSO_4$  densidade 1,18), os ovos flutuam. Os ovos que possuem densidade relativa menor que este valor são separados do sedimento e portanto flutuam. A contagem é realizada utilizando-se uma câmara de McMaster com observação no microscópio em objetivas de 10x e 40x.

O tamanho, a densidade relativa e a velocidade de sedimentação de alguns ovos são mostrados na Tabela 4.6. Pode-se observar que, com exceção dos ovos de *S. mansoni*, os demais são ligeiramente menores que os ovos de *Ascaris suum* e suas densidades relativas são similares, exceto para os ovos de *Taenia saginata* que apresentam densidade bem mais elevada (1,30).

Tabela 4.6 - Tamanho, densidade e velocidade de sedimentação de algumas espécies de ovos de helmintos

Espécies	Tamanho ( $\mu\text{m}$ )	Densidade	Velocidade de Sedimentação (m/h)
<i>Ascaris suum</i>	65 x 45	1,13	0,95
<i>Ascaris lumbricoides</i>	55 x 40	1,11	0,43
<i>Schistosoma mansoni</i>	50 x 150	1,18	5,23
<i>Trichuris trichiura</i>	22 x 50	1,15	0,48
<i>Taenia saginata</i>	40 x 35	1,30	0,83
Ancilostomídeos	60 x 40	1,055	0,26

Fonte: DUNN, 1991, citado por HINDIYEH (1995)

### 4.3.3 Equipamentos, materiais e reagentes

Para a preparação das amostras e enumeração de ovos de helmintos, de acordo com o método de BAILENGER modificado, são necessários os seguintes equipamentos, materiais e reagentes (AYRES & MARA, 1996):

- Microscópio óptico comum com objetivas de 10x e 40x.
- Centrífuga para operar a 1000 g.
- Tubos de centrífuga.
- Agitador Vortex.
- Bomba de sucção ou sifão.
- Câmara de McMaster.
- Pipetas de Pasteur.
- Pipetas volumétricas.
- Densímetro.
- Béquer de 1 litro.
- Balde de 10 litros.
- Garrações de plástico com tampa de rosca e capacidade para 1 e 10 litros.
- Solução tampão aceto-acética (pH 4,5).
- Solução de sulfato de zinco (densidade 1,18).
- Solução Triton X-100 ou Tween 80.

- Éter ou acetato de etila.

#### 4.3.4 Preparação de soluções

São os seguintes os principais procedimentos para preparação das soluções necessárias à enumeração de ovos de helmintos:

- solução de sulfato de zinco: pesar 33 g de  $ZnSO_4$  e diluir em 100 mL de água destilada (conferir a densidade utilizando um densímetro);
- solução tampão aceto-acética (pH 4,5): pesar 5 g de acetato de sódio cristalino, misturar em 3,6 mL de ácido acético glacial e completar o volume com água destilada até 1000 mL. Corrigir o pH da solução para 4,5 com os próprios reagentes;
- solução detergente Triton X-100 ou Tween 80: pipetar 1 mL da solução e adicionar em 1 litro de água de torneira.

#### 4.3.5 Procedimentos para enumeração dos ovos

De acordo com o método de BAILENGER modificado, são adotados os seguintes procedimentos para preparação das amostras e enumeração de ovos de helmintos (AYRES & MARA, 1996):

- a) Coletar uma amostra de esgoto de volume conhecido (V litros) - usualmente 1 litro para esgoto bruto ou parcialmente tratado e 10 litros para esgoto tratado (ver nota 1).
- b) Deixar a amostra sedimentar em um béquer (esgoto bruto) ou em um balde (esgoto tratado). Usualmente, tem sido adotados tempos de sedimentação de cerca de 1 hora para o esgoto bruto e de 2 horas para o esgoto tratado (ver nota 2).
- c) Remover aproximadamente 90% do sobrenadante usando uma bomba de sucção ou um sifão, garantindo que fique no recipiente um volume de aproximadamente 100 mL para o esgoto bruto e de 1 L para o esgoto tratado. Inclinar o recipiente, caso necessário, tendo o cuidado para não ressuspender o sedimento.
- d) Transferir cuidadosamente o sedimento para os tubos da centrífuga, enxaguando o béquer e/ou balde com solução Triton (ou Tween). *Para qualquer transferência do sedimento de um recipiente para o outro, ou de um tubo para outro tubo, enxaguar com solução Triton (ou Tween).*

- e) Pesar todos os tubos ajustando-os simetricamente na centrífuga e proceder a centrifugação a 1000 g (ver nota 3) por 15 minutos.
- f) Após a primeira centrifugação, descartar o sobrenadante; transferir todos os sedimentos para um único tubo e centrifugar novamente a 1000 g (ver nota 3) por 15 minutos.
- g) Descartar o sobrenadante e ressuspender o sedimento contido no tubo utilizando um volume equivalente de solução tampão aceto-acética (pH 4,5), ou seja, para um volume do sedimento igual a 2 mL, adicionar 2 mL da solução tampão. Caso o volume do sedimento seja inferior a 2 mL, adicionar solução tampão até completar um volume de 4 mL. Este volume mínimo de 4 mL visa facilitar o descarte do sobrenadante obtido durante a etapa (i), sem provocar a ressuspensão do sedimento contendo os ovos.
- h) Complementar o preenchimento do tubo com a adição de um volume de éter (ou acetato de etila) correspondente a duas vezes o volume do sedimento e homogeneizar a amostra com equipamento tipo Vortex. Ex.: se o volume do sedimento for 2 mL, adicionar 4 mL de éter ou acetato de etila.
- i) Centrifugar a 1000 g (ver nota 3) por 15 minutos. Após a centrifugação a amostra apresentará três fases distintas: i) no fundo do tubo se concentrará todo o material não gorduroso e fragmentos pesados, incluindo os ovos de helmintos, larvas e protozoários; ii) uma fase intermediária contendo a solução tampão, que deverá ser clara (transparente); e iii) uma fase superior contendo a gordura e outros materiais, que juntamente com o éter (ou acetato de etila) formam uma camada tampão espessa e de cor escura.
- j) Descartar todo o sobrenadante com um único movimento firme e rápido, deixando no tubo apenas o sedimento (anotar o volume do sedimento). Caso seja necessário, desprender a camada tampão de cor escura com uma agulha fina, visando facilitar o descarte do sobrenadante.
- k) Adicionar um volume de solução de sulfato de zinco igual a 5 vezes o volume do sedimento (ex.: se o volume do sedimento for igual a 1 mL, adicionar 5 mL da solução de sulfato de zinco). Anotar o volume do produto final, incluindo o sedimento e o sulfato de zinco (X mL) e homogeneizar a amostra com equipamento tipo Vortex.
- l) Remover, rapidamente, uma alíquota da amostra final com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e transferir para a câmara de McMaster. Deixar a câmara de contagem em repouso por 5 minutos para permitir que os ovos flutuem e atinjam a superfície do retículo de contagem.

- m) Examinar no microscópio em objetivas de 10x ou 40x e contar todos os ovos que estão dentro do retículo (ver nota 4). Para uma melhor precisão na enumeração dos ovos de helmintos, deve-se fazer a leitura de mais de uma câmara, preferencialmente três, e calcular a média aritmética das contagens obtidas (ver expressão de cálculo – item 4.3.6).

**Notas:**

- (1) O método é muito eficiente quando utilizado para esgotos brutos, os quais usualmente apresentam uma elevada concentração de ovos de helmintos. Para esgotos tratados, no entanto, o número de ovos tende a ser muito baixo; nestes casos, o volume da amostra deve ser aumentado pelo menos para 10 litros, objetivando uma melhor recuperação dos ovos. Caso o número de ovos de helmintos no esgoto bruto também seja baixo, deve-se aumentar o volume da amostra de 1 para 5 litros
- (2) Dependendo da altura do recipiente utilizado, o período de sedimentação dos ovos deve ser aumentado. A lei de Stokes' pode ser utilizada para se estimar as taxas de sedimentação dos ovos de nematoda em águas residuárias, conforme a seguir: (taxas usualmente adotadas, para uma temperatura de 20<sup>o</sup> C):
  - *Ascaris lumbricoides*: 20 mm/min
  - *Trichuris trichiura*: 16 mm/min
  - Ancilostomídeos: 6 mm/min

Para garantir uma maior recuperação dos ovos, é recomendado que o tempo de sedimentação adotado seja pelo menos o dobro do tempo de sedimentação teórico (calculado de acordo com a lei de Stokes'). A experiência dessa pesquisa indicou que tempos de sedimentação ainda maiores favorecem uma maior recuperação dos ovos.

- (3) a expressão que relaciona “g” com “rpm” é como a seguir:

$$rpm = \sqrt{\frac{k \cdot g}{r}}, \text{ onde: "k"} = 89.456 \text{ e "r"} \text{ é o raio da centrífuga (distância entre o eixo da centrífuga e o centro do recipiente), em cm}$$

- (4) se a quantidade de ovos de helmintos contidos dentro do retículo for zero, deve-se contar os eventuais ovos de helmintos que poderão estar fora do retículo.

#### 4.3.6 Expressão de resultados

O número final de ovos da amostra de esgotos deve ser calculado por meio da seguinte equação:

$$N = \frac{A \times X}{P \times V}$$

onde:

N = número de ovos (ovos/litro)

A = número médio de ovos contados nas câmaras de McMaster (no. de ovos)

X = volume do produto final (mL)

P = volume da câmara de McMaster (para câmara de dois retículos P = 0,30 mL; para câmara de um retículo P = 0,15 mL)

V = volume original da amostra (ver item 4.3.5 - procedimento "a" )

### 4.3.7 Ilustração fotográfica dos procedimentos

Alguns dos procedimentos para preparação das amostras e enumeração dos ovos de helmintos são ilustrados a seguir:



Figura 4.7 – Remoção do sobrenadante após o período de sedimentação (procedimentos "b" e "c" do item 4.3.5)



Figura 4.8 – Etapas de centrifugação (procedimentos "e", "f" e "i" do item 4.3.5)



Figura 4.9 – Separação de Fases da amostra (procedimento "i" do item 4.3.5)



Figura 4.10 – Homogeneização da amostra c/ Vortex (procedimentos "h" e "k" do item 4.3.5)

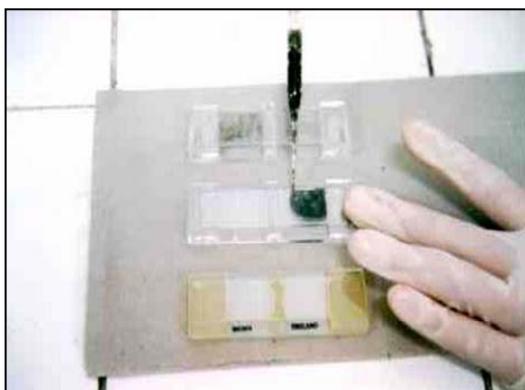


Figura 4.11 – Transferência do sedimento homogeneizado para a câmara de McMaster (procedimento "l" do item 4.3.5)



Figura 4.12 – Observação dos ovos no microscópio, em objetivas de 10x e 40x (procedimento "m" do item 4.3.5)

#### **4.4 Análises parasitológicas – identificação de ovos de helmintos**

##### **4.4.1 Considerações preliminares**

As águas residuárias podem conter uma variedade de ovos de helmintos provenientes das fezes humanas. No entanto, as águas residuárias também podem apresentar, com frequência, ovos de parasitos de animais como de porcos, ratos, cachorros e pássaros, juntamente com os ovos de parasitos intestinais humanos. Nesse sentido, a correta identificação dos ovos de helmintos deve ser realizada baseando-se principalmente nas suas características morfológicas e de tamanho. Para tal, torna-se indispensável proceder à medição exata dos ovos utilizando-se um microscópio calibrado, de forma a se conseguir a correta identificação e diferenciação dos ovos de helmintos presentes na amostra. Isso porque o tamanho dos ovos é um dos principais critérios que diferencia a classificação das espécies de parasitos.

##### **4.4.2 Critérios para diferenciação de ovos de helmintos**

A identificação dos ovos de helmintos é baseada principalmente no tamanho e na identificação de características morfológicas específicas dos ovos, tais como: forma; conteúdo do ovo; espessura da membrana externa (casca) etc. São os seguintes os principais critérios para identificação dos ovos (STOTT, 1998):

- tamanho: os ovos de helmintos variam em comprimento de pequenos (18  $\mu\text{m}$ ) a grandes (150  $\mu\text{m}$  ou maiores) e possuem diâmetros tão pequenos como 12 a 14  $\mu\text{m}$  (como é o caso de alguns ovos de trematódeos) a 90  $\mu\text{m}$  ou mais (caso dos maiores ovos de trematódeos);
- forma: os ovos de helmintos podem ser de forma esférica ou oval, embora alguns poucos possam ser assimétricos;
- membrana externa: os ovos de helmintos usualmente apresentam parede externa lisa, variando na espessura, dependendo da espécie;
- conteúdo interno: os ovos recentemente excretados apresentam estágios de desenvolvimento que são característicos para cada espécie. Em sua maioria, os ovos de nematóides não se apresentam embrionados quando liberados com as fezes;
- várias modificações da estrutura dos ovos também se constituem ferramentas importantes de identificação, a exemplo de: protuberâncias, espinhos, rolhas polares e opérculos.

Um resumo das principais características que auxiliam na diferenciação dos ovos de helmintos é apresentado na Tabela 4.7. Na Figura 4.13 são apresentados os tamanhos relativos dos ovos de helmintos.

Tabela 4.7 – Principais características de alguns ovos de helmintos

Ovo	Tamanho	Principais características
<i>Ascaris lumbricoides</i> (fértil)	55 a 75 $\mu\text{m}$ x 35 a 50 $\mu\text{m}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ forma: esférica ou oval</li> <li>▪ cor: castanho-amarelada</li> <li>▪ possui membrana mamilonada (alguns ovos podem apresentar-se sem essa membrana – ovo descorticado)</li> <li>▪ casca espessa</li> </ul>
<i>Ascaris lumbricoides</i> (infértil)	85 a 95 $\mu\text{m}$ x 43 a 47 $\mu\text{m}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ forma: alongada</li> <li>▪ membrana mamilonada delgada</li> </ul>
<i>Trichuris trichiura</i>	50 a 55 $\mu\text{m}$ x 22 a 24 $\mu\text{m}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ forma: aspecto típico de um pequeno barril</li> <li>▪ cor: castanho</li> <li>▪ possui duas rolhas polares</li> <li>▪ possui duas membranas</li> </ul>
Ancilostomídeo	<i>Ancylostoma duodenale</i> : em torno de 60 $\mu\text{m}$ <i>Necator americanus</i> : em torno de 70 $\mu\text{m}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ forma: ovóide ou elíptica</li> <li>▪ sem segmentação ou clivagem</li> <li>▪ entre a casca e a célula-ovo há sempre um espaço claro que diminui à medida que avança a segmentação</li> <li>▪ membrana fina e transparente envolvida por uma linha preta</li> </ul>
<i>Enterobius vermicularis</i>	50 a 60 $\mu\text{m}$ x 20 a 32 $\mu\text{m}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ membrana dupla, lisa e transparente</li> <li>▪ ligeiramente achatados de um lado</li> <li>▪ possui no seu interior uma larva já formada</li> </ul>
<i>Hymenolepis diminuta</i>	70 a 80 $\mu\text{m}$ de diâmetro	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ forma: aproximadamente esférica</li> <li>▪ apresentam dupla casca</li> <li>▪ não possuem filamentos dispostos no espaço que separa a casca interna da externa</li> <li>▪ oncosfera típica, com seus três pares de acúleos, estando envolvida por duas membranas</li> </ul>
<i>Hymenolepis nana</i>	30 a 47 $\mu\text{m}$ de diâmetro	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ forma: ovóide ou arredondada</li> <li>▪ cor: transparente</li> <li>▪ oncosfera típica, com seus três pares de acúleos, estando envolvida por duas membranas</li> <li>▪ possuem filamentos polares</li> </ul>
<i>Taenia</i> sp	30 $\mu\text{m}$ de diâmetro	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ forma: esférica</li> <li>▪ possui uma casca protetora denominada embrióforo</li> <li>▪ dentro do embrióforo se encontra a oncosfera ou embrião hexacanto com dupla membrana e três pares de acúleos</li> </ul>

Fonte: REY (1991)

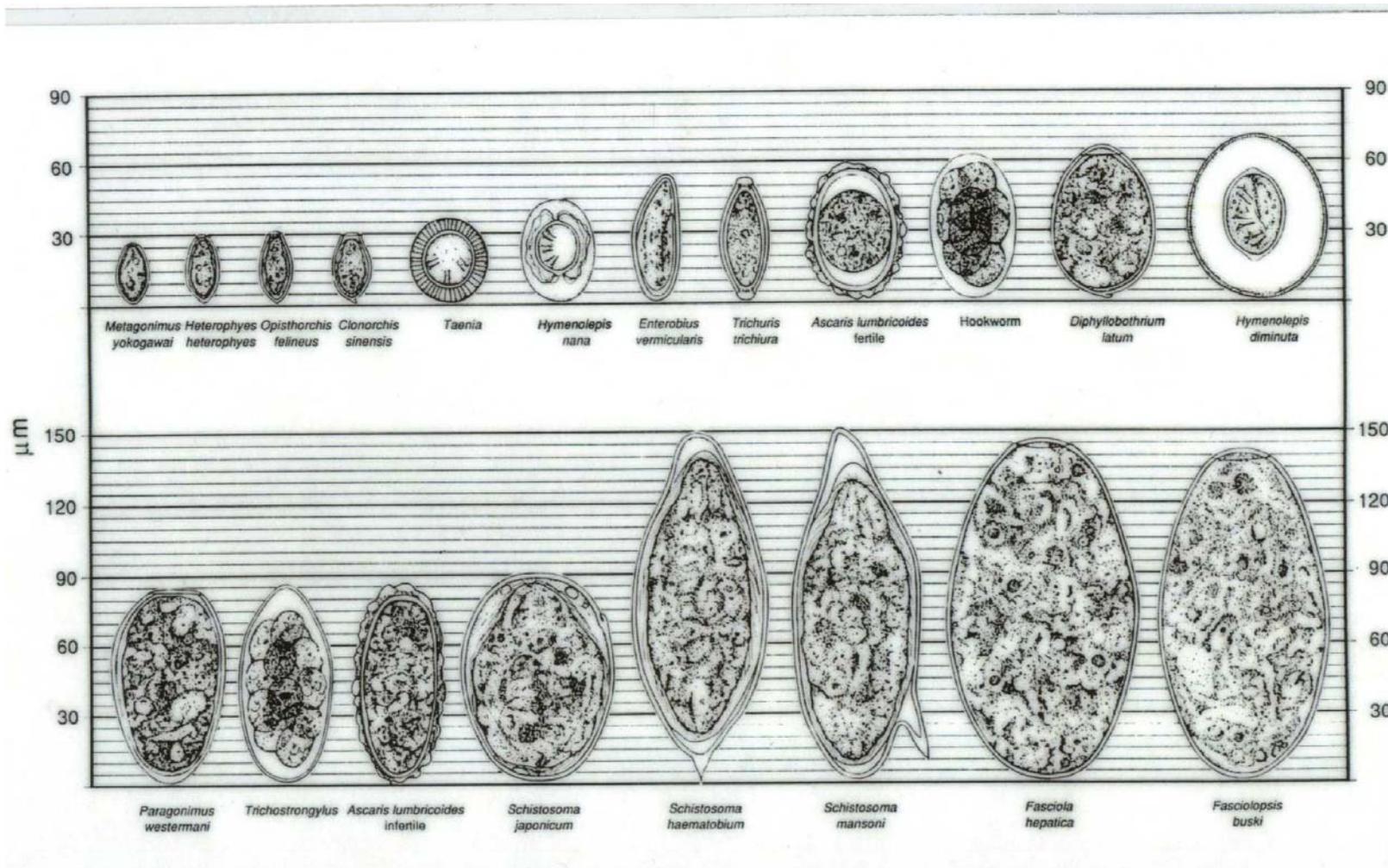


Figura 4.13 - Tamanhos relativos dos ovos de helmintos  
Fonte: WHO (1994)

#### 4.4.3 Ilustração fotográfica de ovos de helmintos

Alguns dos ovos de helmintos, usualmente encontrados em águas residuárias brutas e tratadas, são ilustrados nas Figuras 4.14 a 4.21 (Fonte: AYRES & MARA ,1996).

