UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

PRISCILA RIBEIRO DOS SANTOS

**Ocorrência e remoção dos protozoários patogênicos *Giardia* spp. e
Cryptosporidium spp. em sistemas de tratamento de esgoto sanitário**

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2015

PRISCILA RIBEIRO DOS SANTOS

Ocorrência e remoção dos protozoários patogênicos *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em sistemas de tratamento de esgoto sanitário

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Daniel

São Carlos – SP

2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

S237o Santos, Priscila Ribeiro dos
Ocorrência e remoção dos protozoários patogênicos
Giardia spp. e Cryptosporidium spp. em sistemas de
tratamento de esgoto sanitário / Priscila Ribeiro dos
Santos; orientador Luiz Antonio Daniel. São Carlos,
2015.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação
e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2015.

1. Giardia spp.. 2. Cryptosporidium spp.. 3.
tratamento de esgoto sanitário. 4. reator UASB. 5.
flotação. 6. microrganismos indicadores. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **PRISCILA RIBEIRO DOS SANTOS**.

Título da dissertação: "Ocorrência dos protozoários patogênicos *Giardia SPP.* e *Cryptosporidium SPP.* em sistemas de tratamento de esgoto sanitário".

Data da defesa: 03/07/2015

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Dr. **Luiz Antonio Daniel (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovada

Profa. Dra. **Regina Maura Bueno Franco**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

aprovado

Dra. **Leila Jorge Patrizzi**
(Serviço Autônomo de Água e Esgoto/SAAE – São Carlos)

aprovado

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Prof. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Associado **Paulo César Lima Segantine**

Dedicatória

Aos meus pais, com amor e gratidão infinita, dedico esse trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida e pela vida de todos aqueles amo. Por ter concedido a mim essa conquista e por ter me sustentado com fé e coragem em todos os momentos de dificuldades.

Aos meus amados pais que são minha grande inspiração de vida, caráter e amor. A eles que tanto me dedicam carinho e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida. A eles que são os meus maiores incentivadores e são o verdadeiro motivo desse início acadêmico.

Ao meu orientador Luiz Antonio Daniel, exemplo de pessoa e profissional, pela amizade, paciência, orientação e conhecimentos transmitidos ao longo desse trabalho, contribuindo para minha formação profissional.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro para desenvolvimento deste trabalho. Processo FAPESP número 2012-50522-0.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado.

À Escola de Engenharia de São Carlos e ao Departamento de Hidráulica e Saneamento pela oportunidade de realizar o Mestrado.

À Prof. Regina Maura Bueno Franco e ao biólogo Nilson Branco do Instituto de Biologia da UNICAMP pelos ensinamentos, sugestões e treinamento acerca das Metodologias de detecção dos protozoários.

Ao Prof. Marco Antonio Penalva Reali pelas sugestões com relação aos ensaios de flotação.

À Maria Teresa, técnica do LATAR, por todo auxílio durante a jornada de trabalho no laboratório.

À Sá e à Priscila, secretarias do departamento, pela atenção e informações.

A todos os professores que passaram pela minha vida pelos aprendizados adquiridos.

Ao meu namorado, Guilherme Ali, por todo amor, dedicação, paciência e incentivo. E pelas fotos aéreas da ETE-Monjolinho.

Aos amigos do LATAR, Gabriela Laila, Gabriel Sacchi, Guilherme Giglio, Thalita Fagundes, Eloá Pelegrino, Paulo Maciel, Lucas Marcon, Andressa Bechara e todos os outros pela companhia e risadas. E principalmente a Gabriela Laila por todo auxílio no início da

pesquisa com as análises laboratoriais e pelas discussões sem fim a respeito dos protozoários que tanto nos causou dúvidas.

Aos amigos queridos Andréia Ortolan, Camilla Machado, Marcela Moreira, Aline Curti, Lenise Ferreira, Larissa Marcato, Mariana Silva, Rodrigo Nakamura pela amizade de anos.

Aos meus avós queridos que me ensinam muito com toda sua simplicidade de ser e ver o mundo. E a todos os familiares, tios(as) e primos pelo apoio.

À ETE de São Carlos pela disponibilidade, parceria, e pelas amostras que colocaram à disposição para ser objeto de estudo desse trabalho.

