

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA**

**DESINFECÇÃO DE EFLUENTE SANITÁRIO POR  
RADIÇÃO UV E GAMA: EFEITOS NA INATIVAÇÃO DE  
OVOS DE *ASCARIS* SPP.**

**Gloria Suzana Meléndez Bastos de Souza**

Belo Horizonte  
2011

**Gloria Suzana Meléndez Bastos de Souza**

**DESINFECÇÃO DE EFLUENTE SANITÁRIO POR  
RADIAÇÃO UV E GAMA: EFEITOS NA INATIVAÇÃO DE  
OVOS DE *ASCARIS* SPP.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Parasitologia.

Área de concentração: Helminologia

Linha de pesquisa: Parasitologia sanitária

Orientador:  
Prof. Dr. Marcos Pezzi Guimarães

Co-orientador:  
Prof. Dr. Carlos Augusto de Lemos Chernicharo

Belo Horizonte  
Instituto de Ciências Biológicas  
2011

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Helminologia Veterinária do Departamento de Parasitologia, do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, no Laboratório de Microbiologia e no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, na Escola de Engenharia da UFMG e no Laboratório de Irradiação Gama do Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear – CDTN.

Auxílio financeiro

FAPEMIG: Edital Universal de 2008

CNPq: Edital Água e Saúde 2008

*“Sonho que se sonha só é só um  
sonho que se sonha só...”*

*“Mas, sonho que se sonha junto é  
realidade”*

*Raul Seixas*

*Dedico este trabalho a  
todos que sonharam comigo, e especialmente à  
Equipe Executora do Projeto Desinfecção*

## AGRADECIMENTOS

### Meus sinceros agradecimentos...

À força criadora da minha existência: DEUS. Pela oportunidade da vida e de serviço.

Ao meu orientador, Professor Doutor Marcos Pezzi Guimarães. Obrigada pela confiança, oportunidade e, principalmente, pela boa vontade. Seu apoio, além da disposição em ajudar em momentos de dificuldades, foi fundamental para a execução desta pesquisa.

Ao meu co-orientador, Professor Doutor Carlos Augusto de Lemos Chernicharo. Agradeço por suas preciosas considerações sempre enriquecedoras e pela sua habilidade em sugerir soluções práticas. Com certeza você fez uma diferença positiva neste trabalho.

Ao meu amado marido Cláudio. Pelo exemplo de dedicação e amor à ciência... Pelos cuidados, ternura e força que sempre me passou. Foi você que me segurou de pé quando minhas pernas bambearam. Sem você seria impossível...

Aos amados: mãinha, painho, Nanda e Valmira. Aos meus sogros, Fatinha e Carlinhos, cunhados, Roberta e Digo, meus compadres, Rô e Marininha, e meus amados sobrinhos Ruan e Raíssa. Sem a torcida e incentivo e, principalmente, pela compreensão da minha ausência eu não teria conseguido. Um agradecimento especial pra Painho e a Elenita que, além de tudo, teve a paciência de ler o trabalho.

Às minhas eternas “saietes”, de ontem, hoje e sempre. Mesmo depois de 7 anos de eu ter saído da República vocês continuam me acolhendo e torcendo por mim. Obrigada pelas vibrações positivas!!!

Às lindas e queridas vizinhas: Ana, Nilma, Rosália e Mirinha pelo incentivo e fé em meu trabalho.

À família dó-ré-mi - coral da Fraternidade Espírita Albino Teixeira pelo amparo espiritual e orações.

À família - coral da Faculdade de Letras da UFMG, especialmente Priscilla Tulipa, pela leitura do documento de qualificação, e todos que também me presentearam com amizade e incentivo.

A Hudson e Maria, especialmente. Pela acolhida, convivência afável, pela prontidão em ajudar, pela competência e boa vontade. Tive sorte grande em poder conviver e contar com vocês.

Ao Departamento de Parasitologia, pela oportunidade, especialmente à Sumara, sempre prestativa e com alto-astrol contagiante. Agradeço também ao DESA, especialmente às pessoas: Suzane, Sr. Raimundo, Manuel, Eros, Cristiane, Cláudia, D. Chica e Teresinha, e os meninos da Cruz Vermelha pelo amparo que me foi dado.

Ao CDTN, especialmente às pessoas: Pablo, Márcio Tadeu, Bernadete, Fausto, Pepê, Lili e Camila. Obrigada pela disponibilidade de sempre e por tornar menos árdua a jornada de trabalho. Um agradecimento **super-especial** ao Temóteo, operador do irradiador. Sem palavras para agradecer a sua presteza, boa vontade e por usar seus talentos para enriquecer este trabalho.

À Escola Municipal Dagmar Barbosa de Souza e ao laboratório de análises clínicas Hermes Pardini pelo fornecimento de ovos férteis de *Ascaris lumbricoides* provenientes de fezes humanas. Vocês foram imprescindíveis para este estudo que visa buscar melhores condições na saúde pública. Agradeço aos pacientes que em seu anonimato contribuíram para o andamento da pesquisa. Vocês foram essenciais.

Um **agradecimento especial** à Seção de Serviços Gerais nas pessoas: Manoel, Marlon, Valdísio, Luis, Messias e Elídio que sempre com muito boa vontade atenderam às necessidades do projeto providenciando transporte para a coleta de amostras. Obrigada pela convivência agradável e pela prontidão de sempre. Vocês não se limitaram apenas a transportar amostras, mas colocaram seus sentimentos e fé na minha pesquisa. Agradeço o incentivo. Obrigada a todos vocês!!!

À seção de equipamentos especiais da UFMG por colocar a engenhosidade e criatividade a serviço da ciência, sempre procurando nos atender com competência, agilidade e carinho.

À Ana Paula Martins, da biblioteca, por sempre me ajudar prontamente a encontrar aqueles artigos mais difíceis. Sua contribuição foi valiosa!!

Ao Professor Doutor Cristiano Massara por compartilhar seus conhecimentos com tanta boa vontade e contribuir no treinamento de metodologias empregadas nesta pesquisa. Agradeço também pelas referências bibliográficas, pelas considerações intelectuais sempre valiosas e pelos tubos de parasitokit

Ao Professor Doutor Israel, da escola de veterinária. Agradeço por abrir as portas da fazenda da veterinária. Sem você esta etapa da pesquisa envolvendo suínos seria impossível. Agradeço também a Ana e a Luciano pela convivência aprazível! Agradecimento especial ao Senhor Nenego e a Douglas, sempre prontos para ajudar no manejo dos suínos.

À Professora Cidinha e a Joãozinho, por estarem sempre prontos a ajudar, pela partilha de conhecimentos e de bancada. Vocês são exemplos de profissionais que quero seguir sempre. À Professora Doutora Débora pelo apoio inicial e pelas considerações no pré-projeto. Ao professor Doutor Walter Lima por sua contribuição na minha formação como parasitologista e pelos conselhos que me ajudaram a estruturar o experimento com suínos.

À Juliana, Eveline, Laura, Lanuze, Tiago, Lu, Rutinha e todas as pessoas que me acolheram no ICB. Obrigada pela energia positiva. À Socorro e Karinna pela convivência no laboratório.

Aos amigos Sérgio, Silvana, Silvia, Paulo Gustavo e Lívia pela participação pelo incentivo.

Ao pessoal do laboratório de microbiologia do DESA, Ana Paula, Val, Grazi, Érika, Marcos, Eduardo e Renata pelos bons dias que passamos juntos. Um agradecimento especial à Dri que sempre me ajudou muito. Querida, obrigada por tudo!

À Liliane, Ângela, Karen, Carol Moreira, Hans e Mônica por terem participado do projeto e deixado marcas positivas. A ajuda concebida foi valiosa.

À minha psicóloga Marirosa por me ajudar na caminhada rumo ao progresso.

**Agora, o agradecimento mais ESPECIAL de todos... Agradeço do fundo do coração à equipe executora do projeto desinfecção: Brenno, Carol, Flavinha, Lud, Rodrigo e Warllem. O comprometimento de vocês com o projeto foi inspirador. Contar com o amor, empenho, dedicação de cada um de vocês foi crucial para a concretização deste sonho. Agradeço a cada hora, a cada dia principalmente dos finais de semana que vocês se esforçaram e se dedicaram ao projeto. Foi um prazer trabalhar com vocês.**

Ao **CNPq** pela bolsa de doutorado concebida, pelo financiamento do projeto e pelas bolsas de apoio técnico, iniciação científica e iniciação tecnológica. Agradeço à **FAPEMIG** pelo financiamento do projeto e pela bolsa de iniciação científica concedida. Agradeço ao Programa de bolsa sócio-educacional da **FUMP** pela bolsa concedida. **E a todos aqueles que contribuíram de maneira direta ou indireta para a concretização deste trabalho.**

## RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivo investigar a inativação de ovos de *Ascaris* spp. durante a desinfecção de efluentes domésticos pela ação da radiação ultravioleta em fotorreatores de lâmpadas imersas e emersas (em escala de demonstração); e pela ação da radiação gama proveniente de fonte  $^{60}\text{Co}$  (em escala de bancada). Investigou-se também o emprego de diferentes tipos de ovos de parasito do gênero *Ascaris*, com e sem membrana mamilonada, como indicador de eficiência de desinfecção; e, finalmente, avaliou-se o desenvolvimento do ovo de *Ascaris* sp. irradiado em hospedeiro (modelo murino). O esgoto foi tratado em sistema anaeróbio (UASB) seguido de filtro biológico percolador (FBP) no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS) – UFMG/COPASA. As amostras de esgoto foram contaminadas artificialmente com ovos de *Ascaris* spp. e foram testadas várias doses de radiação UV e de radiação gama. Após as irradiações, as amostras de esgoto foram analisadas em laboratório, a fim de verificar a viabilidade dos ovos após o período de incubação em solução de ácido sulfúrico a 0,1 N, por 28 dias, em estufa a 28°C e aeração manual diária. Os resultados indicaram que a dose de radiação UV aplicada por fotorreator de lâmpadas imersas e por fotorreator de lâmpadas emersas foram superiores a 90% de inativação, embora a qualidade parasitológica do efluente não se enquadrasse nas diretrizes da Organização Mundial da Saúde para a utilização de esgoto tratado. Quanto à radiação gama, os resultados apontaram as seguintes doses para desinfecção de efluente sanitário: dose de 3,5 kGy para efluentes com concentração até 150 ovos/L de *Ascaris* spp. e 5 kGy para efluentes com mais até 600 ovos/L de *Ascaris* spp.. Os resultados apontaram também que a membrana mamilonada protege o DNA no interior do ovo contra as ações das radiações UV e gama. E por fim foi verificado *in vivo* que as radiações para desinfecção de efluente doméstico minimizam o risco de infecção no modelo murino.

A presente pesquisa também tentou utilizar o modelo suíno para verificar a viabilidade do ovo de ascarídeos após as irradiações, mas a configuração espacial do experimento, em regime semi-intensivo não impediu a contaminação do rebanho e comprometeu os resultados do experimento. Com isso sugere-se que futuros experimentos envolvendo modelo suíno sejam realizados em regime intensivo, com o isolamento de cada animal.

**Palavras chaves:** desinfecção, esgoto, radiação gama, radiação UV, inativação, ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum*, teste de viabilidade *in vitro*, membrana mamilonada, teste de viabilidade *in vivo* (modelo murino e suíno).



## ABSTRACT

This research aimed to investigate the inactivation of *Ascaris* spp. eggs during disinfection of domestic sewage by the action of ultraviolet radiation in submerged and emerged lamp demo-scale photoreactors, and gamma radiation from  $^{60}\text{Co}$  source (bench scale). It was also investigated the use of different types of *Ascaris* genus eggs, with and without mammilated membrane as an indicator of disinfection efficiency; and finally evaluated the development of eggs of irradiated *Ascaris* spp. in the host (murine). The sewage was treated in an anaerobic system (UASB reactor) followed by trickling filters (TF) at the Center for Research and Training on Sanitation (CePTS) - UFMG/COPASA. The sewage samples were artificially contaminated with *Ascaris* spp. eggs and various doses of UV and gamma radiation were tested. After irradiation, sewage samples were analyzed in the laboratory to verify the viability of eggs after incubation in a solution of sulfuric acid 0.1 N, for 28 days, in an incubator at 28°C and daily manual aeration. The inactivation efficiencies were higher than 90% in both UV photoreactors, but the parasitological quality of the effluent did not fit the guidelines of the World Health Organization for the use of treated sewage. As for the gamma radiation, the results indicated the following doses for disinfection of sanitary effluent: 3.5 kGy dose for waste water with lower concentrations of *Ascaris* spp. eggs and 5 kGy for wastewater with higher concentrations of *Ascaris* spp. eggs. The results also showed that the mammilated membrane protects the DNA inside the egg against the action of UV and gamma radiation. Finally it was verified by *in vivo* tests that the use of radiation for wastewater disinfection probably minimizes the risk of host infection (murine model).

**Keywords:** disinfection, sewage, gamma radiation, UV radiation, innactivation, *Ascaris lumbricoides* eggs, *Ascaris suum*, *in vitro* viability test, mammilated membrane, *in vivo* viability test (murine and swine model).

## LISTA DE ABREVIATURAS

CDTN – Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear  
CNEN – Comissão Nacional de Energia Nuclear  
COPASA – Companhia de Saneamento de Minas Gerais  
CePTS – Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento  
CETEA – Comitê de Ética em Experimentação Animal  
COV – Carga Orgânica Volumétrica  
DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio  
DNA- Ácido desoxirribonucléico  
DQO – Demanda Química de Oxigênio  
ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay  
ETE – Estação de Tratamento de Esgoto  
EPA – Environmental Protection Agency  
FBP – Filtro Biológico Percolador  
FRE – Fotorreator de Lâmpadas Emersas  
FRI – Fotorreator de Lâmpadas Imersas  
Gy – Gray (Unidade de Energia/Massa –  $J.kg^{-1}$ ) unidade de dose de radiação gama  
LIG – Laboratório de Radiação Gama  
LMV – Larva Migrans Visceral  
Mev – Mega-Eletronvolt  
 $mW.s.cm^{-2}$  – (unidade de potência x tempo/área) unidade de dose de radiação UV  
pH – Potencial Hidrogeniônico  
OPS – Organization Panamericana de la Salud  
OPG – Ovos por grama de fezes  
Reator UASB – Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo  
SST – Sólidos Suspensos Totais  
TAS – Taxa de Aplicação Superficial  
TDH – Tempo de Detenção Hidráulica  
TMHs – Trihalometanos  
UV – Ultravioleta  
WHO – World Health Organization

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1 – Declínio da disponibilidade de água nos países em desenvolvimento.....	1
Figura 1.2 – Taxa de internações por doença diarreica aguda em menores de 5 anos no Brasil, por estado, 2005.....	2
Figura 2.1 – Funcionamento do sistema de tratamento por reator UASB.....	6
Figura 2.2 – Tipos de utilização de esgoto tratado .....	8
Figura 2.3 – Utilização de esgoto sanitário e risco de transmissão de doenças .....	8
Figura 2.4 – Estrutura da casca do ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	13
Figura 2.5 – Ciclo biológico do <i>A. lumbricoides</i> .....	14
Figura 2.6 – Faixa de ondas eletromagnéticas.....	17
Figura 2.7 – Possíveis consequências biológicas da absorção da radiação UV por DNA .....	19
Figura 2.8 – Efeito da radiação UV no DNA .....	19
Figura 2.9 – Formação do dímero de timina e a sua fotorreativação na presença de enzima fotoliase e luz.....	21
Figura 2.10 – (A) Esquema da radiólise da água e (B) Esquema das reações químicas decorrentes da radiólise da água.....	22
Figura 2.11 – Danos na molécula de DNA provocados pela radiação ionizante. ....	23
Figura 4.1 – Ilustração do sistema UASB <sub>1</sub> (A)/FBP <sub>1</sub> (B).....	35
Figura 4.2 – Ilustração do sistema UASB <sub>2</sub> /FBP <sub>2</sub> .....	36
Figura 4.3 – Vista superior do sistemas dos fotorreatores.....	38
Figura 4.4 – Foto e esquema do fotorreator de lâmpadas imersas (FRI).....	38
Figura 4.5 – Foto e esquema do fotorreator de lâmpadas emersas (FRE).....	39
Figura 4.6 – Esquema do irradiador panorâmico do LIG/CDTN.....	39
Figura 4.7 – Dissecção de <i>Ascaris</i> spp. (A); e útero de verme adulto em solução salina (B) ..	42
Figura 4.8 – Esquema dos pontos de coleta dos sistemas de tratamento de esgoto .....	43
Figura 4.9 – Medidor de luz ultravioleta digital.....	44
Figura 4.10 – Posicionamento das amostras no irradiador.....	45
Figura 4.11 – Esquema do método de incubação adaptado.....	46
Figura 4.12 – Ovo de <i>Ascaris</i> spp. com casca – estágio de célula única.....	47
Figura 4.13 – Ovo de <i>Ascaris</i> spp. descorticado – estágio de célula única.....	47
Figura 4.14 – Ovo de <i>Ascaris</i> spp. mórula precoce de 2 células.....	47
Figura 4.15 – Ovo de <i>Ascaris</i> spp. mórula precoce – 2 a 16 células.....	47
Figura 4.16 – Ovo de <i>Ascaris</i> spp. mórula tardia – acima de 16 células.....	47
Figura 4.17 – Ovo de <i>Ascaris</i> spp. viável (com larva) .....	47
Figura 4.18 – Fluxograma dos procedimentos para obtenção de amostras irradiadas com UV .....	49
Figura 4.19 – Fluxograma dos procedimentos para obtenção de amostras irradiadas com raios gama .....	51

Figura 4.20 – (A) Conjunto de tubo e funil de polipropileno utilizada na adaptação da técnica de Baermann-Moraes-Coutinho por Willcox & Coutinho (B) detalhe do funil.....	56
Figura 4.21 – Esquema do estudo da viabilidade do ovo de <i>Ascaris in vivo</i> em modelo murino .....	57
Figura 4.22 – Baias de criação dos animais para o experimento.....	58
Figura 4.23 – Infecção oral do suíno com ovos de <i>A. suum</i> .....	59
Figura 4.24 – Esquema do estudo da viabilidade <i>in vivo</i> do ovo de <i>A. suum</i> em modelo suíno .....	59
Figura 5.1 – Distribuição dos estádios de desenvolvimento dos ovos de <i>A. suum</i> em fotorreator de lâmpadas imersas .....	61
Figura 5.2 – Distribuição dos estádios de desenvolvimento dos ovos de <i>A. suum</i> em fotorreator de lâmpadas emersas .....	61
Figura 5.3 – Eficiência da desinfecção por radiação UV .....	65
Figura 5.4 – Ovos inviáveis (sem formação de larva) de <i>A. lumbricoides</i> irradiados em 1 litro de esgoto com a dose de 5,0 kGy de radiação gama .....	69
Figura 5.5 – Distribuição dos estádios de desenvolvimento de ovos de <i>A. lumbricoides</i> nas doses de radiação gama utilizadas .....	70
Figura 5.6 – Porcentagem de inativação de ovos de <i>A. lumbricoides</i> durante a desinfecção de esgoto doméstico expostos à diferentes doses de radiação gama.....	72
Figura 5.7 – Comparação da inativação de ovos de <i>A. suum</i> com e sem membrana mamilonada por radiação UV em diferentes doses .....	76
Figura 5.8 – Comparação da viabilidade de ovos de <i>A. suum</i> com e sem membrana mamilonada irradiados com raios gama em diferentes doses.....	78
Figura 5.9 – Ovos de <i>A. lumbricoides</i> com membrana mamilonada (A) e sem membrana mamilonada (B) irradiados na dose 3,5 kGy de radiação gama .....	78
Figura 5.10 – Comparação da viabilidade de ovos de <i>A. lumbricoides</i> com e sem membrana mamilonada irradiados com raios gama .....	79
Figura 5.11 – Comparação da viabilidade de ovos de <i>A. lumbricoides</i> e <i>A. suum</i> com membrana mamilonada irradiados com raios gama .....	83
Figura 5.12 – Exemplo de suinocultura intensiva com isolamento de cada animal.....	89

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Recomendações da OMS para a qualidade microbiológica do esgoto tratado a ser utilizado .....	9
Tabela 2.2 – Métodos de detecção de ovos de helmintos no esgoto .....	11
Tabela 2.4 – Vantagens e desvantagens de alguns processos de desinfecção de esgotos .....	24
Tabela 3.1 – Hipótese correspondente a cada objetivo específico investigado.....	33
Tabela 4.1 – Condições operacionais do sistema UASB <sub>1</sub> /FBP <sub>1</sub> .....	35
Tabela 4.2 – Características físico-químicas do sistema UASB <sub>1</sub> /FBP <sub>1</sub> .....	35
Tabela 4.3 – Condições operacionais do sistema UASB <sub>2</sub> /FBP <sub>2</sub> .....	36
Tabela 4.4 – Características físico-químicas do sistema UASB <sub>2</sub> /FBP <sub>2</sub> .....	36
Tabela 4.5 – Dados descritivos da concentração de ovos de helmintos em esgoto bruto (ovos/L) .....	40
Tabela 4.6 – Condições operacionais dos fotorretores de lâmpadas imersas e lâmpadas emersas .....	50
Tabela 4.7 – Doses de radiação gama aplicada .....	51
Tabela 4.8 – Tipos de indicadores de qualidade parasitológica utilizados.....	52
Tabela 4.9 – Condições operacionais dos fotorretores de lâmpadas imersas e lâmpadas emersas .....	53
Tabela 4.10 – Doses de radiação gama aplicadas.....	53
Tabela 4.11 – Quantidade de camundongos por grupo experimental .....	55
Tabela 4.12 – Quantidade de suínos utilizados por grupo experimental.....	58
Tabela 5.1 – Quantidade de ovos de <i>A. suum</i> /L em cada dose de radiação UV testada.....	64
Tabela 5.2 – Estatística descritiva da inativação de ovos de <i>A. suum</i> irradiados com UV .....	64
Tabela 5.3 – Comparação de dados da literatura sobre inativação de ovos de <i>Ascaris</i> spp por radiação UV .....	66
Tabela 5.4 – Quantidade de ovos de <i>A. lumbricoides</i> irradiados com raios gama e eficiências na inativação .....	71
Tabela 5.5 – Estatística descritiva da porcentagem de inativação de ovos de <i>A. lumbricoides</i> expostos a diferentes doses de raios gama .....	71
Tabela 5.6 – Comparação de dados da literatura sobre inativação de ovos de <i>Ascaris</i> spp por radiação gama .....	74
Tabela 5.7 – Quantidade média de ovos de <i>A. suum</i> com e sem membrana mamilonada irradiados em diferentes doses de raios UV e eficiências de inativação .....	76
Tabela 5.8 – Porcentagem média de viabilidade média de ovos de <i>A. suum</i> com e sem membrana mamilonada irradiados com raios UV em diferentes doses.....	76
Tabela 5.9 – Quantidade média de ovos de <i>A. suum</i> com e sem membrana mamilonada irradiados com diferentes doses de raios gama e sua eficiência na inativação.....	77
Tabela 5.10 – Porcentagem de viabilidade média de ovos de <i>A. suum</i> com e sem membrana mamilonada irradiados com raios gama com diferentes doses .....	77

Tabela 5.11 – Quantidade média de ovos de <i>A. lumbricoides</i> com e sem membrana mamilonada irradiados com diferentes doses de raios gama e sua eficiência na inativação....	79
Tabela 5.12 – Porcentagem de viabilidade média de ovos de <i>A. lumbricoides</i> com e sem membrana mamilonada irradiados com diferentes doses de raios gama.....	79
Tabela 5.13 – Comparação de dados da literatura sobre inativação de ovos de <i>Ascaris</i> spp com e sem membrana mamilonada por radiação UV ou radiação gama .....	81
Tabela 5.14 – Quantidade média de ovos de <i>A. lumbricoides</i> e <i>A. suum</i> irradiados com diferentes doses de raios gama e sua eficiência na inativação .....	82
Tabela 5.15 – Porcentagem de viabilidade média de ovos de <i>A. lumbricoides</i> com e sem membrana mamilonada irradiados com raios gama .....	83
Tabela 5.16 – Dados sobre a viabilidade de ovos de <i>A.suum</i> irradiados com radiação UV e gama .....	85
Tabela 5.17 – Recuperação de larvas de órgãos de camundongos infectados com ovos de <i>A. suum</i> irradiados com UV.....	86
Tabela 5.18 – Recuperação de larvas de órgãos de camundongos infectados com ovos de <i>A. suum</i> irradiados com gama. ....	86
Tabela 5.19 – Resultados de exame de fezes em suínos infectados com ovos de <i>A. suum</i> irradiados com radiação UV e com radiação gama após o mínimo de um mês de infecção....	88
Tabela 5.20 – Recuperação de vermes em intestino de suínos infectados com ovos embrionados de <i>A. suum</i> irradiados com a dose 1,5 kGy de radiação gama. ....	88

# SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS .....	vi
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 JUSTIFICATIVA / CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA .....	5
2.1 Definição de tratamento convencional de esgoto .....	5
2.1.1 Sistema de tratamento anaeróbio – reator tipo UASB.....	5
2.1.2 Sistemas de filtro biológico percolador .....	6
2.2 Necessidade de uso de efluentes sanitários tratados .....	7
2.3 Organismos indicadores de eficiência de tratamento.....	10
2.3.1 Indicadores bacteriológicos .....	10
2.3.2 Indicadores parasitológicos .....	10
2.4 Desinfecção para melhorar qualidade de efluentes sanitários .....	15
2.4.1 Métodos de desinfecção usuais.....	15
2.4.1.1 Cloração .....	15
2.4.1.2 Ozonização.....	16
2.4.2 Métodos alternativos .....	17
2.4.2.1 Radiação UV .....	18
2.4.2.2 Radiação gama .....	21
2.5 Literatura sobre inativação de ovos de <i>Ascaris</i> spp. por irradiações .....	24
2.5.1 Uso da radiação UV para inativação de ovos de <i>Ascaris</i> sp.....	25
2.5.2 Uso da radiação gama para inativação de ovos de <i>Ascaris</i> sp.....	27
2.5.3 Divergências apontadas pela literatura .....	30
2.5.4 Estudo da viabilidade <i>in vivo</i> do ovo de <i>Ascaris</i> sp. ....	31
2.6 Justificativa .....	32
3 OBJETIVOS.....	33
3.1 Objetivo geral .....	33
3.2 Objetivos específicos .....	33
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	34
4.1 Aparato experimental.....	34
4.1.1 Sistema UASB <sub>1</sub> /FBP <sub>1</sub> .....	34
4.1.2 Sistema UASB <sub>2</sub> /FBP <sub>2</sub> .....	35
4.1.3 Fotorreator de lâmpadas UV.....	37
4.1.4 Irradiador gama.....	39

4.2	Procedimento pré-coleta .....	40
4.2.1	Qualidade parasitológica em termos de ovos de helmintos no esgoto bruto.....	40
4.2.2	Obtenção de ovos de <i>Ascaris</i> spp. para contaminação artificial das amostras ...	40
4.2.2.1	Ovos com membrana mamilonada (obtidos a partir de fezes do hospedeiro)	40
4.2.2.2	Ovos sem membrana mamilonada (obtidos a partir de útero de verme) .....	42
4.2.3	Quantificação do inóculo para contaminação artificial das amostras.....	42
4.3	Coletas de amostras .....	43
4.3.1	Pontos de coleta .....	43
4.4	Irradiação das amostras .....	43
4.4.1	Ultravioleta .....	43
4.4.2	Radiação gama.....	44
4.5	Estudo da viabilidade de ovos de <i>Ascaris</i> spp. ....	45
4.6	Etapas da pesquisa .....	48
4.6.1	Avaliação da inativação de ovos de <i>Ascaris</i> sp. na desinfecção de efluentes sanitários por raios UV.....	48
4.6.1.1	Aparato experimental.....	49
4.6.1.2	Coleta de amostras .....	49
4.6.1.3	Irradiação das amostras.....	50
4.6.1.4	Avaliação da inativação de ovos de <i>Ascaris suum</i> .....	50
4.6.2	Avaliação da inativação de ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> na desinfecção de efluentes sanitários por raios gama .....	50
4.6.2.1	Aparato experimental.....	50
4.6.2.2	Coleta das amostras .....	51
4.6.2.3	Irradiação das amostras.....	51
4.6.2.4	Avaliação da inativação de ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> .....	52
4.6.3	Avaliação do uso de ovos de <i>Ascaris</i> spp. com e sem membrana mamilonada como modelo indicador de eficiência de um processo de desinfecção de efluentes sanitários.....	52
4.6.3.1	Aparato experimental.....	52
4.6.3.2	Coleta das amostras .....	53
4.6.3.3	Irradiações.....	53
	<i>Irradiação com raios ultravioleta</i> .....	53
	<i>Irradiação com raios gama</i> .....	53
4.6.3.4	Comparação dos ovos de <i>Ascaris</i> sp. como modelo indicador de eficiência de desinfecção de esgoto .....	54
4.6.4	Avaliação dos efeitos da radiação UV e gama na viabilidade ( <i>in vivo</i> ) de ovos de <i>Ascaris suum</i> após a desinfecção de efluentes domésticos .....	54
4.6.4.1	Aprovação em comitê de ética.....	54



4.6.4.2	Aparato experimental.....	54
4.6.4.3	Coleta e irradiações de amostras.....	55
4.6.4.4	Estudo da viabilidade <i>in vivo</i> de <i>Ascaris suum</i> .....	55
	<i>Modelo murino</i> .....	55
	<i>Modelo suíno</i> .....	57
4.7	Análise dos resultados .....	60
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	61
5.1	Avaliação da inativação de ovos de <i>A. suum</i> na desinfecção de efluentes sanitários por raios UV.....	61
5.1.1	Efeitos da radiação UV no desenvolvimento dos ovos de <i>A. suum</i> .....	61
5.1.2	Eficiência de inativação de ovos de <i>A. suum</i> por radiação UV .....	63
5.1.3	Recomendações para desinfecção por radiação UV .....	68
5.1.3.1	Tipo de fotorreator .....	68
5.1.3.2	Dose de radiação UV .....	68
5.2	Avaliação da inativação de ovos de <i>A. lumbricoides</i> na desinfecção de efluentes sanitários por raios gama .....	69
5.2.1	Efeitos da radiação gama no desenvolvimento do ovo de <i>A. lumbricoides</i> .....	69
5.2.2	Eficiência de inativação de ovos de <i>A. lumbricoides</i> por radiação gama.....	71
5.2.3	Doses de radiação gama recomendadas para desinfecção.....	75
5.3	Avaliação do uso de ovos de <i>Ascaris</i> spp. com e sem membrana mamilonada como modelo indicador de eficiência de um processo de desinfecção de efluentes sanitários .....	75
5.3.1	Uso de ovos com ou sem membrana mamilonada como modelo indicador de eficiência de desinfecção de esgoto por radiação UV e gama .....	75
5.3.1.1	Comparação da inativação de ovos de <i>A. suum</i> com e sem membrana mamilonada .....	75
5.3.1.2	Comparação da inativação de ovos de <i>A. lumbricoides</i> com e sem membrana mamilonada .....	78
5.3.1.3	Influência da membrana mamilonada na inativação de ovos de <i>Ascaris</i> spp. ....	80
5.3.2	Uso de ovos de diferentes espécies do gênero <i>Ascaris</i> como modelo indicador de eficiência de desinfecção de esgoto por radiação UV e gama.....	82
5.4	Avaliação dos efeitos da radiação UV e gama na viabilidade ( <i>in vivo</i> ) de ovos de <i>Ascaris suum</i> após a desinfecção de efluentes domésticos.....	84
5.4.1	Avaliação da viabilidade <i>in vivo</i> em modelo murino de ovos de <i>A. suum</i> após a desinfecção de esgoto por radiação UV e gama.....	84
5.4.2	Avaliação da viabilidade <i>in vivo</i> em modelo suíno de ovos de <i>A. suum</i> após a desinfecção de esgoto por radiação UV e gama.....	88
6	CONCLUSÕES.....	90
6.1	Efeitos da radiação UV no desenvolvimento dos ovos de <i>A. suum</i> .....	90
6.2	Avaliação da inativação de ovos de <i>A. lumbricoides</i> na desinfecção de efluentes sanitários por raios gama .....	91

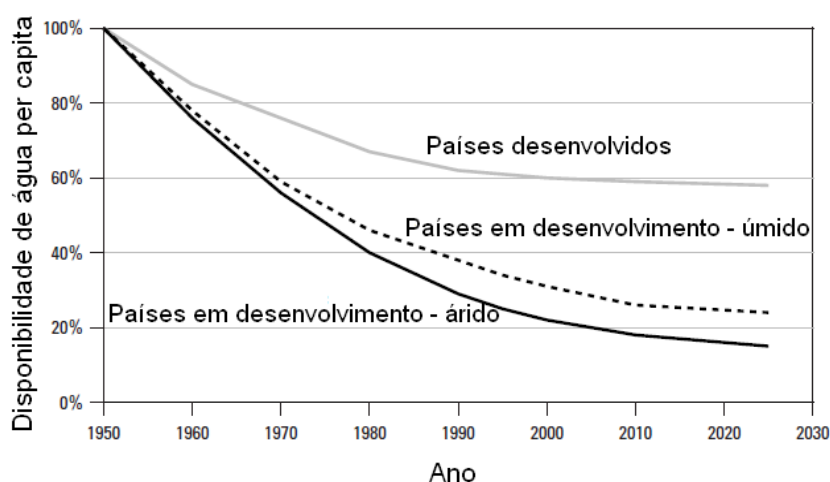
6.3	Avaliação do uso de ovos de <i>Ascaris</i> spp. com e sem membrana mamilonada como modelo indicador de eficiência de um processo de desinfecção de efluentes sanitários .....	91
6.4	Avaliação dos efeitos da radiação UV e gama na viabilidade ( <i>in vivo</i> ) de ovos de <i>A. suum</i> após a desinfecção de efluentes domésticos .....	92
7	RECOMENDAÇÕES .....	93
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	94
Anexo A	.....	102
	Aprovação no comitê de ética .....	102
Anexo B	.....	103
	Aprovação de artigo em revista qualis A2 .....	103

# 1 INTRODUÇÃO

A quantidade e a qualidade de água existente em uma região determinam a sua disponibilidade, que está diretamente relacionada com as características de um ecossistema. O conceito de qualidade da água está intrinsecamente ligado à sua característica química de transportar e dissolver diversos tipos de impurezas. A forma como uma bacia hidrográfica é ocupada influencia diretamente na qualidade da água ali presente. Os recursos hídricos devem apresentar características químicas, físicas e biológicas compatíveis com sua utilização pelos seres vivos (von Sperling, 2005).

O ciclo hidrológico apresenta algumas variações naturais decorrentes do clima, mas a ação antrópica, intencional ou não (construções de hidrelétricas e reservatórios; impermeabilização dos solos; modificação da cobertura vegetal e emissão de gases estufa), tem provocado alterações prejudiciais. Estes, entre outros fatores, podem alterar a geração dos vapores atmosféricos, que, por sua vez, podem implicar em alterações no regime de precipitação, afetando o equilíbrio do ciclo hidrológico. Nesse contexto, o ciclo da água e os problemas relacionados com saneamento e abastecimento de água estão estreitamente vinculados (Braga et al. 2005; OPS, 1998).

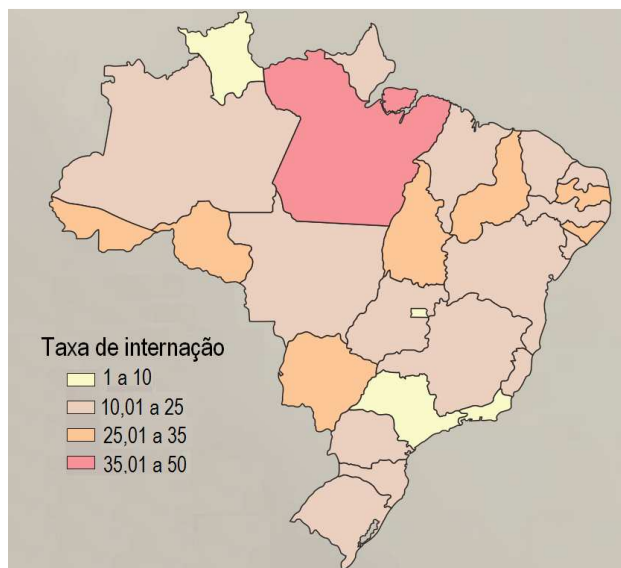
Já existe um consenso sobre a gravidade do problema, o que exige uma abordagem estratégica em gestão equitativa e sustentável dos recursos hídricos. A Figura 1.1 mostra o declínio da disponibilidade de água nos países em desenvolvimento (Pitman, 2002). Diante do quadro de constante aumento populacional, acompanhado da crescente deterioração da qualidade da água, há uma influência acentuada e negativa no equilíbrio das comunidades aquáticas.



**Figura 1.1** – Declínio da disponibilidade de água nos países em desenvolvimento  
Fonte: Pitman, 2002

Um dos principais problemas para a qualidade dos corpos aquáticos é o lançamento direto de esgotos sem tratamento, que possui como consequência o aumento da concentração de matéria orgânica e de nutrientes (nitrogênio e fósforo). Tais constituintes favorecem o crescimento excessivo e desequilibrado de alguns tipos de algas e bactérias, provocando um consumo elevado de oxigênio, com efeitos danosos ao equilíbrio do ecossistema aquático e consequente prejuízo na diversidade de espécies. É sabido também que os esgotos veiculam agentes etiológicos de doenças com a via de transmissão oro-fecal e pode prejudicar a saúde da população (von Sperling, 2005).

A diarreia é um sintoma comum de doenças gastrointestinais potencialmente veiculadas pela água contaminada e são causadas por bactérias, vírus, protozoários e helmintos. Segundo a UNICEF/WHO (2009), a diarreia provoca uma em cada cinco mortes de crianças – cerca de 1,5 milhão a cada ano e mata mais crianças do que a AIDS, a malária e o sarampo juntos. É estimado que 2,5 bilhões de pessoas carecem de saneamento e quase um bilhão de pessoas não tem acesso à água potável. Esses ambientes permitem a disseminação mais fácil da diarreia (UNICEF/WHO, 2009). A Figura 1.2 mostra a taxa de internações por doenças diarreicas no Brasil. A diarreia é mais prevalente em países em desenvolvimento, devido, em grande parte, à falta de saneamento.



**Figura 1.2** – Taxa de internações por doença diarreica aguda em menores de 5 anos no Brasil, por estado, 2005  
Fonte: Vigilância em Saúde Ambiental (2006)

Todos esses fatores mencionados desencadearam uma preocupação mundial com relação à qualidade e disponibilidade de água em um futuro não distante. Com isso, depreende-se que é muito importante melhorar as características dos recursos hídricos com medidas de saneamento, objetivando minimizar os impactos nos corpos receptores e aumentar a utilização

de efluentes tratados para outras finalidades. Nesse contexto, o saneamento não é considerado apenas a disposição de resíduos para prevenir a insalubridade do ambiente, mas também parte de uma política geral de proteção como forma de evitar a contaminação e proteger a qualidade da água a ser utilizada para consumo, para fins agro-pecuários e recreativos (OPS, 2008).

No geral, os sistemas de tratamento de efluentes são efetivos na remoção de matéria orgânica, e pouco efetivos na remoção de organismos patogênicos. Isso exige em várias situações um sistema de pós-tratamento e uma destinação adequada do efluente para se interromper a transmissão das doenças de veiculação hídrica. A questão do pós- tratamento de esgoto é essencial na tentativa de reduzir as concentrações de tais agentes nesse ambiente (von Sperling & Mascarenhas, 2005; von Sperling et al., 2005; Bastos et al. 2003a).

O processo de desinfecção de efluente sanitário pode ser um instrumento eficiente para possibilitar a melhoria da qualidade do esgoto, de forma que o lançamento deste no ambiente, ou sua utilização para fins agrícolas, não tenham implicações para a saúde pública. Existem vários métodos de desinfecção de esgoto, como a cloração e a ozonização. No entanto, um dos problemas que preocupa os pesquisadores ligados à área de parasitologia sanitária envolve justamente a ineficiência dos processos atuais de desinfecção em remover patógenos mais resistentes, como é o caso dos ovos de nematódeos (Galal-Gorchev, 1996; Lapolli et al., 2003; Al-Adawi et al., 2006; Tahri et al., 2010).