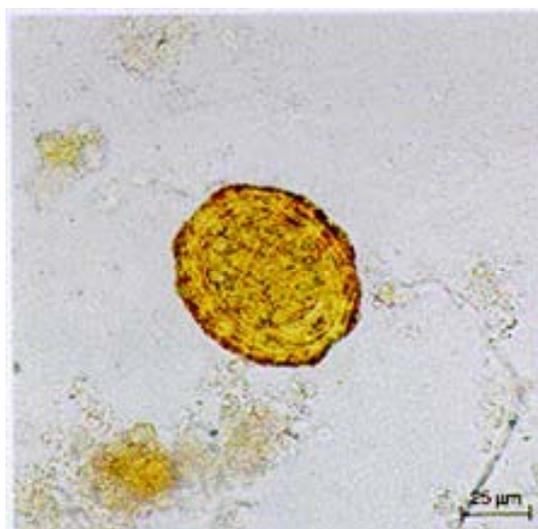


Figura 4.14 – Ovo fértil de *Ascaris lumbricoides*



Figura 4.15 – Ovo infértil de *Ascaris lumbricoides*

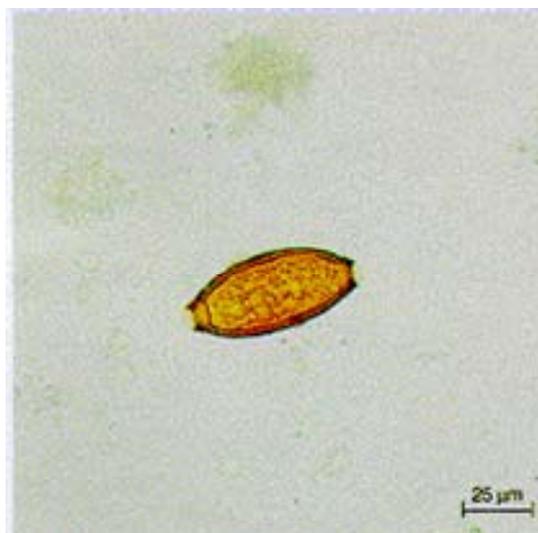


Figura 4.16 – Ovo de *Trichuris trichiura*

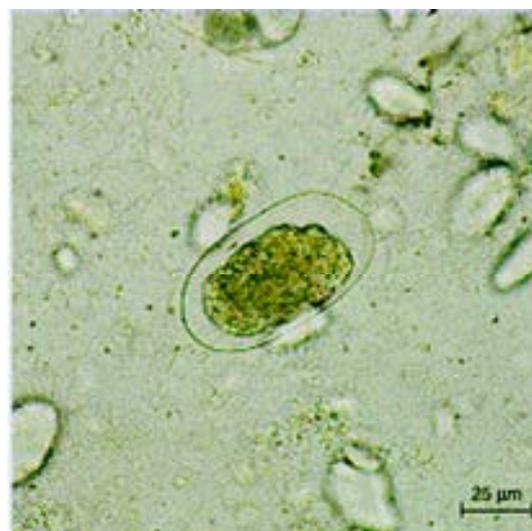


Figura 4.17 – Ovo de Ancilostomídeo

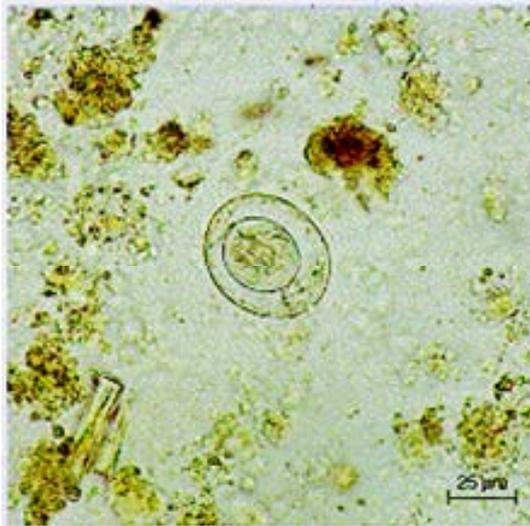


Figura 4.18 – Ovo de *Hymenolepis nana*



Figura 4.19 – Ovo de *Hymenolepis diminuta*

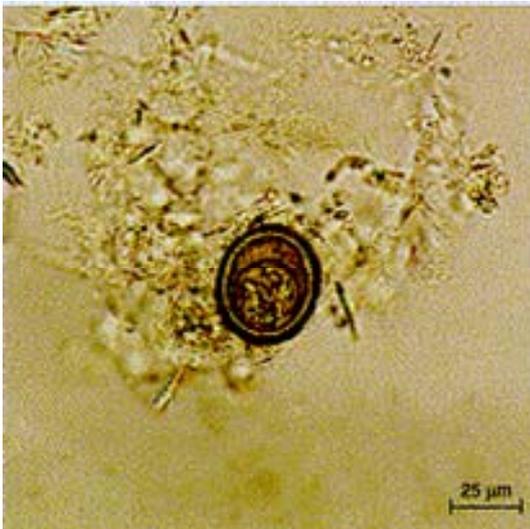


Figura 4.20 – Ovo de *Taenia* sp



Figura 4.21 – Ovo de *Enterobius vermicularis*

## **4.5 Análises de viabilidade em águas residuárias brutas**

### **4.5.1 Técnica da concentração por centrifugação**

Esta técnica é aplicada a águas residuárias brutas que contenham sólidos suspensos ou turbidez, com possíveis ocorrências de grandes quantidades de ovos de helmintos. A técnica também é aplicada a análises de sedimentos.

### **4.5.2 Fundamento**

A técnica consiste em centrifugações sucessivas da amostra com solução salina isotônica, permitindo assim o clareamento do sobrenadante. Após o descarte do sobrenadante, os ovos que se encontram no sedimento são recuperados por flutuação com solução de sulfato de zinco a 33,1% e o sobrenadante é filtrado em membrana de 25 mm e 8 µm de porosidade.

A contagem é realizada por observação microscópica da lâmina contendo a membrana corada com o corante biológico.

### **4.5.3 Equipamentos, materiais e reagentes**

- Centrífuga para operar a 1000 g
- Equipamento de filtração para membrana de 25 mm de diâmetro (Millipore ou equivalente)
- Microscópio com objetivas de 10x, 40x e 100x, com bom poder de resolução
- Equipamento tipo Vortex
- Membranas de éster de celulose de 25 mm de diâmetro e porosidade de 8 µm (Millipore ou equivalente)
- Frascos para centrífuga de 250 mL de capacidade
- Tubos para centrífuga de 50 mL de capacidade
- Garrafões de plástico com tampa de rosca e capacidade de 5 litros
- Lâminas e lamínulas
- Solução salina isotônica (NaCl a 0,85% em água destilada)

- Solução aquosa de 0,1% (p/v) de um dos seguintes corantes biológicos: Azul de Tripán, Safranina O, Eosina Y
- Solução aquosa de sulfato de zinco ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a 33,1% (p/v)
- Glicerol

#### 4.5.4 Preparação de soluções

São os seguintes os principais procedimentos para a preparação das soluções necessárias ao desenvolvimento das análises de viabilidade em esgotos brutos:

- Solução salina isotônica (NaCl a 0,85%): pesar 0,85 g de NaCl e diluir em água destilada até completar o volume de 100 mL de solução
- Solução aquosa de 0,1% (p/v) de Safranina O: pesar 0,1 g do corante Safranina e dissolver em água destilada até completar o volume de 100 mL de solução
- Solução aquosa de sulfato de zinco ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a 33,1% (p/v): pesar 33,1 g de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e dissolver em água destilada até completar o volume de 100 mL de solução

#### 4.5.5 Coleta de amostras

Coletar 5 litros da amostra no ponto em que se encontra mais homogênea (representativa). Caso o líquido amostrado esteja parado ou com pouco movimento, coletar também o sedimento e processá-lo pelo mesmo método.

Tampar os recipientes e transportá-los ao laboratório, se possível preservados com gelo. As amostras deverão ser analisadas preferencialmente logo após a coleta ou, eventualmente, em um prazo máximo de 48 horas. Caso não seja possível a análise neste período (48 horas), as amostras deverão ficar armazenadas sob refrigeração por um período máximo de 15 dias.

#### 4.5.6 Procedimento

Para amostras contendo grandes quantidades de detritos/sólidos grosseiros, homogeneizar a mesma com um bastão de vidro e filtrar através de uma gaze. Lavar perfeitamente os sólidos que ficarem aderidos à gaze e processar 1 litro da amostra de acordo com os seguintes passos:

- a) Distribuir a amostra em frascos de centrífuga e proceder a centrifugação a 1000 g durante 5 minutos; descartar o sobrenadante, ressuspender os sedimentos em solução salina isotônica e agitar com o equipamento tipo Vortex. Transferir o sedimento para um ou dois tubos de centrífuga. Centrifugar novamente a 1000 g durante 5 minutos e descartar o sobrenadante; repetir o procedimento até obter um sobrenadante claro (geralmente são necessárias de duas a três centrifugações).
- b) Após descartar o sobrenadante da última etapa de centrifugação, transferir todo o sedimento restante para um tubo de centrífuga de 50 mL de capacidade. Utilizar solução de sulfato de zinco para auxiliar na lavagem do tubo e transferência do sedimento.
- c) Adicionar mais solução de sulfato de zinco até completar o volume de 25 mL e agitar com Vortex. Completar novamente com sulfato de zinco até obter o volume final de 50 mL e agitar novamente com Vortex. Centrifugar a 1000 g durante três minutos.
- d) Transferir o sobrenadante para o recipiente de filtração a vácuo e proceder a filtração em membrana de 25 mm e porosidade de 8  $\mu\text{m}$ .

*Nota: Tendo em vista a eventual dificuldade de filtração, devido à porosidade, ao tamanho da membrana e ao teor de sólidos presentes na amostra, pode-se tornar necessária a filtração de alíquotas menores, utilizando-se várias membranas.*

- e) Ao término da filtração, adicionar 5 mL do corante selecionado e filtrar lentamente. Retirar a membrana colocá-la sobre um papel filtro para perder o excesso de umidade (no máximo por dois minutos).
- f) Colocar uma gota de glicerol na lâmina e espalhar sobre uma área correspondente ao tamanho da membrana (aprox. 25 mm de diâmetro). Colocar a membrana com cuidado, sobre o glicerol, para que não apareçam bolhas de ar; adicionar outra gota de glicerol, sobre a membrana, e espalhar com cuidado; colocar a lamínula e esperar até que a membrana fique transparente, para permitir uma boa visualização dos ovos. Caso se deseje acelerar este processo, deve-se colocar a lâmina na incubadora a 37<sup>0</sup>C.
- g) Observar ao microscópio usando objetivas de 10x e 40x de aumento. Se desejar um maior aumento, observar com objetiva de 100x, aplicando uma gota de óleo de imersão.

#### 4.5.7 Expressão dos resultados

Para cada lâmina, contar o número de ovos corados (*ovos não-viáveis*) e não corados (*ovos viáveis*) e expressar o percentual de ovos viáveis, por litro de amostra.

Lâmina <sup>(a)</sup>	Número de ovos (Nº/L)			Percentual de ovos não corados (viáveis)
	Corados (1)	Não corados (2)	Total (3)	(2)/(3)
1				-
2				-
3				-
4				-
5				-
				-
Total				
Média				

Notas:

- a) O número de lâminas pode ser bastante variável, dependendo das características de filtrabilidade do esgoto.
- b) Os resultados obtidos por meio da técnica de coloração devem ser usados apenas para expressar a fração de ovos viáveis e não-viáveis.
- c) Para a enumeração/quantificação de ovos de helmintos, deve-se utilizar o método de BAILENGER, modificado por AYRES & MARA (1996), conforme descrito no item 4.3.
- d) Para se saber o número de ovos viáveis na amostra processada, deve-se aplicar o percentual de ovos viáveis (obtido pela técnica da coloração) sobre o número total de ovos da amostra (obtido pelo método de BAILENGER, modificado por AYRES & MARA (1996).

#### 4.5.8 Ilustração fotográfica dos procedimentos

Alguns dos procedimentos para preparação das amostras, visando a análise/quantificação de ovos de helmintos viáveis, em esgoto bruto, são ilustrados a seguir:

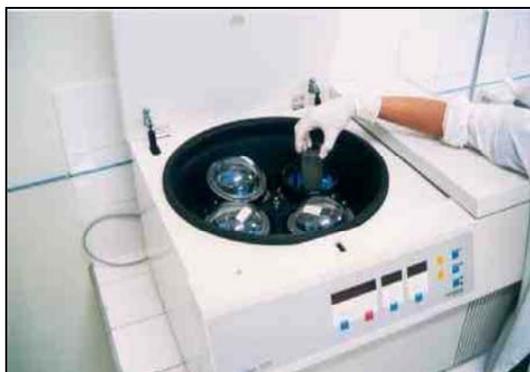


Figura 4.22 – Concentração da amostra por centrifugação.  
(procedimento “a” do item 4.5.6)



Figura 4.23 – Homogeneização da amostra com Vortex.  
(procedimentos “a” e “c” do item 4.5.6)



Figura 4.24 – Nova centrifugação.  
(procedimentos “a” e “c” do item 4.5.6)



Figura 4.25 – Filtração do sobrenadante em membrana de 25 mm e 8  $\mu$ m.  
(procedimento “d” do item 4.5.6)



Figura 4.26 – Adição de 5 mL do corante Safranina.  
(procedimento “e” do item 4.5.6)

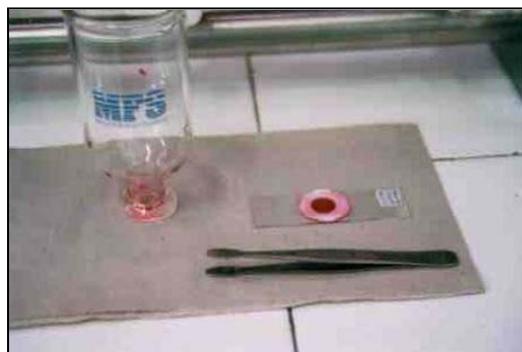


Figura 4.27 – Lâmina contendo a membrana para visualização no microscópio.  
(procedimento “f” do item 4.5.6)

## **4.6 Análise de viabilidade em águas residuárias tratadas**

### **4.6.1 Técnica de concentração por filtração**

Esta técnica foi desenvolvida e validada originalmente para ser aplicada em águas naturais e de abastecimento, entretanto foi comprovado que pode ser aplicada também para águas residuárias tratadas, que contenham pouca turbidez e sólidos suspensos, e baixas concentrações de ovos de helmintos.

### **4.6.2 Fundamento**

A técnica é baseada na concentração da amostra por filtração a vácuo, através de uma membrana de éster de celulose de 47 mm, com porosidade de 8 µm. Os ovos aderidos à membrana são recuperados por flutuação com solução de sulfato de zinco a 33,1%; a contagem é realizada por observação microscópica direta da membrana tingida com o corante biológico.

### **4.6.3 Equipamentos, materiais e reagentes**

- Equipamento de filtração para membrana de 47 mm de diâmetro
- Equipamento de filtração para membrana de 25 mm de diâmetro
- Sistema de vácuo (para operar até 40 cm Hg)
- Centrífuga para operar a 1000 g
- Microscópio com objetivas de 10x, 40x e 100x, com um bom poder de resolução
- Membranas de éster de celulose de 47 mm de diâmetro e 8 µm de porosidade (Millipore ou equivalente)
- Membranas de éster de celulose de 25 mm de diâmetro e 8 µm de porosidade (Millipore ou equivalente)
- Tubos para centrífuga de 50 mL de capacidade
- Garrafões de plástico com tampa de rosca e capacidade de 5 e 10 litros
- Lâminas e lamínulas
- Solução salina isotônica (NaCl a 0,85% em água destilada)

- Solução aquosa a 0,1% (p/v) de um dos seguintes corantes biológicos: Azul de Tripán, Safranina O, Eosina Y
- Solução aquosa de sulfato de zinco ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a 33,1% (p/v)
- Glicerol

#### 4.6.4 Preparação de soluções

São os seguintes os principais procedimentos para a preparação das soluções necessárias ao desenvolvimento das análises de viabilidade em efluentes tratados:

- Solução salina isotônica (NaCl a 0,85%): pesar 0,85 g de NaCl e diluir em água destilada até completar o volume de 100 mL de solução.
- Solução aquosa de 0,1% (p/v) de Safranina O: pesar 0,1 g do corante Safranina e dissolver em água destilada até completar o volume de 100 mL de solução.
- Solução aquosa de sulfato de zinco ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a 33,1% (p/v): pesar 33,1 g de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e dissolver em água destilada até completar o volume de 100 mL de solução.

#### 4.6.5 Coleta de amostras

Para fontes de abastecimento público, poços, mananciais e águas com baixos teores de turbidez e sólidos suspensos, coletar uma amostra com volume de 10 litros. Para águas residuárias tratadas, coletar uma amostra com volume de 5 litros.

Tampar os recipientes e transportá-los ao laboratório, se possível preservados com gelo. As amostras deverão ser analisadas preferencialmente logo após a coleta ou, eventualmente, em um prazo máximo de 48 horas. Caso não seja possível a análise neste período (48 horas), as amostras deverão ficar armazenadas sob refrigeração por um período máximo de 15 dias.