À todos que de verdade contribuíram e me incentivaram com mais essa etapa.

“Não deixe que a saudade sufoque, que a rotina acomode, que o medo impeça de tentar. Desconfie do destino e acredite em você. Gaste mais horas realizando que sonhando, fazendo que planejando, vivendo que esperando porque, embora quem quase morre esteja vivo, quem quase vive já morreu.”

Luís Fernando Veríssimo

RESUMO

SANTOS, P. R. (2015) **Ocorrência e remoção dos protozoários patogênicos *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em sistemas de tratamento de esgoto sanitário.** Dissertação (Mestrado). 175f. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

O propósito do presente estudo foi investigar e monitorar a remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. por diferentes processos de uma estação de tratamento de esgoto (ETE) em escala plena, composta basicamente por tratamento preliminar, reator UASB e flotador por ar dissolvido, e verificar a ocorrência desses protozoários no lodo do reator UASB e do flotador. Além disso, avaliou-se a remoção desses parasitos pelo processo de flotação por ar dissolvido em escala de bancada (equipamento Flotatest). Analisou-se a qualidade das amostras a partir de variáveis físicas e químicas, e pela detecção de microrganismos indicadores – *E. coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens*. Os métodos de detecção de protozoários se basearam nas etapas de concentração (tripla centrifugação ou filtração em membrana seguida de tripla centrifugação); purificação por separação imunomagnética (IMS); detecção por reação de imunofluorescência direta (RID). As recuperações de cistos variaram de 32,6 a 67,0% dependendo do método adotado, já para os oocistos as recuperações estiveram na faixa de 5,6 a 12,0%. Na ETE-Monjolinho foram detectadas significativas quantidades de cistos de *Giardia* spp. em 100% das amostras de esgoto analisadas, com concentração média de $1,89 \times 10^4$ e $2,35 \times 10^2$ cistos.L⁻¹ no esgoto bruto e tratado, respectivamente. Já os oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram detectados em 39,0% das amostras de esgoto, com concentração média de $1,35 \times 10^2$ oocistos.L⁻¹ no esgoto bruto e 5,87 oocistos.L⁻¹ em esgoto tratado (após flotador). A remoção global da ETE para remoção de *Giardia* spp. foi em média 2,03 log. O lodo do reator UASB e lodo do flotador apresentaram altas quantidade de (oo)cistos, constatando-se a tendência desses sistemas em concentrar os (oo)cistos por seus processos físicos. Algumas correlações significativas foram encontradas, como correlação entre a concentração de cistos no lodo e a variável sólidos totais, a concentração de cistos no esgoto bruto e as variáveis cor aparente, DQO total e particulada, e a concentração de cistos no efluente UASB e o microrganismo *Clostridium perfringens*. Diferentemente do flotador em escala plena, o processo do flotação por ar dissolvido em escala de bancada alcançou elevadas remoções médias de cistos de *Giardia* spp., entre 2,5 e 2,7 log nas diferentes condições de floculação estudadas.

Palavras-chave: *Giardia* spp.; *Cryptosporidium* spp.; tratamento de esgoto sanitário; reator UASB; flotação; microrganismos indicadores.

ABSTRACT

SANTOS, P. R. (2015) **Occurrence and removal of pathogenic protozoa *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in sanitary sewage treatment systems.** Dissertação (Mestrado). 175f. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