Para garantir a proteção da população, o efluente tratado e desinfetado, antes de ser lançado no ambiente ou ser utilizado na agricultura, deve ter seu potencial de contaminação monitorado por meio da averiguação da presença de indicadores bacteriológicos e parasitológicos. O objetivo, a longo prazo, seria reduzir o risco que o esgoto representa para a saúde pública. Nessa situação, o esgoto não ficará livre de patógenos, mas sua presença deve representar um risco insignificante quando este for utilizado, conforme as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (Ayres & Mara, 1996; Westcot, 1997; WHO 2004a; WHO, 2006a).

Recentemente, duas tecnologias de desinfecção de efluente doméstico vêm se destacando neste cenário: a aplicação da radiação ultravioleta (UV) e da radiação gama. A desinfecção por UV tem se mostrado tecnicamente viável e apresenta uma série de vantagens: não gera subprodutos tóxicos, não necessita de tanques de contato e a manutenção é simples, além da efetividade na remoção de organismos patogênicos (Lazarova et al., 1999; Oliveira et al., 2002; Tarran, 2002; Chernicharo et al., 2003; Liberti et al. 2003; Brownell & Nelson, 2006).

Já a desinfecção por radiação gama é capaz de simultaneamente degradar a matéria orgânica e organismos patogênicos, embora apresente o seu custo elevado além de manter os nutrientes, tais como, nitrogênio e fósforo, importantes na utilização do esgoto para fins agrícolas (Borrely et al., 1998; Hill, 2003; Bao et al., 2002; Basfar & Abdel Rehim, 2002; Rawat et al., 1997; Wang & Wang, 2007).

Um processo eficiente de desinfecção de esgoto pode promover um uso mais nobre da água servida para a irrigação de hortaliças que serão ingeridas cruas, além de minimizar impactos no ambiente aquático, considerando que os esgotos sanitários são comprovadamente fontes de contaminação relevantes de mananciais de abastecimento à jusante.

## **2 JUSTIFICATIVA / CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA**

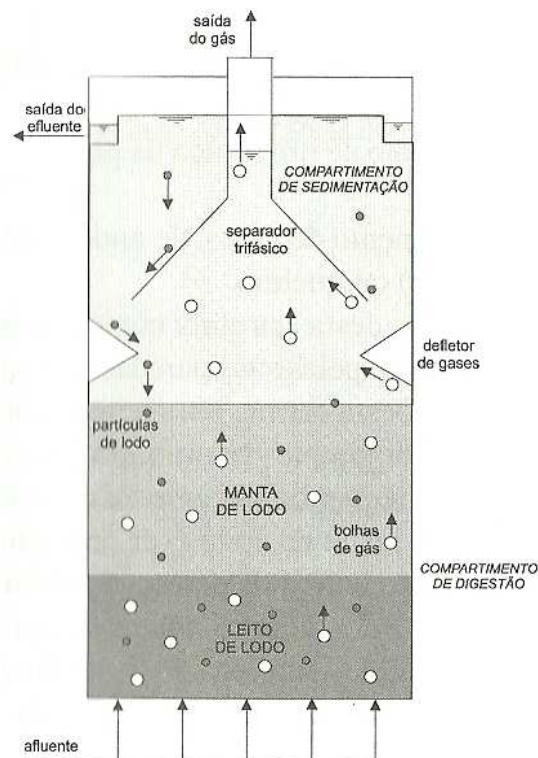
### **2.1 Definição de tratamento convencional de esgoto**

A estruturação de um sistema de esgotamento sanitário tem o objetivo de coletar o esgoto gerado em uma comunidade, afastá-lo da população e fornecer tratamento e disposição final adequado, visando impedi-lo de atingir o sistema de drenagem natural do terreno (bacia hidrográfica). As estações de tratamento de esgoto (ETE) constituem-se no componente final e crucial de um sistema convencional de esgotamento sanitário, pois evitam que o esgoto coletado em uma comunidade, contendo uma série de compostos poluentes e organismos patogênicos, atinja o ambiente e provoque degradação e propagação de doenças (Castro et al., 1995; Metcalf & Eddy, 2004; Braga et al., 2005; von Sperling, 2005).

Ao chegar à ETE, o esgoto percorre uma série de unidades e processos de tratamento, até que a água depurada se encontre em condições de retornar à bacia hidrográfica, alimentando mananciais superficiais e subterrâneos. Antes de regressar ao ambiente natural, essa água pode ainda ser reutilizada, desde que sua qualidade seja compatível com o uso que se pretende realizar. As etapas de tratamento do esgoto nas ETE se baseiam em mecanismos físicos (filtração, sedimentação), químicos (oxidação, precipitação, volatilização, radiação) e biológicos (Castro et al., 1995; Metcalf & Eddy, 2004; Braga et al., 2005; von Sperling, 2005). Os sistemas de tratamento convencional foram investigados na presente pesquisa.

#### **2.1.1 Sistema de tratamento anaeróbio – reator tipo UASB**

O tratamento anaeróbio depende dos microrganismos que agem na ausência de oxigênio. Existem alguns tipos de reatores anaeróbios, mas no Brasil um tipo especificamente constitui uma tendência atual de tratamento de esgoto e é objeto de estudo da presente pesquisa: reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB). Neste tipo de reator, o efluente entra em sua região inferior e passa pela manta de lodo com fluxo ascendente. A biomassa cresce dispersa no meio que caracteriza a manta de lodo anaeróbio. Os microrganismos anaeróbios digerem a matéria orgânica e formam gás metano e gás carbônico. O separador trifásico separa as fases líquida, sólida e gasosa, auxilia na retenção da biomassa na parte inferior do reator com o auxílio da gravidade, e impede que esta seja liberada junto com o efluente. A Figura 2.1 mostra o esquema de funcionamento do reator UASB (Castro et al., 1995; Metcalf & Eddy, 2004; Braga et al., 2005; von Sperling, 2005; Brasil, 2006).



**Figura 2.1** – Funcionamento do sistema de tratamento por reator UASB  
 Fonte: von Sperling (2005)

### 2.1.2 Sistemas de filtro biológico percolador

Outro tipo de tratamento de esgoto empregado nesta pesquisa foi o filtro biológico percolador (FBP). Neste sistema o compartimento de reação consiste de um tanque preenchido com material de alta permeabilidade (material suporte) sobre o qual os esgotos são aplicados. O efluente é distribuído adequadamente na parte superior deste tanque, sendo que o fluxo de esgoto passa a ter uma trajetória descendente (Castro et al., 1995; Metcalf & Eddy, 2004; Braga et al., 2005; von Sperling, 2005; Brasil, 2006).

O material de enchimento é arranjado no interior do FBP, de forma a criar espaços vazios. Após a aplicação, os esgotos percolam em direção ao fundo, através do meio suporte, permitindo o crescimento bacteriano na superfície do material de enchimento, na forma de uma película fixa denominada biofilme (bactérias agregadas entre si e a um meio suporte). A matéria orgânica contida nos esgotos é adsorvida pela película microbiana e fica retida tempo suficiente para a sua estabilização pela ação dos microrganismos. O fundo do compartimento de reação é vazado, de maneira a permitir a passagem do líquido e a reter o material de enchimento, além de possibilitar a ventilação do filtro, necessária para manter as condições aeróbicas e o efetivo tratamento dos despejos por essa via. À medida que o biofilme cresce na superfície do material de enchimento, os espaços vazios tendem a diminuir, fazendo com que a velocidade de escoamento nos poros aumente. Ao atingir um determinado valor, essa



velocidade causa uma tensão de cisalhamento que desaloja parte do material aderido. Assim, acontece uma forma natural de controle da população microbiana no meio, sem haver necessidade de manutenções periódicas, como limpezas ou mesmo retirada do material de enchimento (Castro et al., 1995; Metcalf & Eddy, 2004; Braga et al., 2005; von Sperling, 2005; Brasil, 2006).

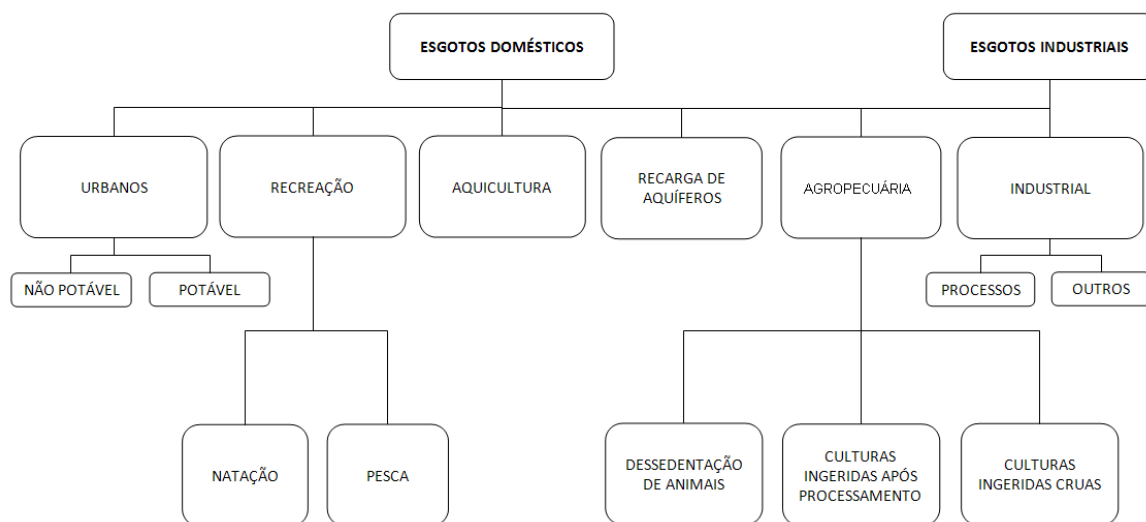
O emprego de FBP no pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios tipo UASB encontra aplicabilidade potencial. O sistema possui algumas vantagens relevantes em relação a outros sistemas aeróbios como o baixo consumo energético (em virtude da não necessidade de aeração mecanizada), e a notável robustez a choques de carga, temperatura e toxicidade, em virtude das condições de fluxo e da estratificação da diversidade microbiana presente (Arvin & Harremoes, 1990). Ademais, associa-se claramente a essa concepção tecnológica a menor complexidade em termos de equipamentos, determinando maior simplicidade na operação e de manutenção (Castro et al., 1995; Metcalf & Eddy, 2004; Braga et al., 2005; von Sperling, 2005; Brasil, 2006).

## **2.2 Necessidade de uso de efluentes sanitários tratados**

Nos últimos anos, houve um aumento de interesse no uso de efluentes sanitários tratados, devido ao reflexo do aumento da preocupação com a disponibilidade da água em um futuro próximo, aliado à necessidade de acrescer a produção alimentícia. Isso levou a uma conscientização sobre a utilização racional dos recursos hídricos (WHO, 2004a).

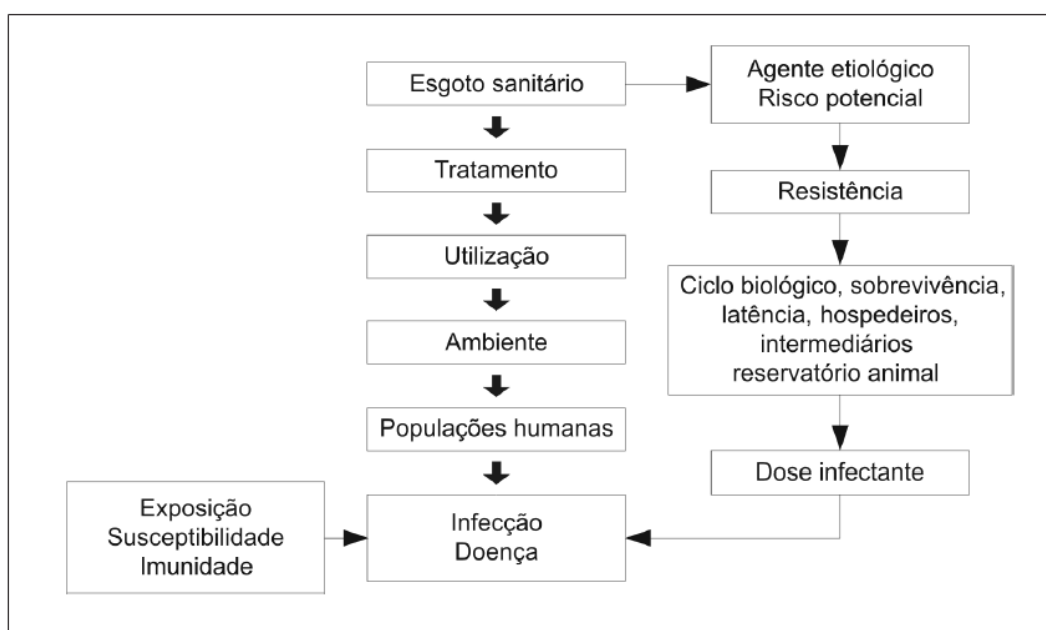
Em regiões áridas e semi-áridas a água é um fator limitante para o desenvolvimento urbano, agrícola e industrial. A escassez de água pode ocorrer também em locais com recursos hídricos abundantes, mas insuficientes para suprir demanda elevada da região (Braga et al., 2005). Nesse contexto, a prática de utilização de efluentes tratados é uma ferramenta para minimizar os problemas de escassez hídrica.

O efluente sanitário tratado apresenta quantidade elevada de nutrientes e pode ser reaproveitado para a recuperação de áreas improdutivas ou degradadas e a redução do lançamento de esgotos nos corpos receptores, sendo esta uma medida de natureza econômica, ambiental e social. A Figura 2.2 mostra algumas possibilidades de uso de esgoto tratado.



**Figura 2.2** – Tipos de utilização de esgoto tratado  
 Fonte: Braga et al. (2005)

Por outro lado, o uso de efluente sanitário também pode funcionar como veículo de vários agentes etiológicos de doenças de veiculação hídrica, com potencial risco para a saúde pública. O risco real de contaminação de um indivíduo por tais agentes depende de algumas características dos organismos patogênicos, entre os quais vale citar: a morfologia e biologia (tipo de organismo, período de latência, ciclo monoxênico ou heteroxênico); a sobrevivência aos sistemas de tratamento de esgoto; a capacidade de provocar enfermidade e consequente perpetuação do ciclo de vida do parasito. A Figura 2.3 mostra um esquema sobre o risco de contaminação pela utilização de esgoto tratado (Bastos & Bevilacqua, 2006).



**Figura 2.3** – Utilização de esgoto sanitário e risco de transmissão de doenças  
 Fonte: Bastos & Bevilacqua (2006)

Neste contexto, a WHO (2006a) sugere diretrizes de qualidade microbiológica para utilização de esgoto tratado a fim de encorajar o seu uso seguro sem implicações para a saúde pública. Estas diretrizes foram elaboradas a partir de uma avaliação das evidências epidemiológicas, que indicaram que os patógenos excretados, de maior preocupação na cultura e irrigação, são os ovos de nematódeos intestinais, por apresentarem um alto risco de infecção. Já as bactérias entéricas apresentam risco moderado de infecção, sendo que foi encontrado um risco mínimo relacionado com infecções virais, e, praticamente, não houve risco de infecção por trematódeos ou cestódeos (Ayres & Mara, 1996; WHO 2004a; WHO, 2006a).

Para garantir a proteção da população, o efluente tratado e desinfetado a ser utilizado deve ter seu potencial de contaminação monitorado por meio da averiguação da presença de indicadores como os coliformes e ovos de nematódeos. Tais investigações devem ter como prerrogativa garantir consistentemente a confiabilidade de utilização de efluentes tratados (Ayres & Mara, 1996; WHO 2004a; WHO, 2006a). A Tabela 2.1 mostra os limites recomendados pela Organização Mundial da Saúde para utilização de efluente sanitário tratado (WHO, 2006a).

**Tabela 2.1** – Recomendações da OMS para a qualidade microbiológica do esgoto tratado a ser utilizado

Atribuições da utilização		<i>Escherichia coli</i> /100 mL	Ovos de helmintos / L
Irrigação irrestrita	Cultura de raízes.	Menos de 10 <sup>3</sup>	Menos de 1 ovo de helminto/L
	Cultura de folhas	Menos de 10 <sup>4</sup>	
Irrigação restrita	Trabalho intensivo, a agricultura de alto contato	Menos de 10 <sup>4</sup>	Menos de 1 ovo de helminto/L
	Agricultura altamente mecanizada	Menos de 10 <sup>5</sup>	

Fonte: Adaptado de WHO, 2006a

Com o objetivo de viabilizar a reutilização da água para finalidades nobres sem implicações negativas à saúde pública, a adoção dessa prática deve ser devidamente planejada, de maneira a minimizar os riscos e a aumentar o desempenho das atividades nas quais está aplicado (Braga et al., 2005; Bastos & Bevilacqua, 2006; Florêncio et al., 2006), o que motiva a presente pesquisa cuja finalidade é melhorar a qualidade das águas residuárias.

## **2.3 Organismos indicadores de eficiência de tratamento**

Considerando que os diversos tipos de organismos encontram na água condições essenciais para desenvolver partes de seus ciclos biológicos ou para serem veiculados, a presença desses no esgoto favorece a perpetuação de diversas doenças relacionadas com a água.

A identificação dos organismos patogênicos na água é quase sempre morosa, complexa e onerosa. Daí a opção pelo isolamento de organismos indicadores. Para um organismo ser indicador da eficiência de um sistema de tratamento de esgoto deve apresentar as seguintes características: resistência maior ao método empregado para remoção/inativação que outros patógenos; mecanismos de inativação de ambos devem ser semelhantes e taxas de inativação/decaimento de ambos devem ser similares (Brasil, 2006; Bastos et al., 2003a).

### **2.3.1 Indicadores bacteriológicos**

As bactérias do grupo coliforme são tipicamente usadas como espécies indicadoras para verificar a existência de outros microrganismos (bactérias entéricas) que podem representar riscos para a saúde pública (USEPA, 1986).

Os organismos associados ao intestino de animais homeotérmicos podem funcionar como indicadores de contaminação fecal se encontrados fora de seu habitat natural. Um exemplo de organismos que existem em números substanciais nas fezes são as bactérias do grupo coliforme, mais precisamente o sub-grupo dos coliformes termotolerantes ou especificamente a bactéria *E. coli*, principal representante desse sub-grupo (Leclerc et al., 2001; Tortora et al., 2005).

### **2.3.2 Indicadores parasitológicos**

A ocorrência e a concentração de parasitos gastrointestinais em esgoto tratado a ser utilizado podem impactar a saúde pública e são determinadas pela endemicidade da doença entre os animais e humanos, pelo tamanho e pela situação sócio-econômica de uma população, e também pela situação do saneamento de uma região (WHO, 2004a). Por isso a WHO sugere a detecção direta de ovos de helmintos e recomenda menos de um ovo por litro do efluente em questão.

Existem várias técnicas de quantificação de ovos de helmintos intestinais e larvas em material fecal (Stoll & Hansheer, 1926; Faust et al., 1938; Ritchie, 1948; Beaver, 1950; Bailenger, 1979 citado por Ayres & Mara, 1996). Essas técnicas foram adaptadas para a enumeração de

ovos de helminto em esgoto e lodo (Krige, 1964; Hays, 1977; Meyer et al., 1978; Satchwell, 1986; citados por WHO, 2004a).

A quantificação de ovos de helmintos em águas servidas, quando comparada com excretas humanos, é mais complexa devido às menores concentrações de ovos por unidade de volume, além de verificar a presença da diversidade de formas, tamanhos e densidades dos ovos provenientes das várias espécies de vida livre. Estas técnicas geralmente utilizam os processos de sedimentação, flotação, filtração ou uma combinação desses métodos para concentrar os ovos. As soluções com densidade elevada favorecem a flutuação do ovo, separando-o dos detritos orgânicos, podendo-se também utilizar uma solução de interface (éter etílico ou acetato de etila) em solução não miscível, para separar os ovos de helmintos da matéria orgânica. Todos os processos dependem da força centrífuga (Ayres & Mara, 1996; WHO, 2004a). Cada método apresenta vantagens e desvantagens em termos de porcentagem de recuperação, tempo gasto, reprodutibilidade, equipamentos e reagentes necessários para a análise. Não existe um método ideal que detecte 100% dos ovos de helmintos presentes no efluente doméstico. A Tabela 2.2 sumariza alguns métodos de detecção de helmintos do esgoto.

**Tabela 2.2** – Métodos de detecção de ovos de helmintos no esgoto

Método	Princípio	Volume (litro)	Sedimentação (hora)	Reagente	Recuperação	Referência
WHO (1989)	Sedimentação	$\geq 1$	24	Ácido acético e ZnSO <sub>4</sub>	-	WHO (1989)
WHO (1989)	Centrifugação e flutuação	1	24	Nitrato de sódio	30 – 70%	WHO (1989)
Leeds I	Sedimentação	1	(toda centrifugada)	Triton X100, MgSO <sub>4</sub> , NaCl	24%	Ayres et al. (1989)
Leeds II	Sedimentação	4	1	NaCl	80%	Ayres et al. (1989)
Stien-Schwartzbrod	Sedimentação e flutuação	25	2	Janeckso-Urbanyi	50%	Stien e Schwartzbrod (1988)

Fonte: Adaptado de WHO, 2004<sup>a</sup>

A WHO (2004a) sugere a utilização do método modificado Bailenger (1979) por ser simples e barato, e amplamente utilizado em laboratórios de todo o mundo.

Outro parâmetro que ainda não é considerado pela legislação e que apresenta relevância epidemiológica é a avaliação da viabilidade do ovo de nematódeo. Apenas a presença dos ovos não é suficiente para que estes se desenvolvam e perpetuem o ciclo biológico. Para tal, alguns ovos, principalmente os de geohelmintos, exigem uma etapa de desenvolvimento no

ambiente para se tornarem infectantes e viáveis, sob condições favoráveis de temperatura, umidade e oxigenação.

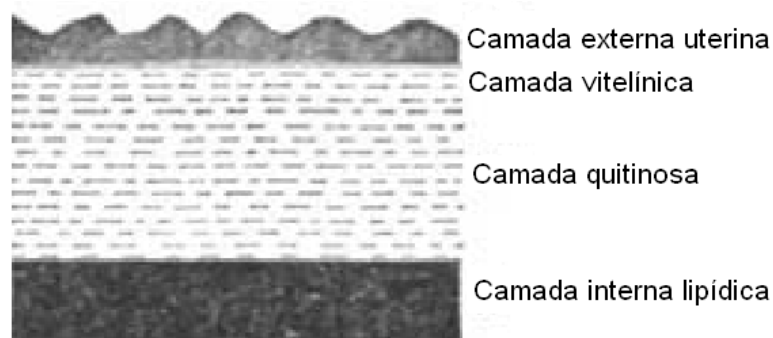
A principal justificativa para escolha de ovos de *Ascaris* spp. como indicador da qualidade parasitológica é a sua elevada prevalência, bem como sua elevada resistência às adversidades ambientais e baixa dose infectante para seus hospedeiros, quando comparado com outros organismos entéricos (Bastos et al., 2003a; WHO, 2004a). De acordo com a WHO (2006b), a ascaridíase provoca 3000 mortes por ano, e estima-se que estão infectados 1,45 bilhões de pessoas, das quais 350 milhões sofrem efeitos adversos na saúde.

A importância epidemiológica do parâmetro viabilidade de ovo de helminto justifica a necessidade do emprego destes organismos como indicadores da eficiência de um processo de tratamento. Caso o processo de tratamento do efluente impeça o desenvolvimento do ciclo biológico dos parasitos, haverá a diminuição dos riscos de transmissões de doenças, com reflexos positivos à saúde pública.

Alguns ovos de helmintos são extremamente resistentes aos estresses ambientais e podem sobreviver aos sistemas de tratamento de esgoto. De acordo com Nelson (2001), citado por Metcalf & Eddy (2004), ovos de *Ascaris* podem sobreviver por mais de dez anos em sedimentos de lagoas de estabilização. A longevidade destes ovos e de outros helmintos são de particular importância no gerenciamento do tratamento das águas servidas e lodo.

Nesta situação o método de tratamento do esgoto deve ser capaz de penetrar as membranas do ovo e gerar efeitos no seu interior. De acordo com Wharton (1980) e Quilès et al.(2006), a casca dos ovos de nematódeos tem sido referida como uma das estruturas biológicas mais resistentes.

O gênero *Ascaris* spp., modelo de nematódeo deste estudo, apresenta o ovo protegido por quatro camadas de membrana, com uma média de espessura total de 4,5 µm, compostas de dentro para fora de (i) camada lipídica resistente à dessecação e à penetração de substâncias polares; (ii) a camada quitinosa, que confere rigidez e proteção mecânica; (iii) a camada vitelínica de lipoproteína; e (iv) a camada externa uterina, quase impermeável a gases e solventes lipídicos. A microscopia eletrônica de varredura revelou que a superfície de ovos de *Ascaris* spp. divide-se em depressões e cristas, que caracterizam a membrana mamilonada. A Figura 2.4 mostra a estrutura da casca do ovo de *A. lumbricoides* (Wharton, 1980; Quilès et al., 2006).



**Figura 2.4** – Estrutura da casca do ovo de *Ascaris lumbricoides*  
Fonte: Wharton (1980)

Os ascarídeos são parasitos do intestino delgado de vertebrados. Eles têm o ciclo monoxênico e apresentam especificidade de hospedeiro. Cada um destes, por sua vez, possui peculiaridades em relação ao pH e à salinidade nas diferentes regiões do sistema digestivo. Os fatores estimulantes desencadeiam a eclosão do ovo pela secreção de enzimas que dissolvem a casca permitindo a passagem da larva (Rey, 2008; Neves et al., 2009; CDC, 2010).

Tendo em vista esse cenário, *Ascaris lumbricoides* foi escolhido como modelo deste estudo. A ascaridíase é decorrente da presença de vermes adultos no lúmen do intestino delgado do hospedeiro.

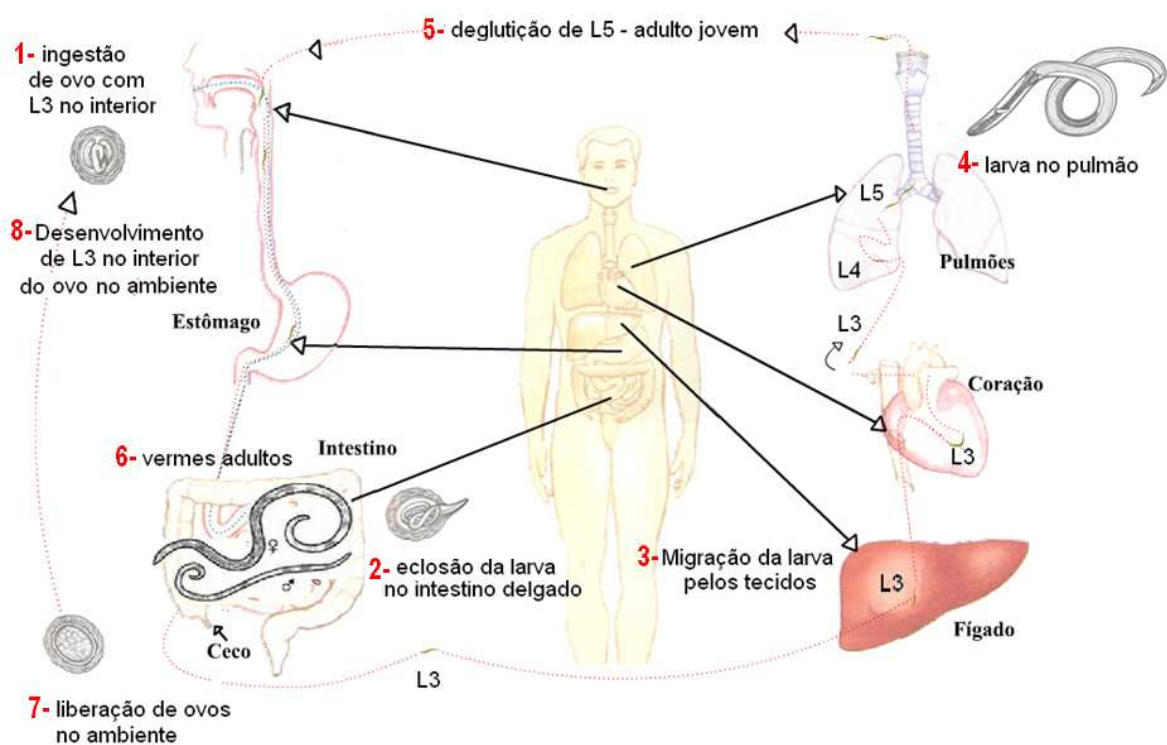
Os vermes adultos são grandes, sendo que o macho mede aproximadamente 20 cm, e a fêmea 35 cm de comprimento. Com o acasalamento, uma fêmea pode produzir cerca de 200.000 ovos por dia (Neves & Filippis, 2003; Metcalf & Eddy, 2004; WHO, 2004a; Rey, 2008; Neves et al., 2009; CDC, 2010).

Os ovos são liberados juntamente com as fezes. Uma parte deles não é fertilizada, que podem ser ingeridos, mas não são infectantes e, portanto, não possuem importância epidemiológica. Outra parte dos ovos é fertilizada e se tornam infectantes, no solo, após o período de pelo menos 18 dias, dependendo das condições ambientais. São consideradas condições ótimas para o desenvolvimento de ovos de *Ascaris* sp. aquelas que contêm pelo menos 70% de umidade, temperatura entre 25 °C e 30°C e oxigenação (Neves & Filippis, 2003; Metcalf & Eddy, 2004; WHO, 2004a; Rey, 2008; Neves et al., 2009; CDC, 2010).

Quando o hospedeiro ingere ovos com larva infectante (L3), estas eclodem no sistema digestivo. A larva que sai do ovo é aeróbica e não tem potencial para se desenvolver na cavidade intestinal. Então, ela inicia a migração pelos tecidos do hospedeiro. Geralmente, as larvas atingem os vasos sanguíneos ou linfáticos, invadem o fígado entre 18 e 24 horas após a

infecção, e em dois ou três dias chegam ao coração. Com quatro ou cinco dias já estão no pulmão (ciclo pulmonar), onde encontram o meio favorável para continuar seu desenvolvimento. Ainda no pulmão, as larvas sofrem muda de L3 para L4, rompem os capilares e caem nos alvéolos, onde se transformam em L5. As larvas migram pela árvore brônquica e traqueia e atingem a faringe. A partir daí, elas podem ser expectoradas ou deglutidas. Neste caso, passam íntegras pelo sistema digestivo e se alojam no intestino delgado do hospedeiro. Lá, evoluem para vermes adultos. Em 60 dias alcançam a maturidade sexual, fazem cópula, ovipostura e perpetuam o ciclo. A longevidade do verme é de aproximadamente 2 anos. A Figura 2.5 mostra uma representação esquemática do ciclo do *A. lumbricoides* (Freitas, 1976; Neves & Filippis, 2003; Metcalf & Eddy, 2004; WHO, 2004a; Rey, 2008; Neves et al., 2009; CDC, 2010).

Neste contexto, a inibição do desenvolvimento de ovos viáveis de *A. lumbricoides*, por meio da inativação do desenvolvimento do estágio de larva, é usada como indicador do sucesso da desinfecção (Shamma & Al-Adawi, 2002). Assim, a viabilidade de ovos de *A. lumbricoides* é um bom parâmetro de avaliação de eficiência de desinfecção, porque se o processo impedir a formação de larva infectante, o ciclo biológico do helminto é interrompido, o que diminui o risco de transmissão de doenças.



**Figura 2.5** – Ciclo biológico do *A. lumbricoides*  
Adaptado de [www.editorasaraiva.com.br/biosonialopes](http://www.editorasaraiva.com.br/biosonialopes) e Rey, 2008



## **2.4 Desinfecção para melhorar qualidade de efluentes sanitários**

A desinfecção de esgotos é fundamental para a remoção da maioria dos organismos patogênicos remanescentes do tratamento convencional, de forma que, independente de qual seja o destino dos efluentes, os impactos na saúde pública possam ser minimizados. Este processo funciona como um controle de agentes transmissores de doenças infecciosas em que o contato humano com esgotos é provável, mas não visa à eliminação total de microrganismos. A desinfecção pode promover alterações na membrana celular e em biomoléculas, com potencial de interferir no metabolismo ou provocar a lise ou a morte das células. Não obrigatoriamente as bactérias morrem. Elas podem apresentar apenas alterações metabólicas, que fazem o microrganismo perder sua capacidade de agir, tornando-o inativo, em consonância com os padrões de qualidade estabelecidos para diferentes situações (USEPA, 1999b; Bastos et al. 2003b).

A aplicação da desinfecção controlou com sucesso a transmissão de doenças provocadas por veiculação hídrica. Por exemplo, nas Cataratas do Niágara, Nova York, entre 1911 e 1915, o número de mortes relacionadas com febre tifóide diminuiu de 185 em cada 100.000 pessoas para quase zero depois da introdução de uma etapa de filtração e de outra de cloração no sistema de abastecimento da cidade. No entanto, as cidades ainda estão susceptíveis a surtos de doenças de veiculação hídrica, como demonstrado em 1993 no surto de *Cryptosporidium* em Milwaukee, nos Estados Unidos. A desinfecção continuará a ser um elemento crítico para melhorar a qualidade da água (USEPA, 1999a).

As maiorias das formas convencionais de desinfecção não possuem alta eficiência de inativação de ovos de helmintos (Chernicharo et al., 2003; Andreoli et al., 2002; Gonçalves et al., 2003b; Lapolli et al., 2003).

### **2.4.1 Métodos de desinfecção usuais**

Entre os vários processos de desinfecção podemos citar os mais usuais:

#### **2.4.1.1 Cloração**

A cloração é o método mais empregado no mundo e é bastante efetivo na inativação de vários microrganismos patogênicos encontrados no esgoto, deixando um residual que é facilmente medido e controlado, além de ser um método econômico. O cloro pode oxidar e danificar a membrana celular dos microrganismos e eventualmente causar efeitos letais (Acher et al., 1997; USEPA, 1999b; Gonçalves et al., 2003).

O uso do cloro na desinfecção de esgoto representou uma evolução na qualidade da saúde pública. Apesar de seu uso, as doenças de veiculação hídrica não desapareceram (Souza & Daniel, 2005) devido aos organismos patogênicos resistentes à cloração. É sabido que a reação do cloro com compostos orgânicos presentes no meio gera subprodutos potencialmente oncogênicos, como os trihalometanos (THMs), que por sua vez podem prejudicar a cadeia alimentar de ecossistemas aquáticos e gerar riscos à saúde humana (Meyer, 1994; USEPA, 1999a). Para minimizar os efeitos negativos no ambiente gerados pelos subprodutos da cloração pode-se empregar a descloração antes da destinação do efluente tratado com cloro, pelo uso de dióxido de enxofre ou outros produtos (von Sperling, 2005).

#### 2.4.1.2 Ozonização

A ozonização é um método de desinfecção bastante efetivo devido ao alto poder oxidante do ozônio. Segundo Jyoti e Pandit (2004), a propriedade oxidante se dá pelo oxigênio nascente, formado pela decomposição do ozônio, que ataca outros compostos e forma os radicais livres, entre eles, o radical hidroxila, que é um dos agentes oxidantes mais reativos em ambientes aquosos (USEPA, 1999a). Embora a ação desinfetante do ozônio não seja bem entendida, especula-se que oxidantes reagem com compostos orgânicos da membrana celular, o que resulta na sua ruptura e afeta o DNA e a viabilidade celular. Assim a desinfecção é alcançada (Jyoti & Pandit, 2004; Gehra et al., 2003).

O ozônio é mais efetivo que o cloro e derivados para a inativação de vários organismos existentes em águas residuárias, incluindo os vírus e cistos de protozoários (Gehra et al., 2003; USEPA, 1999a), embora os ovos de helmintos sejam resistentes a esse método de desinfecção (Lapolli et al., 2003). A dose de 17 mg/L de ozônio chegou a remover 3 unidades logarítmicas de coliformes termotolerantes e de colifagos (Gehra et al., 2003). O ozônio não forma subprodutos halogenados quando oxida a matéria orgânica natural, mas pode formar vários subprodutos orgânicos e inorgânicos como aldeídos, cetonas, subprodutos bromados e ácidos. Além do mais o ozônio é altamente corrosivo e tóxico (USEPA, 1999a).

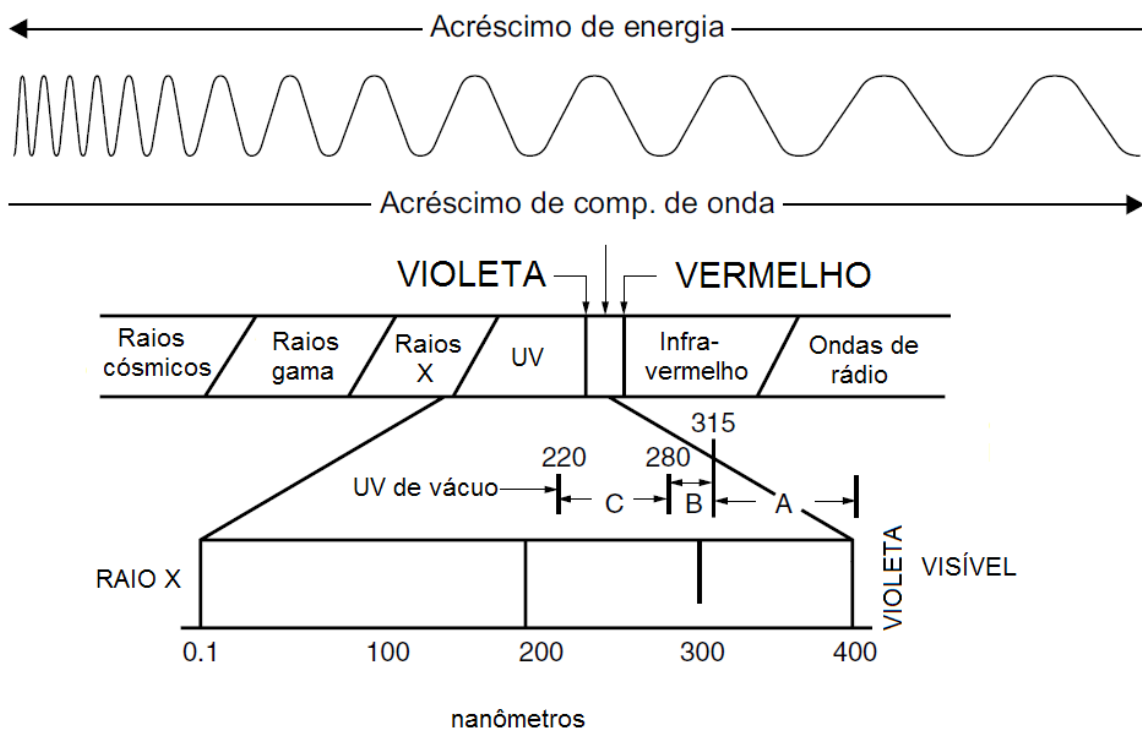
O fluxograma de Estações de Tratamento de Esgotos que inclui um sistema de desinfecção por ozonização possui as seguintes etapas: armazenagem (oxigênio), geração do ozônio, dosagem, tanque de contato, destruição do ozônio excedente e disposição final do efluente. A aplicação do ozônio no tratamento de efluentes sempre é realizada pela dispersão do gás no mesmo (Gonçalves et al., 2003). Xu et al. (2002) mostraram que o conteúdo orgânico de um efluente pode influenciar a demanda de ozônio. Ainda segundo esses pesquisadores, devido a

problemas operacionais e de manutenção em estações de tratamento de esgoto, a ozonização passou a ser menos atrativa para substituir a cloração que outros métodos de desinfecção.