#### 4.6.6 Procedimento

Para amostras contendo grandes quantidades de detritos/sólidos grosseiros, misturar a mesma com um bastão de vidro e filtrar através de uma gaze. Lavar perfeitamente os sólidos que ficarem aderidos à gaze e processar 1 litro da amostra de acordo com os seguintes passos:

*Nota: Para os casos de amostras que contenham muitos sólidos, pode se tornar necessário centrifugar as mesmas algumas vezes, com solução salina e com descartes sucessivos do sobrenadante. Nesses casos, deve-se eliminar os procedimentos (a) e (b) e iniciar pelo (c).*

- a) Homogeneizar a amostra e filtrar 1 litro em membrana de 47 mm de diâmetro e porosidade de 8  $\mu\text{m}$ , aplicando um vácuo máximo de 40 cm de Hg. Ao término da filtração, lavar as paredes dos recipientes de filtração com solução salina isotônica e filtrar essa água de lavagem na mesma membrana.
- b) Após a filtração, retirar a membrana e colocá-la sobre a parede interna de um tubo de centrífuga e raspar com uma espátula; lavar a membrana e a espátula com solução de sulfato de zinco.
- c) Adicionar sulfato de zinco gradativamente (agitando perfeitamente em cada adição) até completar o volume de 50 mL. Centrifugar a 1000 g durante três minutos.
- d) Transferir o sobrenadante para o recipiente de filtração com uma membrana de 25 mm de diâmetro e 8  $\mu\text{m}$  de porosidade. Filtrar aplicando pouca pressão.
- e) Ao término da filtração, adicionar 5 mL do corante selecionado e filtrar lentamente. Retirar a membrana colocá-la sobre um papel filtro para perder o excesso de umidade (no máximo por dois minutos).
- f) Espalhar uma gota de glicerol na lâmina; colocar a membrana e adicionar outra gota de glicerol e cobrir com uma lamínula e esperar até que a membrana fique transparente, permitindo assim uma melhor visualização dos ovos (se desejar acelerar o processo deve-se colocar a lâmina na incubadora a 37  $^{\circ}\text{C}$ ).
- g) Observar no microscópio com objetiva de 10x e 40x.

#### 4.6.7 Expressão dos resultados

Para cada lâmina, contar o número de ovos corados (*ovos não-viáveis*) e não corados (*ovos viáveis*) e expressar o percentual de ovos viáveis, por litro de amostra.

Lâmina <sup>(a)</sup>	Número de ovos (Nº/L)			Percentual de ovos não corados (viáveis) (2)/(3)
	Corados (1)	Não corados (2)	Total (3)	
1				-
2				-
3				-
4				-
5				-
				-
Total				
Média				

Notas:

- O número de lâminas pode ser bastante variável, dependendo das características de filtrabilidade do esgoto.*
- Os resultados obtidos por meio da técnica de coloração devem ser usados apenas para expressar a fração de ovos viáveis e não-viáveis.*
- Para a enumeração/quantificação de ovos de helmintos, deve-se utilizar o método de BAILENGER, modificado por AYRES & MARA (1996), conforme descrito no item 4.3.*
- Para se saber o número de ovos viáveis na amostra processada, deve-se aplicar o percentual de ovos viáveis (obtido pela técnica da coloração) sobre o número total de ovos da amostra (obtido pelo método de BAILENGER, modificado por AYRES & MARA (1996)).*

#### 4.6.8 Ilustração fotográfica dos procedimentos

Alguns dos procedimentos para preparação das amostras, visando a análise/quantificação de ovos de helmintos viáveis, em esgoto tratado, são ilustrados a seguir:



Figura 4.28 – Filtração de 1 L da amostra em membrana de 47 mm e 8 µm. (procedimento “a” do item 4.6.6)



Figura 4.29 – Membrana contendo material filtrado (ovos).



Figura 4.30 – Transferência do material (ovos) para o tubo da centrífuga. (procedimento “b” do item 4.6.6)

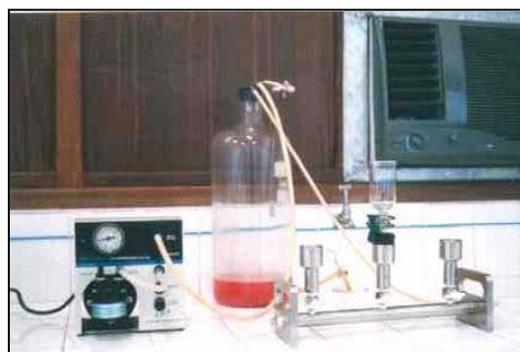


Figura 4.31 – Filtração do sobrenadante em membrana de 25 mm e 8 µm. (procedimento “d” do item 4.6.6).

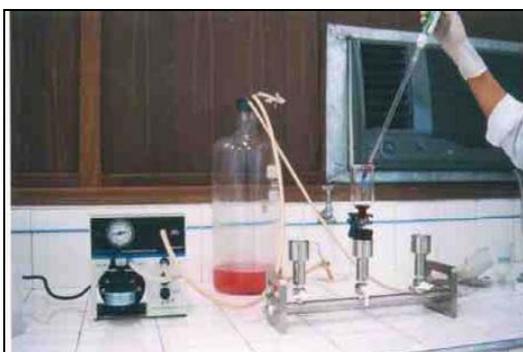


Figura 4.32 – Adição de 5 mL do corante Safranina, seguida de filtração. (procedimento “e” do item 4.6.6)

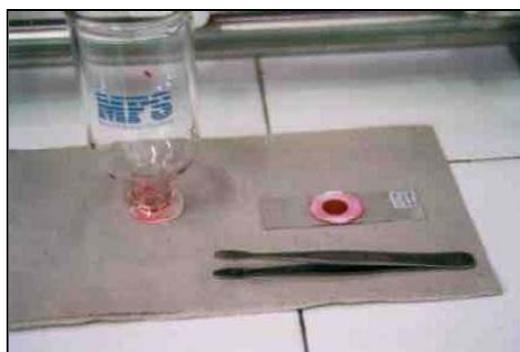


Figura 4.33 – Lâmina contendo a membrana para visualização ao microscópio. (procedimento “f” do item 4.6.6).

#### 4.7 Ilustração fotográfica de ovos de helmintos pela técnica da coloração

Ilustrações de ovos viáveis e não-viáveis, identificados de acordo com a técnica da coloração são apresentados nas Figuras 4.34 a 4.37 (Fonte: ROJAS *et al.*, 1998)

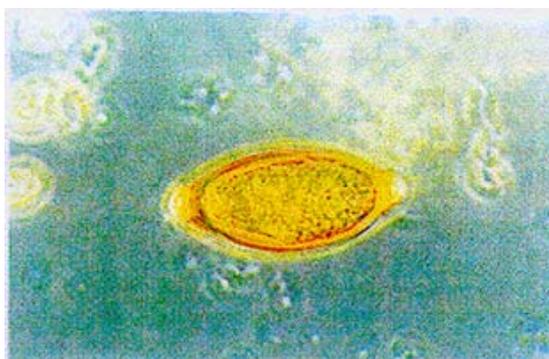


Figura 4.34 – Ovo viável de *Trichuris trichiura* corado com Azul de Tripan

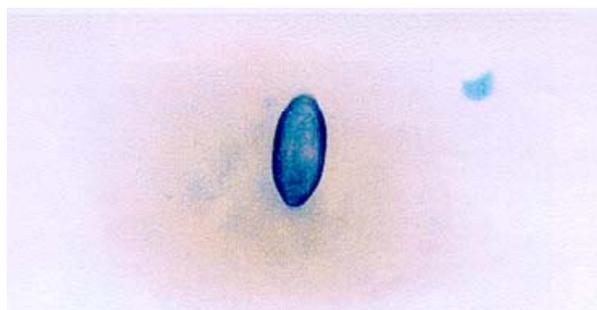


Figura 4.35 – Ovo não viável de *Trichuris trichiura* corado com Azul de Tripan

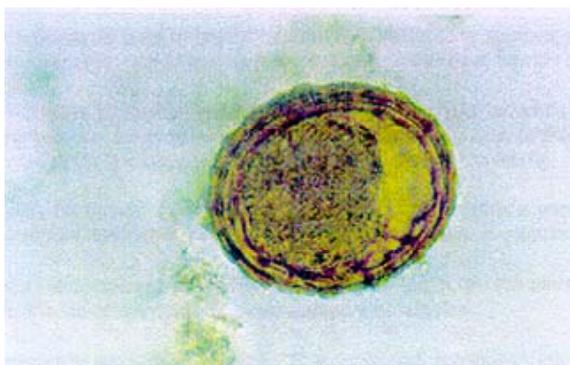


Figura 4.36 – Ovo viável de *Ascaris lumbricoides* corado com Azul de Tripan

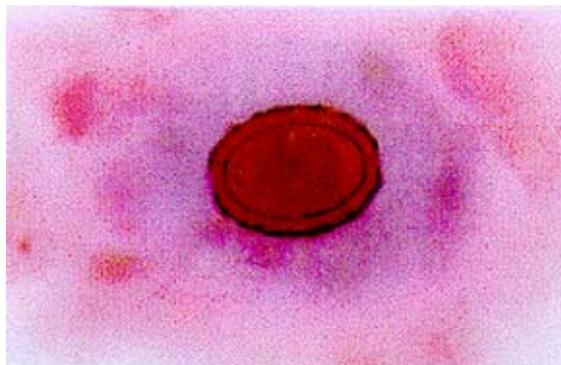


Figura 4.37 – Ovo não-viável de *Ascaris lumbricoides* corado com Eosina Y

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Ovos de helmintos

#### 5.1.1 Remoção de ovos de helmintos no sistema de tratamento

##### 5.1.1.1 Fase 1

Os resultados globais de contagem e identificação de ovos de helmintos da Fase 1 encontram-se na Tabela A.1 (Anexo). No GRÁFICO 5.1 é mostrada a distribuição temporal das contagens de ovos de helmintos obtidas durante todo o período experimental da Fase 1, que se estendeu por mais de 250 dias.

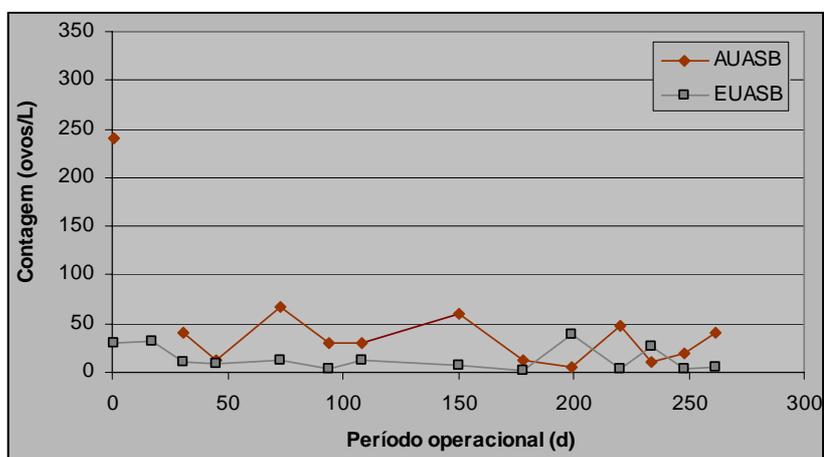


GRÁFICO 5.1 – Contagem de ovos de helmintos no esgoto bruto e no efluente do reator anaeróbio (Fase 1)

Pode-se observar que nas amostras de esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) foram encontrados valores de ovos de helmintos que usualmente estiveram abaixo de 50 ovos/L, porém com muitas oscilações ao longo da pesquisa. Os valores máximo e mínimo obtidos foram de 240 e 5 ovos/L, respectivamente, com uma média aritmética de 47,3 ovos/L.

No efluente do reator UASB ( $E_{UASB}$ ) foram obtidas contagens bem mais reduzidas, freqüentemente abaixo de 15 ovos/L, com valores máximo e mínimo de 39 e 2 ovos/L, respectivamente. A média geral foi de 13,9 ovos/L, representando uma eficiência de remoção, no reator UASB, da ordem de 71%.

No efluente final das rampas de escoamento superficial no solo não foram observados ovos de nematóides ou de cestóides. Há que se destacar, no entanto, que a contagem “zero” não

garante que o efluente final das rampas esteja completamente livre de ovos de helmintos, tendo em vista que nenhuma das metodologias de enumeração garante um percentual de recuperação de 100% dos ovos eventualmente presentes na amostra processada. Ver discussão sobre a qualidade do efluente final e possibilidade de reúso no item 5.3.

#### 5.1.1.2 Fase 2

Os resultados globais de contagem e identificação de ovos de helmintos da Fase 2 encontram-se na Tabela A.2 (Anexo). No GRÁFICO 5.2 é mostrada a variação temporal das contagens de ovos de helmintos obtidas durante todo o período experimental da Fase 2, que se estendeu por 321 dias.

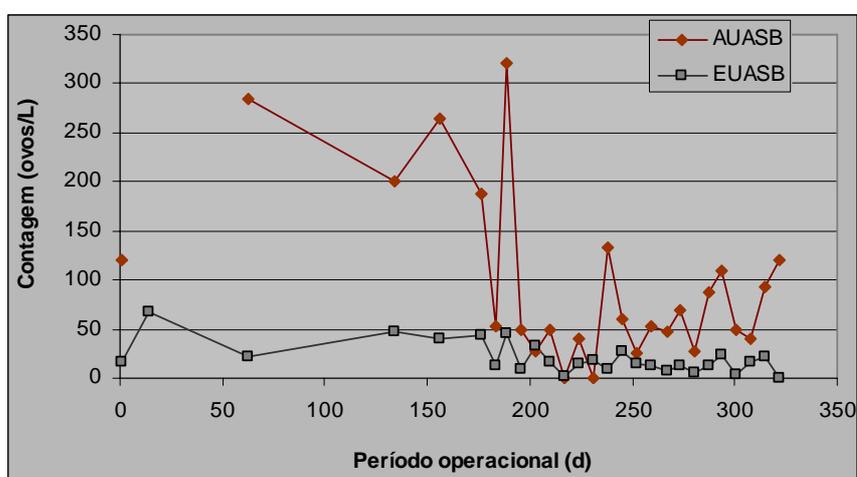


GRÁFICO 5.2 – Contagens de ovos de helmintos no esgoto bruto e no efluente do reator anaeróbico (Fase 2)

Pela análise do GRÁFICO 5.2 pode-se observar que durante os primeiros 200 dias da Fase 2 foram obtidas concentrações bem mais elevadas de ovos de helmintos no esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ), em comparação com a Fase 1, com concentrações quase sempre acima de 120 ovos/L. Já no período subsequente, as concentrações variaram muito menos em amplitude, permanecendo usualmente entre 50 e 100 ovos/L. Os valores máximo e mínimo obtidos para a Fase 2 foram de 720 e 25 ovos/L, respectivamente, com uma média aritmética de 119,6 ovos/L, enquanto que durante a Fase 1, foi observada uma média aritmética de 47,3 ovos/L.

Aparentemente, não há explicações diretas para as maiores contagens de ovos de helmintos durante a Fase 2, no entanto, alguns fatores podem ter contribuído para isso:

- alteração do ponto de amostragem do esgoto bruto, da Fase 1 para a Fase 2. Na Fase 1, o esgoto bruto era coletado junto ao tratamento preliminar, próximo da calha Parshall, portanto antes do esgoto ter acesso ao poço de sucção da estação elevatória. Já na Fase 2, a amostragem do esgoto bruto foi feita junto à caixa de distribuição do reator UASB compartimentado, após a estação elevatória.
- acumulação de ovos juntamente com os sólidos que ficam retidos no poço de sucção da estação elevatória, abaixo do nível, ou fora da área, de bombeamento. Isso pode ocorrer devido à existência de “zonas mortas” no interior do poço, fazendo com que, durante um certo período (correspondente ao intervalo entre limpezas do poço de sucção), os ovos de helmintos fiquem retidos e não apareçam nas amostragens coletadas junto à linha de recalque. No entanto, caso essas limpezas não sejam feitas, pode ocorrer a acumulação excessiva de lodo e de ovos de helmintos no interior do poço e, eventualmente, o seu bombeamento até o ponto de amostragem do esgoto bruto.

No efluente do reator UASB ( $E_{UASB}$ ) foram obtidas contagens mais reduzidas, usualmente abaixo de 30 ovos/L, embora durante os primeiros 200 dias de operação do sistema tenham sido obtidas concentrações mais elevadas (próximas a 50 ovos/L). O valor máximo observado foi de 68 ovos/L e as contagens mínimas estiveram na faixa entre 0 e 2 ovos/L. A média aritmética foi de 20,5 ovos/L, enquanto que durante a Fase 1, foi observada uma média aritmética de 13,9 ovos/L. A eficiência de remoção no reator UASB foi da ordem de 82%. Resultados muito semelhantes foram obtidos por Van Haandel & Lettinga (1994), que observaram uma eficiência de remoção de ovos de helmintos em um reator UASB da ordem de 82%, durante um período de monitoramento de 30 semanas.

As possíveis causas que podem explicar as maiores concentrações de ovos de helmintos no efluente do reator UASB, em relação à Fase 1 são:

- elevado teor de ovos de helmintos no esgoto bruto, com o conseqüente aumento da acumulação de ovos no reator;
- baixo tempo de detenção hidráulica (TDH) no reator UASB, impondo elevadas velocidades ascensionais e maior perda de sólidos e ovos de helmintos, juntamente com o efluente final. Nos horários de pico de vazão, o TDH no reator foi inferior a 3 horas e a

velocidade ascensional superior a 1,0 m/h. No reator anaeróbio da Fase 1, o TDH médio foi de 13,5 h e a velocidade ascensional da ordem de 0,33 m/h (ver Tabela 4.1);

- elevados intervalos de descartes de lodo, implicando em elevado acúmulo de lodo e ovos no reator. Dada a pequena profundidade do reator (3 metros), o lodo e os ovos acumulados atingiam o compartimento de sedimentação e, devido às vazões de pico, ocorria a perda de sólidos e ovos com o efluente.

Na Fase 2, foi observada a presença de ovos de helmintos no efluente final das rampas de escoamento superficial no solo. apenas em 5 amostras, de um total de 27 amostragens efetuadas durante os 321 dias de operação do sistema. Nessas 5 amostras foi encontrada uma concentração média de 1,0 ovo/L, tendo sido as concentrações máxima e mínima iguais a 2 e 0,5 ovos/L, respectivamente. Considerando todo o período operacional da Fase 2, a concentração média foi de 0,2 ovo/L. Ver discussão sobre a qualidade do efluente final e possibilidade de reúso no item 5.3.

As primeiras amostras onde foram observados ovos de helmintos corresponderam ao período de mudança da cobertura vegetal das rampas, ou seja, não existia ainda uma cobertura vegetal densa, que é de essencial importância para o suporte de microrganismos. Nesse sentido, sem a cobertura vegetal totalmente estabelecida, a velocidade do fluxo foi possivelmente maior, favorecendo assim, o estabelecimento de caminhos preferenciais e o eventual carreamento de ovos de helmintos para o efluente final.

No entanto, mesmo depois da cobertura vegetal apresentar-se estabelecida e homogênea, foi ainda observada a presença de ovos de helmintos em algumas amostras do efluente final das rampas. Isso é um indicativo de que também o regime hidráulico transiente imposto às rampas durante a Fase 2 da pesquisa pode ter influenciado a ocorrência de ovos no efluente. Com a implantação do regime hidráulico transiente, a taxa de aplicação máxima foi da ordem de 0,86 m<sup>3</sup>/mxh, o que ocasionou o aumento da velocidade de percolação dos esgotos através do colo das gramíneas, dificultando a formação do filme biológico, o qual desempenha as funções de filtro biológico.

Outro aspecto que pode ter contribuído para a ocorrência de ovos de helmintos no efluente das rampas, durante a Fase 2, refere-se aos maiores valores médios encontrados no efluente do reator UASB durante a Fase 2 (20,5 ovos/L), em relação aos valores encontrados na Fase 1 (13,9 ovos/L). Essa maior concentração de ovos no efluente anaeróbio, juntamente com as

maiores taxas de vazão aplicadas às rampas, representa uma elevação substancial nas cargas de ovos que efetivamente chegaram até as rampas de escoamento superficial no solo.