The aim of this study was to investigate and monitor the removal of *Giardia* spp. cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts through different processes of a sewage treatment plant (STP) in full scale, consisted of preliminary treatment, UASB reactor, dissolved air flotator, and to verify the occurrence of the protozoa in the sludge derived from UASB reactor and flotator. Besides that, it was evaluated the removal of these parasites through the dissolved air flotation process in bench scale. It was analyzed the quality of the samples through physical and chemical variables, and detection of indicator microorganisms – *E. coli*, total coliforms and *Clostridium perfringens*. The detection methods of protozoa were based on steps of concentration (triple concentration or membrane filtration followed by triple concentration); purification by immunomagnetic separation (IMS); immunofluorescence assay (IFA). The recovery of cysts ranged from 32,6 to 67,0% according to the adopted method, while the recovery for the oocysts ranged from 5,6 to 12,0%. It was detected significant quantities of *Giardia* spp. cysts in 100% of the analyzed sewage samples at the STP-Monjolinho, with mean concentration of $1,89 \times 10^4$ e $2,35 \times 10^2$ cysts.L⁻¹ in raw sewage and treated sewage, respectively. The oocysts of *Cryptosporidium* spp. were detected in 39,0% of the sewage samples, with mean concentration of $1,35 \times 10^2$ oocysts.L⁻¹ in raw sewage and 5,87 oocysts.L⁻¹ in treated sewage (after flotator). The overall removal for *Giardia* spp. was on average of 2,03 log. The sludge from UASB reactor and flotator presented high quantities of (oo)cysts, implying the tendency of these systems to concentrate (oo)cysts through its physical processes. Some correlations were obtained, such as correlation between the concentration of cysts in the sludge and total solids, the concentration of cysts in the raw sewage and apparent color, total and particulate COD (chemical oxygen demand), and the concentration of cysts in the UASB effluent and the microorganism *Clostridium perfringens*. Unlike the full flotator, the dissolved air flotation in bench scale reached significant mean removal of *Giardia* spp. cysts, between 2,5 and 2,7 log according to the different flocculation conditions.

Key-words: *Giardia* spp.; *Cryptosporidium* spp.; sanitary sewage treatment; UASB reactor; flotation; indicator microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Esquema ilustrativo do ciclo de vida do protozoário <i>Cryptosporidium</i> spp.....	27
Figura 4.1: Fluxograma geral da ETE- Monjolinho.....	53
Figura 4.2: Tratamento biológico anaeróbio por reatores UASB (vista aérea).....	54
Figura 4.3: Unidade de tratamento por flotação por ar dissolvido (vista aérea).....	54
Figura 4.4: Esquema geral do Flotateste.....	57
Figura 4.5: Flotateste utilizado nos ensaios.....	57
Figura 4.6: Resumos dos procedimentos realizados durante a Fase 1.....	62
Figura 4.7: Resumo dos procedimentos realizados durante a Fase 2.....	63
Figura 4.8: Variação das condições de floculação durante a Etapa 2.....	64
Figura 4.9: Sequência simplificada da etapa de concentração.....	69
Figura 4.10: Sequência simplificada da etapa de filtração.....	72
Figura 4.11: Sequência simplificada da etapa de IMS.....	74
Figura 4.12: Ilustração de algumas etapas utilizadas na recuperação de cisto de <i>Giardia</i> e oocistos de <i>Cryptosporidium</i>	76
Figura 4.13: Imagens de microscopia (aumento 400x) – A: cisto de <i>Giardia</i> spp. em microscopia de fluorescência, filtro FITC; B: cisto de <i>Giardia</i> spp. em microscopia DIC e fluorescência FITC; C: cisto de <i>Giardia</i> spp. em fluorescência FITC e DAPI	78
Figura 4.14: Imagens de microscopia (Aumento 400x) – A: cistos de <i>Giardia</i> spp. em microscopia de fluorescência, filtro FITC (excitação: 450- 490 nm); cistos de <i>Giardia</i> spp. em microscopia de fluorescência e marcados com Texas Red, filtro WG (excitação: 510 - 550).	80
Figura 4.15: Etapas da quantificação e confirmação de <i>Clostridium perfringens</i>	82
Figura 5.1: Relação entre alcalinidades intermediária e parcial (AI/AP) nas amostras de efluente do reator UASB.....	90
Figura 5.2: Concentração de <i>E. coli</i> no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.....	94
Figura 5.3: Concentração de coliformes totais no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.....	95
Figura 5.4: Concentração de coliformes totais no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.....	97
Figura 5.5: Concentração de <i>Giardia</i> spp. no esgoto bruto durante o período de amostragem.	102