## 2.4.2 Métodos alternativos

Existem vários métodos de desinfecção de esgoto. Um dos problemas que preocupam os pesquisadores ligados à área de saneamento envolve a ineficiência dos processos atuais de desinfecção para remover patógenos mais resistentes como os ovos de nematódeos (Galal-Gorchev, 1996; Lapolli et al., 2003; Kanegae, 2005; Al-adawi et al., 2006; Tahri et al., 2010). Neste sentido, aumenta-se o interesse pela busca por métodos alternativos para desinfecção de águas servidas, como é o caso das radiações eletromagnéticas, que incluem a radiação ultravioleta (UV) e da radiação gama.

A radiação eletromagnética são ondas que se auto-propagam pelo espaço. Ela é composta de um campo elétrico e outro magnético, que oscilam perpendicularmente um ao outro e à direção da propagação de energia. A radiação eletromagnética é classificada de acordo com a frequência da onda. Em ordem decrescente de duração, as ondas são: rádio, micro-ondas, radiação infravermelha, luz visível, radiação ultravioleta, raios-X e raios gama, conforme ilustrado na Figura 2.6 (Masschelein, 2002; Ryer, 1997).



**Figura 2.6** – Faixa de ondas eletromagnéticas  
Adaptado de Masschelein (2002) e Ryer (1997)

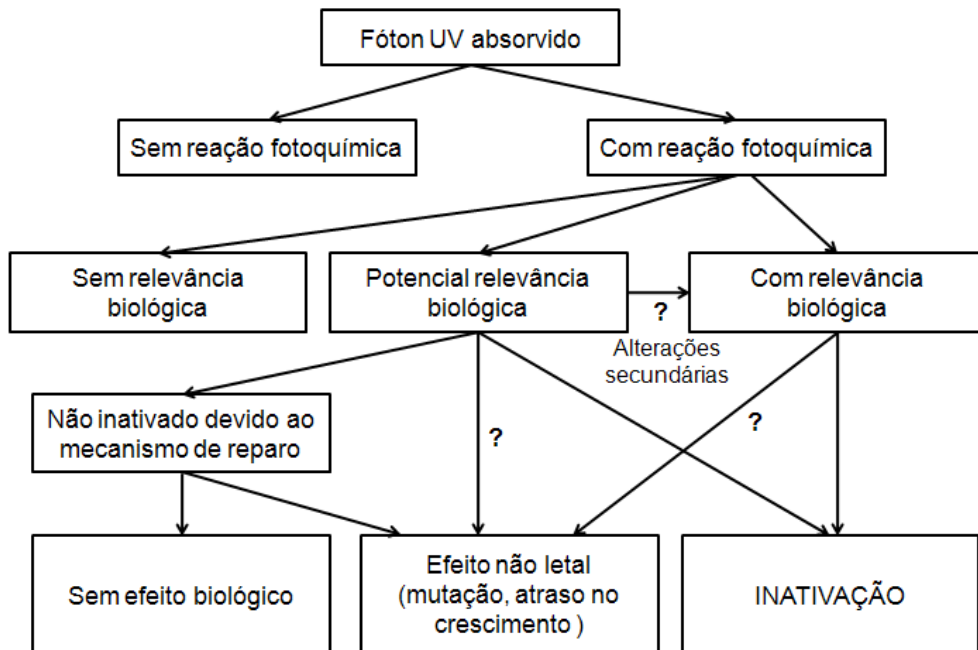
#### 2.4.2.1 Radiação UV

A aplicação de sistema de desinfecção com base na radiação UV está em processo de aceitação crescente em todo o mundo. A principal vantagem atribuída à desinfecção por radiação UV é a não formação de subprodutos tóxicos, diferentemente do que pode ocorrer com a cloração e com a ozonização (Metcalf & Eddy, 2004; Masschelein, 2002; Gonçalves et al., 2003). Este método apresenta outras vantagens, entre as quais se destacam: a efetividade na inativação da maioria dos vírus, esporos e cistos; a característica de desinfetante físico, que elimina a necessidade requerida pelos desinfetantes químicos (manipulação, transporte ou armazenamento de produtos), além da ausência da ação residual que possui o potencial de prejudicar os seres humanos e a vida aquática (USEPA, 1999b).

A luz ultravioleta faz parte do espectro eletromagnético, com comprimentos de onda entre 100 e 400 nanômetros (nm). Seu comprimento de onda é menor que o da luz visível, e maior que o dos raios X. A radiação UV é classificada em três faixas diferentes: UVA (400 – 320 nm ou onda longa), UVB (320–280 nm ou onda média) e UVC (280 – 100 nm ou onda curta). As radiações com o efeito mais germicida se encontram nas faixas UVB e UVC, correspondendo, aproximadamente, entre 250 e 270 nm. O comprimento de onda que proporciona o máximo de eficácia germicida, por inativar vários grupos de microrganismos, é de 254 nm (Masschelein, 2002).

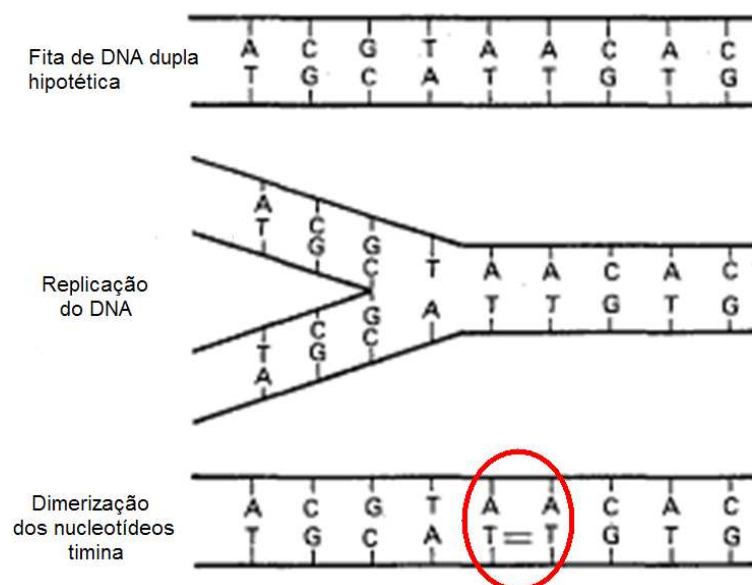
A radiação ultravioleta é gerada a partir de uma descarga elétrica por vapor de mercúrio. Colisões entre elétrons e átomos de mercúrio provocam emissões de radiação ultravioleta, que não são visíveis ao olho humano. Quando esses raios colidem com o fósforo, eles “fluorescem” e se convertem em luz visível. Assim, descargas elétricas ativam átomos de determinados elementos, deslocando seus elétrons para orbitais mais energéticos. Quando os elétrons retornam para os orbitais menos energéticos, o excesso de energia pode ser liberado na forma de radiação UV. Esta radiação é, então, transferida em forma de energia eletromagnética para os componentes celulares. Ela penetra a parede celular do organismo patogênico e é absorvida pelos ácidos nucleicos e, em menor extensão, pelas proteínas e outras moléculas biologicamente importantes (Daniel & Campos, 1992). A energia absorvida pode romper as ligações não saturadas, principalmente as bases nitrogenadas pirimídicas, provocando danos no DNA, o que comprometerá a replicação do ácido nucleico com implicações diretas no metabolismo e na reprodução celular (USEPA, 1999a; Masschelein, 2002; USEPA, 2003).

Quando espécies biológicas são irradiadas com raios UV, uma série de eventos pode acontecer, conforme ilustrado na Figura 2.7.



**Figura 2.7** – Possíveis consequências biológicas da absorção da radiação UV por DNA  
 Fonte: Diffey (1991)

Seu principal efeito é ligar por covalência pirimidinas adjacentes ao longo de um filamento de DNA (Figura 2.8) formando dímeros, principalmente de timina e secundariamente de citosina. Tal dímero de pirimidina não pode se ajustar à dupla hélice, e, portanto, a replicação e a expressão gênica são bloqueadas. Neste caso, as lesões do DNA são potencialmente letais ou mutagênicas para a célula (Sutherland & Sutherland, 1969; USEPA, 1986; USEPA, 1999b; Masschelein, 2002; Tarran, 2002, Míron & Ortega, 2002; USEPA, 2003; Berg et al., 2008).



**Figura 2.8** – Efeito da radiação UV no DNA  
 Fonte: USEPA (1986)

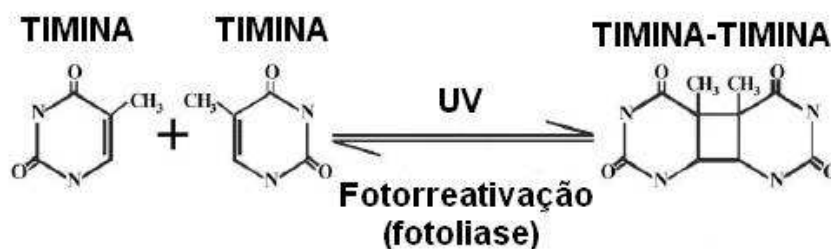
A dose de UV é o produto da intensidade média agindo na superfície irradiada em todas as direções e o tempo de exposição. As unidades comumente usadas para expressar dose de radiação UV são:  $J.m^{-2}$ ,  $mJ.cm^{-2}$  e  $mWs.cm^{-2}$  (USEPA, 2003). A eficácia de um sistema de desinfecção UV depende das características do efluente, da intensidade da radiação UV, do tempo de exposição do esgoto à radiação UV, bem como da configuração do reator (USEPA, 1999b, Tarrán, 2002).

Entre as vantagens do uso da radiação UV para desinfecção de esgoto podem ser citadas: i) a sua efetividade na inativação de vários organismos biológicos; ii) a eliminação da necessidade de gerar, manipular, transportar ou armazenar produtos perigosos; iii) ausência de efeito residual, que pode ser prejudicial aos seres humanos ou à vida aquática; iv) a fácil utilização para operadores; o menor tempo de contato quando comparado com outros desinfetantes (aproximadamente de 20 a 30 segundos com lâmpadas de baixa pressão); e o fato do fotorreator requerer pouco espaço.

Entre as desvantagens deste método podem ser citadas: i) a eficiência da desinfecção por UV é prejudicada pela turbidez e sólidos suspensos totais (SST) no esgoto; ii) é mais cara que a cloração, mas compete com a desinfecção por cloração/descloração; e iii) baixa dosagem não pode inativar efetivamente alguns vírus, esporos e cistos. Os organismos podem, por vezes, reverter a ação da radiação UV por mecanismos de “reparo”, conhecidos como fotoreativação e “reparação escuro” (USEPA, 1999b).

Para proteger a mensagem genética, existem vários sistemas de reparo do DNA, que geralmente utilizam a informação do filamento não comprometido. Este sistema de replicação unifilamentar segue esboços de mecanismos semelhantes: reconhecimento e remoção da(s) base(s) estranha (s); e reparação do espaço resultante com uma DNA polimerase e uma DNA ligase. Existem alguns mecanismos de reparo. Serão citados apenas dois mais importantes relacionados às lesões provocadas por raios UV (Chernicharo et al., 2001; Sinha & Härder, 2002; Berg et al., 2008):

- (i) Reparo por fotoreativação enzimática: inicialmente, a enzima (fotoliase) reconhece e liga-se ao dímero (mesmo na ausência de luz visível); depois, a absorção de luz fornece energia para converter o dímero em monômero de pirimidina desfazendo o anel formado pela luz UV; a enzima dissocia-se do DNA refazendo as bases pirimídicas individuais, conforme exemplificado na Figura 2.9.



**Figura 2.9** – Formação do dímero de timina e a sua fotorreativação na presença de enzima fotoliase e luz.

Fonte: Sinha & Härder (2002)

- (ii) Reparo por excisão de nucleotídeo (reparo no escuro): o reparo por este mecanismo está relacionado à substituição da parte do DNA danificado pela clivagem da ligação base nitrogenada – desoxirribose pela ação de uma excinuclease específica, seguida pelo preenchimento da região com a base correta por ação de uma DNA polimerase e uma DNA ligase. Assim, ocorre a remoção da parte lesada e de uma sequência de nucleotídeos adjacentes, com posterior ressíntese da sequência original de nucleotídeos.

#### 2.4.2.2 Radiação gama

A desinfecção de esgoto com radiação gama também tem se mostrado bem-sucedida, embora atualmente seja um processo de custo elevado. A sua utilização se justifica pelo potencial dessa tecnologia degradar simultaneamente a matéria orgânica e os organismos patogênicos, além de manter os nutrientes, como o nitrogênio e o fósforo, importantes na utilização do esgoto para fins agrícolas (Borrely, et al. 1998; Hill, 2003; Bao et al., 2002; Basfar & Abdel Rehim, 2002; Rawat et al., 1997; Wang & Wang, 2007).

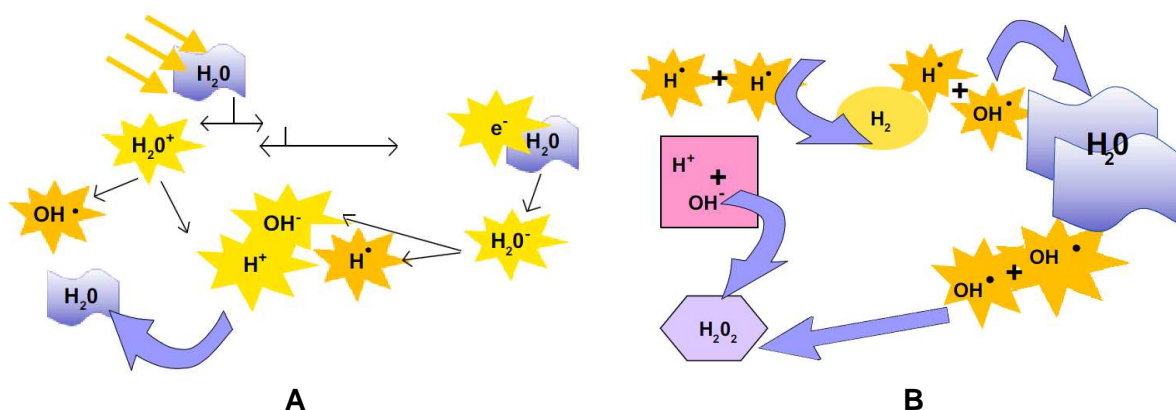
A radiação ionizante é uma emissão ou propagação de energia por intermédio de ondas eletromagnéticas ou por partículas dotadas de energia cinética e cargas, capaz de retirar elétrons do meio com o qual interage (Nouailhetas, 2003).

A radiação ionizante modifica o sistema em que interatua. A radiação é freada no material exposto e perde sua energia pela interação com os elétrons do produto irradiado. Isso provoca energia cinética adicional nos elétrons que são capazes de arrancá-los de seus orbitais com possível quebra de ligações químicas e desestruturação de biomoléculas. Seu comprimento de onda é da ordem de 0,03 nm e, por isso, possui altas frequências, sendo assim, muito penetrante (alta energia) (Spear, 1946; Tauhata et al., 2003; Nouailhetas, 2003).

A ação da radiação gama pode ter efeitos diretos ou indiretos. Na ação direta, a radiação interage na molécula-alvo, enquanto que na ação indireta, a molécula-alvo é afetada pelos

produtos radiolíticos reativos, formados a partir das interações (EPN, 1997; Borrely et al., 1998).

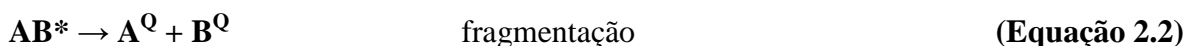
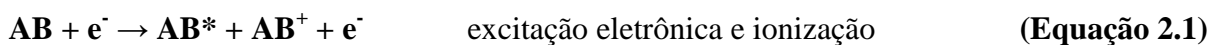
A maioria dos efeitos da irradiação de esgoto é indireta, devido à interação dos raios gama com a molécula de água (radiólise da água). Neste processo, as moléculas de água são eletronicamente excitadas e ionizadas. Assim, são observadas a oxidação e a geração de espécies oxidativas primárias, por exemplo,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{e}^-_{\text{aq}}$  e  $\text{H}^+$ , e produtos como  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{H}_2$  e outros radicais altamente reativos, como ilustrados na Figura 2.10 (Nouailhetas, 2003; Farooq et al., 1993).



**Figura 2.10** – (A) Esquema da radiólise da água e (B) Esquema das reações químicas decorrentes da radiólise da água.

Fonte: Nouailhetas (2003)

A interação da radiação gama com a matéria presente no esgoto pode gerar vários eventos, tais como: a excitação atômica ou molecular e a ionização, que pode levar à oxidação, dissociação e à degradação de biomoléculas, conforme descrito pelas equações 2.1 e 2.2: (Borrely et al., 1998; Tauhata et al., 2003).

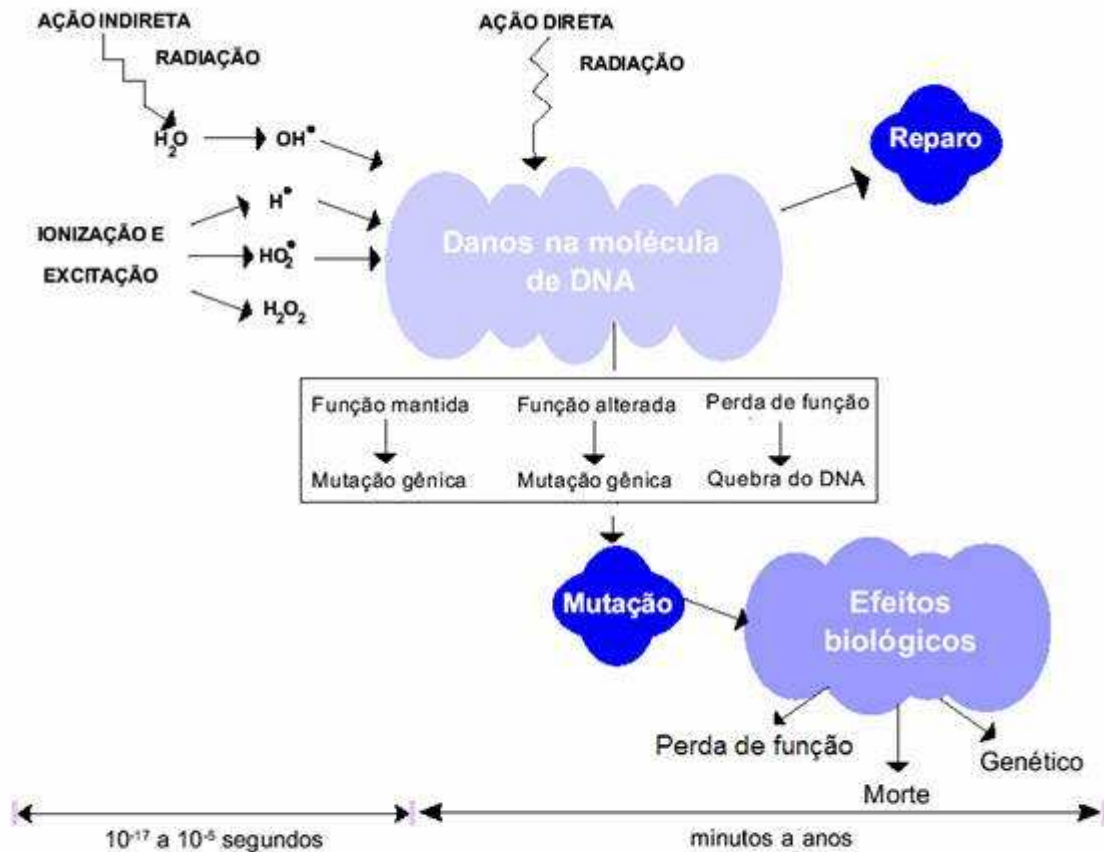


Dessa forma, as reações das substâncias à irradiação são capazes de provocar fragmentação da molécula-alvo, induzindo a formação de íons e radicais altamente reativos para iniciar os efeitos físicos, químicos e biológicos na matéria (Borrely et al., 1998).

A Figura 2.11 ilustra alguns eventos que podem ocorrer na irradiação do DNA. Segundo EPN (1997), as irradiações do DNA podem formar radicais em diversas partes de sua molécula, que, por sua vez, podem provocar desaminação e desidroxilação com rompimento das ligações pentose e base nitrogenada, oxidação de açúcares, entrecruzamento de fitas de DNA,



entre outros eventos. As reações químicas podem gerar mutações ou quebra da molécula de DNA com consequências na codificação de proteínas, alterações nas funções enzimáticas, no metabolismo celular, além do potencial de interferir na reprodução celular e produzir efeitos letais.



**Figura 2.11** – Danos na molécula de DNA provocados pela radiação ionizante.  
Fonte: Nouailhetas (2003)

Conforme EPN (1997) e Borrelly et al. (1998), a ação da irradiação nos organismos depende de fatores como dose de irradiação, taxa de dose, distribuição da dose, do tipo do organismo, da concentração inicial e da composição química do meio irradiado. Vale lembrar que a taxa de dose é a quantidade de dose absorvida em um intervalo de tempo. Esta taxa varia em função da distância da fonte radioativa (EPN, 1997).

Em linhas gerais, as alterações moleculares nem sempre são prejudiciais. A radiação ou seus produtos podem alterar partes nas sequências de DNA não codificadoras de funções orgânicas. Também existe um mecanismo de reparo do DNA que pode possibilitar uma restauração e manutenção de sua função. Um alvo atingido por uma dose de radiação baixa pode possibilitar condições de recuperar sua integridade estrutural (Nouailhetas, 2003; Tauhata et al., 2003).

Com base nos dados da Tabela 2.4, apreende-se que as principais desvantagens da desinfecção UV apontadas pela literatura especializada referem-se às questões dos custos operacionais (consumo energético) e da possível interferência de turbidez e sólidos em suspensão na eficiência do processo, já que as questões de doses necessárias e de fotorreativação podem ser equacionadas mais facilmente.

**Tabela 2.3** – Vantagens e desvantagens de alguns processos de desinfecção de esgotos

Processo de desinfecção	Vantagens	Desvantagens
Cloração	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tecnologia amplamente conhecida;</li> <li>• Menor custo;</li> <li>• Cl residual prolonga a desinfecção e indica eficiência do processo;</li> <li>• Efetiva na remoção de microrganismos</li> <li>• Oxida certos compostos orgânicos e inorgânicos;</li> <li>• Flexibilidade de dosagem;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cl residual é tóxico;</li> <li>• Requer descloração;</li> <li>• Formação de subprodutos tóxicos;</li> <li>• Cl residual é instável na presença de materiais que os demandam;</li> <li>• Alguns patógenos, como ovos de helmintos, são resistentes;</li> </ul>
Ozonização	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mais efetivo na inativação de vírus e bactérias que o cloro;</li> <li>• Curto tempo de contato ( 10 a 30 min);</li> <li>• Gerado <i>in situ</i>, com fácil armazenamento e manuseio;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Baixas doses podem não inativar alguns vírus, esporos ou cistos;</li> <li>• O<sub>3</sub> muito reativo e corrosivo;</li> <li>• Não é econômico para esgotos com muito sólido e matéria orgânica;</li> </ul>
Radiação UV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Efetiva na inativação de vírus e esporos;</li> <li>• Não necessita de geração, manuseio, transporte ou estocagem de produtos químicos;</li> <li>• Não gera efeitos residuais prejudiciais;</li> <li>• Segurança e aceitação dos operadores e do público (não é tóxico);</li> <li>• Simplicidade operacional;</li> <li>• Tempo de contato muito curto (na ordem de segundos)</li> <li>• Menor demanda de espaço que outros processos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Baixas dosagens não inativam alguns esporos, cistos e vírus</li> <li>• Os microrganismos podem se multiplicar por fotorreativação e há necessidade de controle da formação de biofilmes em reatores de contato</li> <li>• É sensível a turbidez e sólidos suspensos totais no esgoto</li> <li>• É mais caro que a cloração e mais barato que a cloração/descloração</li> </ul>
Radiação gama	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Capacidade de degradar simultaneamente poluentes e organismos patogênicos, inclusive os mais resistentes como os ovos de <i>Ascaris</i> spp;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Caro;</li> <li>• Difícil controle em caso de acidente;</li> </ul>

Fonte: Adaptado de Gonçalves et al. 2003

## 2.5 Literatura sobre inativação de ovos de *Ascaris* spp. por irradiações

Vale salientar que as pesquisas sobre desenvolvimento e aprimoramento de técnicas de desinfecção de efluentes são de grande valia, considerando a sua aplicabilidade para melhorar a qualidade de efluentes, a fim de minimizar os impactos ambientais provocados pelo lançamento direto de águas servidas nos corpos aquáticos. Além disso, promove o uso de efluentes tratados para finalidades mais nobres, sem implicações para a saúde pública. Neste contexto, a presente pesquisa propõe investigar a ação de tecnologias alternativas de desinfecção de efluentes com o intuito de verificar a inativação de ovos de helmintos.

### 2.5.1 Uso da radiação UV para inativação de ovos de *Ascaris* sp.

A desinfecção de efluentes domésticos por raios UV tem se tornado uma prática comum, e a quantidade de instalações está aumentando em todo o mundo. Este sucesso é devido a fatores como a eficiência do sistema na eliminação de vírus e bactérias, além da produção mínima de subprodutos e custo competitivo (Lazarova et al.,1999). Diversos estudos avaliaram o uso da radiação ultravioleta para desinfecção de alguns tipos de efluentes domésticos. A WHO (2004a) citou um estudo realizado por Nolf (1932) onde foi verificado que a exposição de *Ascaris megalocephala* a raios UV de 10 a 60 segundos, tanto em temperatura de 16 °C como em temperaturas de 40 °C, foi suficiente para matar de 10 a 80% dos ovos, e proporcional ao tempo de exposição.

Chernicharo et al. (2003) investigaram separadamente os parâmetros coliformes totais, *E. coli* e ovos de *A. lumbricoides*, sendo estes inoculados artificialmente no esgoto e obtidos a partir de útero de verme adulto. Os efluentes foram irradiados em fotorreator de 10 cm de diâmetro e 45 cm de altura, e o uso da radiação UV foi eficiente para inativação dos indicadores biológicos em questão. As eficiências médias de inativação em termos de concentrações de coliformes totais e *E. coli* no efluente variaram de acordo com as características específicas do esgoto tratado afluente ao fotorreator em termos da concentração de sólidos suspensos e da concentração inicial de coliformes. No caso de efluentes do sistema reator anaeróbio seguido de filtro biológico com concentração de sólidos entre 39 e 47 mgSS.L<sup>-1</sup>, as doses de radiação UV de 13,6 a 101,4 mW.s.cm<sup>-2</sup> inativaram cinco e quatro unidades logarítmicas de tais organismos, respectivamente. Em relação à efetividade da desinfecção UV para inativação de ovos de *A. lumbricoides*, as doses de radiação de 13,6 e 20,3 mW.s.cm<sup>-2</sup> (40 e 60 segundos, respectivamente) foram suficientes para impedir a formação da larva em 90% dos ovos.

Na pesquisa de Liberti et al. (2003) o aparato experimental foi em escala piloto com uma vazão de 100 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup> para testar o uso da radiação UV na desinfecção de esgoto. As lâmpadas não entraram em contato direto com o esgoto. Foram avaliados, antes e depois da desinfecção, os seguintes patógenos: ovos de nematódeos, cistos de *Giardia lamblia*, e oocistos de *Cryptosporidium parvum*. A dose 160 mW.s.cm<sup>-2</sup> foi capaz de inativar 60% dos cistos de *Giardia* e 65% dos oocistos de *Cryptosporidium*. Os ovos de nematódeos não foram encontrados no efluente desinfetado, provavelmente foram removidos por sedimentação antes de entrar no sistema de desinfecção.

Brownell e Nelson (2006) testaram o uso da radiação UV para inativação de ovos de *A. suum* em efluentes domésticos. Foram utilizados ovos com membrana mamilonada (irradiados com doses de 0 a 800 mW.s.cm<sup>-2</sup> e ovos sem membrana mamilonada (irradiados com 0 a 50 mW.s.cm<sup>-2</sup>). A dose de radiação UV 40 mW.s.cm<sup>-2</sup> inativou 99,4 % de ovos de *A. suum* com membrana. Já a dose de radiação 0,5 mW.s.cm<sup>-2</sup> foi capaz de inativar 98,4% de ovos de *A. suum* sem membrana mamilonada.

Gómez et al. (2007) compararam dois processos de tratamento terciário: processo físico com raios UV e processo de ultrafiltração com membranas. A comparação considerou aspectos como custos e qualidade de efluentes. Duas instalações em escala piloto foram construídas em paralelo para estudar a desinfecção por radiação UV e por macrofiltração/ultrafiltração. O fotorreator foi do modelo tubular, com lâmpadas de baixa pressão (40W) conectadas em série. A instalação foi projetada para uma vazão de 1,46 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>, proporcionando uma dose de 40 mW.s.cm<sup>-2</sup> ao efluente. O sistema de membrana foi um módulo de ultrafiltração equipado com membrana de poli (fluoreto de vinilideno) (PVDF), com porosidade de 0,05 µm. A área da superfície de filtração foi de 35 m<sup>2</sup> e a operação aconteceu com auxílio de bomba de vácuo, de forma contínua. As amostras do afluente e do efluente foram investigadas conforme os seguintes parâmetros biológicos: coliformes, *E. coli*, colifagos e ovos de nematódeos. Ambos os sistemas conseguiram uma melhoria considerável na qualidade do esgoto e alcançaram a remoção de 91% de sólidos em suspensão e 99% da turbidez. Os valores foram mantidos ao longo do tempo. A dose de radiação UV 35 mW.s.cm<sup>-2</sup> foi capaz de eliminar totalmente os indicadores coliformes termotolerantes, *E. coli* e colifagos. Os ovos de nematódeos não foram encontrados no afluente ao fotorreator, provavelmente por terem sido removidos do sistema por sedimentação ou retenção no tratamento anterior ao fotorreator.

Em contrapartida, o estudo de Al-Adawi et al. (2006) observou que a radiação UV foi ineficiente na inativação de ovos de *A. lumbricoides*. Foram utilizados suspensões com os ovos obtidos de fezes de pacientes. As suspensões foram filtradas por uma série de malhas metálicas, a fim de concentrar os ovos sem o uso de agentes químicos, que têm o potencial de afetar a viabilidade. Os ovos recuperados de fezes humanas foram transferidos para placas de petri contendo 5 mL de amostras de esgoto proveniente da ETE de Damasco, Síria. Cada placa foi acidificada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 N. Os ovos foram irradiados em doses crescentes de UV. A fonte de radiação foi emitida por uma lâmpada de mercúrio de baixa pressão (UV-C 30 W/G30TB, Phillips), fixada a uma unidade de irradiação UV. Cada amostra foi posicionada a 5 cm do ponto mais baixo da lâmpada. A intensidade de radiação foi medida com um

radiômetro (UVX radiômetro Digital E18054, UVP Inc., Upland, CA, E.U.A.). A dose de radiação UV foi determinada a partir da intensidade medida ( $4.27 \text{ mW.cm}^{-2}$ ) e do tempo de exposição. A temperatura não foi medida durante o tratamento das amostras com raios UV. Após o período de oito semanas de incubação, os ovos foram observados com auxílio de microscópio, mas não houve alterações morfológicas. Em comparação com o controle, as avaliações semanais do desenvolvimento dos ovos indicaram que as amostras irradiadas apresentaram um desenvolvimento acelerado na formação da larva infectante.

Oliveira et al. (2002) investigaram o uso de um fotorreator em escala piloto para desinfecção de vários tipos de efluentes sanitários (lodos ativados, reator anaeróbio e lagoas de estabilização). A eficiência da desinfecção por UV foi avaliada em relação a coliformes totais e *Escherichia coli*, e no caso do efluente de lodos ativados também foram avaliados ovos de helmintos (*Trichuris trichiura*), além de formas resistentes de protozoários (*Cryptosporidium sp.* e *Giardia sp.*). De modo geral, a qualidade dos efluentes tratados também interferiu na eficácia da desinfecção pela luz ultravioleta, o que foi confirmada pelas menores eficiências de inativação bacteriana para amostras de efluentes com valores maiores de cor, turbidez e sólidos em suspensão. Dose de radiação UV de 40 a  $60 \text{ mW.s.cm}^{-2}$  removeu acima de quatro unidades logarítmicas de *E. coli*. Os ovos de *T. trichiura* apresentaram 50% de inativação por radiação ultravioleta na dose de  $200 \text{ mW.s.cm}^{-2}$ . A dose de radiação UV de  $80 \text{ mW.s.cm}^{-2}$  foi capaz de inativar 43% dos cistos de *Giardia*. Não foram encontrados oocistos de *Cryptosporidium sp.* nas amostras analisadas.

### **2.5.2 Uso da radiação gama para inativação de ovos de *Ascaris sp.***

A aplicação da radiação ionizante para desinfecção de efluentes domésticos começou a ser investigada em meados da década de 50. De acordo com Ridenour e Armbruster (1956), citado por Borrelly (1995), a utilização da radiação gama para reduzir a concentração de microrganismos no esgoto foi promissora.

Vários estudos indicaram como dose efetiva para inativação de ovos de *Ascaris sp.* a dose média de 1 kGy. Horak (1994) pesquisou sobre o uso da radiação ionizante, proveniente de aceleradores de elétrons, para desinfecção de lodo sanitário resíduo de um sistema de tratamento por lodos ativados. O autor utilizou ovos de *Ascaris suum* retirados das partes distais dos úteros de vermes adultos. Estes foram incubados no lodo a fim de se obter uma concentração final de  $10^2 - 10^3$  ovos por grama de lodo (aproximadamente 15% de peso seco e 85% de água). As amostras foram transferidas para embalagens de polietileno com 10 mm

de espessura e lacradas. Na sequência foram irradiadas com aceleradores de elétrons com energia de no máximo 4 MeV. Após as irradiações, os ovos foram recuperados do lodo com flutuações sucessivas em solução saturada de NaNO<sub>3</sub> e incubados em solução salina com formaldeído por oito semanas. Os ovos não irradiados apresentaram uma média de 24,6 a 54,6 % de viabilidade e a dose de 1,1 kGy inativou 100% dos ovos de *Ascaris suum*.

Capizzi et al. (1999) avaliaram o efeito da radiação na destruição de ovos de *Ascaris suum* retirados de útero de verme adulto. Os ovos foram suspensos em água deionizada e submetidos a um tratamento de irradiação com aceleradores de elétrons sendo a altura da amostra líquida inferior a 8 mm. A dose de radiação de 1,5 kGy inativou 100% dos ovos.

Melmed e Comninos (1979) conduziram um experimento sobre o uso da radiação gama para desinfecção de lodo de esgoto. As amostras contendo um litro de lodo foram irradiadas na taxa de dose de 10 kGy/h. As amostras foram filtradas por uma série de peneiras para separação de ovos de helmintos com malha de nylon que retém o material grosseiro, mas permite que todos os ovos e partículas de tamanho menores passem por ela, com o auxílio de um jato forte de água. Os ovos ficam retidos na peneira externa. O material retido contendo os ovos foi incubado em formalina 2% a 28°C, por seis semanas. Após esse período, os ovos foram analisados quanto à viabilidade. Os controles das amostras de lodo ativado apresentaram 85% de desenvolvimento, enquanto as amostras de lodo digerido apresentaram apenas 44% de desenvolvimento. A dose de 1 kGy reduziu em 99% a viabilidade dos ovos de *A. lumbricoides* e a dose de 5 kGy reduziu em 99,5% e 99,9%.

Capizzi-Banas e Schwartzbrod (2001a) observaram a eficiência da desinfecção de lodo com irradiação usando aceleradores de elétrons. Foram utilizados ovos de *Ascaris suum* como indicador de qualidade. Antes das irradiações foram inoculados dois tipos de suspensões de ovos de *A. suum*, uma diretamente recuperada do útero do verme adulto e outra recuperada do lodo de matadouro de suínos. Na primeira situação os ovos foram obtidos a partir da dissecação do útero de vermes adultos de *A. suum*, e na sequência lavados com tampão fosfato e salina, e filtrados em membrana de poliéster. Na segunda situação a recuperação de ovos de lodo de matadouro foi por meio de sedimentação (10 gramas de lodo seco homogeneizado em 300 mL de água) e centrifugações e pelo uso de solução de sulfato de zinco com densidade semelhante a dos ovos, solução álcool – ácido (0,05 mol.L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em 35% de álcool etílico) e éter. Os ovos foram depositados em 20 mL de amostras de lodo de matadouro de suínos e distribuídos em placas de petri de 60 mm de diâmetro. A camada de lodo não ultrapassou 5 mm de espessura. Foram inoculados nas amostras de lodo 500 ovos quando

recuperados de útero de verme adulto, e 200 ovos quando recuperados de lodo purificado. As amostras foram irradiadas em aceleradores de elétrons. Na sequência os ovos foram recuperados como descrito anteriormente. Após três semanas de incubação, o desenvolvimento dos ovos foi verificado sob a microscopia de luz. O controle de ovos obtidos da dissecação de útero de verme e estocados a 4°C teve desenvolvimento de 53,8% e o controle dos ovos obtidos do lodo se desenvolveu em 84,2%. Ambos foram inativados com a dose de radiação de 1 kGy.

Shamma e Al-Adawi (2002) testaram o uso de radiação ionizante proveniente de fonte de  $^{60}\text{Co}$  para higienização de lodo sanitário. Para tal, ovos de *A. lumbricoides* foram recuperados diretamente do lodo de esgoto da Estação de Tratamento de Damasco, capital da Síria. A técnica utilizada foi de flutuações sucessivas em solução saturada de  $\text{NaNO}_3$ . Na sequência os ovos foram quantificados e inoculados em lodo livre de ovos de forma a se obter uma concentração final da ordem de  $10^2$  ovos/g de lodo. As amostras foram transferidas para tubo de ensaio e irradiadas com a taxa de dose de 3,3 kGy/h. Os ovos irradiados no lodo foram novamente recuperados pelo mesmo método já utilizado e incubados em solução salina com 0,8% de formaldeído. O controle do experimento apresentou 59,6% de desenvolvimento. A dose 1,5 kGy foi capaz de inativar 100% dos ovos.

Em contra-senso, outros estudos indicaram doses maiores para inativação de ovos de *Ascaris*. Lessel e Suess (1984) operaram a primeira estação de tratamento de lodo de esgoto com irradiador de  $^{60}\text{Co}$  em Geiselbullach, Alemanha. O sistema operou por dez anos com sucesso. A estação de tratamento foi projetada para atender a demanda de 240 mil habitantes. O módulo irradiador era subterrâneo e coberto com 1,80 m de concreto. O lodo foi irradiado em bateladas de  $5,6 \text{ m}^3$ , e todas as bombas, válvulas e indicadores localizavam-se de forma acessível e permanente, construídos acima do solo, de modo que as inspeções dos serviços foram possíveis a qualquer momento, sem quaisquer precauções especiais de segurança. A taxa de dose do experimento foi variável devido ao grande volume de lodo e à sua recirculação, mas a dose estimada de 3 kGy reduziu de cinco a sete unidades logarítmicas do número de *Salmonella* spp. e não foi observado embrionamento de ovos de *Ascaris suum*.

Chmielewski et al. (1995) pesquisaram sobre a desinfecção de lodo da Estação de Tratamento de Esgoto em Kolo na Polônia, pelo uso da radiação ionizante oriunda de aceleradores de elétrons. Foram irradiadas amostras de 1 kg e a taxa de dose do experimento não foi definida. A dose 6 kGy foi capaz de reduzir em duas unidades logarítmicas o número de bactérias

formadoras de esporo. A contagem de ovos de helmintos reduziu de 90 ovos/kG de matéria seca de *Ascaris* sp. e *Trichuris* sp. para zero ovos nesta mesma dose.

Vários estudos indicaram também doses superiores para inativação de ovos de *Ascaris*. Entre eles pode-se destacar Keller (1983), Hess e Breer (1976) e Heuer e Hofmann (1979), citado por Capizzi e Schwartzbrod (2001a), que utilizaram doses de radiação superiores a 3 kGy. Já Burger et al. (1978) e Enigk et al. (1975), citado por Capizzi-Banas e Schwartzbrod (2001a), estabeleceram que as doses de 4,0 e 4,8 kGy, respectivamente, são necessárias para a destruição de ovos.