No entanto, o método de escoamento superficial no solo é considerado o mais completo e o que apresenta melhor desempenho ao interagir com a natureza, vindo a apresentar condições renováveis de tratamento. O sentido de renovável está justamente relacionado à percolação dos esgotos entre o colo das plantas, que pode lavar o filme biológico, ou parte dele, arrastando os excessos, de modo a haver sempre a substituição por novas camadas biológicas. Talvez essa “lavagem” do filme biológico, ou arraste, seja natural nesse método de tratamento de esgotos, mas no presente caso, deve ter se tornado mais acentuada uma vez que as velocidades de percolação foram bem maiores que as usualmente praticadas. Com isso, pode ter havido o arraste de alguns ovos de helmintos, que apareceram no efluente final.

### 5.1.2 *Espécies de ovos de helmintos prevalentes*

#### 5.1.2.1 Fase 1

Os resultados globais de identificação de ovos de helmintos no sistema de tratamento de esgotos, bem como de suas frequências relativas de ocorrência encontram-se na Tabela A.1 (Anexo). A visualização dos resultados de frequências relativas e de espécies prevalentes para o esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) e para o efluente do reator UASB ( $E_{UASB}$ ) pode ser observada nos GRÁFICOS 5.3 e 5.4.

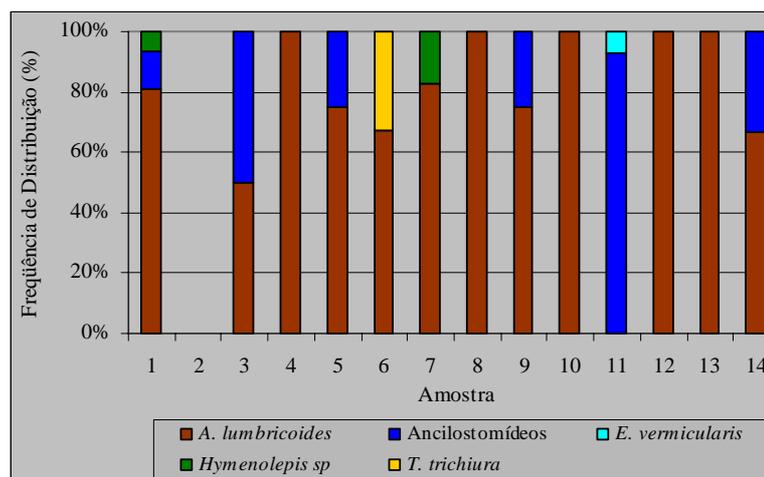


GRÁFICO 5.3 – Frequência de distribuição de ovos de helmintos no esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) – Fase 1

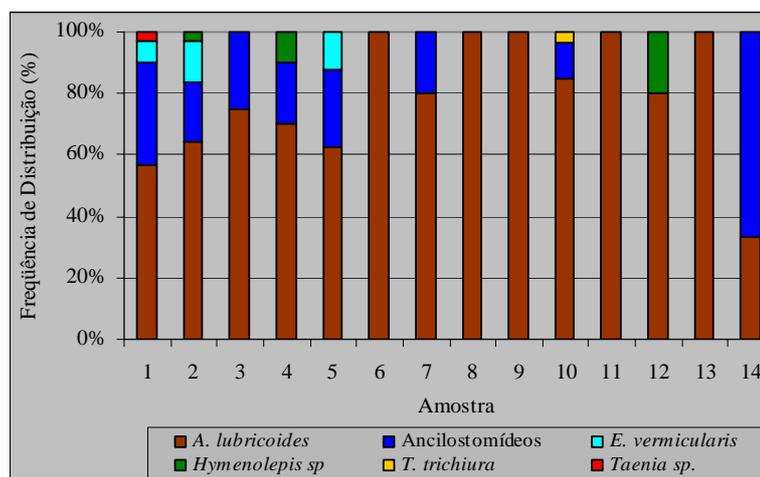


GRÁFICO 5.4 – Frequência de distribuição de ovos de helmintos no efluente UASB (EUASB) – Fase 1

Para o esgoto bruto foram encontrados ovos de nematóides (ancilostomídeos, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*) e de cestóides (*Hymenolepis* sp), com uma maior prevalência de ovos de *Ascaris lumbricoides* e de ancilostomídeos.

No efluente do reator anaeróbio, foram identificados de ovos de nematóides (ancilostomídeos, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *Enterobius vermicularis*) e de cestóides (*Hymenolepis* sp e *Taenia* sp). Os ovos de *Ascaris lumbricoides* e de ancilostomídeos apresentaram frequências de ocorrência superiores às dos demais ovos de helmintos.

No efluente final das rampas de escoamento superficial no solo não foram observados ovos de helmintos.

#### 5.1.2.2 Fase 2

Os resultados globais de identificação de ovos de helmintos no sistema de tratamento de esgotos, bem como de suas frequências relativas de ocorrência encontram-se na Tabela A.2 (Anexo). A visualização dos resultados de frequências relativas e de espécies prevalentes para o esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) e para o efluente do reator UASB ( $E_{UASB}$ ) pode ser observada nos GRÁFICOS 5.5 e 5.6.

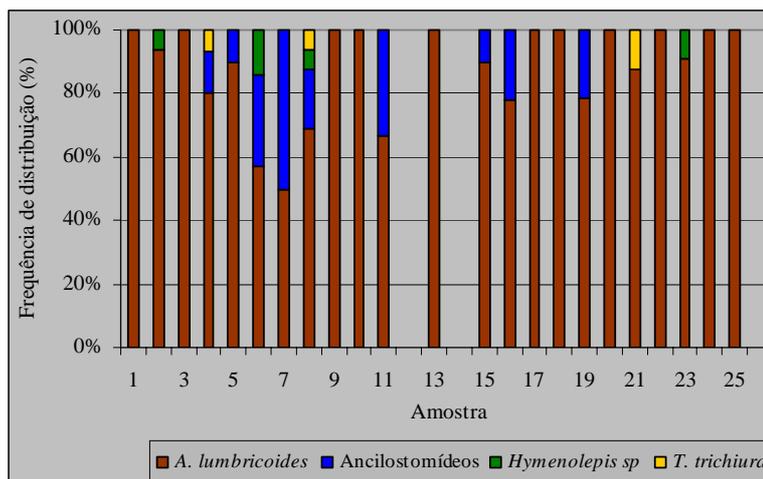


GRÁFICO 5.5 – Frequência de distribuição de ovos de helmintos no esgoto bruto (A<sub>UASB</sub>) – Fase 2

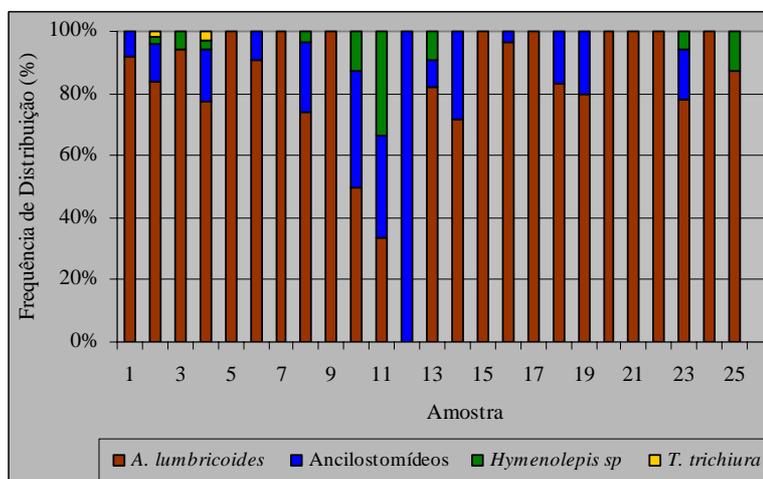


GRÁFICO 5.6 – Frequência de distribuição de ovos de helmintos no efluente UASB (EUASB) – Fase 2

No esgoto bruto foi observado ovos de nematóides (ancilostomídeos, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*) e de cestóides (*Hymenolepis sp*), com uma maior prevalência de ovos de *Ascaris lumbricoides* e de ancilostomídeos, conforme pode ser verificado pelo GRÁFICO 5.5.

No efluente do reator anaeróbio as análises de identificação mostraram a presença de ovos de nematóides (ancilostomídeos, *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*) e de cestóides (*Hymenolepis sp*). Os ovos de *Ascaris lumbricoides* e de ancilostomídeos apresentaram frequências de ocorrência superiores às dos demais ovos de helmintos, conforme pode-se verificar pelo GRÁFICO 5.6.

No efluente final das rampas de escoamento superficial no solo foram encontrados ovos dos nematóides (ancilostomídeos e *Ascaris lumbricoides*) mas, diferentemente do que ocorreu

com o esgoto bruto e com o efluente do reator UASB, com uma maior prevalência dos ovos de ancilostomídeos em relação aos ovos de *Ascaris lumbricoides*. Embora não se possa explicar com certeza o porque dessa maior prevalência de ovos de ancilostomídeos no efluente das rampas, é possível que isso tenha ocorrido em função desses ovos apresentarem uma velocidade de sedimentação inferior a dos ovos de *Ascaris* (ver Tabela 4.6). Com isso, os ovos de ancilostomídeos poderiam estar localizados na superfície da lâmina de esgoto, sendo arrastados mais facilmente para o efluente da rampa.

Pode-se observar que tanto para as amostras de esgoto bruto quanto para as amostras de efluente tratado, em ambas as Fases operacionais, as espécies prevalentes foram *Ascaris lumbricoides* e ancilostomídeos, todavia, com uma maior prevalência dos ovos de *Ascaris lumbricoides* em relação aos ovos de ancilostomídeos. Isso se deve ao fato da ascaridíase ser a mais cosmopolita e a mais freqüente das helmintíases humanas, com níveis elevados de ocorrência especialmente em crianças na faixa etária de 1 a 12 anos. Essas elevadas prevalências são observadas em várias regiões brasileiras, tanto nas cidades como nas zonas rurais, e também em nível mundial (ver GRÁFICO 1.1 - Capítulo 1). Os fatores mais importantes que interferem nessa alta prevalência são (NEVES *et al.*, 2000):

- grande número de ovos no peridomicílio, em decorrência do hábito que as crianças possuem de aí defecarem;
- grande concentração de indivíduos vivendo em condições precárias de saneamento básico;
- dispersão dos ovos através de moscas, chuvas e ventos (poeiras);
- viabilidade do ovo infectante que pode se estender por vários meses ou anos;
- grande produção de ovos pela fêmea;
- elevada umidade do ambiente.

### 5.1.2.3

Ilustração fotográfica das espécies prevalentes

As espécies prevalentes de ovos de helmintos identificados nos esgotos brutos e tratados são apresentadas nas Figuras 5.1 a 5.6.



Figura 5.1 – Ovo de *Ascaris lumbricoides*



Figura 5.2 – Ovo de Ancilostomídeo



Figura 5.3 – Ovo de *Hymenolepis nana*



Figura 5.4 – Ovo de *Hymenolepis diminuta*

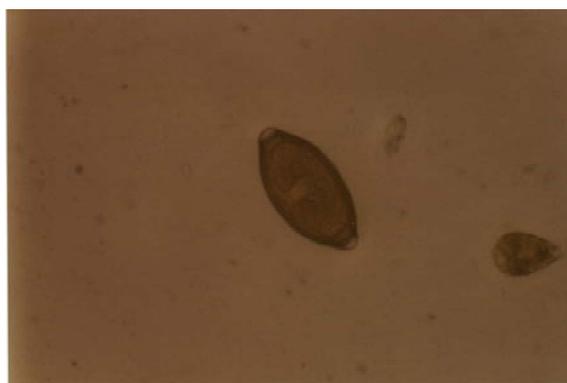


Figura 5.5 – Ovo de *Trichuris trichiura*



Figura 5.6 – Ovo de *Enterobius vermicularis*

### 5.1.3 Interferência dos sólidos sedimentáveis

A presença de sólidos sedimentáveis em excesso pode interferir nas análises de identificação e enumeração de ovos de helmintos, uma vez que esses sólidos conferem uma coloração escura à amostra e dificultam a visualização microscópica. Alguns estudos, como o desenvolvido por CRISPIM *et al.* (1994), indicam que os procedimentos do método recomendado pela OMS (BAILENGER modificado por AYRES & MARA, 1996) favorecem a separação dos ovos, da camada de detritos e gorduras, possibilitando assim a sua análise. De acordo com esse estudo, foi possível examinar amostras de esgoto bruto com valores de sólidos sedimentáveis de até 11 mL/L.

No presente trabalho, buscou-se avaliar a existência de alguma correlação entre os teores de sólidos sedimentáveis e as quantidades de ovos de helmintos nas amostras correspondentes. Dessa forma, para as amostras com elevados teores de sólidos sedimentáveis, seriam supostamente esperadas baixas contagens de ovos de helmintos, devido às possíveis interferências dos sólidos, não separados durante o preparo da amostra, que dificultariam a visualização dos ovos.

#### 5.1.3.1 Fase 1

No esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) o valor máximo de sólidos sedimentáveis foi de 14,0 mL/L e o valor mínimo correspondeu a 0,8 mL/L. Aparentemente, de acordo com o GRÁFICO 5.7, apenas em duas amostras (5 e 13) os elevados teores de sólidos sedimentáveis parecem ter influenciado a identificação, quando as contagens de ovos de helmintos foram baixas. Todavia, também foram obtidas baixas contagens de ovos de helmintos quando os teores de sólidos sedimentáveis foram baixos (ex. amostras 11 e 14). Dessa forma, os poucos resultados de sólidos sedimentáveis e de ovos de helmintos, bem como as faixas de valores encontrados, não permitem estabelecer uma correlação clara entre esses dois parâmetros (vide também GRÁFICO 5.8).

No efluente do reator UASB ( $E_{UASB}$ ) foram encontrados valores de sólidos sedimentáveis que variaram entre 0,1 e 2,5 mL/L, portanto, valores muito baixos e que, de acordo com outros estudos efetuados, não interferem com as análises de ovos de helmintos (CRISPIM *et al.* 1994). O presente trabalho também demonstra essa ausência de interferência dos sólidos

sedimentáveis, sendo que não foi possível estabelecer uma correlação entre esses dois parâmetros conforme mostrado nos GRÁFICOS 5.9 e 5.10.

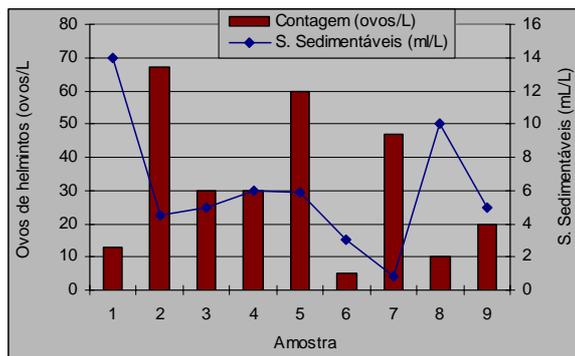


GRÁFICO 5.7 – Relação entre contagens de ovos de helmintos e presença de sólidos sedimentáveis –  $A_{UASB}$  (Fase 1)

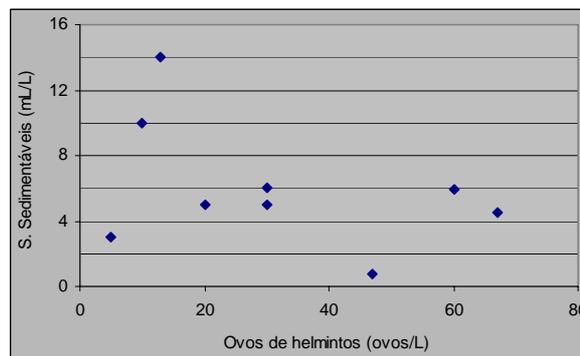


GRÁFICO 5.8 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos sedimentáveis –  $A_{UASB}$  (Fase 1)

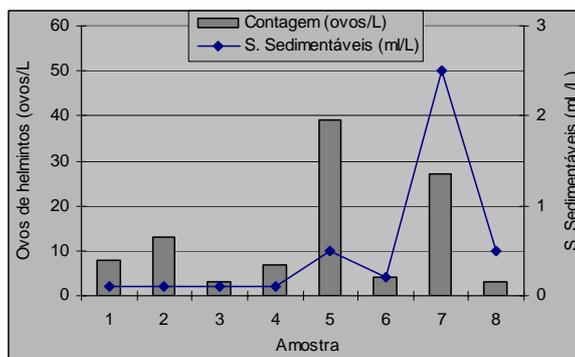


GRÁFICO 5.9 – Relação entre contagens de ovos de helmintos e presença de sólidos sedimentáveis –  $E_{UASB}$  (Fase 1)

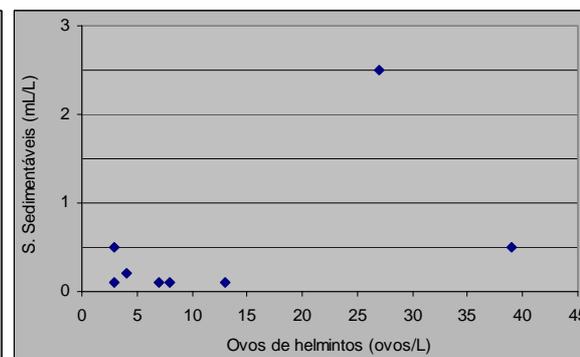


GRÁFICO 5.10 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos sedimentáveis –  $E_{UASB}$  (Fase 1)

### 5.1.3.2 Fase 2

No esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) o valor máximo de sólidos sedimentáveis foi de 9,5 mL/L e o valor mínimo correspondeu a 2,0 mL/L. De acordo com o GRÁFICO 5.11, apenas em duas amostras (2 e 4) os elevados teores de sólidos sedimentáveis parecem ter influenciado a identificação, quando as contagens de ovos de helmintos foram zero. Dessa forma, os poucos resultados de sólidos sedimentáveis e de ovos de helmintos, bem como as faixas de valores encontrados, não permitem estabelecer uma correlação clara entre esses dois parâmetros (vide também GRÁFICO 5.12).

No efluente do UASB ( $E_{UASB}$ ) foram encontrados valores de sólidos sedimentáveis que variaram de 0,5 a 3,5 mL/L. De acordo com o GRÁFICO 5.13, as amostras 2, 10 e 11, com

valores de sólidos sedimentáveis de 0,5, 3,5 e 1,3 mL/L, respectivamente, apresentaram contagens de ovos de helmintos constantemente baixas, em torno de 2, 6 e 3 ovos/L, respectivamente. No entanto, quando o valor de sólidos sedimentáveis foi de 3,5 mL/L, a contagem de ovos de helmintos foi a maior se comparada com os outros valores das respectivas amostras. Dessa forma, não foi possível observar uma correlação entre a quantidade de sólidos sedimentáveis e a contagem de ovos de helmintos (vide GRÁFICOS 5.13 e 5.14).