Figura 5.6: Concentração de <i>Giardia</i> spp. no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.....	104
Figura 5.7: Remoção de cistos de <i>Giardia</i> pelas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho, com μ representando a remoção média.....	108
Figura 5.8: Eficiência do reator UASB e da flotação por ar dissolvido (FAD) em remover microrganismos indicadores e cistos de <i>Giardia</i> spp.....	112
Figura 5.9: Concentração de cistos de <i>Giardia</i> spp. em lodo proveniente de reator UASB e sistema de flotação por ar dissolvido, com μ representando a média de cistos.g ⁻¹	113
Figura 5.10: Concentração de cistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. em lodo de esgoto proveniente de reator UASB e sistema de flotação por ar dissolvido, com μ representando a média de oocistos.g ⁻¹	115
Figura 5.11: Presença de materiais atraídos pelo ímã do primeiro concentrador de partículas durante a etapa de IMS.....	119
Figura 5.12: Turbidez residual do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com as diferentes dosagens de coagulante PAC e velocidades de flotação.....	131
Figura 5.13: Fração residual de turbidez (T/To) do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com as diferentes dosagens de coagulante PAC e velocidades de flotação.....	132
Figura 5. 14: Cor aparente residual do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com as diferentes dosagens de coagulante PAC e velocidades de flotação.....	133
Figura 5. 15: Fração residual de cor aparente (C/Co) do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com as diferentes dosagens de coagulante PAC e velocidades de flotação.	133
Figura 5.16: Turbidez residual do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com diferentes dosagens de dois polímeros e velocidades de flotação.....	136
Figura 5.17: Fração residual da turbidez após o tratamento em Flotatestes de acordo com diferentes dosagens de dois polímeros e velocidades de flotação.....	137
Figura 5.18: Cor aparente residual após o tratamento em Flotatestes de acordo com diferentes dosagens de dois polímeros e velocidades de flotação.....	138
Figura 5. 19: Fração residual da cor aparente após o tratamento em Flotatestes de acordo com diferentes dosagens de dois polímeros e velocidades de flotação.....	139
Figura 5.20: Concentrações detectadas de cistos no efluente tratado durante os ensaios de flotação por ar dissolvido (Flotatestes) em diferentes condições de floculação. Onde, Gf: gradiente de velocidade de floculação e Tf: tempo de floculação.....	147

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Limitações do métodos de detecção de protozoários.	32
Tabela 3.2: Concentração média de (oo)cistos no esgoto bruto e tratado de ETEs.....	40
Tabela 3.3: Remoção de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. por processos de tratamento de esgoto sanitário.	42
Tabela 3.4: Ocorrência de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. em lodo de ETEs e métodos de análise.....	49
Tabela 4.1: Relação das variáveis analisadas nos pontos de coleta.....	56
Tabela 4.2: Parâmetros de operação do Flotatestes fixados.	59
Tabela 4.3: Métodos analíticos para as variáveis físico-químicas.....	65
Tabela 4.4: Metodologias de detecção de protozoários para cada efluente.....	67
Tabela 5.1: Resumo estatístico dos dados físico-químicos obtidos a partir dos ensaios de monitoramento da ETE Monjolinho para o esgoto bruto e efluente do tratamento preliminar.	85
Tabela 5.2: Resumo estatístico dos dados físico-químicos obtidos a partir dos ensaios de monitoramento da ETE – Monjolinho para efluente do reator UASB e efluente do flotador.	86
Tabela 5.3: Resumo estatístico dos dados físico-químicos obtidos a partir dos ensaios de monitoramento da ETE – Monjolinho para lodo do reator UASB e lodo do flotador.....	87
Tabela 5.4: Remoção de coliformes totais e <i>E. coli</i> nas unidades de tratamento da ETE – Monjolinho.	96
Tabela 5.5: Remoção de <i>Clostridium perfringens</i> nas unidades de tratamento da ETE – Monjolinho.	99
Tabela 5.6: Porcentagem de amostras positivas e a análise descritiva das amostras positivas encontradas para oocistos de <i>Cryptosporidium</i>	100
Tabela 5.7: Estimativa da prevalência de giardíase na população de São Carlos.	107
Tabela 5.8: Porcentagem de recuperação por ColorSeed de cistos de <i>Giardia</i> spp. e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. para as diferentes metodologias utilizadas.	116
Tabela 5.9: Resultados da Correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentração de <i>Giardia</i> spp. (cistos.g ⁻¹) e variáveis físico-químicas no lodo.....	121
Tabela 5.10: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentrações de variáveis físicas, químicas, microbiológicas e parasitológicas para amostras de esgoto bruto.....	123