### **2.5.3 Divergências apontadas pela literatura**

Com base na revisão de literatura, depreende-se que a efetividade da radiação UV e por radiação gama na inativação de ovos de helmintos, tomando como indicador de eficiência a não formação de ovo viável (larvado) de *Ascaris* spp. após 28 dias de incubação a 28 °C, ainda não é conclusiva e a literatura apresenta controvérsias. Estas podem estar relacionadas a quatro importantes aspectos associados ao delineamento experimental das pesquisas: i) espécie utilizada (*A. suum* ou *A. lumbricoides*); ii) obtenção dos ovos: extração dos ovos a partir do útero de verme adulto, das fezes de animais ou de humanos; ou ainda de resíduo sanitário; iii) porcentagens de viabilidade dos ovos no controle do experimento; iv) e a taxa ou intensidade da dose do experimento.

As espécies *A. lumbricoides* e *A. suum* são consideradas morfologicamente semelhantes. De acordo com Rey (2008), ovos de *A. lumbricoides* podem se desenvolver experimentalmente em suínos e ovos de *A. suum* podem se desenvolver em humanos, embora esse fato não apresente impacto na epidemiologia da ascaridíase. Taylor et al. (2010) também mencionam humanos como hospedeiro de *A. suum*. Em contrapartida, Hawley e Peanasky (1992) realizaram testes com inibidores de tripsina, preparados a partir de extrato aquoso de *A. suum* e *A. lumbricoides*. A especificidade do hospedeiro foi verificada testando inibidores de tripsina do verme em contato com a tripsina de humano e de suíno. Foi verificado que os adultos de *A. suum* sobreviveram em tripsina suína, mas foram mortos e digeridos após a exposição por cinco dias em tripsina humana. Neste contexto, os autores sugerem que uma espécie de *Ascaris* sp. requer um complemento de inibidores da protease que interagem fortemente com as proteases do hospedeiro, neutralizando-as e permitindo o seu desenvolvimento no intestino delgado, o que corrobora com a prerrogativa de que *Ascaris* sp. é hospedeiro específico. Poucos estudos relacionados com a superfície de ovos de parasitos



foram publicados. O estudo de Capizzi e Schwartzbrod (2001b) discutiu sobre a questão da adesão do ovo de *A. suum* com e sem revestimento externo. Não foram observadas diferenças nas propriedades hidrofóbicas de ovos de *A. suum* com e sem membrana. Vale lembrar que Brownell e Nelson (2006) verificaram que os ovos com membrana mamilonada mostraram-se mais resistentes à desinfecção de esgoto por raios UV, que os ovos sem membrana mamilonada, sugerindo que esta exerce uma função protetora no ovo. Chernicharo et al. (2003) verificaram 90% de inativação dos ovos de *A. lumbricoides* sem membrana mamilonada pelo uso da desinfecção de efluente por raios UV. Já o estudo de Al-Adawi et al. (2006) não observou nenhuma inativação pela radiação UV de ovos de *A. lumbricoides* com membrana mamilonada.

Neste contexto, a presente pesquisa pretende investigar a aplicação das radiações UV e gama para desinfecção de efluente doméstico, utilizando esgoto sanitário real, sendo fotorreatores em escala de demonstração para a radiação UV, irradiação de 1 L de amostras em escala piloto para a radiação gama, além do uso de ovos de *Ascaris* spp. com e sem membrana mamilonada como parâmetro indicativo de eficiência de inativação do ovo. Busca-se dessa maneira preencher as lacunas da literatura de forma mais contundente, considerando o meio e o volume irradiado, bem como o tipo de indicador de eficiência do processo, a fim de melhor representar as possíveis interações entre eles e o meio no qual foram irradiados.

#### **2.5.4 Estudo da viabilidade *in vivo* do ovo de *Ascaris* sp.**

A maioria dos trabalhos que envolvem o estudo da viabilidade de ovos de helmintos, antes e após a aplicação de um método de desinfecção, considera ovo viável aquele que após 28 dias de incubação apresenta em seu interior uma larva formada sob observação em microscopia de luz (Shamma & Al-Adawi 2002; Capizzi et al., 1999; Capizzi & Schwartzbrod, 2001a; Godinho, 2003). No entanto, para saber se um ovo viável possui um potencial infectante sugere-se uma avaliação da sua capacidade de prosseguir o ciclo biológico dentro do hospedeiro. O camundongo tem sido utilizado como modelo de infecção por *Ascaris* spp.. (Cho, 1967; Artigas & Ueta, 1989; Massara, et al., 1990; Slotved et al., 1997; Slotved et al., 1998; Lewis et al., 2006; Peng et al., 2006). A larva migratória, neste hospedeiro, imita o padrão observado nos hospedeiros específicos. Slotved et al. (1998) testaram o padrão migratório de *A. suum* em camundongo. Cada camundongo foi infectado oralmente com 2500 ovos infectantes e foram sacrificados 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após a infecção. Na necropsia foi observada que as larvas penetraram no ceco e cólon do camundongo, e atingiram o fígado 4 horas após a infecção. Este comportamento migratório imita o que é observado em porcos e

sugere que o camundongo pode servir como um modelo experimental na fase inicial de infecção por *A. suum*. Roepstorff et al. (1997) mostraram que a recuperação de larvas em camundongos foi maior quando comparada a suínos, provavelmente devido à relação de tamanho hospedeiro / parasito. Os ovos viáveis inoculados são considerados infectantes se forem encontrados larvas nos órgãos dos camundongos, principalmente nos pulmões 8 dias após a inoculação. Assim, confirmar-se-ia, de uma forma mais segura, a infectividade dos ovos com larva em seu interior (Cho, 1967; Artigas & Ueta, 1989; Massara, et al., 1990; Slotved et al., 1997; Slotved et al., 1998; Lewis et al., 2006; Peng et al., 2006).

Sabe-se que *Ascaris* spp é hospedeiro específico, sendo *A. lumbricoides* parasito exclusivo de humanos e de alguns primatas, enquanto *A. suum* é parasito de porcos (Hawley & Peanasky, 1992; Rey, 2008). Neste contexto, a presente pesquisa sugere o uso do modelo murino, bem como o uso do modelo suíno para avaliar o potencial de infecção do ovo viável *in vivo*. Em modelo suíno poder-se-ia observar o potencial do ciclo biológico em completar ou não. Assim, seria possível observar, após o período pré-patente, se há eliminação de ovos nas fezes, o que significaria que o verme completou o ciclo de vida no hospedeiro. Embora a metodologia de infecção de porcos seja mais trabalhosa (Roepstorff et al., 1997 e Peng et al., 2006), a sua utilização possibilitaria respostas mais conclusivas sobre a eficiência das radiações UV e gama na inativação de ovos do helminto. Nesse sentido, a presente proposta sugere a investigação da infectividade dos ovos de *A. suum* irradiados em modelos murinos e suínos.

## **2.6 Justificativa**

Em relação aos microrganismos patogênicos, ainda que um processo de tratamento de esgotos seja considerado eficiente sob o ponto de vista da remoção de constituintes orgânicos e inorgânicos, grande preocupação é direcionada à redução dos níveis de organismos patogênicos, principalmente ao que tange a remoção de organismos mais resistentes, como é o caso dos ovos de helmintos. A inserção de sistemas de desinfecção no fluxograma de uma estação de tratamento pode ser essencial, de modo a possibilitar a redução das concentrações de tais organismos no esgoto tratado. O objetivo é interromper o ciclo de transmissão das doenças de veiculação hídrica, principalmente nos casos em que o reuso de água é uma prerrogativa assumida para a destinação de efluentes tratados. Neste contexto, a presente pesquisa visa investigar tecnologias alternativas para a desinfecção de esgoto tratado, com foco na remoção de ovos de helmintos, dado a crescente importância do reuso de água, bem como a necessidade de redução da incidência de doenças de veiculação hídrica.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 *Objetivo geral*

O objetivo geral desta pesquisa é estudo da desinfecção do efluente de um sistema anaeróbio seguido de filtro biológico percolador por radiação ultravioleta e radiação gama, verificando seus efeitos na viabilidade de ovos de *Ascaris* spp..

#### 3.2 *Objetivos específicos*

- (i) Avaliar a eficiência de inativação de ovos de *Ascaris* spp. por radiação UV durante a desinfecção de esgoto doméstico tratado em sistema UASB/filtro biológico percolador (FBP);
- (ii) Avaliar a eficiência de inativação de ovos de *Ascaris* spp. por radiação gama durante a desinfecção de esgoto doméstico tratado em sistema UASB/FBP;
- (iii) Avaliar o uso de ovos de *Ascaris* spp. com e sem membrana mamilonada como modelo indicador da eficiência de inativação de sistemas de desinfecção de efluente sanitário;
- (iv) Verificar se os ovos de *Ascaris suum*, após exposição às radiações UV e gama, desenvolvem o ciclo biológico dentro do hospedeiro (modelo murino e suíno).

A Tabela 3.1 explicita a hipótese de cada objetivo específico, conforme a numeração:

**Tabela 3.1 – Hipótese correspondente a cada objetivo específico investigado**

Objetivo	Hipóteses testadas
(i) e (ii).	I O aumento do volume de amostra pode influenciar a interação do esgoto com as radiações e seus efeitos na inativação dos ovos de ascarídeos, e acarretar um aumento da dose recomendada para desinfecção, comparando-se com o recomendado pela literatura.
(iii).	II A presença da membrana mamilonada e dos pigmentos fecais no ovo de <i>Ascaris</i> spp. confere uma maior resistência dos ovos de fezes em relação aos ovos de útero de verme adulto.
(iii).	III As porcentagens de inativação dos ovos das duas espécies de <i>Ascaris</i> spp são similares entre si devido às suas semelhanças morfológicas.
(iv).	IV Os ovos de <i>Ascaris</i> sp. irradiados por UV e gama durante a desinfecção de esgoto e incubados e aerados por 28 dias são incapazes de infectar o hospedeiro.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 *Aparato experimental*

A área experimental na qual os aparatos se encontram instalados é denominada Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS), localizado na Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) da bacia do ribeirão Arrudas. Esta ETE recebe grande parte do esgoto sanitário gerado pela região metropolitana de Belo Horizonte-MG. O esgoto é predominantemente doméstico com uma pequena contribuição industrial. Uma pequena fração deste alimenta as unidades experimentais. Antes de entrar no CePTS o esgoto bruto é primeiramente submetido ao tratamento preliminar para eliminação de sólidos grosseiros e areia. A pesquisa foi realizada em duas configurações de sistemas de tratamento de esgoto, ambas por reator anaeróbio do tipo fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) seguido de filtro biológico percolador (FBP) sem etapa de decantação e em escala de demonstração, porém com diferentes configurações. Estes sistemas foram denominados UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub> e UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>, conforme descritos a seguir:

#### 4.1.1 Sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub>

O reator UASB<sub>1</sub> apresenta forma circular (diâmetro de 2,5 m) e volume útil de 22,1 m<sup>3</sup>, tendo sido dimensionado para tratar os esgotos de uma população equivalente a 500 habitantes. Este reator tem seu efluente pós-tratado em um filtro biológico percolador (FBP<sub>1</sub>), com 2,10 m de diâmetro e 2,5 m de altura útil, conforme ilustrado nas figuras 4.1 (A e B). O FBP<sub>1</sub> possui quatro compartimentos individualizados e preenchidos por materiais de características distintas. Apenas o compartimento com o meio de enchimento escória de alto-forno é objeto de estudo desta pesquisa. Este é constituído de material residual de indústria siderúrgica, poroso e com superfície irregular. A sua granulometria é entre 5 a 10 cm, tem área superficial de 60 m<sup>2</sup>.m<sup>-3</sup> e peso específico de 1350 kg.m<sup>-3</sup>. Vale salientar que apesar do sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub> apresentar sistema de decantação as coletas de efluente foram realizadas antes da entrada do efluente nesta etapa, configurando, portanto, efluente de sistema UASB/FBP sem etapa de decantação.



**A**



**B**

**Figura 4.1** – Ilustração do sistema UASB<sub>1</sub>(A)/FBP<sub>1</sub>(B)

A Tabela 4.1 apresenta as condições operacionais dos UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub>.

**Tabela 4.1** – Condições operacionais do sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub>.

Reator anaeróbio			Filtro biológico percolador		
Vazão m <sup>3</sup> .d <sup>-1</sup>	COV aplicada kgDBO.m <sup>-3</sup> .d <sup>-1</sup>	TDH horas	Vazão m <sup>3</sup> .d <sup>-1</sup>	COV aplicada kgDBO.m <sup>-3</sup> .d <sup>-1</sup>	TAS m <sup>3</sup> .m <sup>-2</sup> .d <sup>-1</sup>
76,8	1,74	7	34,6	0,24	10

COV = Carga orgânica volumétrica aplicada, TAS = Taxa de aplicação superficial

As características físico-químicas do esgoto bruto e do esgoto tratado no sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub> estão apresentadas na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2** – Características físico-químicas do sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub>.

Parâmetros (mg/L)	Esgoto bruto				Reator anaeróbio				Filtro biológico percolador			
	N	Mediana	Média	DP	N	Mediana	Média	DP	N	Mediana	Média	DP
DQO total	24	405	392	100,1	24	171	173	61,1	25	75	76	21,2
DBO total	24	198	211	44,6	23	63	59	20,4	24	24	23	4,5
SST	24	180	172	46,4	22	79	91	68,5	23	38	42	18,1

DQO = Demanda química de oxigênio; DBO = Demanda bioquímica de oxigênio; e SST = sólidos suspensos totais; N= número de amostras

#### 4.1.2 Sistema UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>

O reator UASB<sub>2</sub> apresenta forma retangular (1,40 m x 2,50 m) e volume útil de 16,8 m<sup>3</sup>, tendo sido dimensionado para tratar os esgotos de uma população equivalente a 300 habitantes. Este reator tem seu efluente pós-tratado em um filtro biológico percolador com 0,76 m de diâmetro e 4,20 m de altura útil. O material de enchimento utilizado no FBP foi o denominado rotopack®, constituído de placas corrugadas de polietileno, colocadas lado a lado e transversalmente posicionadas a cada camada inserida no FBP. A sua área superficial é de 132 m<sup>2</sup>.m<sup>-3</sup> e seu peso específico é de 76,2 kg.m<sup>-3</sup>, como mostra a Figura 4.2.



**Figura 4.2** – Ilustração do sistema UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>

A Tabela 4.3 apresenta as características operacionais dos UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>.

**Tabela 4.3** – Condições operacionais do sistema UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>.

Reator anaeróbio			Filtro biológico percolador		
Vazão m <sup>3</sup> .d <sup>-1</sup>	COV aplicada kgDBO.m <sup>-3</sup> .d <sup>-1</sup>	TDH horas	Vazão m <sup>3</sup> .d <sup>-1</sup>	COV aplicada kgDBO.m <sup>-3</sup> .d <sup>-1</sup>	TAS m <sup>3</sup> .m <sup>-2</sup> .d <sup>-1</sup>
48,0 – 44,3	0,72	8,5 – 9,1	4,54	0,10-0,40 (0,20)	10m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> .d

COV = Carga orgânica volumétrica aplicada, TAS = Taxa de aplicação superficial

As características físico-químicas do esgoto bruto e do esgoto tratado no sistema UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub> estão apresentadas na Tabela 4.4.

**Tabela 4.4** – Características físico-químicas do sistema UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>

Parâmetros (mg/L)	Esgoto bruto				Reator anaeróbio				Filtro biológico percolador			
	N	Mediana	Média	DP	N	Mediana	Média	DP	N	Mediana	Média	DP
DQO total	95	475	481	149	98	190	216	107	98	130	156	100
DBO total	46	227	252	115	43	62	81	54	44	51	57	40
SST	80	227	247	127	79	54	71	66	52	49	67	52

DQO = Demanda química de oxigênio; DBO = Demanda bioquímica de oxigênio; e SST = sólidos suspensos totais; número de amostras

No primeiro momento da pesquisa foram realizados testes com efluente do sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub>, que já estava concebido e em operação no CEPTS no período de dezembro de 2008 a abril de 2009. Após este período, o sistema UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub> foi construído e iniciou-se a sua operação. Portanto, no período de abril de 2010 a março de 2011, os testes foram realizados neste sistema.

Os dados referentes à qualidade físico-química dos efluentes foram obtidos no âmbito de uma

pesquisa maior financiada pelo Edital MCT/CT-HIDRO/CT-SAÚDE/CNPq n° 45/2008 - Água e Saúde Pública do CNPq pelo projeto intitulado “Desenvolvimento e aplicação de técnicas eficientes, de baixo custo e baixo consumo de energia para o tratamento de esgotos: remoção de perturbadores endócrinos e organismos patogênicos”.

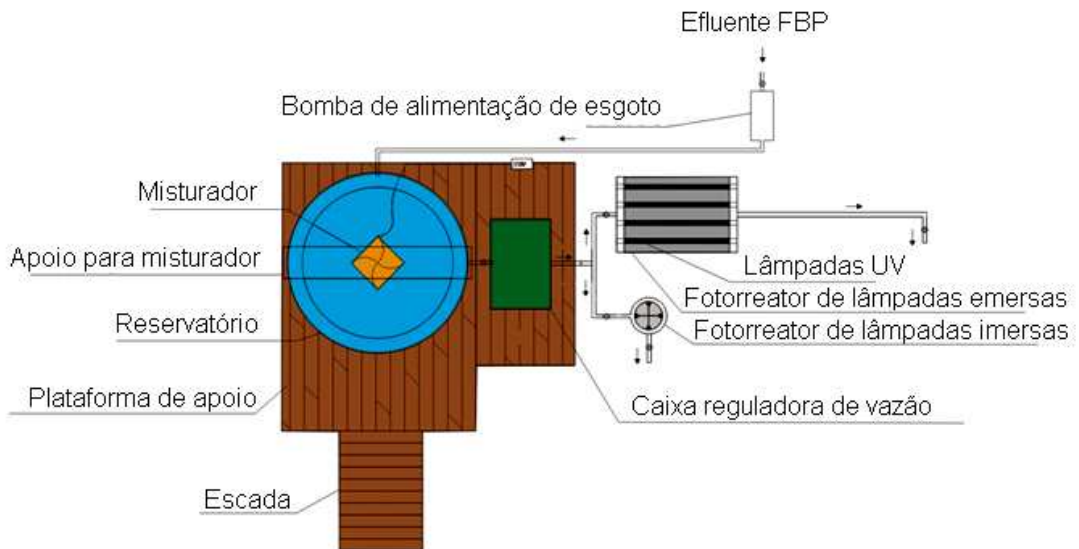
Para o estudo de desinfecção de efluentes, o esgoto previamente tratado em sistema UASB/FBP foi encaminhado para os sistemas de desinfecção, denominados fotorreator de lâmpadas imersas (FRI), fotorreator de lâmpadas emersas (FRE) e irradiador gama, conforme descrito a seguir. No decorrer do trabalho, os sistemas foram referenciados de forma simplificada.

#### **4.1.3 Fotorreator de lâmpadas UV**

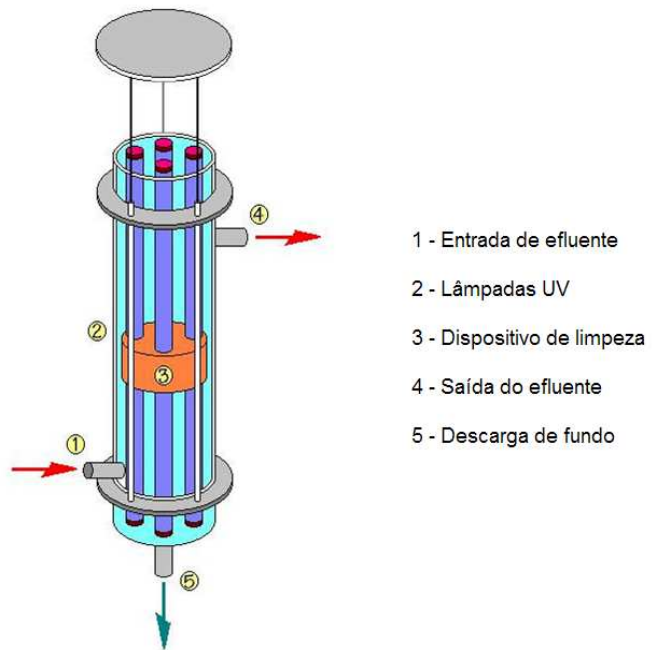
Os sistemas de fotorreatores de lâmpadas UV foram utilizados para a desinfecção do efluente final do sistema UASB/FBP e foram constituídos de duas unidades em paralelo: fotorreator de lâmpadas imersas (FRI) e fotorreator de lâmpadas emersas (FRE). A Figura 4.3 mostra esquema da vista superior dos sistemas de desinfecção por fotorreatores.

O FRI foi confeccionado em alumínio, dimensionado para tratar os esgotos de uma população equivalente a 250 habitantes. Apresenta 20 cm de diâmetro, altura 90 cm e volume útil de 20,7 dm<sup>3</sup>, equipado com 4 lâmpadas de mercúrio de baixa pressão, modelo G15T8, da marca *Phillips*, com 30 Watts (W). O espaçamento entre as lâmpadas foi de 6,9 cm. Para possibilitar a medida da intensidade da luz, foram instalados 5 visores de quartzo com 15 mm de diâmetro e 2,7 mm de espessura cada, em três diferentes alturas, a cada 120° ao redor do corpo do reator, totalizando 15 visores. Esse aparato foi concebido para a pesquisa de Alves (2003). A Figura 4.4 mostra a foto e o esquema do equipamento.

O FRE também foi confeccionado em alumínio, dimensionado para tratar os esgotos de uma população equivalente a 250 habitantes. Apresenta comprimento de 122 cm, largura de 50 cm, altura de 14 cm, comprimento das calhas de 88 cm, largura das calhas de 12 cm, volume útil de 20,7 dm<sup>3</sup>, equipado com 4 lâmpadas de mercúrio de baixa pressão, modelo G15T8 da marca *Phillips*, com 30 Watts (W). Para possibilitar a medida da intensidade da luz, foram instalados 4 visores de quartzo com 15 mm de diâmetro e 2,7 mm espessura, na parte mediana de cada uma das quatro calhas do FRE. A Figura 4.5 mostra uma foto do FRE e o esquema do equipamento.

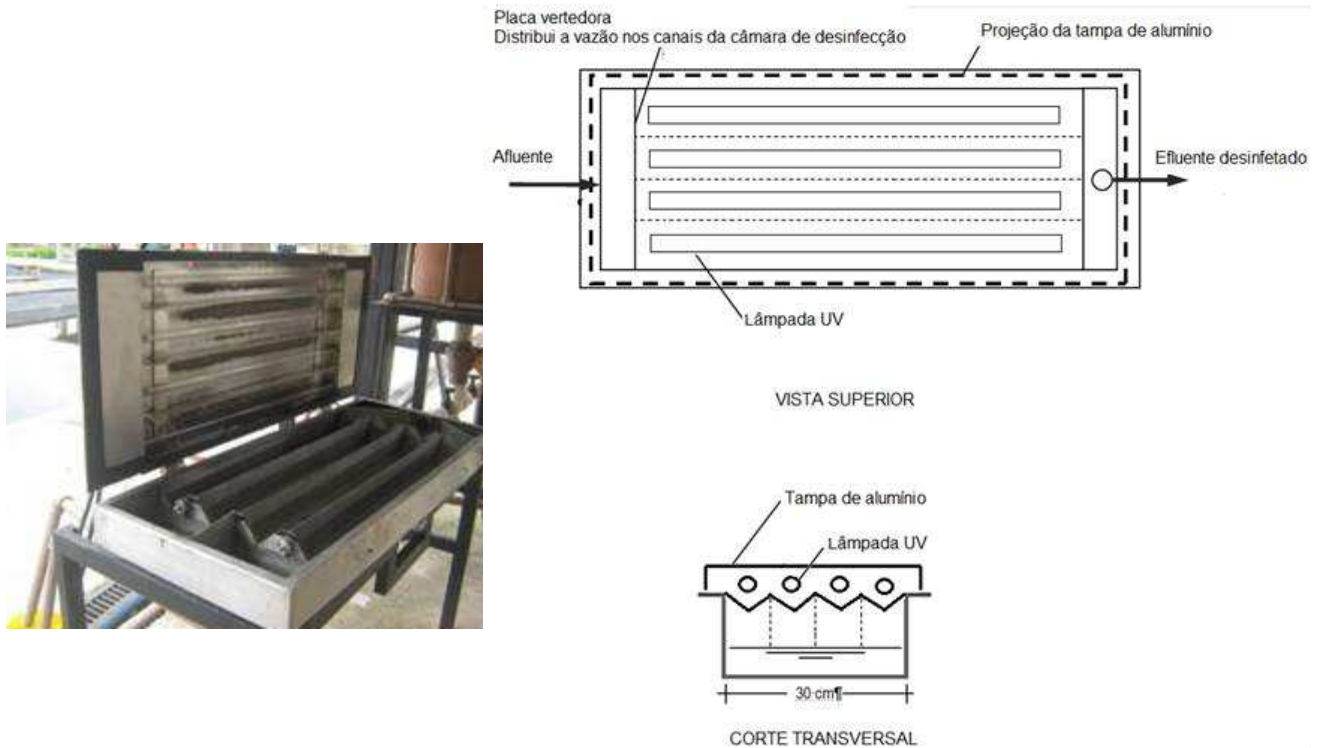


**Figura 4.3** – Vista superior do sistemas dos fotorreatores



**Figura 4.4** – Foto e esquema do fotorreator de lâmpadas imersas (FRI)  
Fonte: Alves (2003)

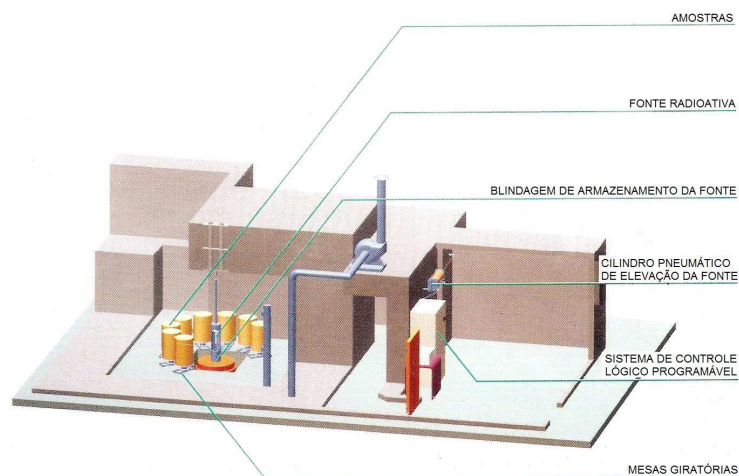




**Figura 4.5** – Foto e esquema do fotorreator de lâmpadas emersas (FRE)

#### 4.1.4 Irradiador gama

Na pesquisa foi utilizado o irradiador panorâmico multipropósito de categoria II, fabricado pela MDS Nordion no Canadá, número de série IR-214 e tipo GB-127 e equipado com uma fonte de Cobalto-60 estocada a seco, com atividade radioativa máxima de 2.200 TBq ou 60.000 Ci. Localizado no Laboratório de Irradiação Gama (LIG) do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), conforme esquematizado na Figura 4.6. Apenas esta etapa foi realizada em escala de bancada.



**Figura 4.6** – Esquema do irradiador panorâmico do LIG/CDTN

## 4.2 Procedimento pré-coleta

### 4.2.1 Qualidade parasitológica em termos de ovos de helmintos no esgoto bruto

A qualidade parasitológica do esgoto bruto que alimenta o sistema na ETE Arrudas foi obtida de acordo com a metodologia de Bailenger (1979), modificado por Ayres & Mara (1996), metodologia adotada pela Organização Mundial de Saúde para a quantificação de ovos de helmintos em esgotos brutos e tratados.

Desta forma, as amostras de esgotos foram processadas de acordo com as seguintes etapas: sedimentação, centrifugação e flutuação. Após sucessivas centrifugações da amostra, com descarte do sobrenadante, o sedimento foi 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 com densidade menor ou igual a 1,18 flutuaram saindo do sedimento e ficando em suspensão na solução. A suspensão de ovos na solução de sulfato de zinco foi quantificada utilizando-se a câmara de McMaster, com observação sob microscopia óptica em objetivas de 10x.

O efluente em estudo (esgoto bruto) apresentou concentrações relativamente baixas de ovos de helmintos (0 a 20 ovos/L), conforme mostra a Tabela 4.5.

**Tabela 4.5** – Dados descritivos da concentração de ovos de helmintos em esgoto bruto (ovos/L)

Média aritmética	N	Mediana	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo
6,8	24	5,6	6,6	0,0	20,0

N = quantidade de amostras

Nesta situação, a concentração relativamente baixa de ovos de *Ascaris* sp. nas amostras de esgoto em estudo exigiu a contaminação artificial do efluente do sistema UASB/FBP. O objetivo foi garantir uma concentração elevada dos ovos de *Ascaris* sp., o indicador de qualidade parasitológica empregado neste estudo, para possibilitar a análise estatística da porcentagem de inativação pela ação da irradiação de águas servidas.

### 4.2.2 Obtenção de ovos de *Ascaris* spp. para contaminação artificial das amostras

#### 4.2.2.1 Ovos com membrana mamilonada (obtidos a partir de fezes do hospedeiro)

Os experimentos com ovos de *A. lumbricoides* providos de membrana mamilonada foram com ovos recuperados de fezes humanas. Inicialmente as suspensões de ovos foram obtidas

de sedimentos de fezes cedidos pelo Instituto de Análises Clínicas Hermes Pardini de Belo Horizonte. Como a quantidade de ovos requerida para o experimento foi elevada, houve a necessidade de busca ativa de fezes humanas contaminadas. Para tal, contou-se com a doação de fezes por voluntários em idade escolar, cedidas pela Escola Municipal Dagmar Barbosa de Souza, em Santa Luzia-MG. As amostras foram refrigeradas até no máximo 24 horas antes da realização do exame.

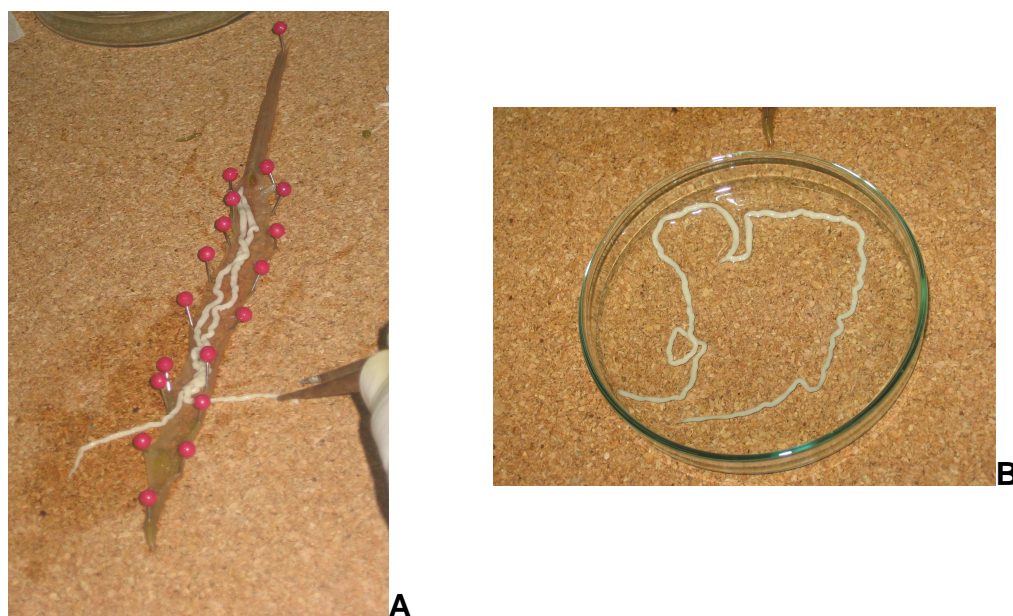
Para os experimentos com ovos de *A. suum* providos de membrana mamilonada estes foram recuperados de fezes suínas coletadas na Fazenda Experimental Prof. Hélio Barbosa, pertencente à Escola de Veterinária da UFMG.

Os exames das fezes para detecção de ovos férteis de *Ascaris* foram realizados pela técnica de *Ritchie* (1948). Esta técnica está baseada na centrifugação da amostra com éter sulfúrico com o objetivo de retirar uma maior quantidade de gordura da amostra, por afinidades de compostos apolares (éter e gordura). Para tal, realizaram-se os seguintes procedimentos, conforme descrito em Neves et al. (2009): i) pesou-se 2 gramas de fezes em frasco de plástico descartável; adicionou-se 5 ml de água e homogeneizou-se bem a amostra e filtrou-a com auxílio de gaze; ii) acrescentou-se mais 15 ml de água, homogeneizou; iii) transferiu-se 15 mL do filtrado para tubo Falcon® e centrifugou-se por 5 minutos a 2000 rpm (adaptação inserida para limpar mais as amostras); iv) desprezou-se o sobrenadante, adicionou-se 6 ml de água e 4 ml de éter sulfúrico e agitou-se vigorosamente a amostra para garantir o contato do éter com a gordura presente nas fezes; v) a amostra foi centrifugada por dois minutos a 2000 rpm., em seguida o sobrenadante foi desprezado pela inversão do tubo e acrescentou-se até 1 ml de formol e homogeneizou-se para fixação do material; vi) preparou-se lâmina e lamínula com gotas do material em acrescentando lugol e examinou-se em microscópio.

As amostras positivas foram utilizadas no preparo de suspensões de ovos de acordo com o seguinte procedimento: i) separou-se pequenas alíquota das fezes, dissolveu-se em salina e filtrou-se em gaze dobrada 4 vezes; ii) encheu-se quantos tubos Falcon® foram necessários com a suspensão de fezes; iii) centrifugou-se as amostras, desprezou-se o sobrenadante e adicionou-se uma quantidade de salina suficiente para permitir homogeneização da amostra no vórtex; iv) juntou-se os sedimentos até completar aproximadamente a marca de 40 mL, sempre utilizando a solução de tween para lavar as paredes dos tubos Falcon® e minimizar a perda de ovos;

#### 4.2.2.2 Ovos sem membrana mamilonada (obtidos a partir de útero de verme)

Para os experimentos com ovos de *Ascaris* spp. sem membrana mamilonada estes foram recuperados de útero de verme adulto, pela dissecação do verme. Para tal, realizaram-se os seguintes procedimentos, conforme descrito em Godinho (2003): i) colocou-se cada verme sobre uma cortiça, fixou-se suas extremidades com alfinetes, distendendo-o; ii) com tesoura de ponta fina, cortou-se longitudinalmente a cutícula do verme, tendo o cuidado de não seccionar as estruturas internas; iii) rebateu-se a cutícula para os lados, fixando-a com alfinetes; iv) afastou-se cuidadosamente para os lados, com pinças e estiletos o útero e separou-se o terceiro terço distal, conforme ilustrado na Figura 4.7; v) macerou-se o terceiro terço distal do útero e peneirou-se a suspensão para a obtenção dos ovos de *Acaris* sp sem membrana;



**Figura 4.7** – Dissecação de *Ascaris* spp. (A); e útero de verme adulto em solução salina (B)

#### 4.2.3 **Quantificação do inóculo para contaminação artificial das amostras**

A quantificação dos ovos de *Ascaris* spp. presente nas suspensões de fezes ou de útero foi realizada conforme os seguintes procedimentos: i) a suspensão foi homogeneizada em vórtex; ii) transferiu-se a alíquota de 1 mL para um tubo Falcon® de 15 mL e adicionou 9 mL de salina, obtendo-se uma suspensão com a diluição de 1:10 do tubo original; iii) preparou-se lâmina e lamínula com 40 microlitros do material e realizou-se contagem pelo menos 3 vezes; e iv) aplicou-se proporção linear para estimar a quantidade de ovos no tubo Falcon® de 50 mL.

### 4.3 Coletas de amostras

#### 4.3.1 Pontos de coleta

As amostras foram coletadas ao longo dos sistemas de tratamento, conforme ilustrado na Figura 4.8. O procedimento de coleta foi detalhado em cada etapa da pesquisa. Foram utilizados frascos âmbar (escuros) em todas as coletas a fim de se minimizar a exposição das amostras irradiadas à radiação UV de fundo.

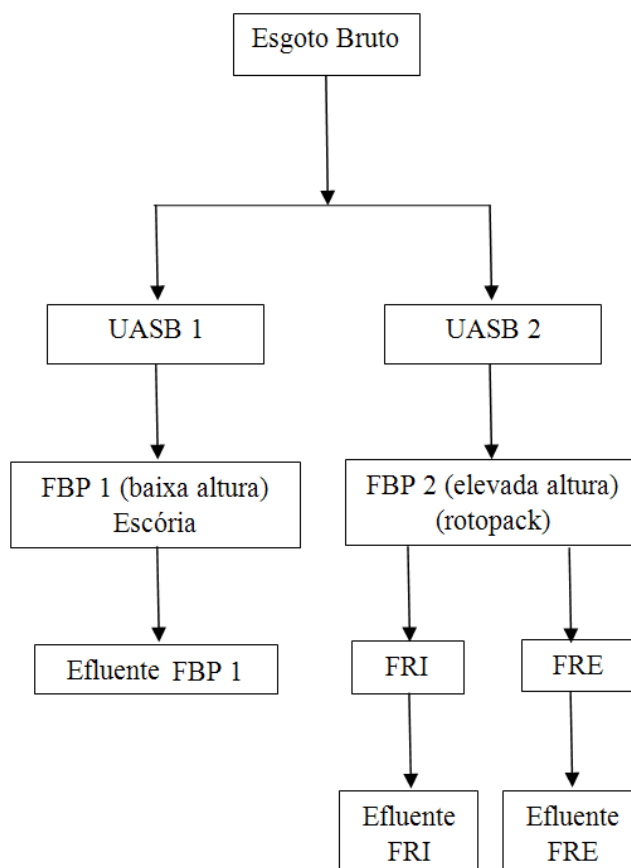


Figura 4.8 – Esquema dos pontos de coleta dos sistemas de tratamento de esgoto

### 4.4 Irradiação das amostras

#### 4.4.1 Ultravioleta

O cálculo da dose de radiação UV aplicada foi feito conforme mostra a Equação 4.1.

$$D = TDH \times I_M \quad \text{(Equação 4.1)}$$

Na qual:

D = dose de radiação UV ( $\text{mW.s.cm}^{-2}$ ) aplicada

TDH = tempo de detenção hidráulica (s)

$I_M$  = intensidade média ( $mW.cm^{-2}$ )

A **intensidade** da radiação foi obtida pela leitura da radiação que atravessava os visores de quartzo, sempre realizada após 15 minutos de funcionamento das lâmpadas, com auxílio do radiômetro da *Instrutherm*, marca *Lutron* /MOD. UVC 254 - COD. 2056, que detecta a radiação UV no comprimento de onda de 254 nm, conforme mostra a Figura 4.9. Os dados de intensidade de radiação foram obtidos com os fotorreatores vazios.



**Figura 4.9** – Medidor de luz ultravioleta digital

O **tempo de detenção hidráulica (TDH)** é o tempo médio de permanência do líquido em um sistema de tratamento alimentado continuamente. O cálculo do TDH foi feito conforme mostra a Equação 4.2.

$$TDH = \frac{V}{Q} \quad \text{(Equação 4.2)}$$

Na qual:

TDH = tempo de detenção hidráulica

V = volume do sistema de tratamento

Q = vazão afluyente

As vazões dos fotorreatores foram ajustadas em função do tempo de permanência do esgoto no aparato em questão (TDH). Considerou-se o volume fixo dos fotorreatores igual a 20,7 L. Para regular os sistemas na referida vazão calculou-se o tempo que foi necessário para encher um balde de dez litros. Na prática, a vazão do sistema foi ajustada abrindo ou fechando gradualmente os registros.