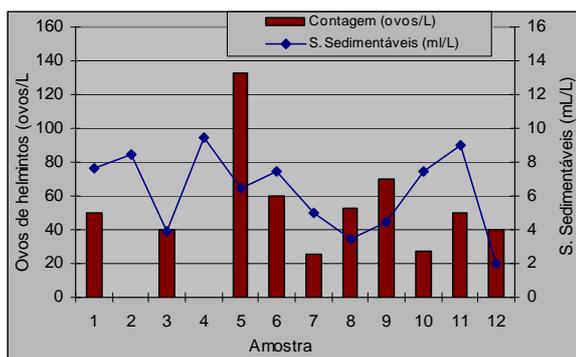


GRÁFICO 5.11 – Relação entre contagens de ovos de helmintos e presença de sólidos sedimentáveis – A<sub>UASB</sub> (Fase 2)

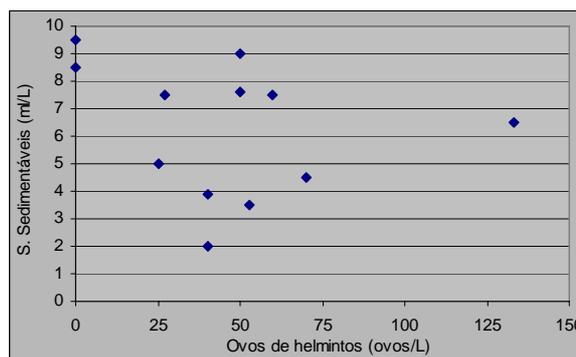


GRÁFICO 5.12 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos sedimentáveis – A<sub>UASB</sub> (Fase 2)

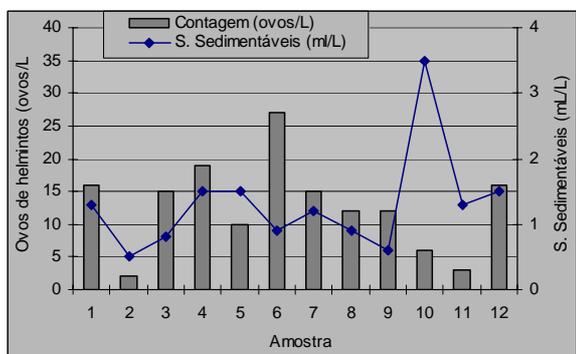


GRÁFICO 5.13 – Relação entre contagens de ovos de helmintos e presença de sólidos sedimentáveis – E<sub>UASB</sub> (Fase 2)

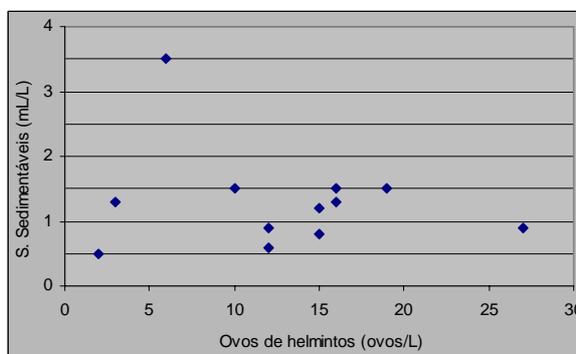


GRÁFICO 5.14 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos sedimentáveis – E<sub>UASB</sub> (Fase 2)

### 5.1.4 Interferência dos sólidos suspensos

A fim de se avaliar a eventual interferência dos sólidos suspensos nas contagens de ovos de helmintos, procedeu-se, da mesma forma que para os sólidos sedimentáveis (item 5.1.3), a representação gráfica desses dois parâmetros. Essa análise foi feita apenas para a Fase II da pesquisa, tanto para o esgoto bruto como para o efluente do reator UASB, conforme mostrado nos GRÁFICOS 5.15 a 5.18.

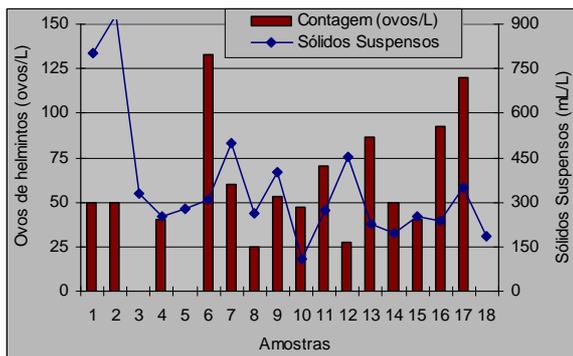


GRÁFICO 5.15 - Contagem de ovos de helmintos e concentração de sólidos suspensos – A<sub>UASB</sub> (Fase 2)

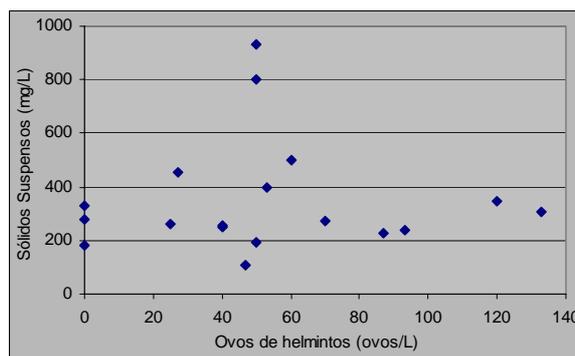


GRÁFICO 5.16 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos suspensos – A<sub>UASB</sub> (Fase 2)

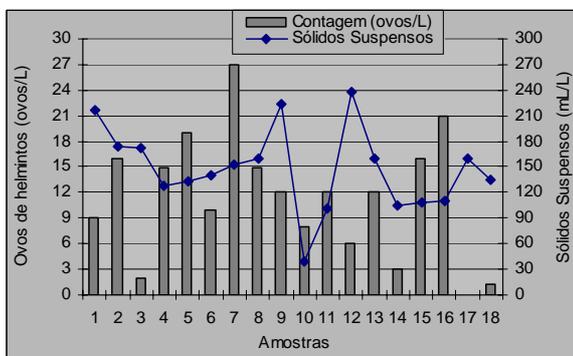


GRÁFICO 5.17 - Contagem de ovos de helmintos e concentração de sólidos suspensos – E<sub>UASB</sub> (Fase 2)

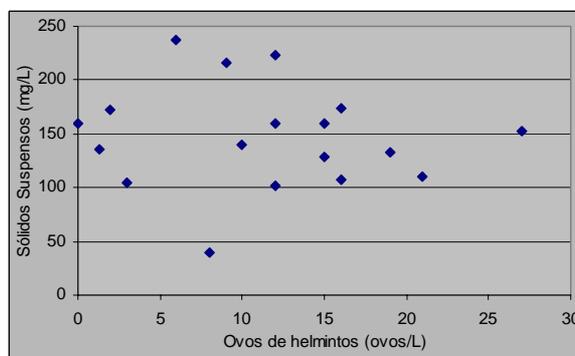


GRÁFICO 5.18 - Correlação entre contagens de ovos de helmintos e concentração de sólidos suspensos – E<sub>UASB</sub> (Fase 2)

Novamente, os resultados mostraram uma ausência de correlação entre sólidos suspensos e contagens de ovos de helmintos.

### 5.1.5 Viabilidade dos ovos de helmintos

Os resultados dos testes de viabilidade de ovos de helmintos encontram-se na Tabela A.3 (Anexo) e são representados nos GRÁFICOS 5.19 e 5.20. Conforme pode-se depreender da análise desses gráficos, as amostras de esgoto bruto e de efluente do reator UASB apresentaram a ocorrência tanto de ovos viáveis (não corados) quanto de não viáveis (corados).

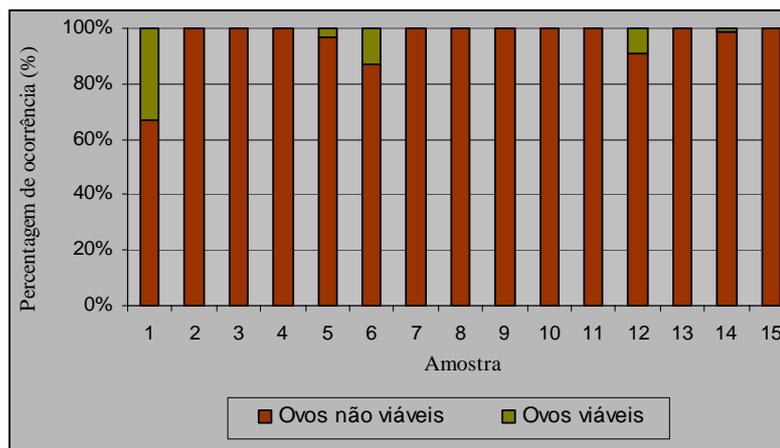


GRÁFICO 5.19 –Frequência de ocorrência de ovos viáveis e não viáveis no esgoto bruto - A<sub>UASB</sub> (Fase 2)

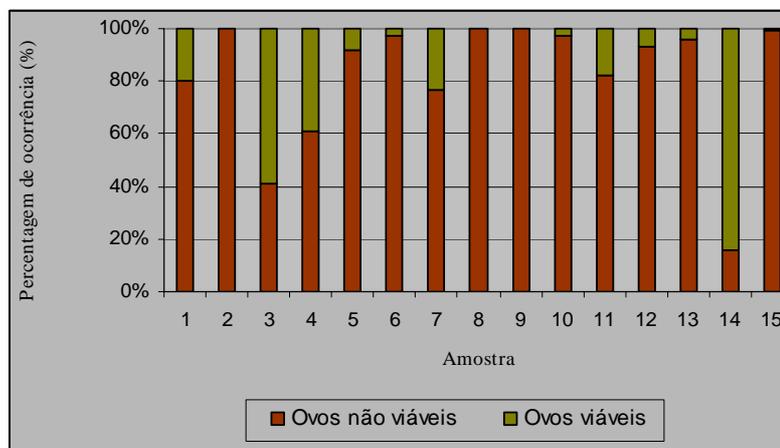


GRÁFICO 5.20 – Percentagem de ocorrência de ovos viáveis e não viáveis no efluente do reator UASB - E<sub>UASB</sub> (Fase 2)

No período de análises de viabilidade, que se estendeu por 5 meses, com um total de 15 amostras processadas, pôde-se observar que a porcentagem de ovos viáveis nas amostras de esgoto bruto foi pequena, variando de 0 a 33 %, enquanto nas amostras de efluente do reator UASB a porcentagem foi bem maior, variando de 0 a 84 %. Foram encontrados valores

médios de 3,9% de ovos viáveis nas amostras de esgoto bruto e de 17,9 % de ovos viáveis nas amostras do efluente do reator UASB.

No entanto, esses resultados devem ser vistos com ressalvas, tendo em vista as incertezas inerentes ao método, conforme analisado a seguir:

- as amostras do efluente do reator UASB apresentaram interferências, sendo que alguns ovos se mostraram em uma cor rosa fluorescente, quando seria esperada uma cor marrom (para os ovos viáveis) ou vermelha (para os ovos não viáveis);
- foram observadas diferenças de coloração e tonalidade tanto nos ovos viáveis quanto nos não viáveis, a exemplo de ovos castanho-claro, castanho-escuro, castanho-avermelhado, rosa, rosa-claro, vermelho e alguns literalmente pretos;
- em algumas amostras, a coloração da membrana era muito vermelha, impossibilitando, às vezes, a identificação e a contagem dos ovos;
- em algumas amostras que continham uma quantidade de sólidos visivelmente maior, a membrana ficava mais escura, ocorrendo assim interferência com a matéria orgânica.

Nesse sentido, todos esses fatores dificultaram a identificação dos ovos viáveis (não corados) e não viáveis (corados), uma vez que em várias amostras se tornava impossível ter certeza da cor realmente correta. No entanto, em outras amostras havia uma regularidade em relação à tonalidade, sendo possível a correta identificação dos ovos corados e não corados. Pelo exposto, percebe-se que o método se apresenta, em alguns momentos, muito subjetivo, onde realmente não há um padrão de cor para os ovos não viáveis e viáveis.

Tendo em vista essas dificuldades, foram feitos contatos com a Dra. Matilde Galván (UNAM/México), uma das pesquisadoras responsáveis pelo desenvolvimento do método da coloração rápida, objetivando solucionar os problemas identificados. Nesse sentido, foram introduzidas algumas modificações, conforme a seguir:

- as amostras do efluente do reator UASB passaram a ser centrifugadas pelo menos três vezes, com solução salina (NaCl 0,85%), antes do procedimento da filtração, visando diminuir as interferências que levavam à coloração rosa fluorescente dos ovos. Esse procedimento reduziu efetivamente os problemas de interferências, sendo que a cor rosa fluorescente não foi mais observada;

- as amostras que continham uma quantidade apreciável de sólidos suspensos também passaram a ser centrifugadas várias vezes, com solução salina, antes do procedimento da filtração. A inclusão dessa etapa de centrifugação também proporcionou bons resultados em relação à redução do tempo de filtração. No entanto, dependendo da quantidade de sólidos presentes na amostra, a membrana se tornava mais ou menos vermelha, às vezes com uma coloração muito intensa;
- o volume do corante Safranina foi reduzido de 5 para 3 mL, o que possibilitou uma melhora significativa em relação à visualização dos ovos, mas, mesmo assim, algumas dúvidas em relação à cor dos ovos ainda persistiam;
- o corante azul de Tripán foi testado, com adição de volumes que variaram de 1 a 5 mL, mas os resultados só foram satisfatórios com a utilização de volumes iguais a 1 e 2 mL. Os volumes maiores não possibilitaram a visualização dos ovos.

#### 5.1.5.1 Dificuldades gerais do método e adaptações

O tempo requerido para a filtração das amostras foi em torno de 5 horas, tanto para as amostras de esgoto bruto quanto para as de efluente tratado. Era necessário utilizar várias membranas de filtração, uma vez que a elevada presença de sólidos ocasionava a colmatação muito rápida das mesmas. O número de lâminas para a leitura final de cada amostra variou entre 1 e 8, demandando um tempo de preparação para todas as lâminas.

Nesse sentido, para uma maior rapidez do método, as duas amostras (esgoto bruto e efluente do reator UASB) passaram a ser centrifugadas com solução salina e filtradas diretamente em membranas de 47 mm e 8  $\mu$ m, com adição do corante e posterior leitura. Para permitir a leitura dessa membrana maior, foi feita uma adaptação com a justaposição de duas lâminas de vidro, unidas com fita adesiva transparente, que possibilitou a colocação da membrana de 47 mm e de 4 lamínulas, sobre a membrana. Com isso, dois benefícios diretos foram alcançados:

- uma sensível redução do tempo de filtração da amostra, decorrente do aumento do diâmetro da membrana (que passou de 25 para 47 mm). Isso também possibilitou uma economia no consumo de membranas;
- a leitura de apenas uma lâmina, maior, ao invés das 8 que eram eventualmente necessárias anteriormente.

#### 5.1.5.2

Ilustração fotográfica dos ovos com utilização da técnica da coloração

A ilustração fotográfica dos ovos de helmintos após a utilização do corante Safranina é apresentada nas Figuras 5.7 a 5.9. Os ovos corados com azul de Tripán são apresentados nas Figuras 5.10 a 5.12.

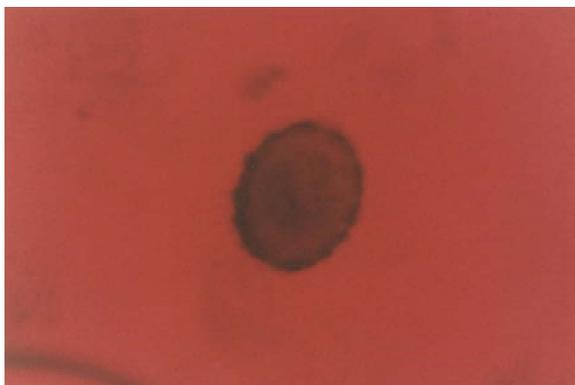


Figura 5.7 – Ovo de *Ascaris lumbricoides* não corado (corante Safranina – 3 mL)

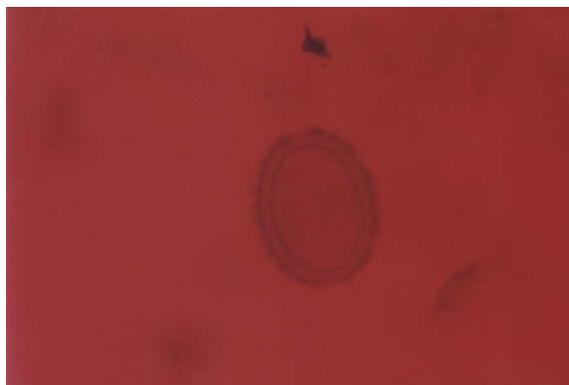


Figura 5.8 – Ovo de *Ascaris lumbricoides* corado (corante Safranina – 3 mL)

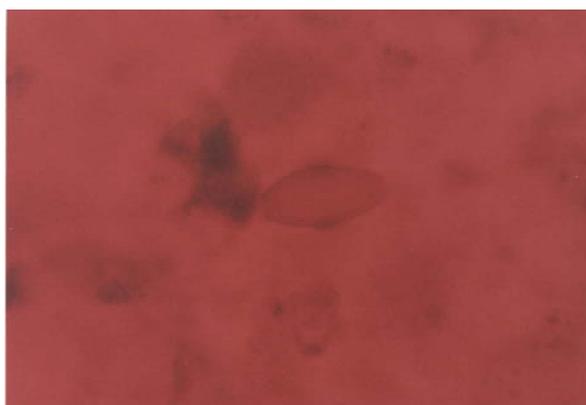


Figura 5.9 – Ovo de *Trichuris trichiura* corado (corante Safranina – 3 mL)

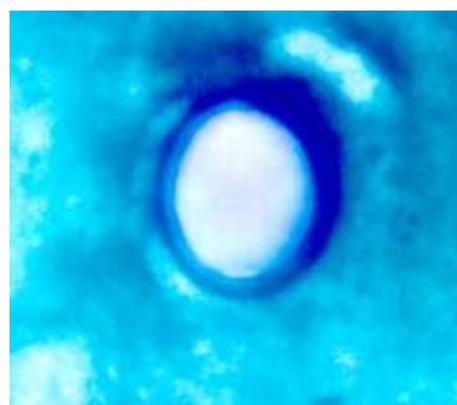


Figura 5.10 – Ovo de *Ascaris lumbricoides* corado (corante Azul de Tripán – 2 mL)

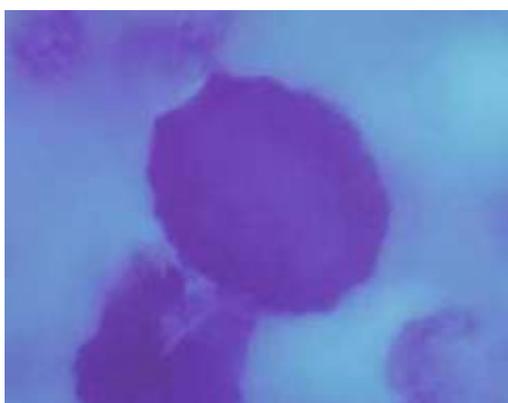


Figura 5.11 – Ovo de *Ascaris lumbricoides* corado (corante Azul de Tripán – 2 mL)



Figura 5.12 – Ovo de *Ascaris lumbricoides* não corado (corante Azul de Tripán – 1 mL)

## 5.2 Análises bacteriológicas

Em relação à concentração de coliformes totais e *Escherichia coli*, os resultados são mostrados na Tabela A.4 (Anexo) e nos GRÁFICOS 5.21 e 5.22.