Tabela 5.11: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentrações de variáveis físicas, químicas, microbiológicas e parasitológicas para amostras de efluente do tratamento preliminar.	123
Tabela 5.12: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentrações de variáveis físicas, químicas, microbiológicas e parasitológicas para amostras de efluente do reator UASB.	124
Tabela 5.13: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentrações de variáveis físicas, químicas, microbiológicas e parasitológicas para amostras do efluente da unidade de flotação por ar dissolvido.	124
Tabela 5.14: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre remoção de variáveis físico-químicas	128
Tabela 5.15: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre remoção de variáveis físico-químicas	128
Tabela 5.16: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre remoção de variáveis físico-químicas	129
Tabela 5.17: Caracterização do efluente UASB.	131
Tabela 5.18: Resumo estatístico dos dados físico-químicos obtidos a partir das amostras dos ensaios de tratabilidade em Flotatestes e para amostras de efluente UASB.	142
Tabela 5.19: Concentração média de microrganismos indicadores no efluente do reator UASB e nas amostras tratadas por flotação em diferentes condições de floculação.	144
Tabela 5.20: Remoção média de microrganismos indicadores nos efluentes do reator UASB utilizados em cada ensaio de tratabilidade em Flotatestes.	145
Tabela 5.21: Concentração de cistos de <i>Giardia</i> spp. e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. nos efluentes do reator UASB utilizados em cada ensaio de tratabilidade em Flotatestes.	146
Tabela 5.22: Remoção (em log) de cistos de <i>Giardia</i> spp. de acordo com as diferentes condições de floculação.	149

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al₂O₃: alumina

AP: alcalinidade parcial

AT: alcalinidade total

AI: alcalinidade intermediária

APHA: American Public Health Association

COD: carbono orgânico total

CETESB: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

DAPI: 4',6-diamidino-2-fenilindol ou em inglês *4',6-diamidino-2-phenylindole*

DIC: Microscopia de contraste interferencial diferencial

DP: desvio padrão

DQO: demanda química por oxigênio

ETE: estação de tratamento de esgoto

FAD: flotação por ar dissolvido

FITC: isotiocianato de fluoresceína ou em inglês *fluorescein isothiocyanate*

FM: filtração em membrana

Gf: gradiente de velocidade de floculação

IMS: separação imunomagnética

log: logaritmo na base 10

MCP: concentrador de partículas magnéticas

ND: não detectado

NR: não realizado

NC: não calculado

NM: número mínimo detectável

PAC: cloreto de polialumínio

RID: reação de imunofluorescência direta

SNIS: Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento

SDT: sólidos dissolvidos totais

ST: sólidos totais

SST: sólidos suspensos totais

TC: tripla centrifugação

Tf: tempo de floculação

T_{LP}: tubo de lado plano

UASB: reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo

UFC: unidade formadora de colônia

USEPA: *U. S. Environmental Protection Agency*

uT: unidade de turbidez (unidade nefelométrica de turbidez)

UV: ultravioleta

Vf: velocidade de flotação

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	23
2 – OBJETIVOS.....	25
2.1 – Objetivo Geral	25
2.2 – Objetivos Específicos	25
3 – REVISÃO DA LITERATURA	26
3.1 – Aspectos importantes sobre <i>Cryptosporidium</i> spp.	26
3.2 – Aspectos importantes sobre <i>Giardia</i> spp.	29
3.3 – Limitações e dificuldades do Método 1623.1 para detecção de cistos de <i>Giardia</i> spp. e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp.	31
3.3.1 – Turbidez	33
3.3.2 – Tamanho das partículas	34
3.3.3 – pH.....	34
3.3.4 – Variabilidade na recuperação dos (oo)cistos	35
3.3.5 – Presença de materiais interferentes	35
3.3.6 – Presença de Ferro	36
3.3.7 – Métodos de dissociação	37
3.4 – Pesquisas relacionadas a <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. no Brasil	37
3.5 – Ocorrência dos protozoários <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. em esgoto bruto e tratado	39
3.6 – Remoção dos protozoários <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. por processos de tratamento de esgoto.	41
3.7 – <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. em lodo de ETE.....	46
4 – MATERIALE MÉTODOS	52
4.1 – Descrição da área de estudo – ETE Monjolinho.....	52
4.2 – Amostragem na ETE - Monjolinho.....	55
4.3 – Descrição geral dos ensaios de coagulação-floculação-flotação em Flotatestes.....	56
4.3.1 – ETAPA 1: Ensaios Preliminares	60
4.3.2 – ETAPA 2: Ensaios de monitoramento	64
4.4 – Análises físico-químicas	65
4.5 – Exame parasitológico	66
4.5.1 – Exame de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. em amostras de efluente.....	66
4.5.2 – Exames de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. em amostras de lodo	78
4.5.3 – Experimento controle-positivo.....	79