#### **4.4.2 Radiação gama**

A dose de radiação gama aplicada nas amostras foi calculada em função da taxa de dose e do tempo de exposição dos materiais à fonte, como definida na equação 4.3. A distância das amostras à fonte radioativa foi constante e igual a 15 cm. O experimento foi conduzido a uma

taxa de dose que variou entre 6.371 a 6.285Gy.h<sup>-1</sup> devido ao decaimento da atividade radioativa.

$$D = R \times T$$

(Equação 4.3)

Onde:

D = Dose aplicada (kGy)

R = Taxa de dose da radiação gama (Gy.h<sup>-1</sup>)

T = Tempo da irradiação (h)

A Figura 4.10 mostra o posicionamento das amostras no irradiador.

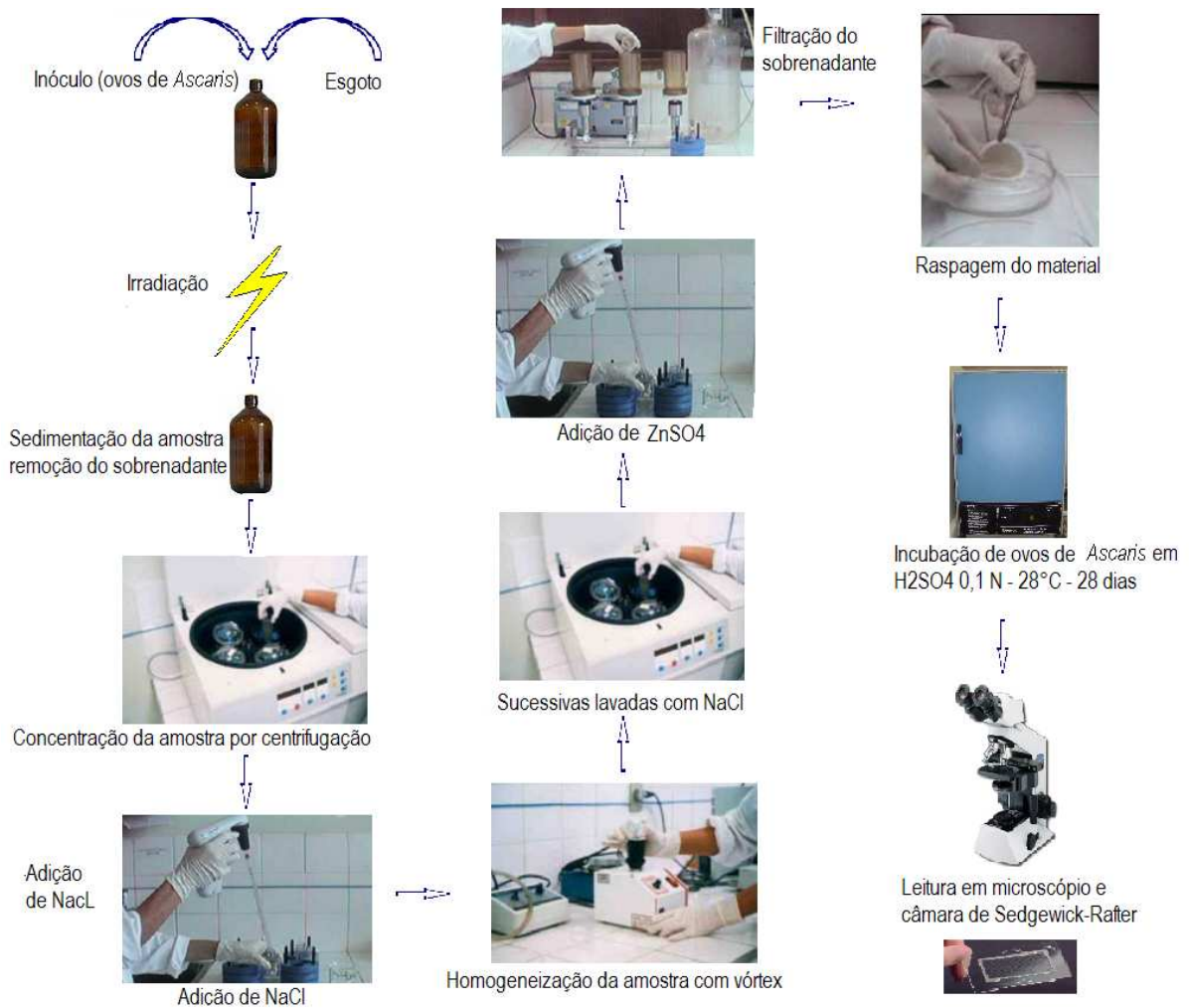


Figura 4.10 – Posicionamento das amostras no irradiador

#### 4.5 **Estudo da viabilidade de ovos de *Ascaris* spp.**

O estudo de viabilidade de ovos de *Ascaris* spp foi feita pela técnica de incubação adaptada (Zerbini & Chernicharo, 2001), onde um litro de cada amostra foi colocado em repouso para sedimentação, por um período de 24 horas. O sobrenadante foi removido delicadamente com o auxílio de uma bomba de sucção, ficando no recipiente o volume de 200 mL. O material remanescente foi centrifugado sucessivamente com solução salina (NaCl 0,85%) até a retirada do excesso de matéria orgânica. Em seguida, os ovos flutuaram em solução de sulfato de zinco (densidade 1,18 g/l) e filtrados em membrana de éster celulose de 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de porosidade. O material retido na membrana foi raspado com auxílio de lamínula, armazenado em tubos Falcon® de 50 mL, com solução de ácido sulfúrico 0,1N, incubados em estufa a 28 °C por 28 dias, e aerados diariamente (Fairbairn, 1961). A Figura 4.11 esquematiza o método de incubação adaptado.



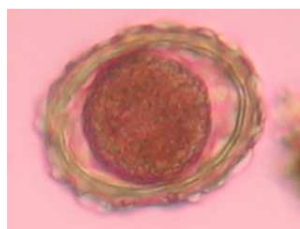


**Figura 4.11** – Esquema do método de incubação adaptado Zerbini & Chernicharo, 2001

Após o período de incubação, o tubo foi centrifugado e o sobrenadante removido cuidadosamente. Os 2 mL restantes foram bem homogeneizados e contados em câmara de Sedgewick Rafter, com auxílio de microscópio, conforme o seguinte procedimento: i) inicialmente separaram-se os tubos Falcon® de 50 mL com cultura de ovos de *Ascaris* spp. irradiados (os tubos estavam devidamente identificados com o tipo de irradiação (FRI, FRE, gama), com a dose e com a data da coleta - processou-se um grupo de cada vez, para evitar mistura dos resultados; ii) centrifugou-se as amostras nos próprios tubos de 50 ml à 2500 rpm por oito minutos (o objetivo foi concentrar os ovos); iii) sugou-se delicadamente o sobrenadante com o auxílio de pipetas de Pasteur ou da trompa de vácuo até a marca 5 mL, com cuidado para não ressuspender o sedimento das amostras; iv) transferiu-se os 5 mL restantes da amostra para tubo falcon de 15 mL com auxílio de salina (para minimizar a perda de ovos); v) lavou-se o tubo Falcon® de 50 mL aos poucos, com pouca quantidade de salina e agitação e transferiu-se o lavado até completar o volume do tubo de 15 mL, com cuidado para



não exceder o volume do tubo; vi) centrifugou-se novamente os tubos de 15 mL por oito minutos a 2500 rpm; vii) sugou-se delicadamente o sobrenadante com auxílio de pipeta de Pasteur ou trompa de vácuo até a marca 2,5 mL, com cuidado para não ressuspender as amostras; viii) homogeneizou-se a amostra com auxílio de uma pipeta de Pasteur pelo menos três vezes; ix) preencheu-se uma câmara de Sedgewick-Rafter com a cultura e quantificou-se os ovos da cultura. Cada forma observada foi registrada no contador manual de células, de acordo com os esquemas das Figuras 4.11 a 4.17.



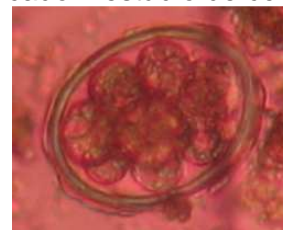
**Figura 4.12** – Ovo de *Ascaris* spp. com casca – estágio de célula única



**Figura 4.13** – Ovo de *Ascaris* spp. descorticado – estágio de célula única



**Figura 4.14** – Ovo de *Ascaris* spp. mórula precoce de 2 células



**Figura 4.15** – Ovo de *Ascaris* spp. mórula precoce – 2 a 16 células



**Figura 4.16** – Ovo de *Ascaris* spp. mórula tardia – acima de 16 células



**Figura 4.17** – Ovo de *Ascaris* spp. viável (com larva)

Considerou-se ovo viável os que apresentaram larva formada. Os outros estágios de desenvolvimento (mórula e gástrula) foram quantificados, sendo estas formas consideradas não viáveis. Em paralelo como controle foram incubados ovos sem irradiar.

A eficiência de inativação de ovos de *Ascaris* spp nas amostras foi calculada por proporção linear, conforme mostra a equação 4.4.

$$E = \left(1 - \frac{Nf}{No}\right) \times 100 \quad \text{(Equação 4.4)}$$

Onde:

$E$  = eficiência de inativação de ovos de *Ascaris* spp.

$N_f$  = número de ovos de *Ascaris* spp viáveis após irradiação.

$N_o$  = número total de ovos férteis de *Ascaris* spp.

## **4.6 Etapas da pesquisa**

Esta pesquisa se dividiu em 4 etapas, sendo que cada etapa corresponde a um objetivo específico, conforme enumerados e descritos a seguir:

- (i) Avaliação da inativação de ovos de *Ascaris* sp. na desinfecção de efluentes sanitários por raios UV;
- (ii) Avaliação da inativação de ovos de *Ascaris* sp. na desinfecção de efluentes sanitários por raios gama;
- (iii) Avaliação do uso de ovos de *Ascaris* spp. com e sem membrana mamilonada como modelo indicador de eficiência de um processo de desinfecção de efluentes sanitários;
- (iv) Avaliação dos efeitos da radiação UV e gama na viabilidade (*in vivo*) de ovos de *Ascaris suum* após a desinfecção de efluentes domésticos.

### **4.6.1 Avaliação da inativação de ovos de *Ascaris* sp. na desinfecção de efluentes sanitários por raios UV**

Para avaliar as eficiências de inativação de ovos de *Ascaris* sp. por fotorreatores de lâmpadas imersas e lâmpadas emersas e esclarecer as diferenças encontradas na literatura e tornar a condição experimental mais realista, esta etapa do estudo delineou os testes com as seguintes condições:

- (i) Utilizou de ovos de *A. suum*, espécie presente em suínos, com membrana mamilonada e impregnado de pigmentos fecais. O ideal seria usar *A. lumbricoides*, mas como os testes foram realizados em escala de demonstração a quantidade de ovos a ser inoculada artificialmente foi elevada, optou-se por utilizar *A. suum*;
- (ii) Os ovos de *A. suum* apresentaram uma média de embrionamento, sem exposição à radiação de 91%;
- (iii) Ovos não embrionados foram inoculados em amostras de esgoto tratado em UASB/FBP antes da desinfecção UV, a fim de melhor representar as possíveis

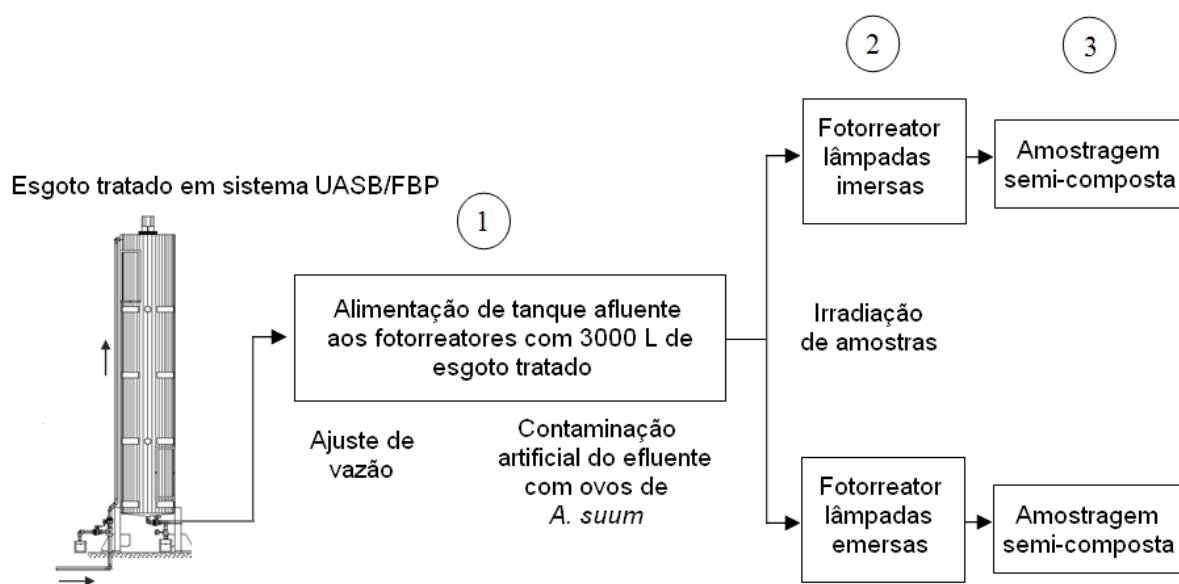
interações entre os ovos e os subprodutos gerados pela radiação UV considerando o meio no qual foram irradiados.

#### 4.6.1.1 Aparato experimental

O esgoto bruto foi submetido ao tratamento em reator anaeróbico de fluxo ascendente e manta de lodo seguido de filtro biológico percolador no sistema compacto UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>. O efluente deste sistema foi utilizado para alimentar um tanque de armazenamento de 3000 L, para posterior utilização nos fotorreatores FRI e FRE, conforme descrito no item 4.1.

#### 4.6.1.2 Coleta de amostras

A Figura 4.18 mostra o fluxograma dos procedimentos para obtenção das amostras de esgoto tratado em sistemas UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub> que foram irradiadas com raios ultravioletas.



**Figura 4.18** – Fluxograma dos procedimentos para obtenção de amostras irradiadas com UV

O esgoto tratado no sistema UASB/FBP foi encaminhado, inicialmente, para um tanque de 3000 L. Na saída do tanque de alimentação dos fotorreatores foi ajustada a vazão de entrada de esgoto no sistema em função do TDH necessário em cada teste e em seguida houve a inoculação com ovos de *A. suum* (1). O esgoto foi submetido à homogeneização constante com auxílio de hélice por pelo menos cinco minutos antes de iniciar a alimentação do fotorreator. O esgoto tratado foi irradiado ao passar pelos fotorreatores (2). A amostragem foi semicomposta (3), conforme apresentado no esquema da Figura 4.11.

#### 4.6.1.3 Irradiação das amostras

A Tabela 4.6 apresenta as condições operacionais dos fotorreatores, com base no TDH testado e na intensidade de luz medida.

**Tabela 4.6** – Condições operacionais dos fotorreatores de lâmpadas imersas e lâmpadas emersas

TDH (s)	$I_M$ (mW.cm <sup>-2</sup> )	Dose aplicada (mW.s.cm <sup>-2</sup> )
30	0,29	8,7
60	0,29	17,4
120	0,29	34,8
180	0,29	52,2

No total foram realizados três ensaios com seis amostras diferentes cada, totalizando 18 amostras por dose de radiação UV.

#### 4.6.1.4 Avaliação da inativação de ovos de *Ascaris suum*

Para verificar a efetividade da radiação UV na inativação de ovos de *A. suum* em esgoto tratado por reator anaeróbio seguido de filtro biológico percolador, foi realizada a análise da viabilidade dos ovos nas amostras irradiadas, conforme descrito no item 4.4.

### **4.6.2 Avaliação da inativação de ovos de *Ascaris lumbricoides* na desinfecção de efluentes sanitários por raios gama**

Para avaliar as eficiências de inativação de ovos de *Ascaris* sp. por radiação gama e esclarecer as diferenças encontradas na literatura e tornar a condição experimental mais realista, esta etapa do estudo delineou os testes com as seguintes condições:

- (i) Utilizou de ovos de *A. lumbricoides*, que é a espécie mais prevalente em esgoto doméstico e representa risco para a saúde humana;
- (ii) Os ovos de *A. lumbricoides* apresentaram uma média de embrionamento, sem exposição à radiação, de 85%;
- (iv) Inoculação dos ovos não embrionados em amostras de esgoto tratado não irradiado, a fim de melhor representar as possíveis interações entre os ovos e os subprodutos gerados pela radiação gama considerando o meio no qual foram irradiados.

#### 4.6.2.1 Aparato experimental

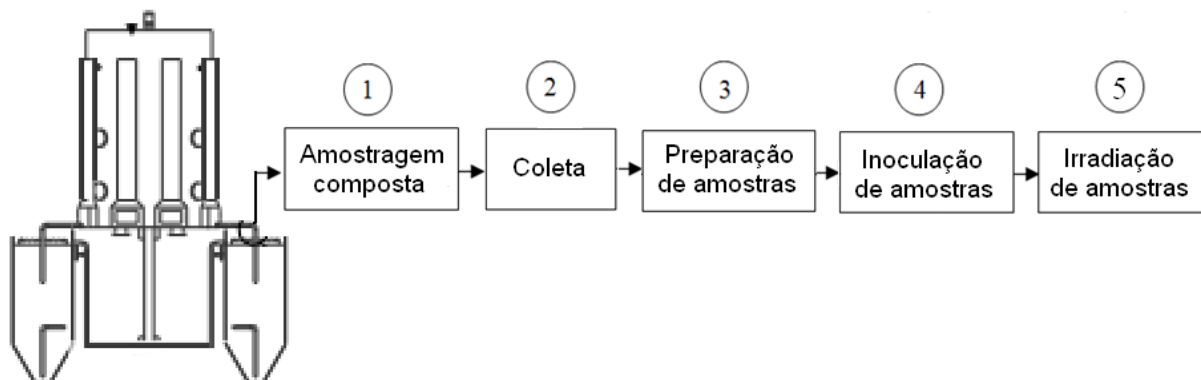
O esgoto bruto foi submetido ao tratamento em reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo seguido de filtro biológico percolador, no sistema compacto UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub>. As

amostras de um litro de esgoto tratado foram irradiadas com raios gama no irradiador panorâmico multiuso do LIG/CDTN, em escala de bancada.

#### 4.6.2.2 Coleta das amostras

A Figura 4.19 mostra o fluxograma dos procedimentos para obtenção das amostras de esgoto tratado no sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub> irradiadas com raios gama.

Esgoto tratado em sistema UASB/FBP



**Figura 4.19** – Fluxograma dos procedimentos para obtenção de amostras irradiadas com raios gama

Amostras compostas de um litro de esgoto tratado no sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub> foram coletadas (1 e 2). As amostras foram preparadas a partir da homogeneização do esgoto coletado e retiradas em alíquotas de um litro, em duplicata para cada dose de irradiação (3). Na sequência, as amostras foram inoculadas artificialmente com ovos não embrionados de *A. lumbricoides* (4) e foram irradiadas em escala de bancada (5).

#### 4.6.2.3 Irradiação das amostras

A Tabela 4.7 apresenta as doses de radiação gama testadas para desinfecção de efluentes domésticos tratados no sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub>.

**Tabela 4.7** – Doses de radiação gama aplicada

Dose de radiação gama (kGy)	Tempo gasto (min)
2,5	23,55 a 24,43
3,5	32,96 a 33,41
4,5	42,10 a 42,7
5,0	47,10 a 47,73

No total, foram realizados sete ensaios em duplicata, totalizando 14 amostras para cada dose testada.

#### 4.6.2.4 Avaliação da inativação de ovos de *Ascaris lumbricoides*

Para verificar a efetividade da radiação gama na inativação de ovos de *A. lumbricoides* em esgoto tratado por reator anaeróbio seguido de filtro biológico percolador, foi realizada a análise da viabilidade dos ovos nas amostras irradiadas, conforme descrito no item 4.4.

#### 4.6.3 **Avaliação do uso de ovos de *Ascaris* spp. com e sem membrana mamilonada como modelo indicador de eficiência de um processo de desinfecção de efluentes sanitários**

Com o objetivo de esclarecer as divergências encontradas na literatura em relação às doses para inativação de ovos de *Ascaris* sp. em estudos sobre desinfecção de efluentes, este trabalho comparou efluentes inoculados com ovos de *Ascaris* spp. de diferentes espécies (*A. lumbricoides* e *A. suum*) e origens (fezes ou útero de verme adulto). A Tabela 4.8 mostra o delineamento dos testes de acordo com a radiação e o tipo de indicador empregado:

**Tabela 4.8** – Tipos de indicadores de qualidade parasitológica utilizados

<b>Radiação</b>	<b>Indicador de qualidade parasitológica</b>
Ultravioleta	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ovos de <i>A. suum</i> com membrana (proveniente de fezes suínas);</li><li>• Ovos de <i>A. suum</i> sem membrana (proveniente de útero de verme adulto);</li></ul>
Gama	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ovos de <i>A. suum</i> e <i>A. lumbricoides</i> com membrana (proveniente de fezes);</li><li>• Ovos de <i>A. suum</i> e <i>A. lumbricoides</i> sem membrana (proveniente de útero de verme adulto);</li></ul>

Cabe ressaltar que as amostras para contaminação artificial do efluente não apresentaram apenas ovos com membrana mamilonada ou ovos sem membrana mamilonada, mas na contagem foi considerado um ou outro de acordo com o objetivo do experimento.

##### 4.6.3.1 Aparato experimental

Os testes de desinfecção de esgoto com radiação UV utilizaram como indicador apenas ovo de *A. suum* com e sem membrana mamilonada, inoculados no efluente do sistema UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub> que alimentou em paralelo os fotorreatores (FRI e FRE), conforme descrito no item 4.1.

Os testes de desinfecção de esgoto com radiação gama utilizaram como indicadores ovos de *A. lumbricoides* e de *A. suum*, ambos com e sem membrana mamilonada. Os ovos de *A. lumbricoides* foram inoculados no efluente do sistema UASB<sub>1</sub>/FBP<sub>1</sub>, enquanto os ovos de *A. suum* foram inoculados no sistema UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>. A desinfecção do efluente se deu no irradiador panorâmico multiuso do CDTN, conforme descrito no item 4.1.

#### 4.6.3.2 Coleta das amostras

No caso das amostras destinadas à irradiação com raios UV, alíquotas da suspensão de ovos de *A. suum* com ou sem membrana mamilonada, com aproximadamente quatro milhões de ovos, foram inoculados em um tanque com três mil litros de esgoto tratado, que alimenta simultaneamente os dois fotorreatores ligados em paralelo ao tanque de alimentação, conforme descrito no item 4.5.1.2.

No caso das amostras destinadas à irradiação com raios gama, alíquotas da suspensão de ovos de *Ascaris* spp., com ou sem membrana mamilonada contendo aproximadamente mil unidades, foram inoculadas em um litro das amostras de esgoto, proveniente de amostragem composta do sistema UASB/FBP tratado, conforme descrito no item 4.5.2.2.

Vale salientar que cada teste foi realizado com apenas uma espécie de parasito.

#### 4.6.3.3 Irradiações

##### *Irradiação com raios ultravioleta*

A Tabela 4.9 apresenta as condições operacionais dos fotorreatores, com base no TDH testado e na intensidade de luz medida.

**Tabela 4.9** – Condições operacionais dos fotorreatores de lâmpadas imersas e lâmpadas emersas

TDH (s)	$I_M$ (mW.cm <sup>-2</sup> )	Dose aplicada (mW.s.cm <sup>-2</sup> )
120	0,29	34,8
180	0,29	52,2

No total foram realizados três ensaios com seis amostras diferentes cada, totalizando 18 amostras por dose de radiação UV.

##### *Irradiação com raios gama*

A Tabela 4.10 apresenta as doses de radiação gama aplicadas. No total foram realizados cinco ensaios em duplicata totalizando dez amostras para cada dose testada.

**Tabela 4.10** – Doses de radiação gama aplicadas

Dose de radiação gama (kGy)	Tempo gasto (min)
1,5	14,76 a 14,90
2,5	24,10 a 24,83
3,5*	34,45 a 34,66

\* dose testada apenas para *A. lumbricoides*

#### 4.6.3.4 Comparação dos ovos de *Ascaris* sp. como modelo indicador de eficiência de desinfecção de esgoto

Para verificar a efetividade da desinfecção de esgoto por radiações UV e gama na inativação de ovos de *Ascaris* de diferentes espécies foram comparadas as suas viabilidades nas amostras irradiadas.

A viabilidade dos ovos foi analisada pela técnica de incubação adaptada (Zerbini & Chernicharo, 2001). Os estádios embrionários foram observados, sob microscopia óptica, quantificados e classificados de acordo com o desenvolvimento. A porcentagem de inativação dos ovos de *Ascaris* sp. foi calculada de acordo com a equação 4.4, conforme descrito no item 4.4.

#### 4.6.4 **Avaliação dos efeitos da radiação UV e gama na viabilidade (*in vivo*) de ovos de *Ascaris suum* após a desinfecção de efluentes domésticos**

Para verificar o desenvolvimento de ovos de *A. suum* no hospedeiro (*in vivo*) após exposição às radiações UV e gama no processo de desinfecção de esgoto, foram feitas infecções nos modelos murino (Massara, 1990) e suíno (Tromba, 1978). Este experimento foi realizado com ovos de *Ascaris suum*, devido à facilidade de obtenção e também por este ter como hospedeiro específico o suíno.

Os testes realizados para UV ocorreram em escala demonstração, o que dificultou a realização dos testes envolvendo o uso de *A. lumbricoides* como modelo indicador desta etapa, devido à elevada quantidade de ovos que é necessário para realização de testes nesta escala. Por isso, os testes envolvendo UV utilizaram como indicador apenas a espécie *A. suum*.

##### 4.6.4.1 Aprovação em comitê de ética

Este projeto tem certificado emitido pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA), constando que o protocolo n ° 166/2008 referente à presente pesquisa está em conformidade com os princípios éticos de experimentação animal, tendo sido aprovado na reunião de oito de outubro de 2008, conforme mostra o **Anexo A**.

##### 4.6.4.2 Aparato experimental

Esta etapa da pesquisa foi realizada no CePTS, em Belo Horizonte, MG. O esgoto foi tratado no sistema UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>. As amostras foram destinadas à irradiação no irradiador panorâmico



(gama) e outra parte foi irradiada nos fotorreatores (FRI e FRE) ligados em paralelo ao UASB<sub>2</sub>/FBP<sub>2</sub>, conforme descrito no item 4.1.

#### 4.6.4.3 Coleta e irradiações de amostras

As coletas de amostras referentes à irradiação com raios gama foi realizada conforme descrito no item 4.1, e as coletas de amostras referentes à irradiação com UV foram realizadas conforme descrito no item 4.5.1.2.

A metodologia das irradiações das amostras está descrita nos itens 4.3.1 e 4.3.2. As doses de radiação UV testadas foram 34,8 e 52,2 mW.s.cm<sup>-2</sup>, enquanto as doses de radiação gama testadas foram 1,5 e 2,5 kGy.

#### 4.6.4.4 Estudo da viabilidade *in vivo* de *Ascaris suum*

Inicialmente as amostras foram analisadas de acordo com a técnica de incubação adaptada (Zerbini & Chernicharo, 2001), conforme descrito no item 4.4. Na sequência, as amostras foram centrifugadas e as suspensões com ovos de *A. suum* foram concentradas ao máximo para a inoculação em camundongos e suínos.

#### *Modelo murino*

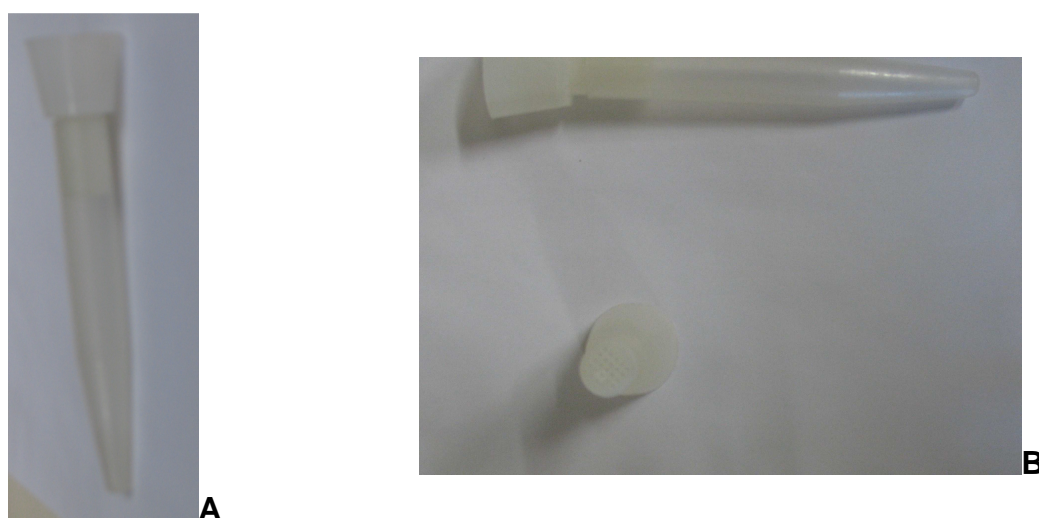
Cada amostra previamente analisada pela técnica de incubação foi concentrada por centrifugação e quantificado o máximo de ovos por 0,1 mL. De acordo com Massara (1990), estes ovos foram inoculados via oral, com auxílio de agulha de ponta romba em grupos de 5 camundongos por gaiola. Cada gaiola abrigou camundongos infectados com ovos irradiados na mesma dose de radiação. Os camundongos foram cuidados durante oito dias no biotério do departamento de parasitologia da UFMG, recebendo diariamente água, alimento e higienização. A Tabela 4.11 esquematiza o experimento em termos de quantidades de camundongos que foram utilizados.

**Tabela 4.11** – Quantidade de camundongos por grupo experimental

Grupo experimental por dose de radiação	Número de camundongos
Controle	5
Sentinela	5
17,4 mW.s.cm <sup>-2</sup> (UV)	5
34,8 mW.s.cm <sup>-2</sup> (UV)	5
1,5 kGy (gama)	5
2,5 kGy (gama)	5
Total	30

Vale lembrar que o grupo sentinela é o grupo de animais que foi mantido durante o experimento sem infecção experimental, a fim de ser o controle negativo do experimento. No oitavo dia após a infecção, os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical.

Na sequência, os pulmões e o coração foram retirados individualmente, picotados delicadamente com auxílio de tesoura cirúrgica. Em cada órgão foi pesquisado a presença de larva L4 de *A. suum* por meio da técnica de Baermann-Moraes-Coutinho, adaptada por Willcox e Coura (1989). A adaptação consistiu na utilização de um tubo cônico de polipropileno, “parasitokit” com 15 mL de volume, ao qual foi acoplado um funil do mesmo material, com uma tela no final de sua haste, conforme ilustrado na Figura 4.20.

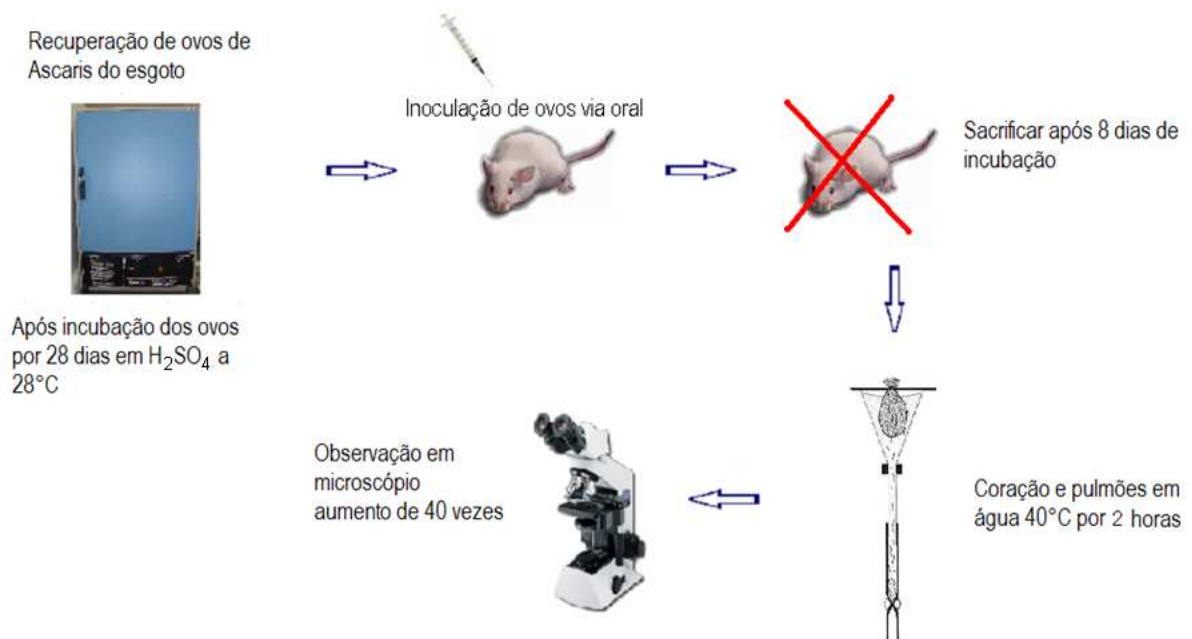


**Figura 4.20** – (A) Conjunto de tubo e funil de polipropileno utilizada na adaptação da técnica de Baermann-Moraes-Coutinho por Willcox & Coutinho (B) detalhe do funil

Os conjuntos de tubos e funis de polipropileno foram preenchidos com água a 40 °C, colocados em estantes em banho-maria com a mesma temperatura. Cada órgão foi depositado em um conjunto de tubo e funil devidamente identificado e permaneceu em banho-maria por um período mínimo de duas horas. Após este período os tubos de polipropileno foram centrifugados a 1500m rpm por cinco minutos, e o sobrenadante foi retirado delicadamente com auxílio de trompa de vácuo, deixando no tubo um volume de 1 mL.

O volume restante de cada amostra foi colocado em um poço de placa de ELISA, e observado em microscópio estereoscópico Wild® em aumento de dez vezes. Os ovos inoculados foram considerados infectantes quando larvas foram encontradas nos órgãos. A Figura 4.21 esquematiza o experimento.

Em virtude das facilidades associadas à criação e manutenção do camundongo, este método é mais usual, embora o ciclo do *A. suum* não se complete no hospedeiro.



**Figura 4.21** – Esquema do estudo da viabilidade do ovo de *Ascaris* *in vivo* em modelo murino

### *Modelo suíno*

O volume de cada amostra de esgoto com ovos de *A. suum* irradiados, previamente analisado pela técnica de incubação, foi concentrado por centrifugação de forma a quantificar o máximo de ovos por mL para a infecção dos suínos. Os filhotes utilizados no experimento foram selecionados ainda no período neonatal de matrizes que apresentaram exame de fezes negativo para *Ascaris suum*. Após o desmame, os animais ficaram em ambientes previamente higienizados com vassoura de fogo (equipamento também conhecido com lança-chamas que, ligado a um botijão de gás, funciona como um maçarico). Com dois meses de idade, todos os animais foram vermifugados com Fenbendazole em pó (comercialmente denominado Panacur®). Foram administrados 10 g de vermífugo para cada 80 kg de peso vivo, misturados com a ração.

Foram realizados exames de fezes pela contagem de ovos por grama (OPG) dos animais nas baias. Para tal, foram realizados os seguintes procedimentos (Ueno & Gonçalves, 1998): i) pesou-se 2 gramas de fezes em frasco de plástico descartável; ii) dissolveu-se as fezes em 58 mL de solução hipersaturada de NaCl de água e filtrou-se o material em peneira; iii) homogeneizou-se a suspensão fecal com pipeta; iii) retirou-se uma pequena quantidade de amostra e preencheu-se as duas áreas da câmara de McMaster; iv) esperou-se de 1 a 2 minutos de repouso e procedeu-se a contagem dos ovos em ambas as áreas da câmara; v) para calcular o número de ovos por grama de fezes (OPG), somou-se o total de ovos contados nas duas áreas da câmara multiplicou-se por 100, obtendo-se, dessa forma, os resultados referentes ao

número de ovos em um grama de fezes. Como não foi possível examinar todos os animais nesta situação, amostras de todas as baias foram coletadas, a fim de certificar a saúde dos animais. Essas medidas tiveram o objetivo de monitorar uma possível infecção natural por *A. suum*, considerando que o experimento foi realizado em campo aberto. De acordo com os resultados dos exames de fezes, os animais que apresentaram ascaridíase foram novamente vermifugados e esperou-se pelo menos 1 mês antes de realizar a infecção no animal.

Os grupos de suínos foram previamente selecionados de acordo com o peso e com idade de aproximadamente três meses. Durante o período do experimento, os suínos foram cuidados em baias de alvenaria na fazenda experimental Hélio Barbosa pertencente à Escola de Veterinária da UFMG, situada no município de Igarapé, conforme retratada na Figura 4.22. Os animais receberam diariamente água, alimento e higienização das baias.



**Figura 4.22** – Baias de criação dos animais para o experimento

A Tabela 4.12 esquematiza o experimento em termos de quantidade de suínos que foram utilizados.

**Tabela 4.12** – Quantidade de suínos utilizados por grupo experimental

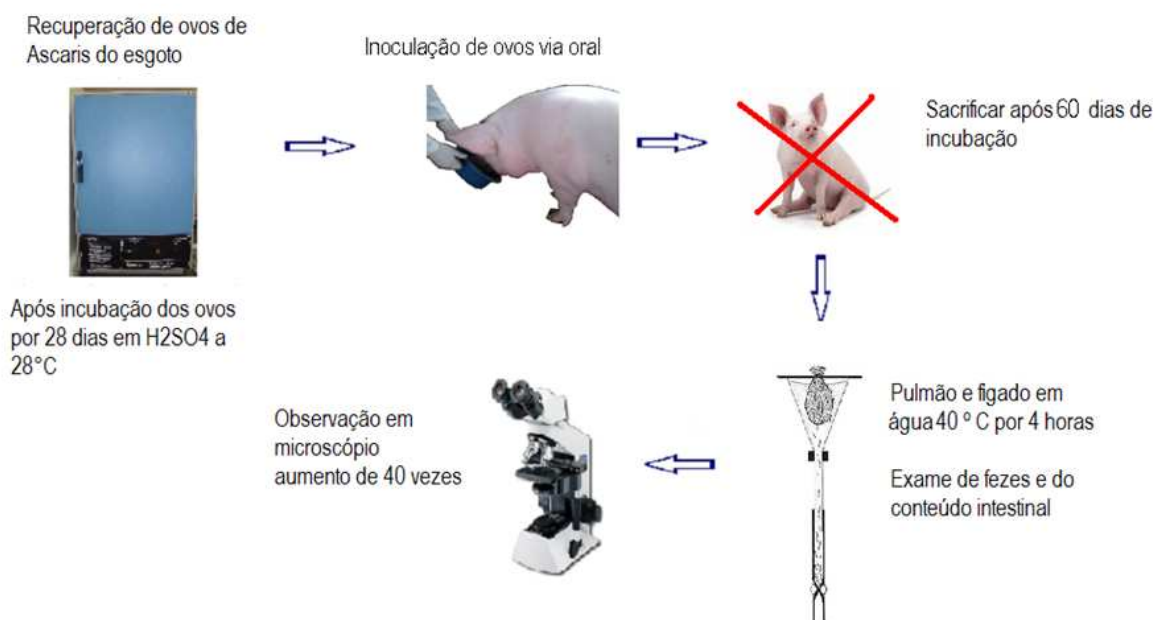
Grupo experimental por dose de radiação	Número de suíno
Controle positivo	5
sentinela	5
17,4 mW.s.cm <sup>-2</sup> (UV)	5
34,8 mW.s.cm <sup>-2</sup> (UV)	5
1,5 kGy (gama)	5
2,5 kGy (gama)	5
Total	30

Os animais foram infectados misturando ovos embrionados na ração. Adaptação no método de Tromba (1978), ilustrado na Figura 4.23.