### 5.2.1 Coliformes totais

Para o esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) foram obtidas concentrações variando de  $7,9 \times 10^8$  a  $2,4 \times 10^{11}$  NMP/100 mL, com uma média geométrica de  $9,8 \times 10^9$  NMP/100 mL. Para o efluente do reator UASB ( $E_{UASB}$ ) as concentrações variaram de  $4,6 \times 10^7$  a  $2,4 \times 10^9$  NMP/100 mL, com uma média geométrica de  $7,5 \times 10^8$  NMP/100 mL, representando uma eficiência média de remoção de coliformes totais no reator UASB da ordem de 1 unidade logarítmica.

As concentrações no efluente das rampas de escoamento superficial no solo, também, apresentaram grandes variações ( $1,0 \times 10^5$  a  $1,8 \times 10^9$  NMP/100 mL), tendo sido obtido o seguinte valor médio  $7,1 \times 10^7$  NMP/100 mL, representando uma eficiência média de remoção de coliformes totais da ordem de 1 unidade logarítmica.

Os dias operacionais e as concentrações de coliformes totais no esgoto bruto, efluente UASB e rampas de escoamento superficial são mostrados no Gráfico 5.21 .

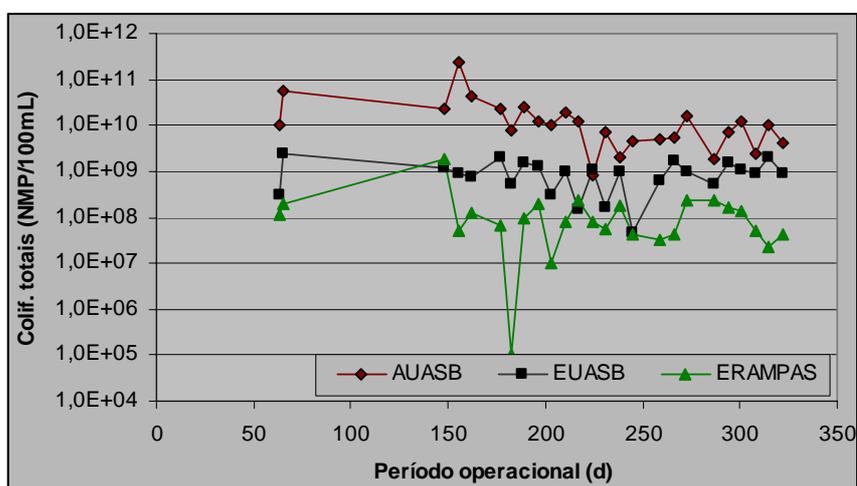


GRÁFICO 5.21 – Concentrações de coliformes totais no esgoto bruto e nos efluentes do reator anaeróbico e das rampas (Fase 2)

### 5.2.2 *Escherichia coli*

Para o esgoto bruto ( $A_{UASB}$ ) foram obtidas concentrações variando de  $2,3 \times 10^{10}$  a  $2,0 \times 10^7$  NMP/100 mL, com uma média geométrica de  $2,2 \times 10^9$  NMP/100 mL. Para o efluente do reator UASB ( $E_{UASB}$ ) as concentrações variaram de  $8,7 \times 10^8$  a  $1,6 \times 10^7$  NMP/100 mL, com uma média geométrica de  $2,2 \times 10^8$  NMP/100 mL, representando uma eficiência média de remoção de *Escherichia coli* no reator UASB da ordem de 1 unidade logarítmica. VAN HAANDEL & LETINGA (1994) observaram uma eficiência de remoção um pouco menor, menos que 1 unidade logarítmica, representando uma eficiência de remoção no reator UASB da ordem de 80%.

As concentrações no efluente das rampas de escoamento superficial no solo também apresentaram grandes variações ( $9,9 \times 10^6$  a  $2,4 \times 10^8$  NMP/100 mL), tendo sido obtido o seguinte valor médio  $3,0 \times 10^7$  NMP/100 mL representando uma eficiência média de remoção de *Escherichia coli* da ordem de 1 unidade logarítmica.

Os dias operacionais e as concentrações de *Escherichia coli* no esgoto bruto, efluente UASB e efluente rampas são mostrados no Gráfico 5.22.

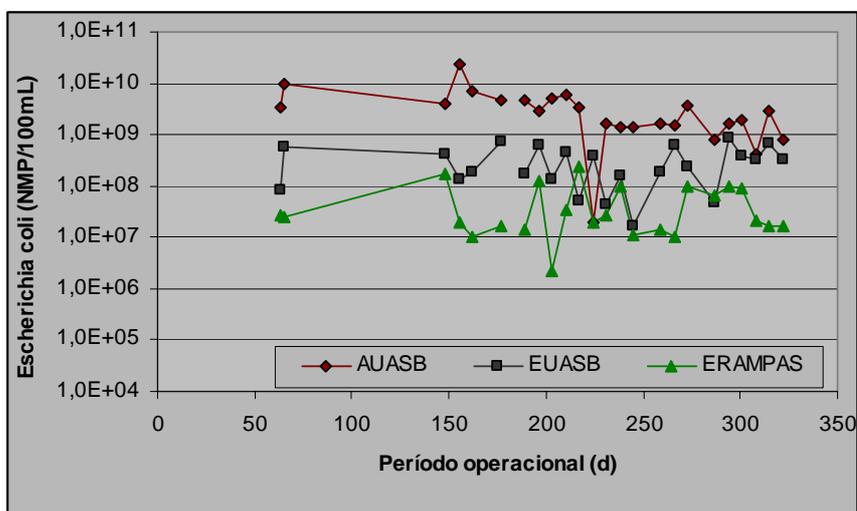


GRÁFICO 5.22 – Concentrações de *Escherichia coli* no esgoto bruto e nos efluentes do reator anaeróbio e das rampas (Fase 2)

A qualidade bacteriológica do efluente final ainda é insatisfatória para a sua utilização na irrigação irrestrita, uma vez que é superior ao valor máximo recomendado pela OMS (WHO, 1989), que estabelece um padrão de no máximo 1000 coliformes fecais/100 mL.

A limitação dos sistemas de escoamento superficial de esgotos no solo em relação à remoção de coliformes já era esperada, conforme reportado na bibliografia especializada. Os sistemas de escoamento superficial no solo não são eficientes relativamente à remoção de microrganismos indicadores, tais como os coliformes fecais (WPCF, 1990, citado por CHERNICHARO, 1997). Peters & Lee (1978) observaram uma redução de apenas uma unidade logarítmica (ou uma redução de 90%) nos níveis de coliformes fecais após a aplicação de águas residuárias brutas em um sistema de escoamento superficial. Lee & Peters (1979) observaram um aumento das concentrações de coliformes fecais após a aplicação de efluente tratado em sistemas de lagoas durante meses mais quentes e relacionaram este aumento com uma eventual recuperação da viabilidade por parte destas bactérias em condições de temperaturas elevadas no sistema com escoamento superficial. Hall (1979) observou que em algumas situações, no caso de aplicação de efluentes secundários, a concentração de coliformes pode até mesmo não sofrer qualquer alteração ao passar pela rampa de escoamento superficial.

Nos sistemas de escoamento à superfície, as bactérias são retidas e removidas na superfície do solo por filtração, predação biológica, radiação ultravioleta, alcançando uma eficiência de até 95% no primeiro centímetro, e podendo chegar a 98% ou 99% de remoção no sistema como um todo. Todavia, essa porcentagem de remoção depende das taxas de aplicação, do tempo de detenção e do tamanho das rampas, que pode variar com diferentes distâncias do ponto de aplicação, em diferentes sistemas que utilizam o escoamento superficial no solo (PAGANINI, 1997).

### **5.3 Qualidade do efluente final e reúso**

Os resultados parasitológicos obtidos durante as Fases 1 (média de 0 ovo de nematóide/L) e 2 (média de 0,2 ovo/L), indicam o atendimento às diretrizes da OMS (WHO, 1989), que estabelece, para irrigação restrita e irrestrita, o limite  $\leq 1$  ovo de nematóide/L.

No entanto, em relação aos resultados das análises bacteriológicas da Fase 2, as concentrações de *E. coli* obtidas foram bem superiores ao valor recomendado pela OMS (WHO, 1989), que estabelece um padrão de no máximo 1000 coliformes fecais/100 mL para a irrigação irrestrita. Dessa forma, o efluente das rampas de escoamento superficial no solo só poderia ser utilizado na irrigação restrita (cereais, culturas industriais, forrageiras, pastagens e árvores (ver Tabela 3.2 – Capítulo 3).

Outro aspecto a se ressaltar é que, mesmo com os excelentes resultados obtidos de remoção de ovos de helmintos no efluente das rampas, os riscos de saúde pública ainda persistem pois os ovos ficam retidos no solo e na cobertura vegetal, em uma certa extensão das rampas.

Nesse sentido, procedeu-se uma investigação complementar, a fim de se avaliar em que extensão das rampas ocorria à remoção dos ovos de helmintos, tendo sido analisadas amostras do efluente líquido coletadas a 5 metros do início de cada rampa. Novamente, não foram observados ovos de helmintos em nenhuma das amostras analisadas (total de 5 amostras), fazendo crer que não estaria ocorrendo a incorporação destes ovos de helmintos nos 20 metros finais de cada rampa. Com base nesses resultados, obtidos na Fase 1 de operação das rampas, há uma indicação da existência de menores riscos de manejo e de utilização da biomassa vegetal, a partir de uma certa distância do ponto de aplicação dos esgotos nas rampas.

Entretanto, a remoção de microrganismos patogênicos no processo é limitada e não suficiente a ponto de poder preconizar, sem reservas, a utilização da cobertura vegetal como alimentação animal (BASTOS, 1999).

Em relação à incorporação de ovos de helmintos no solo, foram realizados alguns estudos exploratórios que envolveram a análise de amostras de solo coletadas na parte superficial nas rampas de escoamento, tendo sido observados ovos de *Ascaris lumbricoides* e de ancilostomídeos. Porém, esses resultados são ainda preliminares, necessitando de estudos mais aprofundados para se ter uma melhor avaliação a esse respeito.

Durante a Fase 2, quando o sistema de tratamento foi operado em regime hidráulico transiente, observou-se a presença de ovos de helmintos no efluente final das rampas, em baixíssimas concentrações e em poucas amostras, mas que de toda forma não confirmam os resultados obtidos durante a Fase 1. Para essa situação de presença de ovos de helmintos no efluente final, haveria o risco de contaminação da vegetação em toda a extensão das rampas. Nesse sentido, é necessário garantir que o manejo e o destino final dessa vegetação seja efetuado racionalmente.

Novamente, vale a pena ressaltar que, mesmo com os excelentes resultados obtidos de remoção de ovos de helmintos no efluente das rampas nas Fases 1 e 2, os riscos de saúde pública ainda persistem. Isso porque a etapa de desenvolvimento dos ovos de helmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos), até a fase infectiva, ocorre no

solo e na vegetação, e essa capacidade infectiva pode permanecer latente durante anos, se as condições ambientais forem adequadas. Nesse sentido, alguns cuidados na irrigação de culturas devem ser adotados quando esgotos tratados são utilizados para tal fim, uma vez que agricultores e consumidores, em geral, são expostos a riscos diretos e indiretos de infecção parasitária.

## 6 CONCLUSÕES

### 6.1 Metodologia de identificação e enumeração

- O método de BAILENGER (1979), modificado por Ayres & Mara (1996), mostrou-se adequado para a identificação e quantificação de ovos de helmintos em águas residuárias brutas e tratadas. O método é simples, com a utilização de equipamentos e vidrarias de baixo custo, sendo utilizados poucos reagentes químicos. O tempo requerido para a leitura final é relativamente rápido, dependendo da qualidade do afluente e do efluente. No entanto, o volume da amostra deve ser aumentado para 10 L quando esgotos tratados são processados.
- Foi possível a recuperação de ovos de várias espécies de helmintos usualmente encontrados em águas residuárias, a exemplo de ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, ancilostomídeos, *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*, *Enterobius vermicularis*.
- De acordo com a experiência na utilização do método e com o número muito grande de análises processadas no decorrer desse trabalho, foi adotado um tempo de 24 horas para a etapa de sedimentação de amostras brutas e tratadas (ao invés do tempo de 1 a 2 h, usualmente empregado), o que resultou em uma melhora sensível da recuperação de ovos. KÖNIG (2000) investigando o tempo de sedimentação como fator determinante da concentração final de ovos de helmintos (*Ascaris*) em esgoto bruto, observou-se claramente a influência do tempo de sedimentação sobre a concentração final de ovos de helmintos. Esses resultados preliminares sugerem a introdução de uma pequena modificação no protocolo de rotina, visando melhores resultados.
- Em algumas amostras de efluente anaeróbio, o sobrenadante resultante do processamento da amostra apresentou-se muito escuro, dificultando a leitura na câmara de McMaster. A cor escura pareceu estar mais relacionada com a rotina operacional do reator anaeróbio e com a qualidade do efluente do mesmo, do que com o método utilizado.

### 6.2 Metodologia de viabilidade

- O método da coloração possibilitou a observação tanto de ovos viáveis (não corados), quanto de ovos não viáveis (corados). No entanto, algumas incertezas relativamente à cor dos ovos expostos ao corante indicam que o método se apresenta, em alguns momentos, muito subjetivo, onde realmente não há um padrão de cor tanto para ovos viáveis quanto para não viáveis.

- As técnicas de concentração por filtração e por centrifugação podem ser aplicadas para vários tipos de amostras (esgotos brutos e tratados). A técnica de concentração por centrifugação apresenta menores custos iniciais de equipamento e pode ser aplicada para efluentes tratados. Porém, um volume maior de amostra deve ser processado para se obter um volume adequado de sedimento para a recuperação dos ovos (por exemplo 5 L).
- Para amostras com turbidez elevada, a técnica de concentração por filtração não é a mais adequada, devido ao entupimento dos filtros e à necessidade de constantes trocas dos mesmos, atribuindo assim um aumento do tempo e dos custos para as análises. Essa é uma forte desvantagem da técnica, mas a eficiência de recuperação é bem maior do que a técnica de concentração por centrifugação.
- As interferências observadas com a utilização da técnica da coloração para o efluente do reator UASB devem-se, possivelmente, à presença de ácidos orgânicos.
- As amostras com elevados teores de matéria orgânica geralmente apresentam uma cor mais intensa, após a filtração com o corante, podendo interferir na observação. Nesse sentido, o uso de um menor volume de corante (ex. 1 mL) diminui esse problema.

### **6.3 Sistema de tratamento de esgotos**

- De uma maneira geral, observou-se um pior desempenho do sistema de tratamento durante a Fase 2, comparada à Fase 1, em relação à presença de ovos de helmintos nos efluentes do reator anaeróbio e das rampas de escoamento superficial. Os seguintes fatores podem ter contribuído para isso:
  - a descaracterização do esgoto bruto afluente à ETE Nova Vista, que passou a apresentar concentrações bem mais elevadas de sólidos e de ovos de helmintos;
  - a mudança do regime hidráulico de alimentação do reator anaeróbio e das rampas, que passou do permanente para o transiente, resultando na aplicação de taxas muito elevadas durante os períodos de vazão máxima.
  - a imposição de baixíssimos tempos de detenção hidráulica no reator UASB compartimentado, que repercutiu em velocidades ascensionais muito elevadas e em maiores perdas de sólidos e de ovos de helmintos juntamente com o efluente final.
- A contagem de ovos de helmintos no esgoto bruto durante a Fase 2 (média de 119,6 ovos/L) foi bem superior à observada na Fase 1 (média de 47,3 ovos/L). No efluente do reator UASB foram obtidas, também, contagens mais elevadas durante a Fase 2 (20,5 ovos/L) em relação à Fase 1 (média de 13,9 ovos/L). No entanto, apesar das maiores concentrações no esgoto bruto

e no efluente do reator anaeróbio compartimentado, durante a Fase 2, ainda assim foram observadas, para o reator, eficiências de remoção de ovos de helmintos mais elevadas nessa segunda fase, com média igual a 82%, contra 71% durante a Fase 1.

- De uma maneira geral, o sistema de escoamento superficial no solo funcionou de forma bastante promissora em relação à remoção de ovos de helmintos, em função das baixas concentrações de ovos encontradas no efluente final das rampas. Foram obtidas concentrações médias de 0 e 0,2 ovo de nematóide/L, nas Fases 1 e Fase 2, respectivamente.
- Em relação à concentração de coliformes totais, foram obtidas concentrações médias de  $9,8 \times 10^9$  NMP/mL,  $7,5 \times 10^8$  NMP/100 mL e  $7,1 \times 10^7$  NMP/100 mL, para o esgoto bruto, efluente do reator anaeróbio e efluente das rampas, respectivamente. Esses valores representam eficiências médias de remoção de coliformes totais de 1 unidade logarítmica, tanto para o reator anaeróbio como para as rampas. A eficiência global do sistema foi da ordem de 2 unidades logarítmicas.
- Em relação à concentração de *Escherichia coli*, foram obtidas concentrações médias de  $2,2 \times 10^9$  NMP/100 mL,  $2,2 \times 10^8$  NMP/100 mL e  $3,0 \times 10^7$  NMP/100 mL, para o esgoto bruto, efluente do reator anaeróbio e efluente das rampas, respectivamente. Esses valores representam eficiências médias de remoção de *Escherichia coli* de 1 unidade logarítmica, tanto para o reator anaeróbio como para as rampas. A eficiência global do sistema foi da ordem de 2 unidades logarítmicas.

#### **6.4 Qualidade do efluente final e reúso**

Embora a qualidade parasitológica do efluente final das rampas ( $\leq 1$  ovo de nematóide/L) indique a sua potencial utilização para a irrigação irrestrita, as concentrações de *Escherichia coli* ( $10^6$  a  $10^8$  NMP/mL) indicam uma qualidade bacteriana insatisfatória. Como essas concentrações são bem superiores ao valor máximo contido nas diretrizes da OMS (1000 coliformes fecais/100 mL), o efluente das rampas só poderia ser utilizado para a irrigação restrita (cereais, culturas industriais, forrageiras, pastagens e árvores).

A adequação da qualidade bacteriológica do efluente final das rampas, visando o atendimento aos padrões da legislação ambiental para lançamento em cursos de água, dependerá essencialmente das características do corpo receptor. Nesse sentido, para se atender o padrão de qualidade de um rio de classe 2 (máximo de 1000 coliformes fecais/100 mL), a diluição e a concentração de coliformes a montante do ponto de lançamento serão fatores preponderantes na análise. Exemplificando, para uma concentração de coliformes fecais no rio da ordem  $10^2$

## CONCLUSÕES

---

NMP/100 mL, serão necessários fatores de diluição de 1000 e de 100.000 vezes para que o efluente das rampas com concentrações de  $10^6$  e  $10^8$  UFC/100 mL, respectivamente, se adequem à legislação ambiental (Resolução CONAMA 020/86). Notar que a legislação ambiental não estabelece padrões para ovos de helmintos.

## 7 RECOMENDAÇÕES

- O método da coloração rápida foi desenvolvido para águas naturais, águas residuárias domésticas brutas e efluentes primários e secundários para fins de reúso. Nesse sentido, torna-se importante a realização de mais estudos para se determinar a conveniência, ou não, do uso deste método para efluentes anaeróbios.
- É recomendável que se avalie a metodologia de viabilidade por coloração rápida em maior profundidade, quando empregada para a quantificação de ovos de helmintos, já que a mesma parece não ser confiável para amostras que contenham baixas concentrações de ovos de helmintos, tais como efluentes tratados.
- São necessários estudos mais aprofundados para avaliar a eficiência do método da coloração em outras espécies de ovos de helmintos.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE NETO, C. O. (1997). *Sistemas simples para tratamento de esgotos sanitários. Experiência Brasileira*. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. 310 p.
- ARAÚJO ,G.C. (1998). Avaliação do pós-tratamento de efluentes de reatores UASB através de um sistema de aplicação superficial no solo. *Dissertação de mestrado*. Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais.
- ARAÚJO. P. (1972). Observações pertinentes às primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. *Rev. Inst. Med. Trop.* São Paulo, 14; 83-90.
- ARTHUR, E.J. & SANBORN, R.L. (1969). Osmotic and ionic regulation in nematodes. In: *Chemical Zoology*, vol. 3 (ed. M. Florkin & B. T. SCHEER). London & New York: Academic Press. Apud WHARTON (1980). Nematode egg-shells. *Parasitology*, 81, p.447-463
- ARTIGAS, P. T. & UETA, M. T. (1989). *Sobre a evolução de Ascaris lumbricoides na Fase larvar endovular*. *Membro do Instituto Butantan* 51 (1): 15-24. Apud NEVES, D.P., MELO, A.L., GENARO. O & LINARD, P.M. (2000). *Parasitologia Humana*. 10ª edição. 428 p.
- AWWA/APHA/WEF (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 19<sup>th</sup> edition. Washington
- AYRES, R. (1989). Enumeration of parasitic helminths in raw and treated wastewater. *A brief practical guide*. Department of Civil Engineering. University of Leeds.
- AYRES, R & MARA, D. Analysis of wastewater for use in agriculture. *A laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques*. WHO (1996), Geneva.
- AYRES, R., STOTT, R., LEE, D. L., MARA, D. D. & SILVA, S. A (1991). Comparison of techniques for the enumeration of human parasitic helminth eggs in treated wastewater. *Environmental Technology*. 12, p. 617-623
- AYRES, R., STOTT, R., MARA, D.D & LEE, D.L. (1992). Wastewater reuse in agriculture and the risk of intestinal nematode infection. *Parasitology Today*, vol. 8, n<sup>o</sup> 1
- AYRES, R., STOTT, R., LEE, D. L., MARA, D. D. & SILVA, S. A (1992). Contamination of lettuces with nematode eggs by spray irrigation with treated and untreated wastewater. *Water Science and Technology*, vol. 26 n<sup>o</sup> 7-8, p. 1615-1623
- BAILINGER, J. (1979). Mechanisms of parasitological concentration in coprology and their practical consequences. *Journal of American Medical Technology*, 41, p. 65-71
- BARROS, R.T.V., CHERNICHARO, C.A.L., HELLER ,L. & VON SPERLING, M. (1995). *Manual de Saneamento e Proteção Ambiental para os Municípios. Vol. 2: Saneamento*. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 221p
- BASTOS,R.K.X & PERIN,C. (1995). Qualidade de águas superficiais para irrigação – Uma avaliação dos padrões vigentes e do emprego de organismos indicadores de contaminação. In: *Anais do 18<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES)*.
- BASTOS, R.K.X (1996). Reúso de Efluentes. In: *Anais do Seminário Internacional – Tendências no Tratamento Simplificado de Águas Residuárias Domésticas e Industriais*. Belo Horizonte-MG, 6 a 8 de março.
- BASTOS, R.K.X. (1998). Utilização agrícola de águas residuárias. Notas de aula do Curso de Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da UFMG.
- BASTOS,R.K.X. (1999). Tratamento e Reciclagem de Esgotos por Disposição no Solo. *Revista Ação Ambiental*, Ano II, n<sup>o</sup> 6, p15-17

- BEAVER, P. C. (1964). Lucha contra los helmintos transmitidos por el suelo. *Cuadernos de Salud Publica*, nº 10. OMS, Ginebra. *Apud* MASSARA, C.L. (1988). Viabilidade de ovos de *Ascaris lumbricoides* eliminados após terapêutica anti-helmíntica. *Dissertação de mestrado*. Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais
- BLUMENTHAL, U. J., STRAUSS, M., MARA, D.D & CAIRNCROSS, S. (1989). Generalised model of the effect of different control measures in reducing health risks from waste reuse. *Water Science and Technology*, 21, p. 567-577.
- BLUMENTHAL, U. J., MARA, D. D., AYRES, R., CIFUENTES, E., PEASEY, A., STOTT, R., LEE, D. & RUÍZ-PALACIOS, G. (1996). Evaluation of the WHO nematode egg guidelines for restricted and unrestricted irrigation. *Water Science and Technology*, 33, p. 277-283.
- BOUHOUM, K & SCHWARTZBROD, J. (1989). Quantitative of helminth eggs in wastewater. *Zbl. Hyg.* 188, p.322-330
- CACERES, A., XET, A. M & FLORES, G. (1987). Simplified methodology for helminth egg counts and viability in organic fertiliser. In: *Use of Human Waste in Agriculture and Aquaculture*. IRCWD, Duebendorf (Switzerland).
- CAIRNCROSS, S. (1993). Control of enteric pathogens in developing countries. In: *Environmental Microbiology*. Ed. Ralph Mitchell. Wiley – Liss, New York, 410p
- CAMILLO-COURA, L. (1970). Contribuição ao estudo das geohelmintíases. *Tese de Livre Docência*. 215p. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro. *Apud* MASSARA, C.L. (1988). Viabilidade de ovos de *Ascaris lumbricoides* eliminados após terapêutica anti-helmíntica. *Dissertação de mestrado*. Departamento de parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais
- CAMPOS, J.R. (1999). *Tratamento de esgotos por processos anaeróbios e disposição controlada no solo*. Programa de Pesquisa em Saneamento Básico – PROSAB.
- CARRINGTON, E. G & HARMAN, S. A. (1981). Recovery of *Ascaris* eggs from sludge. *WRC Process Evaluation*. Stevenage, UK., Water Research Centre. *Apud* HINDIYEH, M. Y. (1995). *Enumeration and survival studies on helminth eggs in relation to treatment of anaerobic and aerobic sludges in Jordan*. PhD Thesis in Environmental Engineering. Newcastle upon Tyne. England-UK.
- CASSEB, M. M. S. & CHERNICHARO, C. A. L. (1997). Avaliação do desempenho de um sistema UASB/filtro anaeróbio operado em regime hidráulico transiente. In: *Anais do 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*. P 101. *Apud* ARAÚJO (1998) Avaliação do pós-tratamento de efluentes de reatores UASB através de um sistema de aplicação superficial no solo. *Dissertação de mestrado*.
- CEAGESP (1991). Hortaliças amostradas e comercializadas na CEAGESP, segundo as variedades de amostras e os resultados laboratoriais da pesquisa de ovos de helmintos. Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. In: *Notas de aula do Curso de Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da UFMG* (1998).
- CEBALLOS, B.S.O; NÓBREGA, C.C; KÖNIG, A; ARAÚJO, A.M. (1993). Indicadores biológicos na caracterização da autodepuração de um corpo aquático lótico no nordeste do Brasil - Riacho de Bodocongó. In: *Anais do 17º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental* (ABES). Tomo III, pp557-568.
- CEMAT (1987). Effect ash on the microbiology of faecal material processed in dry latrines (Not published information). Guatemala, CEMAT/IRCWD/EAWAG. *Apud* CACERES, A., XET, A. M & FLORES, G. (1987). Simplified methodology for helminth egg counts and viability in organic fertiliser. In: *Use of Human Waste in Agriculture and Aquaculture*. IRCWD, Duebendorf (Switzerland).

- CETESB (1989). Helminhos e Protozoários patogênicos – Contagem de ovos e cistos em amostras ambientais. *Método de ensaio L5.550*
- CHERNICHARO, C.A. L. (1997). *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Vol. 5. Reatores Anaeróbios*. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG. 246 p.
- CLARKE, A. J. & PERRY, R. N. (1980). Egg-shell permeability and the hatching of *Ascaris suum*. *Parasitology* 80, 447-56. Apud WHARTON, D. A. (1980). Nematode egg-shells. *Parasitology*, 81, p.447-463
- COELHO, W.M. (1998). Incidência de ovos de helmintos e cistos de protozoários em águas de mananciais e hortaliças irrigadas – Região metropolitana de Goiânia. In: *Anais do VIII Simpósio luso-brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*.
- CRAM, E. B. (1943). The effect of various treatment processes on the survival of helminth and protozoan cysts in sewage. *Sewage Works Journal*., 15: 1119-1138. Apud HINDIYEH (1995). *Enumeration and survival studies on helminth eggs in relation to treatment of anaerobic and aerobic sludges in Jordan*. PhD Thesis in Environmental Engineering. Newcastle upon Tyne. England-UK.
- CRISPIM, W. M. C. (1994). Estudo seletivo de métodos para pesquisa de ovos de helmintos em águas residuais. In: *Anais do VI Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*. Trabalhos Técnicos Vol. 1 Tomo I. Florianópolis/SC.
- CRISPIM, W.M.C & BARBOSA, D. C. (1995). Avaliação da eficiência do sistema de lagoas de estabilização de esgotos na remoção de ovos de helmintos – Proposta para a determinação do percentual de recuperação do método da OMS. In: 3<sup>rd</sup> IAWQ *International Specialist Conference and Workshop. Waste Stabilisation Ponds Technology and Applications*. João Pessoa/PB.
- DUNN, A. J. (1991). *The Development of a predictive model for the removal of helminth eggs during rapid sand filtration*. PhD Thesis, University of Southampton, Department of Civil Engineering, Apud HINDIYEH (1995). *Enumeration and survival studies on helminth eggs in relation to treatment of anaerobic and aerobic sludges in Jordan*. PhD Thesis in Environmental Engineering. Newcastle upon Tyne. England-UK.
- FAUST, E. C., SAWITZ, W., TOBIE, J., ODOM, V., PERES, C. & LINCICOME, D. R. (1939). Comparative efficiency of various techniques for the diagnosis of protozoa and helminth in feces. *Journal of Parasitology*. p 241-261
- FEACHEM, R. G., BRADLEY, D. J., GARELICK, H. & MARA, D. (1983). *Sanitation and Disease: Health Aspects of Excreta and wastewater Management*.
- GALVÁN, M., GUTIÉRREZ, A. L and de VICTORICA, J. (1996). Efficiency of rapid quantitative procedures adapted for the analysis of helminth eggs in irrigation waters. In: *IAWQ Symposium on Health Related Water Microbiology*, Mallorca, Spain, October.
- GALVÁN, M., de VICTORICA J. and ROJAS N. (1998 a). Potential viability of helminth eggs in wastewater assessed by vital staining. In: *Proc. of the IAWQ 19<sup>th</sup> Biennial International Conference*, 10, p. 32-26, Vancouver, Canada.
- GALVÁN, M. & de VICTORICA J. (1998 b). Implicaciones sanitarias de la presencia de huevos viables de nemátodos en el agua para riego y necesidad de su evaluación rápida. In: *Anais eletrônico XXVI Congresso Interamericano de ingeniería sanitaria y ambiental*. Lima, Peru, 9 p.
- GASI, T.M.T & ROSSIN, A.C. (1993 a). Remoção de microrganismos indicadores e patogênicos em reator UASB operando com esgotos domésticos. In: *Anais do 17<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Vol 2-Trabalhos Técnicos-Tomo I*. Natal/RN

- GASI, T.M.T & ROSSIN, A.C. (1993 b). Fatores que influenciam a remoção de microrganismos em reator UASB. In: *Anais do 17<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*. Trabalhos Técnicos, Vol 2 - Tomo I. Natal/RN
- GOULART, E. G., JOURDAN, M .C., HAHNSTADT, R. L., FARIAS, J, A., BAR, M., CARMO, E. C., LATTARIO, C. V., ZONIS, J. (1984). Avaliação da eficiência do tratamento de esgotos da Estação da Ilha do Governador sobre as formas infectantes e infestantes dos enteroparasitos. *Folha Médica*, 89, p. 9-13.
- GRIMASON, A.M., SMITH, H.V., THITAI, W.N., SMITH, P.G., JACKSON, M.H & GIRDWOODE, R.W.A. (1993). Occurrence and removal of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts in Kenyan waste stabilisation ponds. *Water Science and Technology* vol 27 n<sup>o</sup> 3-4 pp.97-104.
- HALL, D. H. (1979). Municipal wastewater treatment by the overland flow method of land application. EPA-600/2-79-178, USEPA, R.S. Kerr Environmental Research Laboratory, Ada, Oklahoma, USA. Apud CHERNICHARO (1997) *Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias*. Vol 5. Reatores Anaeróbios.
- HINDIYEH, M. Y. (1995). *Enumeration and survival studies on helminth eggs in relation to treatment of anaerobic and aerobic sludges in Jordan*. PhD Thesis in Environmental Engineering. Newcastle upon Tyne. England-UK.
- HINTON, H. E. (1969). Respiratory systems of insect egg-shells. *Annual Review of Entomology* 14, 344-68. Apud WHARTON, D. A. (1980). Nematode egg-shells. *Parasitology*, 81, p.447-463
- JIMÉNEZ. B; CHÁVEZ.A; BARRIOS, J.E. (2000). Impact and potential of reused water in the Mezquital Valley. *Magazine of the International Water Association - Water 21*. Junho 2000
- KAGEI, N.(1982). Techniques for the measurement of environmental pollution by infective stage of soil-transmitted helminths. *Collected Papers on the Control of Soil-Transmitted Helminthiasis*. Asian Parasite Control Organisation., Tokyo, Japan, Vol. 2, 227-246.
- KANESHIRO, E. S. and STERN, G. (1985). *Survival of parasite eggs in stored sludge*. EPA Report No. 600/2-85/142.
- KÖNIG, A. (1998). *Apostila – Fundação Ecosistemas do Espírito Santo. Aspectos teóricos e práticos sobre algas e parasitos intestinais em estação de tratamento de esgoto*. Universidade Federal da Paraíba. Departamento de Engenharia Civil (DEC)
- KÖNIG, A. (2000). Influência do tempo de decantação na concentração de ovos de helmintos em esgoto doméstico bruto. In: *Anais do I Seminário Nacional de Microbiologia Aplicada ao Saneamento*. P 28-33. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória-ES.
- LEE, C. R. & PETERS, R. E. (1979). Overland flow treatment of municipal lagoon effluent for reduction of nitrogen, phosphorus, heavy metals and coliforms. *Progress in Water Technology*, Vol.11, n04-5, pp. 175-183. Apud CHERNICHARO (1997) *Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias*. Vol 5. Reatores Anaeróbios.
- LÉON, G.S & MOSCOSO, J.C. (1995). Strategies for the reuse of stabilization lagoons effluents in Latin America. The aquaculture model of Lima, Peru. *Proceedings of 3<sup>rd</sup> IAWQ International Specialist Conference on Waste Stabilization Ponds*. João Pessoa, Brasil. Apud BASTOS (1996) *Reúso de Efluentes*, In: *Anais do Seminário Internacional – Tendências no Tratamento Simplificado de Águas Residuárias Domésticas e Industriais*. Belo Horizonte-MG, 6 a 8 de março.
- LEON, G.S. & CAVALLINI, J. M. (1996). *Revista – Tratamento e Uso de Águas Residuárias*. III Programa de Suporte Técnico à Gestão de Recursos Hídricos. CEPIS-OPS-OMS apud KÖNIG, A. (1998). *Apostila – Fundação Ecosistemas do Espírito Santo. Aspectos teóricos e*

- práticos sobre algas e parasitos intestinais em estação de tratamento de esgoto*. Universidade Federal da Paraíba. Departamento de Engenharia Civil (DEC)
- MARA, D. D & CAIRNCROSS, S. (1989). Guidelines for the safe use of wastewater and excreta in agriculture and aquaculture. Measures for public health protection. United Nations Environment Programme. *World health Organization, Geneva*.
- MARECOS DO MONTE, M.H.F. (1995). Major benefits and minor disadvantages of crop irrigation with pond effluent: a case study. *Proceedings of 3<sup>rd</sup> IAWQ International Specialist Conference on Waste Stabilization Ponds*. João Pessoa, Brasil *apud* BASTOS, R.K.X (1996). Reúso de Efluentes. In: *Anais do Seminário Internacional – Tendências no Tratamento Simplificado de Águas Residuárias Domésticas e Industriais*. Belo Horizonte-MG, 6 a 8 de março.
- MASSARA, C.L. (1988). Viabilidade de ovos de *Ascaris lumbricoides* eliminados após terapêutica anti-helmíntica. *Dissertação de mestrado*. Departamento de parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.
- MEYER, K. B., MILLER, K. D & KANESHIRO, E. S. (1978). Recovery of *Ascaris* eggs from sludge. *Journal Parasitology*. 64 (2), p380-383
- NEVES, D.P., MELO, A.L., GENARO, O & LINARD, P.M. (2000). *Parasitologia Humana*. 10<sup>a</sup> edição. 428 p.
- NEWTON, W. L., BENNET, H. J. & FIGGAT, W. B. (1949). Observation on the effect of various sewage treatment processes upon the eggs of *Taenia saginata*. *American J. Hygiene*, 49. 166-175. *Apud* HINDIYEH. (1995). *Enumeration and survival studies on helminth eggs in relation to treatment of anaerobic and aerobic sludges in Jordan*. PhD Thesis in Environmental Engineering. Newcastle upon Tyne. England-UK.
- NUCCI, N.L.R., ARAÚJO, J.L.B., SILVA, R.J.C. (1978). Tratamento de esgotos municipais por disposição no solo e sua aplicabilidade no estado de São Paulo. Centro de Estudos e Pesquisas de Administração Municipal. São Paulo. 70 p.
- OGATA, S. (1925). The destruction of *Ascaris* eggs. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 19: 301-304.
- OGATA, S. (1928). On Sudan III staining of *Ascaris* eggs. *Nippon No Ikai* 18; p. 12 - 13. *Apud* CACERES, A., XET, A. M & FLORES, G. (1987). Simplified methodology for helminth egg counts and viability in organic fertiliser. In: *Use of Human Waste in Agriculture and Aquaculture*. IRCWD, Duebendorf (Switzerland).
- O’LORCAIN, P. (1994). Prevalence of *Toxocara canis* ova in public playgrounds in the Dublin area of Ireland. *Journal Helminthology* 68, 237-241 *apud* GALVÁN, M., de VICTORICA J. and ROJAS N. (1998 a). Potential viability of helminth eggs in wastewater assessed by vital staining. In: *Proc. of the IAWQ 19<sup>th</sup> Biennial International Conference*, 10, p. 32-26, Vancouver, Canada.
- PAWLOSWSKI, Z. S. (1984). Ascariasis. In: *Tropical and Geographical Medicine*. (Ed. Warren, K. S. and Mahmoud, A. A. F.), pp.347-358. New York: McGraw-Hill Book Company.
- PAGANINI, W. S. (1997). *Disposição de esgotos no solo (escoamento à superfície)*. Fundo editorial da AESABESP. São Paulo. 232 p.
- PASSEY, R.F. & FAIRBAIN, D. (1955). The respiration of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 33, 1033-46. *Apud* WHARTON, D. A. (1980). Nematode egg-shells. *Parasitology*, 81, p.447-463
- PETERS, R. E. & LEE, C .R. (1978). Field investigations of advanced treatment of municipal wastewater overland flow. *In state of Knowledge in Land Treatment of Wastewater*. Vol 2, U.S. Army Corps of Engineers, Hanover, NH, p.45. *Apud* CHERNICHARO (1997) *Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias*. Vol 5. Reatores Anaeróbios.