**Figura 4.23** – Infecção oral do suíno com ovos de *A. suum*

Após 60 dias da infecção, os suínos foram sacrificados por concussão cerebral seguido de sangria direto no coração. Na sequência, os pulmões e o fígado dos suínos foram retirados individualmente e levados para o laboratório. Foi realizada a pesquisa de larvas de *A. suum* nos órgãos pelo método de Baermann modificado (Morais, 1948). Para tal, os órgãos foram seccionados com auxílio de tesoura cirúrgica e envolvidos em gaze constituindo pequenos pacotes. Cada pacote foi depositado em uma peneira apoiada em recipiente de 10 litros com água a 40°C. Parte do pacote ficou em contato com a água e esperou-se 24 horas para análise do sedimento. Foi também analisado o conteúdo intestinal destes animais à procura de vermes adultos, conforme ilustrado na Figura 4.24.



**Figura 4.24** – Esquema do estudo da viabilidade *in vivo* do ovo de *A. suum* em modelo suíno

#### **4.7 Análise dos resultados**

Os dados experimentais obtidos são apresentados em gráficos e tabelas para mostrar as estatísticas descritivas em termos de medidas de tendência central (médias e medianas), desvio padrão, quantidade de amostras por teste e valores extremos (mínimo e máximo). Para fazer comparações entre as medidas de tendência central das porcentagens de inativação obtidas para cada dose de desinfecção, tanto por radiação UV, quanto por radiação gama, foram realizados testes de hipótese por meio do pacote STATISTICA 6.0. O programa mostra como resultado do processamento dos dados o valor de  $p$ , que deve ser menor do que  $\alpha$ , onde  $\alpha$  é o nível de significância. Considerou-se como nível de significância o valor comumente aplicado de 5% (0,05). Para que a hipótese de igualdade entre as tendências centrais (medianas) fosse negada, o valor de  $p$  teria que ser menor do que  $\alpha$ , onde  $\alpha$  é o nível de significância ( $p < 0,05$ ) (Oliveira, 2006). Portanto, todos os valores de  $p$  inferiores a 0,05 confirmam diferença estatística significativa entre determinada comparação.

De acordo com o tipo de amostra, como ela foi gerada, e da pergunta que se pretende responder, esta pesquisa utilizou testes não paramétricos para comparação dos seguintes tipos: comparação múltipla de amostras independentes (entre as eficiências das doses de radiação – *Kruskal-Wallis*); comparação de duas amostras independentes (entre eficiências obtidas com ovos de espécies diferentes irradiados com a mesma dose – *Mann-Whitney*); e comparação de duas amostras dependentes (entre as eficiências de ovos irradiados em paralelo no FRI e FRE – *Wilcoxon*).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação da inativação de ovos de *A. suum* na desinfecção de efluentes sanitários por raios UV

#### 5.1.1 Efeitos da radiação UV no desenvolvimento dos ovos de *A. suum*

As Figuras 5.1 e 5.2 mostram os percentuais de distribuição dos estádios embrionários de ovos de *A. suum* em esgoto sanitário irradiado pelos fotorreatores de lâmpadas imersas (FRI) e lâmpadas emersas (FRE) em cada dose investigada.

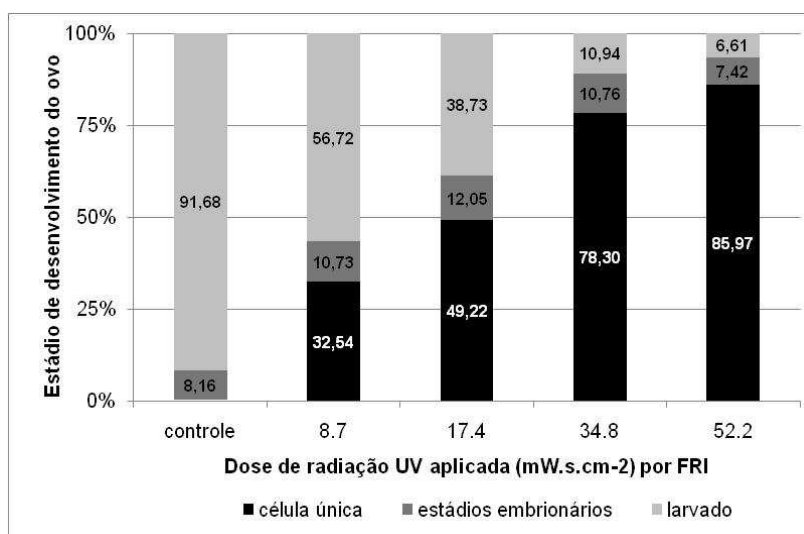


Figura 5.1 – Distribuição dos estádios de desenvolvimento dos ovos de *A. suum* em fotorreator de lâmpadas imersas

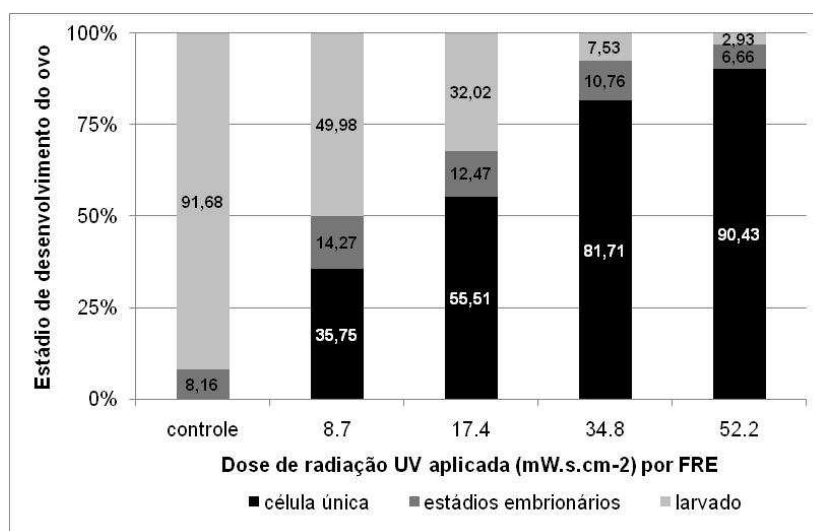


Figura 5.2 – Distribuição dos estádios de desenvolvimento dos ovos de *A. suum* em fotorreator de lâmpadas emersas

Os resultados mostraram que todas as doses de radiação UV aplicadas foram capazes de afetar o desenvolvimento embrionário dos ovos de *A. suum*. Considerou-se o delineamento experimental, onde o ovo inoculado em efluente tratado foi irradiado em fotorreator em escala

de demonstração em várias doses de radiação aplicada, sendo o indicador de eficiência de tratamento a viabilidade do ovo de *A. suum* com membrana mamilonada. Este achado está de acordo com a literatura (Nolf, 1932 citado por WHO 2004a; Chernicharo et al., 2003 e Brownell & Nelson, 2006) e em conflito com a pesquisa de Al-Adawi et al. (2006), conforme será discutido no item 5.1.2.

A radiação UV praticamente não afetou os estádios intermediários de desenvolvimento dos ovos de *A. suum*. A proporção destes estádios permaneceu em torno de 10 % durante todo o experimento. As proporções de desenvolvimento dos ovos foram comparadas com o teste estatístico não paramétrico para comparação múltipla de amostras independentes, *Kruskal-Wallis*. Vale lembrar que a hipótese de igualdade entre as medidas de tendência central (medianas) é negada quando o valor de p é menor que 0,05. No geral, não houve diferença estatística significativa entre proporção dos estádios intermediários do controle e as outras doses, confirmados pelo teste que calculou o menor valor de p de 0,23 no caso do FRI e o menor valor de p de 0,054 no caso do FRE. No FRE o teste estatístico detectou diferença significativa apenas entre o controle e o TDH 30s, conforme o valor de p de 0,007, provavelmente devido à influência das condições do experimento (variação na concentração de matéria orgânica e sólidos que podem também interagir com a radiação UV).

Pode-se observar que com o aumento da dose de radiação UV aplicada aumentou-se também a proporção de ovos que estacionaram seu desenvolvimento embrionário no estágio de uma célula única em relação aos outros estádios embrionários, o que evidencia a ação da radiação UV principalmente neste estágio embrionário. A pesquisa de Chernicharo et al. (2003) também registrou que o estágio de célula única obteve a maior proporção quando comparado aos outros estádios embrionários e apresentaram, nas doses 6,7; 13,6 e 20,3 mW.s.cm<sup>-2</sup> as proporções de 45,2; 66,2 e 65% de inibição do embrionamento, respectivamente, em um fotorreator de lâmpada imersa em escala piloto.

A inativação do ovo pode ser atribuída à ação da radiação UV, que por se tratar de uma onda eletromagnética com o comprimento de onda da ordem de 180 a 400 nm libera fótons. A absorção de um fóton por uma molécula promove fotólise devido à energia do fóton ser suficiente para romper uma ligação específica ou várias ligações entre os átomos que compõem a molécula. Proteínas e ácidos nucleicos absorvem intensamente a radiação na faixa de 100 a 280 nm, o que pode resultar em modificações fotoquímicas que podem desequilibrar o metabolismo de organismos. Assim, a radiação UV poderia penetrar na membrana do ovo e atingir o núcleo, onde ocorreria a destruição da cadeia de DNA com implicações diretas no



metabolismo e na reprodução celular. Neste caso, podem-se formar dímeros de pirimidinas que são potencialmente letais ou mutagênicos para a célula (Sutherland & Sutherland, 1969; USEPA, 1986; USEPA, 1999; Masschelein, 2002; Sinha & Härder, 2002; Tarran, 2002; Míron & Ortega 2002; Gonçalves et al., 2003). Neste sentido, estes efeitos poderiam justificar a interrupção do desenvolvimento do ovo, por interferir em todo o maquinário metabólico, incluindo a capacidade de divisão celular nos estádios iniciais de desenvolvimento, tornando-o inativo e sem importância epidemiológica.

Os resultados mostraram também que em todas as amostras de esgoto irradiadas foram encontrados ovos com larva em seu interior, embora a proporção de ovos viáveis diminuísse com o aumento da dose de radiação UV aplicada. A presença de larvas no interior de ovos irradiados poderia ser atribuída à presença de sólidos suspensos totais (SST) no efluente desinfetado. É sabido que a presença de SST afeta o efeito da radiação UV devido à proteção mecânica que a partícula pode oferecer aos ovos de *A. suum* que entram em contato com os sólidos que, por sua vez, podem bloquear o caminho da luz (USEPA, 2003). De acordo com Loge et al. (1999), o desempenho da desinfecção por raios UV está relacionado com o número de partículas que envolvem os organismos, mas as características de absorção de sólidos de águas residuais são aproximadamente as mesmas para todos os comprimentos de onda dentro da faixa de UV.

Outra explicação é que nem todos os ovos são irradiados igualmente, considerando que a distribuição das doses nos fotorreatores depende a intensidade de radiação recebida em cada ponto (USEPA, 2003). Nesta situação, a presença de ovos com larvas em esgoto desinfetado por raios UV pode ser atribuída ao mecanismo de auto-reparo do DNA. De acordo com Jagger (1958), citado por Chernicharo et al. (2001), a recuperação do DNA pós-irradiação será menor quanto maior for a dose recebida. Em doses elevadas, a quantidade de dímeros é maior que a capacidade de recuperação do ovo de *A. suum* e não haveria tempo para reverter todas as alterações antes que iniciasse a duplicação da célula. Esta hipótese corrobora com os dados apresentados, enfatizando que nas doses de radiação UV mais elevadas foram encontradas as maiores proporções de ovos no estágio de célula única, sendo respectivamente 85,9 e 90,4% para FRI e FRE, para a dose 52,2 mW.s.cm<sup>-2</sup>.

### **5.1.2 Eficiência de inativação de ovos de *A. suum* por radiação UV**

A Tabela 5.1 mostra os dados da estatística descritiva da quantidade de ovos totais e viáveis de *A. suum*, após a desinfecção de esgoto com fotorreatores de lâmpadas imersas e emersas.

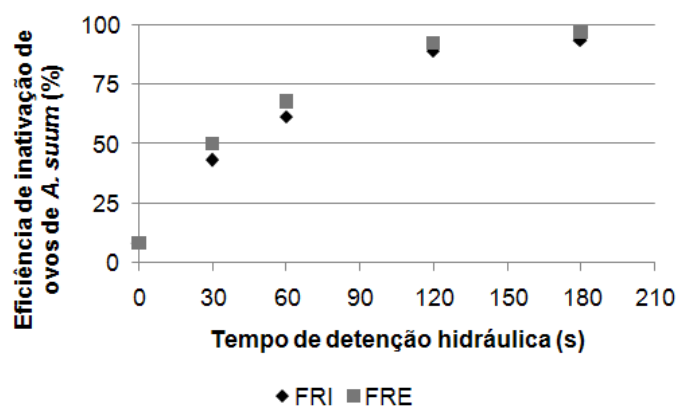
A Tabela 5.2 e a Figura 5.3 apresentam os dados referentes à eficiência de inativação dos ovos de *A. suum* pela radiação UV.

**Tabela 5.1** – Quantidade de ovos de *A. suum*/L em cada dose de radiação UV testada.

Dados	Controle		30 s (8,7 mW.s.cm <sup>-2</sup> )				60 s (17,4 mW.s.cm <sup>-2</sup> )				120 s (34,8 mW.s.cm <sup>-2</sup> )				180 s (52,2 mW.s.cm <sup>-2</sup> )			
			FRI		FRE		FRI		FRE		FRI		FRE		FRI		FRE	
	Totais	viáveis	Totais	Viáveis	totais	viáveis	totais	viáveis	totais	viáveis	totais	viáveis	totais	viáveis	totais	viáveis	totais	viáveis
Média	571,6	545,2	247,7	140,4	182,4	92,0	242,3	93,3	636,8	189,8	417,5	36,6	642,9	50,6	519,5	40,9	286,8	10,1
Mediana	330,0	287,0	222,0	126,0	111,0	62,0	253,0	93,5	389,0	116,0	258,0	39,0	732,0	31,5	482,0	16,0	287,0	3,0
Desvio padrão	764,1	766,3	134,0	73,8	129,3	65,5	24,1	5,4	508,4	168,0	333,4	20,8	282,9	42,6	285,8	42,7	186,3	18,2
Nº de amostras	17	17	17	17	18	18	6	6	12	12	11	11	10	10	12	12	12	12
Valor máximo	3247,0	3237,0	627,0	330,0	423,0	225,0	260,0	102,0	1594,0	500,0	1193,0	62,0	931,0	115,0	1030,0	113,0	704,0	65,0
Valor mínimo	134,0	98,0	86,0	51,0	41,0	16,0	197,0	86,0	197,0	40,0	133,0	6,0	138,0	5,0	120,0	5,0	57,0	0,0

**Tabela 5.2** – Estatística descritiva da inativação de ovos de *A. suum* irradiados com UV

Dados	Controle		30s (8,7 mW.s.cm <sup>-2</sup> )				60s (17,4 mW.s.cm <sup>-2</sup> )				120s (34,8 mW.s.cm <sup>-2</sup> )				180s (52,2 mW.s.cm <sup>-2</sup> )			
			FRI		FRE		FRI		FRE		FRI		FRE		FRI		FRE	
	%	log	%	Log	%	log	%	log	%	log	%	log	%	log	%	log	%	log
Média	8,3	0,04	43,2	0,25	50,0	0,31	61,3	0,41	68,0	0,55	89,1	1,05	92,5	1,20	93,4	1,24	97,1	1,72
Mediana	4,2	0,02	42,9	0,24	52,1	0,32	61,3	0,41	66,3	0,47	92,7	1,14	94,2	1,24	96,0	1,38	97,6	1,43
Desvio padrão	8,3	0,04	3,7	0,03	7,8	0,07	3,0	0,03	11,6	0,27	26,5	0,29	4,5	0,28	4,1	0,28	2,8	0,63
Nº de amostras	17,0	17,00	17,0	17,00	18,0	18,00	6,0	6,00	12,0	12,00	11,0	11,00	10,0	10,00	12,0	11,00	12,0	10,00
Valor máximo	26,9	0,14	52,3	0,32	61,0	0,41	65,0	0,46	95,5	1,35	96,2	1,42	97,6	1,61	97,8	1,67	100,0	3,00
Valor mínimo	0,3	0,001	38,0	0,21	35,4	0,19	56,3	0,36	52,3	0,32	79,2	0,68	85,3	0,83	87,7	0,91	90,8	1,03



**Figura 5.3** – Eficiência da desinfecção por radiação UV

A quantidade de ovos de *A. suum* analisados em cada teste não foi constante. Para possibilitar a comparação, os resultados da eficiência de inativação de ovos foram calculados a partir da equação 4.4 e dos dados relativos à quantidade total e a quantidade de ovos totais e viáveis.

Foram testados quatro tempos de detenção hidráulica (TDH) para cada tipo de fotorreator. Cada TDH corresponde a uma dose de radiação UV aplicada. Neste contexto, o TDH de 30s corresponde a dose de radiação UV  $8,7 \text{ mW.s.cm}^{-2}$ , o TDH de 60s corresponde a dose de radiação UV  $17,4 \text{ mW.s.cm}^{-2}$ ; TDH de 120s corresponde a dose de radiação UV  $34,8 \text{ mW.s.cm}^{-2}$  e o TDH de 180 s corresponde a dose de radiação UV  $52,2 \text{ mW.s.cm}^{-2}$ . Observou-se que quanto maior o tempo de permanência do esgoto no fotorreator maior é a eficiência de inativação. Enquanto os ovos de *A. suum* que não foram irradiados (controle) apresentaram a média de 91,7% de desenvolvimento até o estágio de larva, a dose de radiação UV de  $52,2 \text{ mW.s.cm}^{-2}$  apresentou a melhor eficiência média de inativação do ovo de *A. suum* para ambos os fotorreatores: 93,4 % para FRI e 97,1 % para FRE.

A Tabela 5.3 sintetiza as principais diferenças entre as eficiências de inativação de ovos de *Ascaris* spp. por radiação UV em algumas pesquisas. Vale salientar que a concentração de sólidos suspensos totais (SST) no efluente desinfetado variou entre 42 e 63 mg/L, níveis maiores que os mencionados pela USEPA (1986) para um melhor desempenho da desinfecção por radiação UV. De acordo com a Tabela 5.3, as eficiências de inativação de ovos de *Ascaris* spp. por radiação UV encontrados nesta pesquisa estão de acordo com os estudos de Chernicharo et al. (2003) e Brownell e Nelson (2006), e em desacordo com o estudo de Al-Adawi et al. (2006).

**Tabela 5.3** – Comparação de dados da literatura sobre inativação de ovos de *Ascaris* spp por radiação UV

Característica do trabalho	Autores			
	Chernicharo et al (2003)	Brownell & Nelson (2006)	Al-Adawi et al. (2006)	Presente trabalho
Módulo de irradiação	Piloto (2 L)	Bancada	Bancada	Escala de demonstração
Dose (mW.s.cm <sup>-2</sup> )	20,3	50	8,5 a 15,4	52,2
Intensidade (mW.cm <sup>-2</sup> )	0,338	0,11	4,27	0,26
Volume irradiado da amostra	2 L	6 mL	5 mL	20 L
Tipo de amostra	Esgoto tratado em UASB/FBP	PBS – tampão fosfato	Esgoto – tratamento secundário	Esgoto tratado em UASB/FBP
Indicador de eficiência	<i>A.lumbricoides</i> (útero)	<i>A. suum</i> (fezes) -	<i>A.lumbricoides</i> (fezes)	<i>A. suum</i> (fezes)
Preparo do indicador	Dissecação de ovo de útero – centrifugação com H <sub>2</sub> O destilada (uma vez).	Diluição de 0,5 mL de suspensão concentrada de ovos em 40 mL, centrifugou e ressuspendeu em 35 mL para 5 amostras	Lavou fezes com peneiras 3 vezes com tampão fosfato, centrifugou e ressuspendeu em pouco volume de água.	Lavou fezes em gaze e centrifugou 1 vez com salina
Desenvolvimento do controle (%)	86	95	91	91
Inativação (%)	90	68,4	Não inativou	93,4 (FRI)

Chernicharo et al. (2003) mostraram que a dose 20,3 mW.s.cm<sup>-2</sup> foi suficiente para inativar 90% dos ovos de *A. lumbricoides*. Brownell e Nelson (2006) reportaram uma inativação de 68,4% de ovos de *A. suum* com membrana mamilonada em esgoto irradiado com 50 mW.s.cm<sup>-2</sup> e de 99,4% em esgoto irradiado com 400 mW.s.cm<sup>-2</sup>, em bancada. No presente estudo a eficiência alcançada foi de apenas 60% de inativação de ovos de *A. suum* em sistema FRI com a dose de 17,4 mW.s.cm<sup>-2</sup> (vide Tabela 5.2). A eficiência reportada por Chernicharo et al (2003) foi maior provavelmente devido à maior intensidade da radiação UV aplicada e devido à utilização de ovos de útero, sem membrana mamilonada e sem a pigmentação por taninos fecais e, portanto, provavelmente mais sensíveis à radiação.

Por outro lado, os achados desta pesquisa divergiram dos achados de Al-Adawi et al. (2006), que observaram que a radiação UV estimulou o desenvolvimento de ovos de *A. lumbricoides*.

Uma tentativa de justificar a diferença dos resultados apresentados seria explorar as diferenças no preparo e na inoculação dos ovos de ascarídeos no volume de cada experimento. As pesquisas nas quais os achados corroboram com o presente estudo vale destacar que os ovos de *Ascaris* spp. foram preparados a partir de útero de verme adulto (Chernicharo et al., 2003). Portanto, sem membrana mamilonada e mais sensíveis; ou de fezes suínas (Brownell

& Nelson, 2006), onde os ovos foram consideravelmente diluídos em suspensão de tampão fosfato. Este fato pode ter favorecido a retirada do excesso de pigmentos fecais dos ovos, que de acordo com Wharton (1980) pode conferir proteção. Já Al-Adawi et al. (2006) utilizaram os ovos suspensos em uma pequena quantidade de água e provavelmente estariam ainda bastante impregnados com os pigmentos fecais. Este fato poderia, então, oferecer proteção aos ovos. A aceleração do desenvolvimento dos ovos verificada nesta pesquisa poderia então estar associada ao aumento da temperatura da amostra de esgoto (amostra de 5 mL) que foi irradiado apenas a 5 cm da fonte de radiação UV.

Vale considerar também o estudo de Seidl e Moritz (1998) que mostraram uma nova proteína ligada ao DNA danificado por UV (chromatin diminution associated factor 1 – CDAF1) relacionado com a clivagem celular durante a embriogênese em ovos de *A. suum*. Os resultados experimentais mostraram que CDAF1 aparentemente não reconhecem lesões de origem diferente das lesões originados por UV e possuem afinidade principalmente por dímeros de pirimidina ciclobutano, típicos de lesão por radiação UV. Embora tenha sido utilizado ovos de *A. suum* recuperados de útero de verme adulto, estes apresentaram a membrana perivitelínica e a camada ascarosida. Portanto, pode-se especular sobre a capacidade da radiação UV penetrar no ovo de *Ascaris* spp. Isto contraria os achados de Al-Adawi et al. (2006), considerando que os autores atribuíram a resistência à radiação UV dos ovos de *A. lumbricoides* à falta de capacidade da luz UV penetrar na membrana do ovo.

Para testar a hipótese I, citada no capítulo 3, referente à influência do meio irradiado na determinação da dose de radiação UV necessária para desinfecção, este estudo acreditava que encontrando valores superiores de eficiência de inativação de ovos de *Ascaris* spp. na presente pesquisa, isso poderia ser atribuído principalmente ao aumento do volume do meio irradiado. Na comparação dos resultados obtidos por Chernicharo et al. (2003) e a presente pesquisa (ambos utilizaram efluente de sistema UASB/FBP) verificou-se que foi aumentada a dose de radiação UV (de 20 para 52,2 mW.s.cm<sup>-2</sup>) necessária para inativar quantidade semelhante de ovos de *Ascaris* sp. (90%). Portanto os resultados corroboram com o postulado na hipótese I, ainda que outras diferenças entre os experimentos no âmbito de intensidade da radiação UV usada, diferentes espécies de ovos como indicador, entre outras variações, não foram consideradas. Para tal, recomenda-se a realização de outro estudo em que o mesmo tipo de ovo seja irradiado em um mesmo volume amostral sob as mesmas condições operacionais em meios como água, e as mesmas amostras sejam irradiadas em vários volumes de esgoto bruto e tratado, a fim de comprovar a referida hipótese.

### 5.1.3 Recomendações para desinfecção por radiação UV

#### 5.1.3.1 Tipo de fotorreator

De acordo com a Figura 5.3 e com a Tabela 5.2, a eficiência de inativação de ovos de *A. suum* por fotorreator de lâmpadas emersas foi maior que por fotorreatores de lâmpadas imersas.

As eficiências de inativação de ambos os fotorreatores foram comparadas com o teste estatístico não paramétrico para comparação de duas amostras dependentes, denominado *Wilcoxon*, uma vez que as amostras foram geradas simultaneamente no sistema que alimentou os fotorreatores em paralelo. Neste teste foram desconsideradas análises que foram geradas em dias diferentes devido a algum problema operacional no sistema. Consideraram-se então as amostras irradiadas a 8,7; 17,4 e 52,2 mW.s.cm<sup>-2</sup>. Todas as doses testadas apresentaram diferenças estatística significativa entre os FRI e FRE, confirmados pelo maior valor de p de 0,027. Portanto, devido à maior simplicidade operacional do FRE (maior durabilidade de lâmpadas, além de não ser necessário limpar as lâmpadas) aliado às médias de inativação pelo sistema FRE, que foi sempre mais elevado que o FRI, esta pesquisa sugere o emprego de FRE para desinfecção de esgoto.

#### 5.1.3.2 Dose de radiação UV

As eficiências da inativação de ovos de *A. suum* por fotorreatores foram comparadas com auxílio do teste estatístico *Kruskal-Wallis*. As doses acima de 17,4 mW.s.cm<sup>-2</sup> em ambos os fotorreatores apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação ao controle, confirmados pelo maior valor de p encontrado de 0,01. As maiores eficiências médias de inativação foram observadas na dose 34,8 e 52,2 mW.s.cm<sup>-2</sup> de radiação UV (entre 89% e 97%). O teste estatístico *Kruskal-Wallis* não encontrou diferenças significativas entre estas duas doses em questão, o que foi confirmado pelo menor valor de p de 0,15. De acordo com a Tabela 5.1, a quantidade de ovos com larvas recuperados nessas doses foi de aproximadamente 50, exceto pelo FRE na dose 52,2 mW.s.cm<sup>-2</sup>, apresentou uma média de recuperação de 10 ovos viáveis. A presente pesquisa evidencia que a aplicação de fotorreatores na desinfecção de efluentes domésticos é bastante efetiva, considerando o efeito no desenvolvimento do ovo de *A. suum*, mas não atende aos requisitos estipulados pelas diretrizes para utilização de esgoto tratado, menos de um ovo por litro.

A dose 34,8 mW.cm<sup>-2</sup> de radiação UV, no caso do FRE, apresentou uma recuperação de 643 ovos totais, e apenas 50 ovos foram viáveis após a irradiação (vide Tabela 5.1). Com base

neste dado, esta pesquisa sugere, por extrapolação matemática (proporção linear) que essa mesma dose para desinfecção com até 12 ovos de helmintos.

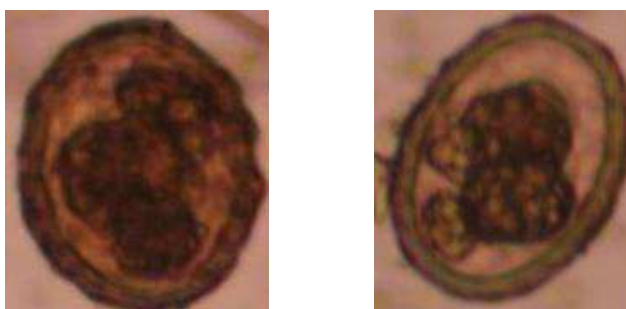
A dose  $52,2 \text{ mW.cm}^{-2}$  de radiação UV, também no caso do FRE, apresentou uma recuperação de 287 ovos totais, e apenas 10 ovos foram viáveis após a irradiação (vide Tabela 5.1). Com base neste dado, esta pesquisa sugere, por extrapolação (proporção linear), que essa mesma dose para desinfecção pode ser aplicada em efluente com até 30 ovos de helmintos.

## **5.2 Avaliação da inativação de ovos de A. lumbricoides na desinfecção de efluentes sanitários por raios gama**

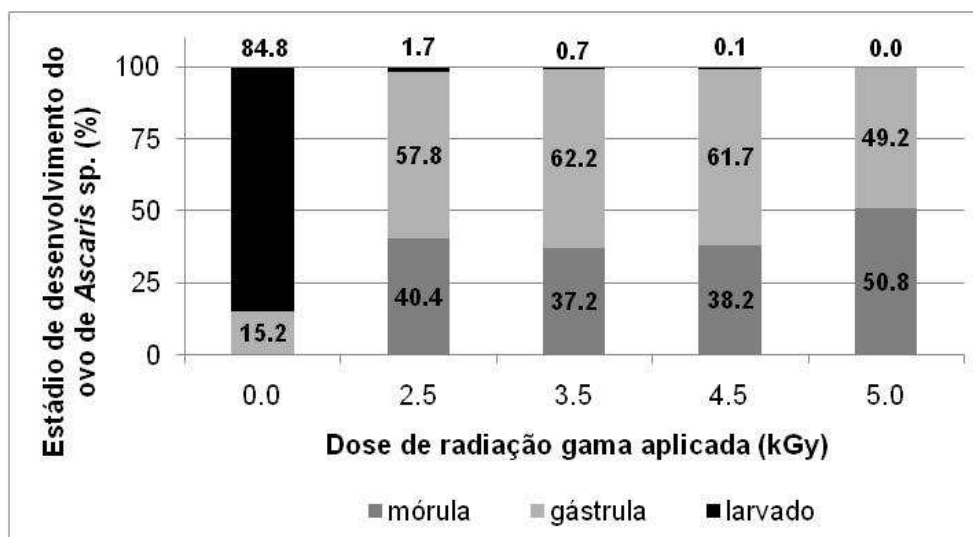
### **5.2.1 Efeitos da radiação gama no desenvolvimento do ovo de *A. lumbricoides***

Os resultados mostraram que a dose de radiação gama 5,0 kGy foi capaz de afetar o desenvolvimento dos ovos de *A. lumbricoides* imersos em 1 litro de esgoto doméstico, conforme ilustra a Figura 5.4 (A e B).

A Figura 5.5 apresenta as distribuições percentuais dos diferentes estádios de desenvolvimento dos ovos de *A. lumbricoides* irradiados com raios gama.



**Figura 5.4** – Ovos inviáveis (sem formação de larva) de *A. lumbricoides* irradiados em 1 litro de esgoto com a dose de 5,0 kGy de radiação gama



**Figura 5.5** – Distribuição dos estádios de desenvolvimento de ovos de *A. lumbricoides* nas doses de radiação gama utilizadas

Observou-se que cerca de 60% dos ovos de *A. lumbricoides* conseguiram se desenvolver até o estágio de gástrula com aplicação de dose de radiação gama de 2,5, 3,5, e 4,5 kGy. Isso permite deduzir que a radiação gama tem pouco efeito no desenvolvimento dos estádios iniciais dos ovos, justificando o desenvolvimento até o estágio de gástrula. Vale lembrar que a radiação gama tem um comprimento de onda curto, da ordem de  $10^{-4}$  nm, e é altamente penetrante na matéria. Assim, a radiação gama age no organismo patogênico provocando várias alterações químicas, tanto em seu interior, quanto em seu exterior (Spear, 1946; Borrelly, et al. 1998; Wang & Wang, 2007). No caso dos ovos de nematódeos, provavelmente o efeito da radiação ocorre direto nas biomoléculas em seu interior. Isso porque a sua casca é uma das estruturas biológicas mais resistentes que existe (WHO, 2004a, Wharton, 1980). A radiação teria, então, a capacidade de penetrar nas quatro membranas do ovo (membrana de lipídio, membrana de quitina, membrana vitelínica e membrana de proteínas e mucopolissacarídeos). Se a radiação interagisse com o DNA, poderia dismantelar a divisão celular ainda nos estádios iniciais do desenvolvimento. Se a radiação interagisse com outras organelas, como o ribossomo, isso poderia levar a deficiência na produção de enzimas que coordenariam o seguimento do desenvolvimento dos ovos. Desta forma, o efeito seria no estágio de desenvolvimento mais avançado (gástrula). Sugere-se que, neste estudo, tenha predominado a ação da radiação em biomoléculas e organelas que afetam a produção de proteínas, o que justificaria o desenvolvimento de aproximadamente 60% até o estágio de gástrula. Não foi encontrado nenhum dado na literatura que considerou a ação da radiação gama nas organelas. Neste sentido, mesmo em proporções variáveis, a radiação gama foi capaz de impedir a formação da larva infectante no interior do ovo, tornando-o inativo, sem importância epidemiológica.



### 5.2.2 Eficiência de inativação de ovos de *A. lumbricoides* por radiação gama

A Tabela 5.4 apresenta a quantidade média de ovos totais e viáveis encontrada nas amostras de esgoto irradiadas com raios gama. Como a quantidade de ovos no experimento não foi constante, as amostras foram comparadas a partir do cálculo da porcentagem de inativação que cada dose de radiação gama promoveu. Desta forma, os resultados da quantidade de ovos de *Ascaris lumbricoides* viáveis e totais permitiram calcular os percentuais de inativação dos ovos em cada amostra pela aplicação da equação 4.3.

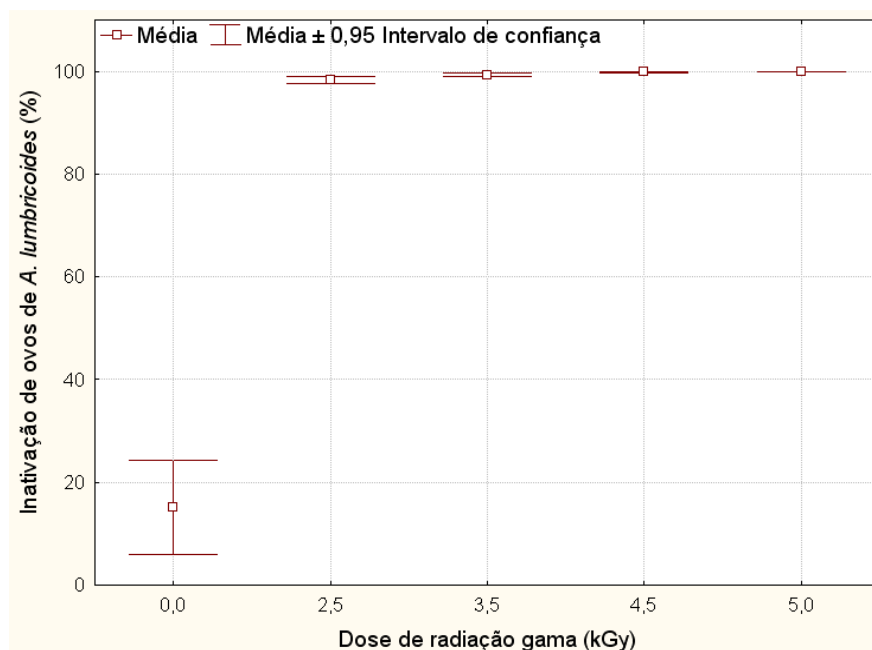
**Tabela 5.4** – Quantidade de ovos de *A. lumbricoides* irradiados com raios gama e eficiências na inativação

Dose (kGy)	Quantidade de ovo	Média	Mediana	Desvio padrão	Nº de amostras	Valor máximo	Valor mínimo
0,0	Nº ovo total	345,7	252,0	222,4	6	663	168
	Nº ovo viável	297,2	217,5	195,6	6	556	121
2,5	Nº ovo total	366,3	328,0	184,3	14	895	223
	Nº ovo viável	6,8	4,5	6,0	14	22	2
3,5	Nº ovo total	330,1	318,5	71,1	14	500	225
	Nº ovo viável	2,1	2,0	1,9	14	6	0,0
4,5	Nº ovo total	344,5	302,0	120,4	15	601	174
	Nº ovo viável	0,4	0,0	0,9	15	3	0,0
5,0	Nº ovo total	362,1	348,0	118,8	15	695	230
	Nº ovo viável	0,0	0,0	0,0	15	0	0

O cálculo foi aplicado individualmente para cada amostra. Os dados obtidos pelo cálculo da eficiência de inativação de ovos em cada dose testada neste estudo estão apresentados na Tabela 5.5 e na Figura 5.6.

**Tabela 5.5** – Estatística descritiva da porcentagem de inativação de ovos de *A. lumbricoides* expostos a diferentes doses de raios gama

Dados	Dose de radiação gama									
	0,0		2,5		3,5		4,5		5	
	%	log	%	Log	%	log	%	log	%	Log
Média	15,2	0,1	98,3	1,8	99,3	2,5	99,9	3,3	100,0	3,5
Mediana	14,0	0,1	98,5	1,8	99,4	2,3	100,0	3,4	100,0	3,5
Desvio padrão	8,8	0,1	1,1	0,5	0,6	0,9	0,2	0,9	0,0	0,9
Nº de amostras	6,0	6,0	14,0	14,0	14,0	14,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Valor máximo	28,0	0,1	99,4	2,2	100,0	3,7	100,0	3,8	100,0	3,8
Valor mínimo	5,0	0,0	95,8	1,4	98,2	1,7	99,5	2,3	100,0	3,4



**Figura 5.6** – Porcentagem de inativação de ovos de *A. lumbricoides* durante a desinfecção de esgoto doméstico expostos à diferentes doses de radiação gama

Foi observado que a dose de radiação gama de 2,5 kGy foi capaz de inativar 98,3% dos ovos de *A. lumbricoides* e a dose 5,0 kGy foi capaz de inativar 100% dos ovos, enquanto as amostras do controle apresentaram a porcentagem de viabilidade de 84,8%.

A Tabela 5.6 compara as principais diferenças entre as eficiências de inativação de ovos de *Ascaris* spp. por radiação gama na literatura e o presente trabalho. Os nossos resultados corroboram com os de Bastos et al. (2007) que sugeriram a dose de inativação para ovos de *A. lumbricoides* em esgoto doméstico de 2,5 a 5 kGy, sendo que a porcentagem de viabilidade de ovos de *A. lumbricoides* nos controles variou entre 92% a 98%. Os nossos resultados também se aproximam dos de Enigk et al. (1975), citado por Capizzi-Banas et al. (2001a), e Chmielewski et al. (1995) que obtiveram 100 % de inativação dos ovos nas doses 6 kGy e 4,8 kGy, respectivamente. Ambos irradiaram em lodo e não caracterizaram a amostra. Chmielewski et al. (1995) utilizaram ovos de helmintos presentes no próprio lodo. O estudo de Melmed e Comninos (1979) utilizou ovos de *Ascaris* sp. direto do lodo, com a porcentagem de viabilidade de 85%, e encontrou que a irradiação de um litro de amostra com a dose de radiação de 5 kGy inativou 99,5% dos ovos. Ainda foi verificado que a dose de radiação de 10 kGy inativou de 98,6 a 99,6% dos ovos presentes no lodo.

Por outro lado, os dados da presente pesquisa contrastam com os de Horak (1994) que mostrou a inibição do desenvolvimento dos ovos de *A. suum* irradiados em lodo de tratamento aeróbio na dose de 1,1 kGy. O lodo foi inoculado com uma concentração de 100 a 1000 ovos recuperados diretamente de útero de verme adulto. A porcentagem de viabilidade dos ovos

variou entre 24,6 e 54,6%. Shamma e al-Adawi (2002) mostraram que a dose de radiação gama de 1,5 kGy inativou 100% dos ovos de *A. lumbricoides* presentes também em lodo. Os referidos autores inocularam em amostras de lodo livre de *A. lumbricoides* aproximadamente 100 ovos recuperados previamente de lodo primário.