- REIMERS, R. S., LITTLE, M. D., AKERS, T. G., HENRIQUES, W. D., BORDEAUX, R. C. & McDONNELL, D. (1989). Persistence of pathogens in lagoon-stored sludge. *EPA*, 600/2-89/015. *Apud* HINDIYEH (1995). *Enumeration and survival studies on helminth eggs in relation to treatment of anaerobic and aerobic sludges in Jordan*. PhD Thesis in Environmental Engineering. Newcastle upon Tyne. England-UK.
- REY, L. (1991). *Parasitologia. Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África*. 2ª edição. Editora Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 731 p.
- ROJAS, M. N., GALVÁN, M. & de VICTORICA J. (1998). Evaluación rápida de la viabilidad de los huevos de helmintos con colorantes biológicos. In: *Anais do Congresso Interamericano de ingeniería sanitaria y ambiental*. Lima, Peru, 9 p.
- SANTOS H.F. (1993). Critérios de qualidade da água para reúso. *Revista da SABESP*. N<sup>o</sup> 174 novembro/dezembro.
- SHEPHERD, A. M. (1962). New Blue R, a stain differentiates between living and dead nematodes. *Nematologica*, 8: p. 201 - 208.
- SCHWARTZBROD, J., STIEN, J. L., BOUHOUM, K & BALEUX, B. (1989). Impact of wastewater treatment on helminth eggs. *Water Science and Technology*, 21(3), p295-297.
- SHUVAL, H. I., YEKUTIEL, P., FATTAL, B. (1986b). An epidemiological model of the potential health risk associated with various pathogens in wastewater irrigation. *Water Science and Technology*, vol 18, p.191-198.
- SHUVAL, H. I., FATTAL, B. & YEKUTIEL, P. (1986). State of the art review: An the epidemiological approach to the health effects of wastewater reuse. *Water Science and Technology*, 18, p.147-162.
- SHUVAL, H. I., ADIN, A., FATTAL, B., RAWITZ, E. & YEKUTIEL, P. (1986a). Evaluation of epidemiological evidence of human health effects associated with wastewater irrigation. In: *Wastewater Irrigation in Developing Countries: Health effects and Technical Solutions* .
- SILVERMAN, P. H. & GRIFFITHS, R. B. (1955). A REVIEW OF METHODS OF SEWAGE DISPOSAL IN Great Britain with special reference to the epizootiology of *Cysticercus bovis*. *Tropical Med. And Parasitology*, 49: 436-450. *Apud* HINDIYEH. (1995) *Enumeration and survival studies on helminth eggs in relation to treatment of anaerobic and aerobic sludges in Jordan*. PhD Thesis in Environmental Engineering. Newcastle upon Tyne. England-UK.
- SOCCOL, V.T., PAULINO, R, C., CASTRO, E. A. (1999). Capítulo 3 – Aspectos Sanitários - Agentes patogênicos: helmintos e protozoários. In: *Reciclagem de biossólidos - Transformando Problemas em Soluções*. SANEPAR, FINEP, p. 156-173
- STIEN, J. L. & SCHWARTZBROD, J. (1988). Viability determination of *Ascaris* eggs recovered from wastewater. *Environmental Technology Letters*, 9, p. 401-406
- STIEN, J. L. & SCHWARTZBROD, J. (1990). Experimental contamination of vegetables with helminth eggs. *Water Science and Technology*, 22, p. 51-57.
- STOTT, R. (1998). Enumeration of intestinal helminth ova in raw and treated wastewaters. *A training manual*. Department of Civil Engineering. University of Portsmouth.
- STOTT, R., JENKINS, T., WILLIAMS, J., BAHGAT, M., MAY, E., FORD, M. & BUTLER, J. (1996). Pathogen removal and microbial ecology in gravel bed hydroponic (GBH) treatment of wastewater. *Research Monographs in wastewater Treatment and Reuse in Developing Countries* . Monograph n<sup>o</sup> 4, University of Portsmouth
- STRAUSS, M. & BLUMENTHAL, U. J. (1989). Human Waste Use in Agriculture and Aquaculture – Utilization, Practice and Health Perspectives. IRCWD Report number 08/09, International Reference Centre for Waste Disposal, Duebendorf, Switzerland, *apud* STOTT *et al.* (1996). Pathogen removal and microbial ecology in gravel bed hydroponic (GBH) treatment of

- wastewater. *Research Monographs in wastewater Treatment and Reuse in Developing Countries*. Monograph n<sup>o</sup> 4, University of Portsmouth
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (1981). *Process design manual: land treatment of municipal wastewater*. Technology Transfer. Cincinnati.
- VAN HAANDEL, A.C. & LETTINGA G. (1994). *Tratamento anaeróbio de esgotos. Um manual para regiões de clima quente*.
- VON SPERLING, M. (1995). Princípios do Tratamento Biológico de águas Residuárias. *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. Vol 1. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. DESA/UFMG.
- WHARTON, D. A. (1980). Nematode egg-shells. *Parasitology*, 81, p.447-463.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (1990). World Health Statistics Annual, WHO, Geneva, Switzerland, *apud* STOTT *et al.* (1996). Pathogen removal and microbial ecology in gravel bed hydroponic (GBH) treatment of wastewater. *Research Monographs in wastewater Treatment and Reuse in Developing Countries* . Monograph n<sup>o</sup> 4, University of Portsmouth
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (1994). Bench aids for the diagnosis of intestinal Parasites. WHO, Geneva.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (1989). Health guidelines for use of wastewater in agriculture and aquaculture. *Technical Report Series*. 778. WHO, Geneva.
- WPCF (1990). *Natural systems for wastewater treatment*. Manual of practice FD-16, Alexandria, VA, 270 p.
- ZHOU, B. F. LI, LINANG, J. (1985). The use of methylene blue – eosin – borax stain in determining the viability of *Ascaris* ova. *Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 3 (1), p. 48-49, *apud* ROJAS, M. N., GALVÁN, M. & VICTORICA J. (1998). Evaluación rápida de la viabilidad de los huevos de helmintos con colorantes biológicos. In: *Anais do Congresso Interamericano de ingenieria sanitaria y ambiental*. Lima, Peru, 9 p.

## **9 ANEXOS**

### 9.1 TABELA A1 – Resultados de ovos de helmintos – Fase 1

Amostra	Data	Dia de operação	Ponto de Amostragem	Sólidos Sediment. (mL/L)	Contagem (ovos/L)	Frequência Relativa (%)					
						<i>A. lumbricoides</i>	Ancilostomídeo	<i>E. vermicularis</i>	<i>T. trichiura</i>	<i>Hymenolepis</i> sp	<i>Taenia</i> sp
1	14/07/97	1	A <sub>UASB</sub>	-	240	81,2	12,5	0	0	6,3	0
			E <sub>UASB</sub>	-	30	57,0	33,0	7,0	0	0	3,0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
2	30/07/97	17	A <sub>UASB</sub> <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
			E <sub>UASB</sub>	-	31	64,5	19,3	12,9	0	3,2	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
3	13/08/97	31	A <sub>UASB</sub>	-	40	50,0	50,0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	10	75,0	25,0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
4	27/08/97	45	A <sub>UASB</sub>	14	13	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,1	8	70,0	20,0	0	0	10,0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	3	0	-	-	-	-	-	-
5	24/09/97	73	A <sub>UASB</sub>	4,5	67	75,0	25,0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,1	13	62,5	25,0	12,5	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	0,2	0	-	-	-	-	-	-
6	15/10/97	94	A <sub>UASB</sub>	5	30	67,0	0	0	33,0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,1	3	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	0,3	0	-	-	-	-	-	-
7	29/10/97	108	A <sub>UASB</sub>	6	30	83,0	0	0	0	17,0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	13	80,0	20,0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	0,1	0	-	-	-	-	-	-
8	10/12/97	150	A <sub>UASB</sub>	5,9	60	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,1	7	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	0,1	0	-	-	-	-	-	-
9	07/01/98	178	A <sub>UASB</sub>	-	13	75,0	25,0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	2	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
10	28/01/98	199	A <sub>UASB</sub>	3	5	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,5	39	84,7	11,9	0	3,4	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	0,2	0	-	-	-	-	-	-

TABELA A1 – Resultados de ovos de helmintos – Fase 1 (continuação)

Amostra	Data	Dia de operação	Ponto de Amostragem	Sólidos Sediment. (mL/L)	Contagem (ovos/L)	Frequência Relativa (%)					
						<i>A. lumbricoides</i>	Ancilostomídeo	<i>E. vermicularis</i>	<i>T. trichiura</i>	<i>Hymenolepis</i> sp	<i>Taenia</i> sp
11	18/02/98	220	A <sub>UASB</sub>	0,8	47	0	93,0	7,0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,2	4	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	0,2	0	-	-	-	-	-	-
12	04/03/98	234	A <sub>UASB</sub>	10	10	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	2,5	27	80,0	0	0	0	20,0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	0,2	0	-	-	-	-	-	-
13	18/03/98	248	A <sub>UASB</sub>	5	20	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,5	3	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	0,2	0	-	-	-	-	-	-
14	01/04/98	262	A <sub>UASB</sub>	-	40	66,7	33,3	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	5	33,3	66,7	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
Média A <sub>UASB</sub>				6,0	47,3	76,8	18,4	0,5	2,5	1,8	0,0
Média E <sub>UASB</sub>				0,5	13,9	79,1	15,8	2,3	0,2	2,4	0,2
Média E <sub>RAMPAS</sub>				0,5	0,0	-	-	-	-	-	-

Nota: (1) Não foi possível a identificação devido à grande quantidade de sólidos presentes na amostra

## 9.2 TABELA A2 – Resultados de ovos de helmintos – Fase 2

Amostra	Data	Dia de operação	Ponto de Amostragem	Sólidos Sediment. (mL/L)	Contagem (ovos/L)	Frequência Relativa (%)					
						<i>A. lumbricoides</i>	Ancilostomídeo	<i>E. vermicularis</i>	<i>T. trichiura</i>	<i>Hymenolepis</i> sp	<i>Taenia</i> sp
1	22/09/99	1	A <sub>UASB</sub>	-	120	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	16	92,0	8,0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
2	05/10/99	14	A <sub>UASB</sub>	-	720	94,0	0	0	0	6,0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	68	84,0	12,0	0	2,0	2,0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
3	23/11/99	63	A <sub>UASB</sub>	-	284	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	21	94,0	0	0	0	6,0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0,5	100,0	0	0	0	0	0
4	02/02/00	134	A <sub>UASB</sub>	-	200	80,0	13,0	0	7,0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	48	77,7	16,7	0	2,8	2,8	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
5	24/02/00	156	A <sub>UASB</sub>	-	264	90,0	10,0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	40	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
6	15/03/00	175	A <sub>UASB</sub>	-	187	57,1	28,6	0	0	14,3	0
			E <sub>UASB</sub>	-	44	91,0	9,0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
7	22/03/00	182	A <sub>UASB</sub>	-	53	50,0	50,0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	13	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
8	28/03/00	188	A <sub>UASB</sub>	-	320	68,8	18,8	0	6,2	6,2	0
			E <sub>UASB</sub>	-	45	74,0	22,3	0	0	3,7	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
9	04/04/00	195	A <sub>UASB</sub>	-	50	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	9	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0,7	0	100,0	0	0	0	0
10	11/04/00	202	A <sub>UASB</sub>	-	27	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	32	50,0	37,5	0	0	12,5	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	1	0	100,0	0	0	0	0

TABELA A2 – Resultados de ovos de helmintos – Fase 2 (continuação)

Amostra	Data	Dia de operação	Ponto de Amostragem	Sólidos Sediment. (mL/L)	Contagem (ovos/L)	Frequência Relativa (%)					
						<i>A. lumbricoides</i>	Ancilostomídeo	<i>E. vermicularis</i>	<i>T. trichiura</i>	<i>Hymenolepis</i> sp	<i>Taenia</i> sp
11	18/04/00	209	A <sub>UASB</sub>	7,6	50	66,7	33,3	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	1,3	16	33,3	33,3	0	0	33,4	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
12	25/04/00	216	A <sub>UASB</sub>	8,5	0	-	-	-	-	-	-
			E <sub>UASB</sub>	0,5	2	0	100,0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
13	02/05/00	223	A <sub>UASB</sub>	3,9	40	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,8	15	81,8	9,1	0	0	9,1	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
14	09/05/00	230	A <sub>UASB</sub>	9,5	0	-	-	-	-	-	-
			E <sub>UASB</sub>	1,5	19	71,4	28,6	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
15	16/05/00	237	A <sub>UASB</sub>	6,5	133	90,0	10,0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	1,5	10	100	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
16	23/05/00	244	A <sub>UASB</sub>	7,5	60	77,8	22,2	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,9	27	96,3	3,7	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
17	30/05/00	251	A <sub>UASB</sub>	5	25	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	1,2	15	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
18	06/06/00	258	A <sub>UASB</sub>	3,5	53	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,9	12	83,3	16,7	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
19	14/06/00	266	A <sub>UASB</sub>	-	47	78,6	21,4	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	8	80,0	20,0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
20	20/06/00	272	A <sub>UASB</sub>	4,5	70	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	0,6	12	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-

TABELA A2 – Resultados de ovos de helmintos – Fase 2 (continuação)

Amostra	Data	Dia de operação	Ponto de Amostragem	Sólidos Sediment. (mL/L)	Contagem (ovos/L)	Frequência Relativa (%)					
						<i>A. lumbricoides</i>	Ancilostomídeo	<i>E. vermicularis</i>	<i>T. trichiura</i>	<i>Hymenolepis</i> sp	<i>Taenia</i> sp
21	27/06/00	279	A <sub>UASB</sub>	7,5	27	87,5	0	0	12,5	0	0
			E <sub>UASB</sub>	3,5	6	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
22	04/07/00	286	A <sub>UASB</sub>	-	87	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	12	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
23	11/07/00	293	A <sub>UASB</sub>	-	110	90,9	0	0	0	9,1	0
			E <sub>UASB</sub>	-	24	77,8	16,7	0	0	5,5	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
24	18/07/00	300	A <sub>UASB</sub>	9	50	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	1,3	3	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
25	25/07/00	307	A <sub>UASB</sub>	2	40	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	1,5	16	87,5	0	0	0	12,5	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	2	0	100,0	0	0	0	0
26	01/08/00	314	A <sub>UASB</sub>	-	93	85,7	7,1	0	0	7,2	0
			E <sub>UASB</sub>	-	21	90,9	9,1	0	0	0	0
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
27	08/08/00	321	A <sub>UASB</sub>	-	120	100,0	0	0	0	0	0
			E <sub>UASB</sub>	-	0	-	-	-	-	-	-
			E <sub>RAMPAS</sub>	-	1	100,0	0	0	0	0	0
Média A <sub>UASB</sub>				6,3	119,6	88,2	8,9	0,0	1,1	1,8	0,0
Média E <sub>UASB</sub>				1,3	20,5	83,3	13,2	0,0	0,2	3,4	0,0
Média E <sub>RAMPAS</sub>					0,2	4,3	13,0	0,0	0,0	0,0	0,0

### 9.3 TABELA A3 – Resultados de coliformes totais e *Escherichia coli* – Fase 2

Amostra	Data	Dia de operação	coliformes totais			<i>Escherichia coli</i>		
			A <sub>UASB</sub>	E <sub>UASB</sub>	E <sub>RAMPAS</sub>	A <sub>UASB</sub>	E <sub>UASB</sub>	E <sub>RAMPAS</sub>
1	23/11/99	63	1,0E+10	3,0E+08	1,1E+08	3,4E+09	8,0E+07	2,6E+07
2	25/11/99	65	5,8E+10	2,4E+09	2,0E+08	9,3E+09	5,8E+08	2,4E+07
3	16/02/00	148	2,4E+10	1,2E+09	1,8E+09	4,1E+09	4,1E+08	1,7E+08
4	23/02/00	155	2,4E+11	8,8E+08	5,2E+07	2,3E+10	1,4E+08	2,0E+07
5	01/03/00	162	4,2E+10	7,8E+08	1,3E+08	7,2E+09	1,8E+08	1,0E+07
6	16/03/00	177	2,4E+10	2,1E+09	6,9E+07	4,6E+09	7,1E+08	1,7E+07
7	21/03/00	182	7,7E+09	5,2E+08	1,0E+05	-	-	-
8	28/03/00	189	2,4E+10	1,6E+09	9,2E+07	4,5E+09	1,7E+08	1,4E+07
9	04/04/00	196	1,2E+10	1,3E+09	1,9E+08	2,9E+09	6,1E+08	1,2E+08
10	11/04/00	203	9,8E+09	3,1E+08	9,9E+06	4,9E+09	1,4E+08	2,3E+06
11	18/04/00	210	2,0E+10	1,0E+09	7,7E+07	6,1E+09	4,4E+08	3,4E+07
12	25/04/00	217	1,2E+10	1,5E+08	2,4E+08	3,3E+09	5,0E+07	2,4E+08
13	02/05/00	224	7,9E+08	1,1E+09	8,2E+07	2,0E+07	3,9E+08	1,9E+07
14	09/05/00	231	6,9E+09	1,7E+08	5,5E+07	1,6E+09	4,3E+07	2,8E+07
15	16/05/00	238	2,0E+09	1,0E+09	1,7E+08	1,4E+09	1,6E+08	9,8E+07
16	23/05/00	245	4,6E+09	4,6E+07	4,4E+07	1,4E+09	1,6E+07	1,1E+07
17	06/06/00	259	5,2E+09	6,5E+08	3,3E+07	1,7E+09	1,9E+08	1,4E+07
18	13/06/00	266	5,5E+09	1,7E+09	4,1E+07	1,5E+09	6,1E+08	9,9E+06
19	20/06/00	273	1,6E+10	9,8E+08	2,4E+08	3,6E+09	2,4E+08	9,8E+07
20	04/07/00	287	1,9E+09	5,5E+08	2,4E+08	7,7E+08	4,7E+07	6,6E+07
21	11/07/00	294	7,3E+09	1,6E+09	1,7E+08	1,7E+09	8,7E+08	9,8E+07
22	18/07/00	301	1,2E+10	1,1E+09	1,4E+08	2,0E+09	3,7E+08	9,2E+07
23	25/07/00	308	2,5E+09	9,2E+08	4,9E+07	4,2E+08	3,3E+08	2,2E+07
24	01/08/00	315	9,8E+09	2,0E+09	2,2E+07	2,8E+09	6,5E+08	1,6E+07
25	08/08/00	322	4,1E+09	8,7E+08	4,4E+07	8,2E+08	3,4E+08	1,6E+07
Média Geométrica			9,8E+09	7,5E+08	7,1E+07	2,2E+09	2,2E+08	3,0E+07