Uma hipótese para explicar as divergências apontadas na literatura, principalmente com os estudos que encontraram dose de inativação inferior ao deste trabalho, é a origem dos ovos utilizados como indicador de eficiência em cada pesquisa, bem como a sua porcentagem de viabilidade antes da irradiação. Outra hipótese é o tipo de amostra irradiada. Sabe-se que alguns constituintes como o oxigênio, potencialmente presente em amostras provenientes de lodo aeróbio, são capazes de promover um efeito sinérgico e potencializar a ação da radiação gama, o que pode justificar alguns estudos que apresentaram doses menores para inativar 100% dos ovos de *Ascaris* sp. O volume da amostra pode ser um outro fator que poderia influenciar nas referidas divergências.

Neste contexto, considerando a hipótese I citada no capítulo 3, referente à influência do volume irradiado na determinação da dose de radiação gama necessária para desinfecção, este estudo verificou dose de inativação superior às doses recomendadas em vários estudos (Capizzi et al. 1999; Shamma & Al-Adawi. 2002), provavelmente devido ao volume da amostras, que, por ser maior, permite uma maior interação da radiação gama com os constituintes do esgoto, o que pode reduzir a probabilidade da radiação gama afetar o organismo patogênico. Ainda assim, a fim de confirmar a hipótese, recomenda-se a realização de outro estudo conforme descrito no final do item 5.1.2.

**Tabela 5.6** – Comparação de dados da literatura sobre inativação de ovos de *Ascaris* spp por radiação gama

Característica do trabalho	Autores						
	Enigk et al (1975) citado por Capizzi-Banas et al. (2001a)	Chmielewski et al. (1995)	Capizzi et al. (1999)	Melmed & Comminos (1979)	Shamma & Al-Adawi (2002)	Bastos et al (2007)	Presente trabalho
Módulo de irradiação	Aceleradores de elétrons - bancada	Aceleradores de elétrons - bancada	Aceleradores de elétrons - bancada	<sup>60</sup> Co - bancada	<sup>60</sup> Co – bancada	<sup>60</sup> Co – bancada	<sup>60</sup> Co – bancada
Tipo de amostra	Lodo	Lodo	Água deionizada	Lodo ativado	Lodo	Esgoto doméstico em UASB	Esgoto doméstico em UASB/FBP
Volume irradiado da amostra	-	1 kg	Tubo plástico disposto horizontalmente com 8 mm de líquido.	1L	Tubo 15 cm	1 L	1 L
Dose (kGy)	4,8	6,0	1 kGy	5 kGy	1,5	5 kGy	5 kGy
Taxa de dose (Gy/h)	-	-	-	10.000	3.300	5.180 a 4.540	6.371 a 6.285
Indicador de eficiência	-	Helmintos do próprio lodo	<i>A. suum</i> recuperado de útero de verme adulto	Helmintos do próprio lodo	<i>Ascaris</i> sp. recuperado do lodo	<i>A. lumbricoides</i> de fezes humanas	<i>A. lumbricoides</i> de fezes humanas
Preparo do indicador	-	-	Dissecação de verme	-	Flutuações sucessivas em NaNO <sub>3</sub>	Centrifugação sucessiva com NaCL 0,85%	Centrifugação sucessiva com NaCL 0,85%
Desenvolvimento do controle (%)	-	90 ovos/kg de lodo seco (não verificou a viabilidade)	85,1	85	59,6	96%	84,8
Inativação/ remoção (%)	97%	0 ovos/kg de lodo seco	100	99,5	100	100	100

### **5.2.3 Doses de radiação gama recomendadas para desinfecção**

As porcentagens de inativação de ovos de *A. lumbricoides* obtidas em cada dose de radiação gama aplicada foram comparadas com o teste não paramétrico *Kruskal-Wallis*. O teste acusou diferença estatística significativa entre o controle e as doses acima de 2,5 kGy, confirmados pelo maior valor de p encontrado de 0,032. O teste também mostrou que não houve diferença significativa entre o controle e a dose 2,5 kGy; entre 2,5 kGy e 3,5; e entre as doses 3,5; 4,5 e 5,0 kGy, confirmados pelo menor valor de p de 0,372, embora apenas a dose 5 kGy tenha possibilitado 100% de inativação nos sete experimentos deste estudo.

A qualidade do efluente em termos de concentração de ovos de nematódeos está diretamente relacionada à endemicidade e ao saneamento da área, bem como à situação sócio-econômica da população (WHO, 2004a). Nesse contexto, considerando que na dose 3,5 kGy um efluente com 300 ovos/L apresentou a média de 2 ovos viáveis após a desinfecção, esta pesquisa sugere que em efluentes com concentração até 150 ovos por litro poder-se-ia empregar a dose de radiação gama de 3,5 kGy. Mas, no caso de efluentes que apresentem acima de 150 ovos/L a dose recomendada seria de 5,0 kGy de radiação gama para desinfecção de esgoto.

Esta etapa da pesquisa está aceita para publicação conforme apresentado no **Anexo B**.

## **5.3 Avaliação do uso de ovos de *Ascaris* spp. com e sem membrana mamilonada como modelo indicador de eficiência de um processo de desinfecção de efluentes sanitários**

### **5.3.1 Uso de ovos com ou sem membrana mamilonada como modelo indicador de eficiência de desinfecção de esgoto por radiação UV e gama**

Diferentes espécies de ovos de *Ascaris* spp. com e sem membrana mamilonada foram testados como modelo indicador de eficiência de desinfecção de esgoto sanitário por radiações UV e gama para inativação de ovos de helmintos. Vale ressaltar que nos testes envolvendo a radiação UV foi utilizado apenas a espécie *A. suum*, enquanto que nos testes envolvendo a radiação gama foram utilizados *A. lumbricoides* e *A. suum*.

#### **5.3.1.1 Comparação da inativação de ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada**

Foram realizadas comparações entre ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada após a desinfecção com radiação gama e após a desinfecção com radiação UV e com radiação gama. Os resultados obtidos sobre a comparação de ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada após a desinfecção de efluente sanitário por radiação UV estão na Tabela 5.7,

que mostra a quantidade média de ovos totais e viáveis, e a eficiência de inativação expressa em porcentagem e em unidades logarítmicas em todos os testes realizados.

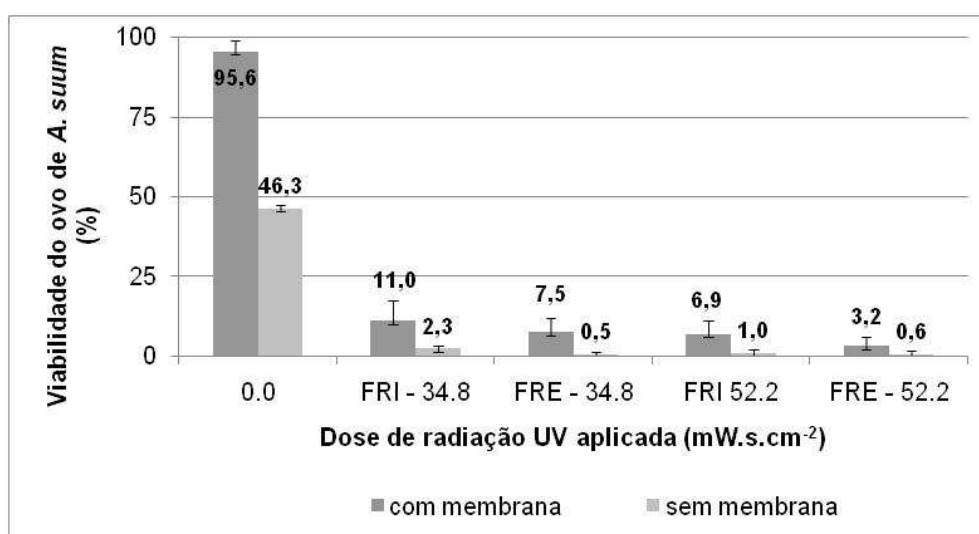
**Tabela 5.7** – Quantidade média de ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada irradiados em diferentes doses de raios UV e eficiências de inativação

Dose mW.s.cm <sup>-2</sup>	Tipo de fotorreator	Com membrana			Sem membrana		
		Nº de ovos totais	Nº de ovos viáveis	Inativação (%)	Nº de ovos totais	Nº de ovos viáveis	Inativação (%)
Controle	Não se aplica	461	442	4,16	101	54	52,24
34,8	FRI	429	37	89,03	119	2	97,66
	FRE	643	51	92,47	79	0	99,43
52,2	FRI	520	41	93,64	137	2	98,98
	FRE	246	8	97,68	65	1	99,20

A Tabela 5.8 e a Figura 5.7 mostram a comparação da viabilidade do ovo de *A. suum* com e sem membrana mamilonada em função da dose de radiação UV aplicada, considerando a estatística descritiva dos dados.

**Tabela 5.8** – Porcentagem média de viabilidade média de ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada irradiados com raios UV em diferentes doses

Dose mW.s.cm <sup>-2</sup>	Tipo de fotorreator	Tipo de ovo	Estatística descritiva (%)					
			Nº de amostras	Média	Mediana	Desvio padrão	Valor máximo	Valor mínimo
0,0		Com membrana	11	95,6	96,2	3,3	98,9	90,2
		Sem membrana	11	46,3	49,0	13,7	68,0	31,0
34,8	FRI	Com membrana	11	11,0	7,3	6,7	20,8	3,8
		Sem membrana	18	2,3	2,1	2,0	7,9	0,0
	FRE	Com membrana	10	7,5	5,8	4,5	14,7	2,4
		Sem membrana	18	0,6	0,2	0,8	2,4	0,0
52,2	FRI	Com membrana	11	6,9	4,2	4,1	12,3	2,2
		Sem membrana	18	1,0	0,2	1,5	5,3	0,0
	FRE	Com membrana	11	3,2	3,2	2,7	9,2	0,0
		Sem membrana	18	0,8	0,2	1,8	7,6	0,0



**Figura 5.7** – Comparação da inativação de ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada por radiação UV em diferentes doses

Os dados referentes às porcentagens de inativação dos ovos com e sem membrana mamilonada foram confrontados pelo teste estatístico não paramétrico para comparação de duas amostras independentes *Mann-Whitney*. Vale lembrar que a hipótese de igualdade é negada se for detectado valor de p menor que 0,05. A hipótese de igualdade foi negada em todas as doses de radiação UV investigadas, sendo confirmado pelo maior valor de p de 0,0004, e confirmando a diferença significativa entre a inativação de ovos com e sem membrana.

A Tabela 5.9 mostra a comparação dos ovos com e sem membrana mamilonada considerando a quantidade média de ovos totais e viáveis, além da eficiência de inativação expressa em porcentagem e em unidades logarítmicas em amostras de esgoto irradiadas com raios gama.

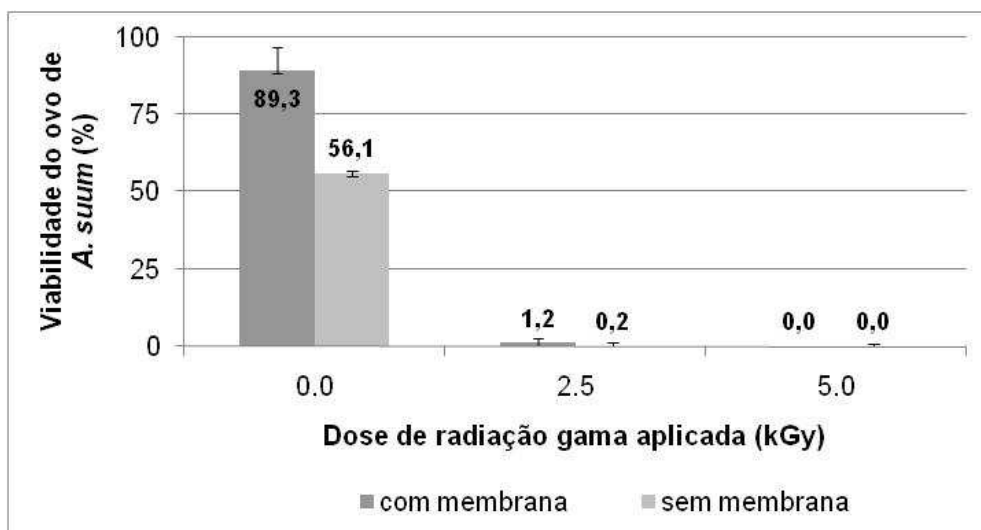
**Tabela 5.9** – Quantidade média de ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada irradiados com diferentes doses de raios gama e sua eficiência na inativação

Dose (kGy)	Com membrana			Sem membrana		
	Nº de ovos totais	Nº de ovos viáveis	Inativação (%)	Nº de ovos totais	Nº de ovos viáveis	Inativação (%)
0,0	581	542	10	2944	1444	43,9
2,5	935	4	98,8	1373	1,6	99,8
5,0	430	0	100	1630	0,0	100

A Tabela 5.10 e a Figura 5.8 comparam as porcentagens de inativação por raios gama de ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada.

**Tabela 5.10** – Porcentagem de viabilidade média de ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada irradiados com raios gama com diferentes doses

Dose (kGy)	Tipo de ovo	Estatística descritiva (%)					
		Nº de amostras	Média	Mediana	Desvio padrão	Valor máximo	Valor mínimo
0,0	Com membrana	8,0	89,3	90,0	7,4	97,1	75,0
	Sem membrana	3	56,1	52,3	16,0	73,7	42,3
2,5	Com membrana	7	1,2	1,1	1,3	4,0	0,1
	Sem membrana	13	0,2	0,2	0,2	0,6	0,0
5,0	Com membrana	14	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Sem membrana	8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0



**Figura 5.8** – Comparação da viabilidade de ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada irradiados com raios gama em diferentes doses

O teste estatístico *Mann-Whitney* foi utilizado para comparar a inativação dos ovos de *A. suum* com e sem membrana mamilonada e mostrou diferença estatística significativa entre o controle e a dose 2,5 kGy, confirmados pelos valores de p de 0,012 e 0,014, respectivamente. A dose 5,0 kGy de radiação gama inativou 100% dos ovos de *A. suum* com e sem membrana e, portanto, não apresentou diferença significativa entre as comparações da inativação.

#### 5.3.1.2 Comparação da inativação de ovos de *A. lumbricoides* com e sem membrana mamilonada

A comparação de ovos de *A. lumbricoides* com e sem membrana mamilonada após a desinfecção de efluente sanitário só foi testada para a radiação gama. A Figura 5.9 (A e B) mostra ovo de *A. lumbricoides* com e sem membrana mamilonada, respectivamente.



**Figura 5.9** – Ovos de *A. lumbricoides* com membrana mamilonada (A) e sem membrana mamilonada (B) irradiados na dose 3,5 kGy de radiação gama

A Tabela 5.11 apresenta a comparação dos ovos com e sem membrana mamilonada considerando a quantidade média de ovos totais e viáveis, bem como a eficiência de



inativação expressa em porcentagem e em unidades logarítmicas em todos os testes realizados.

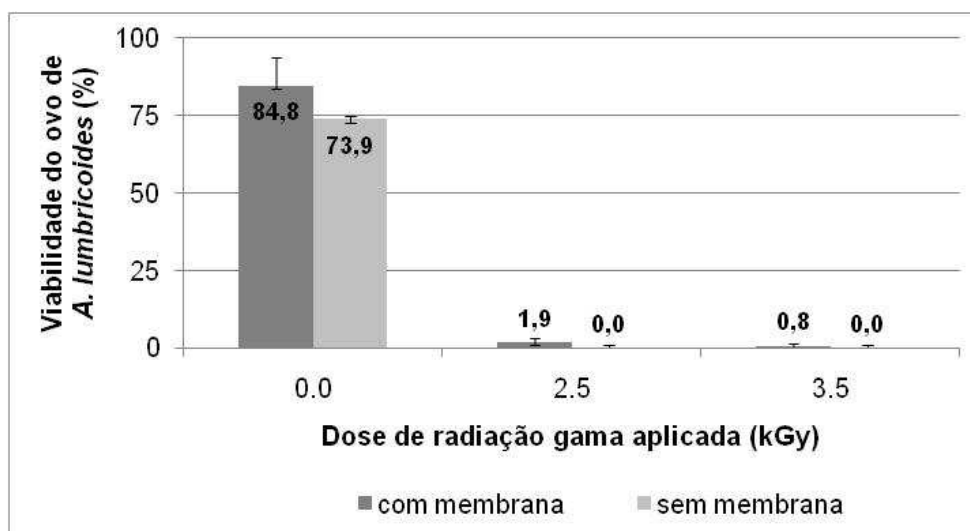
**Tabela 5.11** – Quantidade média de ovos de *A. lumbricoides* com e sem membrana mamilonada irradiados com diferentes doses de raios gama e sua eficiência na inativação

Dose (kGy)	Com membrana			Sem membrana		
	Nº ovos totais	Nº ovos viáveis	Inativação (%)	Nº ovos totais	Nº ovos viáveis	Inativação (%)
0,0	346	297	15,2	173,5	126	26,1
2,5	366	7	98,3	157	0	100
3,5	330	2	99,3	164	0	100

A Tabela 5.12 e a Figura 5.10 mostram a comparação da viabilidade do ovo de *A. lumbricoides* em função da dose de radiação gama aplicada, considerando a estatística descritiva dos dados.

**Tabela 5.12** – Porcentagem de viabilidade média de ovos de *A. lumbricoides* com e sem membrana mamilonada irradiados com diferentes doses de raios gama

Dose kGy	Tipo de ovo	Nº de amostras	Estatística descritiva (%)				
			Média	Mediana	Desvio padrão	Valor máximo	Valor mínimo
0,0	Com membrana	6,0	84,8	86,0	8,8	95,0	72,0
	Sem membrana	2,0	73,9	73,9	12,3	82,6	65,2
2,5	Com membrana	11,0	1,9	1,5	1,2	4,2	0,7
	Sem membrana	10,0	0,3	0,1	0,4	1,2	0,0
3,5	Com membrana	11,0	0,8	0,6	0,5	1,8	0,0
	Sem membrana	12,0	0,2	0,1	0,2	0,5	0,0



**Figura 5.10** – Comparação da viabilidade de ovos de *A. lumbricoides* com e sem membrana mamilonada irradiados com raios gama

A comparação da porcentagem de inativação dos ovos de *A. lumbricoides* com e sem membrana mamilonada mostrou que a hipótese de igualdade foi negada, sendo confirmado pelo valor de p de 0,000026 para comparação de ovos irradiados com a dose 2,5 kGy e pelo

valor de p de 0,000908 para comparação de ovos irradiados com a dose 3,5 kGy de radiação gama. Desta forma, os ovos de *A. lumbricoides* com membrana mamilonada se mostraram mais resistentes à desinfecção pela radiação gama quando comparado com ovos sem membrana mamilonada.

#### 5.3.1.3 Influência da membrana mamilonada na inativação de ovos de *Ascaris* spp.

Verificou-se que os ovos de ascarídeos sem membrana, em todas as situações apresentadas (ovo de espécies diferentes), foram significativamente mais susceptíveis à ação dos raios UV e gama quando comparados com ovos com membrana mamilonada. Isso pode ser atribuído à composição química da casca do ovo. Ela oferece um elevado grau de proteção para o desenvolvimento embrionário do parasito. Independente da ação da radiação foi observado que o desenvolvimento dos ovos provenientes de fezes foi superior aos dos ovos provenientes de útero. Isso, provavelmente, devido à maturidade do ovo. Os ovos encontrados nas fezes já passaram por todas as etapas de amadurecimento, enquanto que os ovos recuperados de útero ainda não. No caso de ovos recuperados de fezes, a média de desenvolvimento até L3 pode estar relacionada também com tipo de solução de lavagem, que para estes foi solução fisiológica salina 0,85% de NaCl. Foram feitas lavagens sucessivas dos ovos de *Ascaris* spp. a fim de retirar o excesso de matéria orgânica das fezes. Outros estudos, como por exemplo, o de Shamma e Al-Adawi (2002) utilizaram solução saturada de NaNO<sub>3</sub> para a recuperação de ovos de *Ascaris* sp. provenientes de lodo e o desenvolvimento dos ovos sem irradiação foi de apenas 59,6%. Os resultados obtidos no presente estudo favorecem a hipótese que a membrana mamilonada tem alguma função protetora contra radiação. Alguns estudos estão de acordo com os achados desta pesquisa, conforme mostra a Tabela 5.13.

Vale lembrar que a casca dos ovos de *Ascaris* spp. é constituída basicamente de lipídeos, quitina e proteínas (Wharton, 1980; Quilès et al., 2006). Neste contexto, o alvo principal da desinfecção por luz ultravioleta é o material genético. A energia de um fóton absorvido deve ser maior ou igual à ligação mais fraca de uma molécula. Os efeitos biológicos resultantes da radiação UV são iniciados pela absorção fotoquímica por moléculas de importância biológica. A mais importante dessas biomoléculas é o DNA e em menor extensão as proteínas e outras moléculas. Semelhante ao DNA, a proteína absorve mais intensamente as faixas de UV de 280 nm. As absorbâncias de proteínas são mais baixas que a de ácidos nucleicos em solução de igual concentração. As proteínas absorvem UV principalmente pelos aminoácidos que contém anel aromático (Diffey, 1991; Masschelein, 2002; Tarrán, 2002; Bolton, 2006). Como a radiação UV pode interagir com a proteína presente na membrana, sugere-se então que o

conteúdo protéico da casca do ovo absorva parte da radiação UV que poderia afetar o DNA, e desta forma ocorre a proteção do ácido nucléico que está no interior do ovo.

**Tabela 5.13** – Comparação de dados da literatura sobre inativação de ovos de *Ascaris* spp com e sem membrana mamilonada por radiação UV ou radiação gama

Característica do trabalho	Autores					
	Brownell & Nelson (2006)		Capizzi <i>et al.</i> (1999)		Presente trabalho	
	Ovo com membrana	Ovo sem membrana	Ovo com membrana	Ovo sem membrana	Ovo com membrana	Ovo sem membrana
Módulo de irradiação	UV – bancada		Acelerador de elétrons – bancada		Fotorreatores em escala de demonstração e fonte <sup>60</sup> Co – bancada	
Dose	50 mW.s.cm <sup>-2</sup>		0,2 kGy		52,2 mW.s.cm <sup>-2</sup>	
Volume irradiado	6 mL		Tubos horizontais com líquido (8 mm)		20 L fotorreatores 1 L radiação gama	
Preparo do indicador	Obtenção de ovos a partir de fezes suínas – lavagem em PBS	Obtenção de ovos a partir de fezes suínas e tratamento com OCl <sup>-</sup> para oxidação da membrana	Obtenção de ovos a partir de útero de verme adulto de <i>A. suum</i>	Obtenção de ovos a partir de útero de verme adulto de <i>A. suum</i> e tratamento com OCl <sup>-</sup> para oxidação da membrana	Obtenção de ovos por sucessivas lavagens de fezes suínas ou humanas	Obtenção de ovos pela dissecação de útero de verme adulto e maduro
Desenvolvimento do controle (%)	95,14	97,15	85,1%	88,1	95,6	46,3
Inativação (%)	68,4	98,3	46	56	FRI – 93,6 FRE – 97,7	FRI – 98,5 FRE – 99,2

Vale salientar que em cascas de ovos de nematódeos pode ocorrer a estabilização pelo processo tanino-quinona. Nestas espécies a casca do ovo é incolor e solúvel em ácido quando dissecados do útero de verme adulto e maduro, mas quando recuperado de fezes a casca dos ovos se torna amarronzada e insolúvel a muitos reagentes, o que pode indicar a presença de quinona. De acordo com Diffey (1991) a quinona é uma biomolécula que absorve radiação UV e, portanto, presente na casca dos ovos recuperados de fezes pode contribuir para o processo de minimização de absorção da radiação UV pelo DNA no interior do ovo, protegendo-o.

A radiação gama, ao atravessar um material, transfere sua energia para as partículas com as quais interage. Caso a energia transferida seja maior que a energia de ligação do elétron com o restante da estrutura atômica, este é ejetado de sua órbita, promovendo assim a ionização da matéria. As biomoléculas são constituídas basicamente de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio e estão sujeitas à ação da radiação ionizante levando a transformação de biomoléculas com consequências na função biológica realizada pela molécula-alvo (Spear, 1946; Tauhata *et al.*, 2003; Nouailhetas, 2003). Esta radiação é mais penetrante que a radiação

UV e tem o potencial de superar a energia de ligação de várias biomoléculas, alterando a sua composição. Os organismos vivos apresentam água em seu interior e podem estar sujeitos também à ação da radiólise da água, que podem afetar biomoléculas, como as proteínas, os lipídeos, os carboidratos, entre outros. No caso do carboidrato, pode-se citar a quitina, um dos constituintes da casca do ovo de *Ascaris* spp.. Todas as biomoléculas têm os potenciais de interagir e frear a penetração da radiação gama, o que promoveria assim a proteção do DNA no interior do ovo e também justificaria a maior susceptibilidade dos ovos sem membrana à radiação gama. Desta forma, os achados desta pesquisa confirmam a hipótese II do capítulo 3 em que os ovos com membrana mamilonada se mostraram mais resistentes às radiações que os ovos sem membrana mamilonada. Nesta situação, não se recomenda a utilização de ovos de *Ascaris* spp. sem membrana mamilonada como indicador de qualidade parasitológica de um efluente desinfetado por radiação UV e por radiação gama.

### 5.3.2 Uso de ovos de diferentes espécies do gênero *Ascaris* como modelo indicador de eficiência de desinfecção de esgoto por radiação UV e gama

A Tabela 5.14 apresenta os resultados obtidos para a comparação de ovos de *A. lumbricoides* e *A. suum* após a desinfecção de efluente sanitário por radiação gama, incluindo a quantidade média de ovos totais e viáveis, bem como a eficiência de inativação expressa em porcentagem e em unidades logarítmicas em todos os testes realizados.

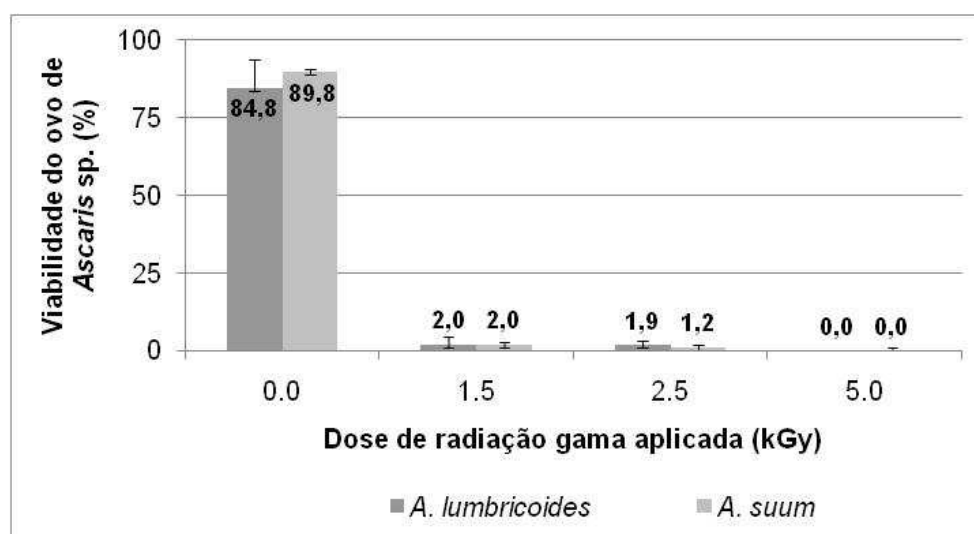
**Tabela 5.14** – Quantidade média de ovos de *A. lumbricoides* e *A. suum* irradiados com diferentes doses de raios gama e sua eficiência na inativação

Dose (kGY)	<i>A. lumbricóides</i>			<i>A. suum</i>		
	Nº de ovos totais	Nº de ovos viáveis	Inativação (%)	Nº de ovos totais	Nº de ovos viáveis	Inativação (%)
0,0	346	297	15,2	581	541,9	10
1,5	478	11	98,0	802,5	13,1	98,0
2,5	366	7	98,3	935,0	3,7	98,8
5,0	362	0	100	430,2	0	100

A Tabela 5.15 e a Figura 5.11 mostram a comparação da viabilidade do ovo de *A. lumbricoides* e *A. suum* em função de diferentes doses de radiação gama aplicada, considerando a estatística descritiva dos dados.

**Tabela 5.15** – Porcentagem de viabilidade média de ovos de *A. lumbricoides* com e sem membrana mamilonada irradiados com raios gama

Dose kGy	Tipo de ovo	Estatística descritiva (%)					
		Média	Mediana	Desvio padrão	Nº de amostras	Valor máximo	Valor mínimo
0,0	<i>A. lumbricoides</i>	84,8	86,0	8,8	6	95,0	72,0
	<i>A. suum</i>	89,8	90,0	7,4	8	97,1	75,0
1,5	<i>A. lumbricoides</i>	2,0	0,9	2,7	4	6,0	0,3
	<i>A. suum</i>	2,0	1,1	2,4	14	8,3	0,0
2,5	<i>A. lumbricoides</i>	1,9	1,5	1,2	11	4,2	0,7
	<i>A. suum</i>	1,2	1,1	1,3	7	4,0	0,1
5,0	<i>A. lumbricoides</i>	0,0	0,0	0,0	11	0,0	0,0
	<i>A. suum</i>	0,0	0,0	0,0	14	0,0	0,0



**Figura 5.11** – Comparação da viabilidade de ovos de *A. lumbricoides* e *A. suum* com membrana mamilonada irradiados com raios gama

O teste estatístico *Mann-Whitney* para comparações de duas amostras independentes não mostrou diferença estatística entre a viabilidade dos ovos de *A. suum* e *A. lumbricoides*, confirmado pelo menor valor de p de 0,23.

Estas duas espécies estão evolutivamente relacionadas (Anderson & Jaenike, 1997); o ciclo biológico do *Ascaris* em humano e suíno ocorre de maneira similar (Freitas, 1976; Rey, 2008) e o modelo suíno tem sido extensivamente utilizado em pesquisas na área da bioquímica devido às semelhanças anatômicas, fisiológicas, imunológicas, metabólicas e nutricionais com humanos (Tumbleson & Schook, 1995).

Ainda que as espécies *A. lumbricoides* e *A. suum* sejam consideradas morfologicamente indistinguíveis (Freitas, 1976; Rey, 2008; Arizono *et al.*, 2010), alguns estudos tem demonstrado por meio de marcadores genéticos que *Ascaris* em humanos e suínos compreendem populações isoladas reprodutivamente, ou seja, espécies diferentes (Peng *et al.*,

1998; Anderson & Jaenike, 1997 ). O estudo de Inatomi et al. (1999) mostrou encefalopatia causada por larva migrans visceral (LMV) em humano devido à *A. suum*. Mesmo existindo diferenças entre as espécies do gênero *Ascaris*, os achados desta pesquisa permitem inferir que os ovos de *A. suum* podem ser empregados como modelo, o que confirma a hipótese III do capítulo 3 que defendeu que as porcentagens de inativação das duas espécies de ovos de *Ascaris* spp são similares entre si, devido às suas semelhanças morfológicas.

#### **5.4 Avaliação dos efeitos da radiação UV e gama na viabilidade (in vivo) de ovos de Ascaris suum após a desinfecção de efluentes domésticos**

##### **5.4.1 Avaliação da viabilidade *in vivo* em modelo murino de ovos de *A. suum* após a desinfecção de esgoto por radiação UV e gama**

Os resultados mostraram que a desinfecção de efluente sanitário, previamente tratado em sistema UASB/FBP, com a utilização de fotorreatores de lâmpadas imersas para o caso da radiação UV e em testes de bancada para a radiação gama, promoveu uma possível minimização de riscos da exposição de hospedeiros (modelo murino) aos ovos de *A. suum* irradiados.

Foram testadas as doses de radiação UV 34,8 e 52,2 mW.s.cm<sup>-2</sup> e as doses de radiação gama 1,5 e 2,5 kGy. A Tabela 5.16 recapitula os resultados acerca da porcentagem de inativação dos ovos de *A. suum* em cada dose testada, considerando apenas a observação da formação de larva no interior do ovo, após 28 dias de incubação. Inicialmente, seria inoculada uma amostra de ovos irradiados em cada camundongo, a recontagem foi muito baixa. Para aumentar a concentração de ovos a ser inoculada nos camundongos, todas as amostras de cada dose (a quantidade total para este ensaio foi de cinco amostras) foram unificadas e concentradas por centrifugação, e o volume final reduzido para 2 mL. Na sequência, os ovos foram novamente quantificados. A partir dessa quantificação, que considerou apenas ovos com larva em seu interior, obteve-se a quantidade aproximada de ovos inoculados por camundongo. Em todo caso, vale mencionar que para cada teste realizado *in vivo* todos os efluentes analisados foram contaminados artificialmente com ovos de *A. suum* a fim de simular condições extremas da qualidade parasitológica do efluente. No caso da radiação UV, em que os testes aconteceram em escala de demonstração, o tanque de alimentação de 3.000 litros foi inoculado com 4 milhões de ovos e apresentou uma concentração média de 1.300 ovos por litro. E, no caso da radiação gama, em que os testes aconteceram em escala de bancada, foram inoculados artificialmente com 5.000 ovos direto em cada frasco de 1 L.

**Tabela 5.16** – Dados sobre a viabilidade de ovos de *A.suum* irradiados com radiação UV e gama

<b>Tipo de radiação</b>	<b>Dose</b>	<b>Nº de ovos totais</b>	<b>Nº de ovos viáveis</b>	<b>% viabilidade</b>
Raios UV (mW.s.cm <sup>-2</sup> )	34,8	417	36	11
	52,2	519	40	6,9
Raios gama (kGy)	1,5	802	13	1,8
	2,5	935	4	1,2

As Tabelas 5.17 e 5.18 mostram respectivamente as quantidades de larvas recuperadas nos pulmões e coração de cada camundongo infectado com ovos de *A. suum* que foram expostos às respectivas doses de radiação.

As taxas de recuperação de larvas de *A. suum* inoculadas em cada camundongo foram muito baixas. Foi detectada a presença de larva em 2 camundongos do grupo de 5 infectados com apenas 53 ovos irradiados com 34,8 mW.s.cm<sup>-2</sup> de radiação UV (vide Tabela 5.17). Este achado, mesmo que pequeno, permite deduzir que os ovos irradiados nesta dose têm o potencial de prosseguir o ciclo biológico no hospedeiro e, portanto, com importância epidemiológica.

O único estudo encontrado sobre a infectividade do ovo de *Ascaris* spp. em hospedeiro após irradiação UV foi realizado por Tromba (1978). Nesta situação o autor irradia com raios UV ovos de *A. suum* já infectantes (com larva em seu interior), em suspensão de água com 5 mm de profundidade e verificou que doses de 24 a 96 mW.s.cm<sup>-2</sup> foram capazes de evitar o desenvolvimento de L3 para L4 em 0,02% de ovos de *A.suum*, ingeridos por suínos. Não foi encontrado nenhum estudo que envolvesse a infecção de camundongos com ovos de *Ascaris* sp. irradiados com UV.

**Tabela 5.17** – Recuperação de larvas de órgãos de camundongos infectados com ovos de *A. suum* irradiados com UV.

Grupo Dose m.W.cm <sup>-2</sup>	Inóculo Ovo/camundongo ≈	Quantidade de larva recuperada										Média
		camundongo 1		camundongo 2		camundongo 3		camundongo 4		camundongo 5		
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Controle	563	7	1,2	4	0,7	2	0,4	1	0,2	3	0,5	0,6
Sentinela	0	-	-	0	-	0	-	0	-	0	-	-
34,8	53	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,0	1	0,0	1,1
52,2	38	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	2,6	0	2,6	0,0

**Tabela 5.18** – Recuperação de larvas de órgãos de camundongos infectados com ovos de *A. suum* irradiados com gama.

Grupo Dose m.W.cm <sup>-2</sup>	Inóculo Ovo/camundongo ≈	Quantidade de larva recuperada										Média
		camundongo 1		camundongo 2		camundongo 3		camundongo 4		camundongo 5		
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Controle	1.673	23	1,4	21	1,3	2	0,1	8	0,5	21	1,3	0,9
Sentinela	0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	-
1,5	143	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,0
2,5	15	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,0



Neste contexto, este estudo não recomenda o emprego da dose  $34,8 \text{ mW.s.cm}^{-2}$  de radiação UV para desinfecção de efluentes com estas concentrações de SST. O mesmo não pode ser hipotetizado para a dose  $52,2 \text{ mW.s.cm}^{-2}$  de radiação UV e pelas doses 1,5 e 2,5 kGy de radiação gama, pois, conforme as Tabelas 5.17 e 5.18, não foi recuperada nenhuma larva dos órgãos de camundongos infectados com ovos de *A. suum* irradiados com estas doses. Este fato pode ser atribuído às ações das radiações UV e gama, nas referidas doses aplicadas, no metabolismo de *A. suum*, de forma que mesmo com a formação da larva no interior do ovo, esta seria inócua e incapaz de prosseguir o seu ciclo biológico dentro do hospedeiro e com isso não haveria uma importância epidemiológica deste ovo. Isso estaria de acordo com a hipótese IV postulada no capítulo 3, de que os ovos *Ascaris* sp. irradiados por UV e gama durante a desinfecção de esgoto, e incubados e aerados por 28 dias, seriam incapazes de infectar o hospedeiro.

As baixas quantidades de ovos inoculados nos camundongos, além da baixa taxa de recuperação da larva pelo método empregado em modelo murino, favorecem um eventual resultado falso negativo. Nesta situação as larvas poderiam até ter a capacidade de prosseguir o ciclo biológico e poderiam, então, impactar na saúde pública, mesmo sem ser detectadas pelos referidos testes *in vivo*, principalmente porque o único estudo encontrado sobre infectividade do ovo de *Ascaris* spp. em modelo murino, após irradiação gama, foi realizado por Melmed e Comninos (1979) e eles recuperando larva em camundongo infectados com ovos de *A. lumbricoides* irradiados a 4 kGy em lodo.

Porém, deve-se considerar que este experimento contaminou artificialmente as amostras analisadas. As concentrações das amostras irradiadas com UV (FRI) foram de até 500 ovos de *A. suum* por litro, e as concentrações das amostras irradiadas com radiação gama foram de até 900 ovos de *A. suum*; pode-se inferir que nestas situações as irradiações com UV e gama minimizariam os riscos de desenvolvimento do ciclo biológico em hospedeiro nas doses testadas.

Com isso, pode-se sugerir que a dose  $52,2 \text{ mW.s.cm}^{-2}$  de radiação UV pode ser empregada para desinfecção de efluentes com até 500 ovos /L; e que as doses 1,5 e 2,5 kGy de radiação gama pode ser empregada para desinfecção de efluentes com até 900 ovos /L, de forma a garantir que os ovos não representem riscos para a saúde pública.

#### 5.4.2 Avaliação da viabilidade *in vivo* em modelo suíno de ovos de *A. suum* após a desinfecção de esgoto por radiação UV e gama

O experimento que envolveu a investigação do potencial infectante em hospedeiro (modelo suíno) do ovo que formou larva após o tratamento do efluente sanitário em sistema UASB/FBP e desinfetado por radiação UV ou por radiação gama não apresentou resultados consistentes. Os resultados dos exames de fezes em ovos por grama (OPG) dos animais após o mínimo de 1 mês de infecção estão apresentados na Tabela 5.19.

**Tabela 5.19** – Resultados de exame de fezes em suínos infectados com ovos de *A. suum* irradiados com radiação UV e com radiação gama após o mínimo de um mês de infecção

Grupo	Identificação do suíno (n°)	Resultado do exame de fezes (OPG)
Controle	242	Negativo
	260	Negativo
	269	Negativo
	281	Negativo
Sentinela	241	Positivo 26.700
	262	Negativo
	267	Positivo 300
	279	Negativo
TDH 120s	219	Negativo
	234	Negativo
	254	Negativo
	258	Positivo 200
TDH 180s	240	Negativo
	253	Negativo
	255	Positivo 300
	274	Negativo
1,5 kGy	243	Negativo
	247	Negativo
	256	Negativo
	265	Positivo (+++)
2,5 kGy	280	Morreu
	220	Positivo 30
	226	Positivo 118
	261	Positivo 131
	268	Positivo 189
	276	Positivo 1

A Tabela 5.20 mostra os resultados do único grupo experimental que completou o ciclo e foi sacrificado para realização da investigação da presença verme adulto.

**Tabela 5.20** – Recuperação de vermes em intestino de suínos infectados com ovos embrionados de *A. suum* irradiados com a dose 1,5 kGy de radiação gama.

Quantidade de vermes recuperados				
Suíno 243	Suíno 247	Suíno 256	Suíno 265	Suíno 280
Negativo	negativo	negativo	positivo	Óbito

Os resultados encontrados na investigação no grupo de suínos infectados com a dose de radiação gama 1,5 kGy que concluiu o período pré-patente confirmaram os resultados de

exame de fezes apresentado na Tabela 5.19 e ambas as Tabelas evidenciaram a contaminação externa por ovo de *Ascaris*.

Os suínos do grupo controle positivo foram infectados um mês antes do exame de fezes e como era esperado apresentou todos os resultados de exame de fezes negativos. Seria esperado que o grupo sentinela também apresentasse resultado negativo, mas isso não aconteceu com 2 dos 4 suínos que constituíram o grupo, o que mostrou a contaminação do experimento. Os resultados foram incoerentes, considerando que dentro do grupo dos porcos infectados com ovos irradiados de *A. suum* com a dose de radiação gama 1,5 kGy um único suíno apresentou infecção, enquanto que os outros animais do grupo permaneceram negativos.

Acredita-se que a desinfecção das baias à fogo não foi suficiente para eliminar todos os ovos de *A. suum* que poderiam estar ali presentes, e como os animais foram criados em regime de semi-confinamento, houve então a possibilidade da contaminação oro-fecal dos animais. A recomendação é que este tipo de experimento deve acontecer em regime de confinamento, com os animais totalmente isolados, de forma que o animal fique impossibilitado de entrar em contato com as fezes e com outros porcos, conforme mostra a Figura 5.12.



**Figura 5.12** – Exemplo de suinocultura intensiva com isolamento de cada animal  
Fonte: <http://www.agron.com.br/v/30634-suinocultura-precisa-de-legislacao-especifica>

## 6 CONCLUSÕES

### 6.1 Efeitos da radiação UV no desenvolvimento dos ovos de A. suum

- O aumento do volume de amostra de esgoto tratado, irradiada por raios UV, pode ter elevado a dose de radiação UV necessária para inativar a mesma proporção de ovos de ascarídeos (corrobora com a hipótese I do capítulo 3).
- A aplicação da radiação ultravioleta para a desinfecção de efluente doméstico tratado em sistemas compactos UASB/FBP é viável. A dose de radiação UV  $52,2 \text{ mW.s.cm}^{-2}$  inibe mais de 90% do desenvolvimento do ovo de *A. suum* até o estágio infectante (L3), enquanto 92% dos ovos não irradiados (controle) desenvolvem a forma infectante. Há uma melhora significativa na qualidade parasitológica do efluente, embora esta não seja suficiente para enquadrar a qualidade do efluente nos limites recomendados pelas diretrizes da Organização Mundial da Saúde para uso de esgoto tratado (menos de 1 ovo por litro) (WHO, 2006a);
- A radiação ultravioleta é capaz de interferir no desenvolvimento dos ovos de *A. suum*, principalmente no estágio de célula única, provavelmente pela ação da radiação no DNA com consequências em todo o maquinário metabólico, tornando-o inativo e sem importância epidemiológica;
- O fotorreator de lâmpadas emersas (FRE) apresenta, sistematicamente, eficiência de inativação de ovos de *A. suum* mais elevada que o fotorreator de lâmpadas imersas (FRI), o que constitui, de certa forma, um resultado inesperado. Esta é uma contribuição importante da presente pesquisa, dada a operação e manutenção mais simplificada no FRE;
- A dose de radiação UV de  $52,2 \text{ mW.s.cm}^{-2}$  apresenta eficiência média de inativação de ovos de *A. suum* para cada sistema, UASB/FBP/FRI e UASB/FBP/FRE, de 93,4 e 97,1%, respectivamente. Eficiências de remoção desta ordem de grandeza são, na maioria dos casos, suficientes para garantir que a qualidade parasitológica de efluentes após desinfecção, no caso de efluentes com até 30 ovos/L. Vale salientar que, para as condições experimentais do presente estudo, a quantidade média de ovos viáveis de *A. suum* por litro de efluente tratado não atendeu aos requisitos exigidos para utilização de esgoto tratado (WHO, 2006a). Ainda assim, este estudo recomenda o emprego da referida dose para desinfecção de efluentes sanitários com baixa concentração de ovos de helmintos, nos casos de não utilização de efluente para irrigação;

- A aplicação da radiação UV para desinfecção de esgoto doméstico é promissora e pode ser aprimorada a fim de possibilitar o enquadramento do efluente tratado aos limites recomendados pelas diretrizes da Organização Mundial da Saúde para uso de esgoto tratado (WHO, 2006a).

## **6.2 Avaliação da inativação de ovos de A. lumbricoides na desinfecção de efluentes sanitários por raios gama**

- O aumento do volume de amostra de esgoto tratado, irradiada por raios gama, pode ter elevado a dose de radiação necessária para inativar ovos de ascarídeos (corroborando com a hipótese I do capítulo 3).
- A aplicação da radiação gama para a desinfecção de efluente doméstico tratado em sistemas compactos UASB/FBP é efetiva e promissora. A dose de radiação gama de 5 kGy inibe totalmente o desenvolvimento do ovo de *A. lumbricoides*, enquanto 85% dos ovos não irradiados (controle) desenvolvem a forma infectante e enquadram a qualidade parasitológica do efluente aos limites recomendados pelas diretrizes da Organização Mundial da Saúde para uso de esgoto tratado (WHO, 2006a), que no caso deste estudo considera menos de um ovo viável por litro;
- A radiação gama permite o desenvolvimento dos ovos até estádios mais avançados, estes não se tornam viáveis e, portanto, não apresentam importância epidemiológica;
- A dose de radiação gama de 3,5 kGy pode ser empregada para desinfecção de efluentes sanitários com até 150 ovos/litro, enquanto a dose de radiação gama de 5 kGy é indicada para desinfecção de efluentes com a concentração entre 150 e 600 ovos/litro;
- Embora ainda cara, acredita-se que a tecnologia do uso de radiação gama para desinfecção de efluentes sanitários será potencialmente aplicável em um futuro próximo, especialmente em situações de escassez hídrica;

## **6.3 Avaliação do uso de ovos de Ascaris spp. com e sem membrana mamilonada como modelo indicador de eficiência de um processo de desinfecção de efluentes sanitários**

- Os ovos de *Ascaris* spp. com membrana mamilonada são mais resistentes às radiações que os ovos sem esta membrana. Os ovos de *Ascaris* spp., recuperados de útero de verme adulto, são mais susceptíveis à ação das radiações UV e gama que os ovos recuperados a partir de fezes, provavelmente devido à presença de membrana mamilonada com proteínas, taninos e outras biomoléculas capazes de interagir com as radiações. Isso frearia a

penetração das radiações no interior dos ovos e, desta forma, protegeria o seu conteúdo. Portanto, ovos sem membrana mamilonada não devem ser utilizados como indicador de qualidade parasitológica de um efluente (corroborar com a hipótese II do capítulo 3).

- As diferenças apresentadas entre as porcentagens de inativação de ovos de ascarídeos na desinfecção de efluente doméstico por radiação gama não são significativas, indicando que ovos de *A. lumbricoides* ou *A. suum* podem ser empregados como indicadores de inativação de ovos de helmintos na avaliação de sistemas de tratamento de esgoto doméstico (corroborar com a hipótese III do capítulo 3).

#### **6.4 Avaliação dos efeitos da radiação UV e gama na viabilidade (*in vivo*) de ovos de A. suum após a desinfecção de efluentes domésticos**

- A desinfecção de efluente sanitário previamente tratado em sistema UASB/FBP, com a utilização de fotorreatores de lâmpadas imersas para o caso da radiação UV e em testes de bancada para a radiação gama, promove uma possível minimização de riscos da exposição de hospedeiros (modelo murino) (corroborar com a hipótese IV do capítulo 3);
- A dose de radiação UV 34,8 mW.s.cm<sup>-2</sup> proveniente de fotorreator de lâmpadas imersas permite o desenvolvimento do ciclo biológico no modelo murino e, portanto, não é recomendada para desinfecção de efluentes com concentrações de sólidos suspensos totais entre 42 e 63 mg/L;
- A dose de radiação UV 52,2 mW.s.cm<sup>-2</sup> e as doses 1,5 e 2,5 kGy de radiação gama podem ser empregadas em efluentes que apresentar até 30 ovos/L, de modo a garantir que os ovos não representem risco para a infecção de modelo murino;
- Testes de viabilidade de ovo de ascarídeos *in vivo* realizados em modelo suíno devem acontecer em regime de confinamento total, onde o suíno não tenha oportunidade de favorecer a contaminação oro-fecal.

## 7 RECOMENDAÇÕES

O desenvolvimento desta pesquisa encontrou algumas dificuldades para a sua concretização. Com base nas limitações deste estudo, estarão listadas a seguir algumas sugestões para pesquisas futuras:

- Investigação da influência do meio irradiado na dose de irradiação UV ou gama necessário para desinfecção, considerando-se vários tipos de meio (água e efluente doméstico bruto e tratado em diferentes sistemas);
- Investigação da influência do volume de amostra irradiado na dose de irradiação UV ou gama necessário para promover a desinfecção;
- Investigação entre diferentes formas de recuperações dos ovos de *Ascaris* spp do lodo ou fezes para preparo de inóculo, principalmente em relação a utilização de reagentes como sulfato de zinco e nitrato de sódio;
- Estudo específico sobre o licenciamento ambiental da implantação de um módulo de irradiação gama em uma estação de tratamento de esgoto;
- Estudo detalhado sobre a viabilidade econômica do processo de desinfecção de esgoto por radiação gama;
- Estudo do efeito da irradiação de esgoto na genética de população dos microrganismos e suas possíveis influências no ambiente;
- Investigação da potencialização dos efeitos da radiação UV em ovos de *Ascaris* spp. pelo emprego de fotocatalisadores, como o dióxido de titânio.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acher A; Fischer E; Turnheim R; Manor Y 1997. Ecologically friendly wastewater disinfection techniques. *Water Research* 31: 1398-1404.
- Al-Adawi MA; Albarodi H; Hammoudeh A; Shamma M; Sharabi, N 2006. Accelerated larvae development of *Ascaris lumbricoides* eggs with ultraviolet radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 75: 115–119.
- Alves CVP 2003. *Ampliação de escala e avaliação de um fotorreator simplificado de radiação ultravioleta na desinfecção de esgotos tratados*. 124 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) Universidade Federal de Minas Gerais.
- Anderson TJC; Jaenike J 1997. Host specificity, evolutionary relationships and macrogeographic differentiation among *Ascaris* populations from humans and pigs *Parasitology* 115: 325-342.
- Andreoli CV; Cherubini C; Ferreira AC 2002. Inviabilização de Ovos de helmintos em Lodo de Esgoto Anaeróbico através da Solarização. In: VI Seminário Nacional de Resíduos Sólidos Urbanos Especiais, Gramado.
- Arizono N; Yoshimura Y; Tohzaca N; Yamada M; Tegoshi T; Onishi K; Uchikawa R 2010. Ascariasis in Japan: Is pid-derived *Ascaris* infecting humans? *Jpn. J. Infect. Dis.* 63:447-448.
- Artigas PT; Ueta MT 1989. Sobre a evolução de *Ascaris lumbricoides* Linnaeus, 1758, na fase larvar endovular. *Mem. Inst. Butantan* 51: 15-24.
- Arvin E; Harremoes P 1990. Concepts and models for biofilm reactor performance. *Water Science and Technology* 22: 171-192.
- Ayres RM; Mara DD 1996. *Analysis of Wastewater for Use in Agriculture - A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques* (WHO) 35pp
- Bailenger J 1979. Mechanisms of parasitological concentration in coprology and their practical consequences. *Journal of American Medical Technology* 41: 65-71. Citado por Ayres RM & Mara DD 1996. *Analysis of Wastewater for Use in Agriculture - A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques* (WHO) 35pp.
- Bao H, Liu Y, Jia H 2002. A study of irradiation in the treatment of wastewater. *Radiation Physics and Chemistry* 63: 633–636.
- Basfar AA; Abdel Rehim F 2002. Disinfection of wastewater from a Riyadh Wastewater Treatment Plant with ionizing radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 65: 527-532.
- Bastos GSM; Chernicharo CAL; Grossi PA 2007. Aplicação da radiação gama na desinfecção de esgoto tratado em reator UASB. In: 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Belo Horizonte, ABES (in Portuguese).
- Bastos RKX, Bevilacqua PD 2006. Normas e critérios de qualidade para reuso da água. In: Florêncio, L., Bastos, R. K. X., Aisse, M. M (Coordenadores); *Tratamento e utilização de esgotos sanitários*. PROSAB Recife, 427p.
- Bastos RKX; Bevilacqua PD; Andrade Neto CO; von Sperling M 2003b. Utilização de esgotos tratados em irrigação – aspectos sanitários In: Bastos, R. K. X. (coord.) Utilização de esgotos tratados em fertirrigação, hidroponia e piscicultura. Rio de Janeiro PROSAB.253p.
- Bastos RKX; Bevilacqua PD; Keller R 2003a. Organismos patogênicos e efeitos sobre a saúde humana. In: GONÇALVES, R. F. (Coordenador); *Desinfecção de efluentes sanitários*. PROSAB 3, Rio de Janeiro, p. 27-88.



- Bastos RKX; Bevilacqua PD; Nascimento LE; Carvalho GRM; Silva CV 2000. Coliformes como Indicadores da Qualidade da Água: Alcance e Limitações. In: 27º Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária E Ambiental.
- Beaver CP 1950. The standardisation of faecal smears for estimating egg production and worm burden. *Journal of Parasitology* 36: 451- 456 citado por Ayres RM & Mara DD 1996. *Analysis of Wastewater for Use in Agriculture - A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques* (WHO) 35pp.
- Berg JM; Tymoczko JL; Stryer L 2008. *Bioquímica*. 6ª edição editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 1114p.
- Bolton JR 2006. Fundamentos del tratamiento ultravioleta. *Agua Latino América* 6: 20-23.
- Borrely SI; Cruz AC; Del Mastro NL; Sampa M H O; Somessari ES 1998. Radiation processing of sewage and sludge. A review. *Progress in Nuclear Energy* 33: 3-21.
- Braga B; Hespanhol I; Conejo JGL, Mierzwa JC; Barros MT; Spencer M; Porto M; Nucci N; Juliano N; Eiger S 2005. *Introdução à engenharia ambiental. O desafio do desenvolvimento sustentável*, 2ª edição, Pearson Prentice Hall, São Paulo, 318pp.
- Brasil. Fundação Nacional de Saúde. 2006. *Manual de Saneamento*. 3 ed. Brasília, p.408.
- Brasil. Ministério da Saúde 2006. *Inspeção sanitária em abastecimento de água*. Secretaria de Vigilância em Saúde – Brasília. 84 p.
- Brownell SA; Nelson KL 2006. Inactivation of single-celled *Ascaris suum* eggs by low pressure UV radiation. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 2178-2183.
- Burger HJ; Rieso A; Stoye M; Heuer D; Tauber M 1978. Resistance of parasitic eggs, oocysts and larvae in sewage sludge against electron rays. In Fourth International Congress of Parasitol. Section D, Warsaw, pp. 57–58. citado por Capizzi-Banas S; Schwartzbrod J 2001a. Irradiation of *Ascaris* ova in sludge using an electron beam accelerator. *Water Research* 35: 2256-2260.
- Capizzi S; Chevallier A; Schwartzbrod J 1999. Destruction of *Ascaris* ova by accelerated electron. *Radiation Physics and Chemistry* 56: 591-595.
- Capizzi S; Schwartzbrod J 2001b. Surface properties of *Ascaris suum* eggs: hydrophobic potential and Lewis acid–base interactions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 22: 99–105.
- Capizzi-Banas S; Schwartzbrod J 2001a. Irradiation of *Ascaris* ova in sludge using an electron beam accelerator. *Water Research* 35: 2256-2260.
- Castro AA; Costa ÂML; Chernicharo CAL; von Sperling E; Möller LM; Heller L; Casseb, MMS; von Sperling M; Barros RT 1995. *Manual de saneamento e proteção ambiental para os municípios*. Belo Horizonte, pp.221.
- CDC – Center for Disease Control and prevention - <http://www.cdc.gov> acessado em jan/2010
- Cerqueira DA; Horta MCS 1999. Coliformes fecais não existem. In: 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro. p.1238-1244.
- Chernicharo CAL; Castro JCS; Zerbini AM; Godinho VM 2003. Inactivation of *E. coli* and helminthes eggs in aerobic and anaerobic effluents using UV radiation. *Water Science Technology* 47: 185-192.
- Chernicharo CAL; Daniel LA, Sens M; Filho EBC 2001. Pós-tratamento de efluentes anaeróbios por sistemas de desinfecção IN: Chernicharo CAL (coordenador). *Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios*. PROSAB/FINEP, 1ª ed. Rio de Janeiro, 544 p.

- Chmielewski AG; Zimek Z; Bryl-Sandelewska T; Kosmal W; Kalisz L; Kaimierczuk M 1995. Disinfection of municipal sewage sludges in installation equipped with electron accelerator *Radiation Physics and Chemistry* 46:1071–1074.
- Cho MJ 1967. Experimental studies on efficacy of Thiabendazole against the migratory stages of ascarids in mouse. *The Korean Journal of Parasitology* 5: 35-50.
- Daniel LA; Campos JR 1992. Fundamentos a aspectos de projetos de sistemas de desinfecção de esgoto sanitário com radiação ultravioleta. *Revista DAE-Sabesp* 163: 5-11.
- Diffey, B.L. 1991. Solar ultraviolet radiation effects on biological systems. *Phys. Med. Biol.* 36: 299-328.
- Enigk K; Holl P; Dey-Hazra A 1975. The destruction of parasitic resistance stages by irradiation with low accelerating voltage electrons. *Zbl. Bakt. Hyg.* 161: 61–71 citado por Capizzi-Banas S; Schwartzbrod J 2001a. Irradiation of *Ascaris* ova in sludge using an electron beam accelerator. *Water Research* 35: 2256-2260.
- EPN - Escuela Politecnica Nacional. 1997. Desinfeccion de las aguas servidas del Rio Machangara por irradiation con acelerador de eletrones.ed. Quito - Ecuador: 156p.
- Fairbairn D 1961. The *in vitro* hatching of *Ascaris lumbricoides* eggs *Can. J. Zool.* 39:113-162.
- Farooq S; Kurucz CN; Waite TD; Cooper WJ 1993. Disinfection of Wastewaters: High-Energy Electron vs Gamma Irradiation. *Water Research* 27:1177-1184.
- Faust EC, D'Antoni JS, Odom V, Miller MJ, Peres C, Sawitz W, Thomen LF, Tobie J, Walker JH 1938. A critical study of clinical laboratory techniques for the diagnosis of protozoan cysts and helminth ova in faeces. *American Journal of Parasitology* 53: 169-183. citado por Ayres RM & Mara DD 1996. *Analysis of Wastewater for Use in Agriculture - A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques* (WHO) 35pp.
- Florêncio L; Aisse MM; Bastos RXX; Piveli RP 2006. Utilização de esgotos sanitários – marcos conceituais e regulatórios. In: Florêncio, L., Bastos, R. K. X., Aisse, M. M (Coordenadores); *Tratamento e utilização de esgotos sanitários*. PROSAB Recife, 427p.
- Freitas MG 1976. *Helminologia Veterinária*, editora Rabelo e Brasil Ltda. Belo Horizonte. pp.396.
- Galal-Gorchev H. 1996. Chlorine in water disinfection. *Pure & Appl. Chem.*68: 1731-1735.
- Gehra R; Wagnera M; Veerasubramaniana P; Payment P 2003. Disinfection efficiency of peracetic acid, UV and ozone after enhanced primary treatment of municipal wastewater. *Water Research* 37: 4573–4586.
- Godinho VM 2003. *Estudo sobre a ocorrência de ovos de helmintos e viabilidade de Ascaris sp. em lodos anaeróbios in natura e submetidos à higienização por caleação e por tratamento térmico*. (Mestrado em Saneamento Meio Ambiente e Recursos Hídricos) Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Gómez M; Plaza F; Garralón G; Pérez J; Gómez MA 2007. A comparative study of tertiary wastewater treatment by physico-chemical-UV process and macrofiltration–ultrafiltration Technologies. *Desalination* 202: 369–376.
- Gonçalves RF; Filho BC; Chernicharo CAL; Lapolli FR; Aisse MM; Piveli RP 2003. Desinfecção por radiação ultravioleta. In: GONÇALVES, R. F. *Desinfecção de efluentes sanitários*. ABES Rio de Janeiro, PROSAB 3, p.209-276.

- Griffo CLS; Pereira MB; Motta JS 2003. Avaliação da eficiência de diferentes indicadores microbiológicos de balneabilidade em amostras da praia de Camburí, Vitória-ES. In: V Seminário Estadual de Saneamento e Meio Ambiente, Vitória-ES.
- Hawley JH; Peanask YRJ 1992. *Ascaris suum* are trypsin inhibitors involved in species specificity of Ascarid nematodes? *Exp Parasitol.* 75:112-118.
- Hays B 1977. Potential for parasitic disease transmission with land application of sewage plant effluents and sludges. *Water Research* 11: 583-595 citador por WHO World Health Organization. *Integrated Guide to sanitary parasitology* 2004a. p. 120.
- Hess E; Breer C 1976. The importance of sludge disinfection. *Gas. Wass. Abwass.* 56: 385–388 citador por Capizzi-Banas S; Schwartzbrod J 2001a. Irradiation of *Ascaris* ova in sludge using an electron beam accelerator. *Water Research* 35: 2256-2260.
- Heuer D; Hofmann EG 1979. Electron irradiation equipment for sewage sludge disinfection. *Gas. Wass. Abwass.* 120: 476–480. citador por Capizzi-Banas S; Schwartzbrod J 2001a. Irradiation of *Ascaris* ova in sludge using an electron beam accelerator. *Water Research* 35: 2256-2260.
- Hill VR 2003. Prospects for Pathogen Reductions in Livestock Wastewaters: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 30: 187-235.
- Hindiye MY 1995. *Enumeration and survival studies on helminth eggs in relation to treatment of anaerobic and aerobic sludges in Jordan*. Theses (Doctor degree) f.367. Environmental Microbiology Newcastle Upon Tyne.
- Horak P 1994. Experimental destruction of ascarid ova in sewage sludge by accelerated electron irradiation. *Water Research* 28: 939–941.
- Inatomi Y; Murakami T; Tokunaga M; Ishiwata K; Nawa Y; Uchino M 1999. Encephalopathy caused by visceral larva migrans due to *Ascaris suum*. *Journal of the Neurological Sciences* 164: 195–199.
- Jagger J 1958. Photoreactivation. *Bacteriological Reviews* 22: 99-142. Citador por Chernicharo CAL; Daniel LA, Sens M; Filho EBC 2001. Pós-tratamento de efluentes anaeróbios por sistemas de desinfecção IN: Chernicharo CAL (coordenador). *Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios*. PROSAB/FINEP, 1ª ed. Rio de Janeiro, 544 p.
- Jyoti K, Pandit AB 2004. Ozone and cavitation for water disinfection. *Biochemical Engineering Journal* 18: 9-19.
- Kanegae AP 2005. Remoção de helmintos e protozoários em sistema de tratamento filtro anaeróbio - filtro de areia visando uso agrícola.145 (dissertação de mestrado) Faculdade De Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo Universidade Estadual de Campinas.
- Keller U 1983. Sludge disinfection technology. *Schweiz Arch. Tierheilk.* 125: 753–770 citador por Capizzi-Banas S; Schwartzbrod J 2001a. Irradiation of *Ascaris* ova in sludge using an electron beam accelerator. *Water Research* 35: 2256-2260.
- Krige PR 1964. A survey of the pathogenic organisms and helminthic ova in compost and sewage sludge. *Journal of the institute of Sewage Purification* 3: 215-220. citador por WHO World Health Organization. *Integrated Guide to sanitary parasitology* 2004a. p. 120.
- Lapoli FR; Santos LF; Hassemer MEN; Aisse MM; Piveli RP 2003. Desinfecção por radiação ozonização. In: Gonçalves, R. F. (Coordenador); *Desinfecção de efluentes sanitários*. PROSAB 3 Rio de Janeiro, 169-208.
- Lazarova V; Savoye P; Janex ML; Blatchley ER; Pommepuy M. 1999. Advanced Wastewater Disinfection Technologies: State of the Art and Perspectives. *Water Sci. Technol.* 40: 203–213.

- Leclerc H; Mossel DAA; Edberg SC; Struijk CB 2001. Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. *Annual. Rev. microbiol.* 55: 201-234.
- Lessel T; Suess A 1984. Ten year experience in operation of a sewage sludge treatment plant using gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry* 24: 3-16.
- Lewis R; Behnke JM; Stafford P; Holland CV 2006. The development of a mouse model to explore resistance and susceptibility to early *Ascaris suum* infection. *Parasitology* 132: 289-300.
- Liberti L, Notarnicola M; Petruzzelli D 2003. Advanced treatment for municipal wastewater reuse in agriculture. UV disinfection: parasite removal and by-product formation. *Desalination* 152: 315-324.
- Loge FJ; Emerick RW; Thompson DE; Nelson DC; Darby JL 1999. Factors influencing ultraviolet disinfection performance part I: Light penetration to wastewater particles. *Water Environment Research* 71: 377-81.
- Massara CL; Costa HMA; Carvalho OS 1990. Contribuição para o estudo do *Ascaris lumbricoides* em laboratório. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 23: 43-47.
- Masschelein WJ 2002. *Ultraviolet Light in Water and Wastewater Sanitation*. Lewis Publishers
- Melmed LN; Comminos DK 1979. Disinfection of Sewage sludge with gamma radiation *Water SA.* 5:153-159.
- Metcalf & Eddy 2004. *Wastewater engineering: treatment, disposal, reuse*. 4 ed. Metcalf & Eddy, Inc 1819p.
- Meyer KB, Miller KD; Kaneshiro ES 1978. Recovery of *Ascaris* eggs from sludge. *Journal of Parasitology* 64: 380-383. citado por WHO World Health Organization. Integrated Guide to sanitary parasitology 2004a. p. 120.
- Meyer ST 1994. O Uso de Cloro na Desinfecção de Águas, a Formação de Trihalometanos e os Riscos Potenciais à Saúde Pública. *Cad. Saúde Públ.* 10: 99-110.
- Míron FDD; Ortega LOS 2002. Desinfección de Agua con Luz Ultravioleta. *Revista Água Latinoamérica* 2: 1-3.
- Morais RG 1948. Contribuição para o estudo de *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidose no Brasil. *Rev. Ser. Esp. Saúde Públ.* 1: 507-624.
- Nelson K 2001. Personal communication, Departamento of Civil and Environmental Engineering, University of California at Davis. citado por Metcalf & Eddy 2004. *Wastewater engineering: treatment, disposal, reuse*, 4 ed. Metcalf & Eddy, Inc 1819p.
- Neves DP; Filippis T 2003. *Parasitologia básica*. Coopmed. 132p.
- Neves DP; Gomes CFL; Iglésias JJF; Barçante JMP; Santos RC 2009. *Parasitologia dinâmica*. 3 ed. Atheneu, São Paulo
- Nolf LO 1932. Experimental studies on certain factors influencing the development and viability of the ova of the human *Trichuris* as compared with those of the human *Ascaris*. *American Journal of Hygiene* 16: 288-322 citado por WHO World Health Organization, 2004a. *Integrated Guide to sanitary parasitology*. 120pp.
- Nouailhetas Y 2003. *Radiações ionizantes e a vida*. 5ª edição 14/06. 42p.

- Oliveira EM; Hassemer MEN; Bento AP; Sartoratto J; Lapolli FR 2002. Desinfecção e valorização de efluentes sanitários através da radiação ultravioleta. In: XXVIII Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Cancun, México.
- Oliveira SMAC 2006. *Avaliação, Modelagem e Controle de Processos de Tratamento de Esgotos*. 229. Tese (Doutorado em saneamento, meio ambiente e recursos hídricos) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais.
- OPS-Organización Panamericana de la Salude – Água y Saúde [acessado em dezembro de 2008]. Disponível em <http://www.bvsde.paho.org/acrobat/aguasa.pdf>.
- Peng W; Anderson TJC; Zhou X; Kennedy MW 1998. Genetic variation in sympatric *Ascaris* populations from humans and pigs in China. *Parasitology* 117: 355-361.
- Peng W; Yuan K; Hu M; Peng G; Zhou X; Hu N; Gasser RB 2006. Experimental infections of pigs and mice with selected genotypes of *Ascaris*. *Parasitology* 133: 651–657.
- Pitman GK 2002. *Bridging Troubled Waters: Assessing the World Bank Water Resources Strategy*. World Bank Publications, Washington DC, 143pp.
- Quilès F; Balandier J; Capizzi-Banas ES 2006. In situ characterisation of a microorganism surface by Raman microspectroscopy: the shell of *Ascaris* eggs *Anal Bioanal Chem* 386: 249–255.
- Rawat KP; Sharma A; Rao SM 1997. Microbiological and Physicochemical analysis of radiation disinfected municipal sewage. *Water Research* 32: 737-740.
- Rey L 2008. *Parasitologia* 4 ed. pp.351, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- Ridenour GM; Armbruster EH 1956. Effect of High-Level Gamma Radiation on Disinfection of Water and Sewage. *Journal American Water Works Association*. 1956 citador por Borrelly SI 1995. *Tratamento de esgoto sanitário com o uso de aceleradores de elétrons*. 95 f. (Mestrado em Ciências e Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- Ritchie LS 1948. Ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bulletin of the U.S. Army Department* 8: 326. citador por Ayres RM & Mara DD 1996. *Analysis of Wastewater for Use in Agriculture - A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques* (WHO) 35pp
- Roberts LS; Janovy Jr 1996. *Foundations of Parasitology* 5 ed. WCB Brown Publishers, Dubuque, 1996 citador por Metcalf & Eddy 2004. *Wastewater engineering: treatment, disposal, reuse*. 4 ed. Metcalf & Eddy, Inc 1819p.
- Roepstorff A; Eriksen L; Slotved HC; Nansen P 1997. Experimental *Ascaris suum* infection in the pig: worm population kinetics following single inoculations with three doses of infective eggs. *Parasitology* 115: 443–452.
- Ryer AD 1997. *Light measurement handbook*. 2. ed. Newburyport: Technical Publications International Light In. 64 p.
- Satchwell MG 1986. An application of concentration techniques for the enumeration of parasitic helminth eggs from sewage sludge. *Water Research* 20: 813-816. citador por WHO World Health Organization. *Integrated Guide to sanitary parasitology* 2004a. p. 120.
- Seidl C; Moritz KB 1998. A novel UV-damaged DNA binding protein emerges during the chromatin-eliminating cleavage period in *Ascaris suum*. *Nucleic Acids Research* 26: 768-777.
- Shamma M; Al-Adawi MA 2002. The morfolological changes of *Ascaris lumbricoides* ova in sewage sludge water treated by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry* 65: 277-279.

- Sinha RP; Häder DP 2002. UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochem. Photobiol. Sci.1*: 225–236.
- Slotved HC; Eriksen L; Murrell KD; Nansen P 1997. Comparison of methods for recovery of *Ascaris suum* larvae from tissues of mice. *International Journal for Parasitology* 27: 1305-1310.
- Slotved HC; Eriksen L; Murrell KD; Nansen P 1998. Early *Ascaris suum* migration in mice as a model for pigs. *Journal of Parasitology* 84: 16–18.
- Souza JB; Daniel LA 2005. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos, e *C.perfringes* em água com elevada concentração de matéria orgânica. *Eng. Sanit. Ambient. 10*: 111-117.
- Spear FG 1946. The biological effects of penetrating radiations. A review. *British Medical Bulletin* 4:1-10.
- Stien, J. L., Schwartzbrod, J. 1988. Viability determination of *Ascaris* eggs recovered from wastewater. *Environmental Technology Letters*, 9: 401-406.
- Stoll NR; Hansheer WC 1926. Concerning two options in dilution egg counting, small drop and displacement. *American Journal of Hygiene* 6: 134-145. citado por Ayres RM & Mara DD 1996. *Analysis of Wastewater for Use in Agriculture - A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques* (WHO) 35pp
- Sutherland BM; Sutherland JC 1969. Mechanisms of inhibition of pyrimidine dimer formation in deoxyribonucleic acid by acridine dyes. *Biophysical Journal* 9: 292-302.
- Tahri L; Elgarrouj D; Zantar S; Mouhib M; Azmani A; Sayah F 2010. Wastewater treatment using gamma irradiation: Tétouan pilot station, Morocco. *Radiation Physics and Chemistry* 79: 424–428.
- Tarran EP 2002. Desinfección por luz ultravioleta. *Revista Água Latinoamérica* 2: p.28- 35.
- Tauhata L; Salati IPA; Di Prinzio DP 2003. *Radioproteção e dosimetria: fundamentos*.5ª ed. Rio de Janeiro: CNEN 254p.
- Taylor MA; Coop RL; Wall RL 2010. *Parasitologia Veterinária*. 3 ed. Guanabara Koogan, 741p.
- Tortora GJ; Funke BR; Case CL 2005. *Microbiologia*.8 ed. São Paulo: Artmed, 827p.
- Tromba FG 1978. Effect of ultraviolet radiation on the infective stages of *Ascaris suum* and *Stephanurus dentatus* with a comparison of the relative susceptibilities of some parasitic nematodes to ultraviolet. *J. Parasitolol.* 64: 245-252.
- Tumbleson ME; Schook L 1996. B. *Advances in swine in biomedical research*. Volume 1. Plenum Press. New York. 365pp.
- Ueno H; Gonçalves PC 1998. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. Japan International Cooperation Agency, 4ªEd.,143p.
- United Nations Children’s Fund (UNICEF)/World Health Organization (WHO) 2009. *Diarrhoea: Why children are still dying and what can be done*. New York. 68pp.
- USEPA United States Environmental Protection Agency 1999a. *Microbial and Disinfection Byproduct Rules Simultaneous Compliance Guidance Manual* p.150.
- USEPA United States Environmental Protection Agency 1999b. *Wastewater Technology Fact Sheet Ultraviolet disinfection* 7pp.
- USEPA United States Environmental Protection Agency 2003. *Ultraviolet disinfection Guidance Manual*. p.478.

- USEPA United States Environmental Protection Agency.1986 *Municipal Wastewater Disinfection Design Manual*.264pp.
- Vigilância em Saúde Ambiental: Dados e indicadores selecionados / Ministério da Saúde, secretaria de vigilância em saúde v.1 n. 1 2006 disponível em [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/indicadores\\_vig\\_ambiental\\_2006.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/indicadores_vig_ambiental_2006.pdf) acessado em abril de 2010.
- von Sperling M 2005. *Introdução a qualidade das águas e ao tratamento de esgotos* volume 1 3ª edição Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental UFMG
- von Sperling M; Bastos RXX; Kato MT 2005. Removal of *E. coli* and helminth eggs in UASB – polishing pond systems. *Water Science and Technology* 51:91-98.
- von Sperling M; Mascarenhas LCAM 2005. Performance of very shallow ponds treating effluents from an UASB reactor. *Water Science and Technology* 51: 83-90.
- Wang J; Wang J 2007. Application of radiation technology to sewage sludge processing: a review. *Journal of Hazardous Materials* 153: 2-7.
- Westcot DW 1997. *Quality control of wastewater for irrigated crop production*. (Water Reports - 10) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome 86pp.
- Wharton DA 1980. Nematode egg-shells. *Parasitology* 81: 447-463.
- WHO World Health Organization 1989. *Health Guidelines for the Use of Wastewater in Agriculture and Aquaculture*. Geneva.76pp.
- WHO World Health Organization. 2004a. *Integrated Guide to sanitary parasitology*. 120pp.
- WHO World Health Organization 2004b. *The global epidemiology of infectious diseases*. vol IV p.349.
- WHO World Health Organization 2006a. *WHO Guidelines for Safe Use of Wastewater Excreta and Grey water. Policy and Regulatory Aspects*.1 . france.114pp.
- WHO World Health Organization 2006b. *WHO Guidelines for Safe Use of Wastewater Excreta and Grey water. Wastewater use in Agriculture*.2 . france.222pp.
- Willcox HP; Coura JR 1989. Nova concepção para o método de Baermann-Moraes-Coutinho na pesquisa de larva de nematódeos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 84: 563-565.
- Xu P; Janex M; Savoye P; Cockx A; Lazarova V 2002. Wastewater disinfection by ozone: main parameters for process design. *Water Research* 36: 1043–1055.
- Zerbini AM; Chernicharo CAL 2001. Metodologias para quantificação, identificação e análise de viabilidade de ovos de helmintos em esgotos brutos e tratados. In: Chernicharo CAL (Coordenador); *Pós tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios. Aspectos Metodológicos*. PROSAB 2 Belo Horizonte. 107p.

## Anexo A

### Aprovação no comitê de ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
- C E T E A -

#### CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 166/2008**, relativo ao projeto intitulado "**Efeito da radiação ultravioleta e gama no desenvolvimento de ovos de helmintos, cistos de protozoários e vírus durante a desinfecção de esgotos sanitários**", que tem como responsável(is) **Marcos Pezzi Guimarães**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **8/10/2008**.

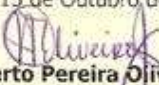
Este certificado expira-se em **8/10/2013**.

#### CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 166/2008**, related to the project entitled "**Effect of ultraviolet radiation and gama in the development of the helminths eggs, protozoarian cysts and virus during sewage disinfection**", under the supervisors of **Marcos Pezzi Guimarães**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **October 8, 2008**.

This certificate expires in **October 8, 2013**.

Belo Horizonte, 13 de Outubro de 2008.

  
**Prof. Humberto Pereira Oliveira**  
Coordenador do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais  
Avenida Antônio Carlos, 6627 - Campus Pampulha  
Unidade Administrativa II - 2º Andar, Sala 2005  
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil  
Telefone: (31) 3499-4516 - Fax: (31) 3499-4592  
[www.ufmg.br/bioetica/cetes](http://www.ufmg.br/bioetica/cetes) - [cetes@ppq.ufmg.br](mailto:cetes@ppq.ufmg.br)

(Mod.Cert. v1.0)



## Anexo B

### Aprovação de artigo em revista qualis A2

**Date:** 08 Aug 2011  
**To:** "C. A. L. Chernicharo" calemos@desa.ufmg.br  
**From:** "Water Research" wr-ee@elsevier.com  
**Subject:** WR16873R2: Editor's decision: accepted

---

Re manuscript: WR16873R2.  
Title: Disinfection of domestic effluents by gamma radiation: effects on the inactivation of *Ascaris lumbricoides* eggs.  
Authors: G. S. M. B Souza, Master; C. A. L. Chernicharo, Ph.D.; L. A. Rodrigues, student graduation; W. J. Oliveira, student graduation; C. L. Massara, PHD; M. P. Guimarães, PHD; P. A. Grossi.  
Corresponding author: Dr. C. A. L. Chernicharo.

Dear Dr. Chernicharo,

I am pleased to inform you that your manuscript has now been accepted by the editor for publication.

Your manuscript will soon be passed to the production department for further handling. Then you will receive further notice about schedules, proofs, reprints, etc.

Thank you for considering our journal for the publication of your research.

Kind regards,

Fred Kop,  
Journal Manager

On behalf of the Editor  
Water Research

-----

Dear Dr. Chernicharo:

We have received and examined the revised version of your manuscript. Based on our analysis, we have decided to accept your paper. It will now be transferred to the production department of our journal.

Sincerely