4.6 – Exames microbiológicos.....	80
4.6.1 - <i>Escherichia coli</i> e coliformes totais	80
4.6.2 – <i>Clostridium perfringens</i>	81
4.7 – Análise Estatística dos dados.....	83
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
5.1 – Monitoramento de variáveis físicas e químicas	84
5.2 – Monitoramento de microrganismos indicadores – <i>E. coli</i> e coliformes totais e <i>Clostridium perfringens</i>.....	93
5.3 – Monitoramento de cistos de <i>Giardia</i> spp. e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp.	100
5.3.1 – Ocorrência de <i>Cryptosporidium</i> spp. no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho	100
5.3.2 – Ocorrência de <i>Giardia</i> spp. no esgoto bruto e nas unidades de tratamento	101
5.3.3 – Remoção de <i>Giardia</i> spp. nas unidades de tratamento.....	108
5.3.4 – Ocorrência de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. no lodo.....	113
5.3.5 – Experimento controle-positivo para os métodos empregados na detecção de cistos de <i>Giardia</i> spp. e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp.	116
5.4 – Testes de correlação para as variáveis de interesse	121
5.5 – Ensaio de coagulação, floculação e flotação em escala de bancada (Flotatest)	130
5.5.1– ETAPA 1: Ensaio Preliminares	130
5.5.2 – ETAPA 2: Ensaio de Monitoramento	140
6 – CONCLUSÕES	151
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	153

1 – INTRODUÇÃO

No Brasil, o déficit do setor de saneamento básico é elevado, sobretudo no que se refere ao esgotamento sanitário. A situação é alarmante segundo estatísticas oficiais do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, apontando que apenas 39% dos esgotos gerados no país recebem tratamento antes de serem despejados no ambiente (SNIS, 2013). Sabendo que o esgoto, bruto e tratado, contém elevadas quantidades de patógenos, fica evidente a vasta disseminação e contaminação do ambiente por esses organismos e os riscos potenciais de transmissão de doenças.

Desse modo, a gestão dos recursos hídricos precisa ser fortemente ampliada até o lançamento do esgoto no meio ambiente. Para isso, o conceito de barreiras múltiplas deve ser estudado e implementado, e as situações atuais das Estações de Tratamento de Esgoto devem ser diagnosticadas quanto a seus desempenhos e mecanismos de controle de patógenos, com vistas à proteção de mananciais contra a contaminação microbiológica e à minimização de riscos à saúde pública.

O crescente interesse pela reciclagem e reuso de lodo e efluentes sanitários no país (FONSECA et al., 2007; OLIVEIRA, 2012; BONATTI e FRANCO, 2014), apesar de ser uma prática promissora ambiental e economicamente, é outro fator que contribui para a maior disseminação de patógenos pelo ambiente e nos riscos de transmissão de doenças. Essa prática se torna ainda mais preocupante quando se observa deficiências na legislação nacional sobre reuso, que não estabelece critérios quanto a determinados organismos patogênicos de alto risco, como é o caso dos protozoários *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp..

Os protozoários *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. se destacam devido a diversos fatores como: inúmeros registros de surtos de criptosporidiose e giardiose em nível mundial; baixa dose infectante; (oo)cistos eliminados em grande quantidade por indivíduos doentes e assintomáticos; facilidade de disseminação pela água; ubiquidade em ambientes aquáticos e terrestres; resistência a pressões ambientais e a desinfetantes comuns; tamanho reduzido e facilitador na passagem pelas barreiras convencionais das estações de tratamento de água e esgoto; presença significativa em lodo e efluentes sanitários; dificuldades no estabelecimento de microrganismos indicadores para esses protozoários; lacunas nas diretrizes da legislação brasileira, que não leva em consideração tais protozoários nos padrões de lançamentos de efluentes, e tampouco nos padrões de reuso de lodo e efluentes sanitários (RENDTORFF,

1954; GAJADHAR e ALLEN, 2004; CHAPPELL et al., 2006; SMITH et al. 2006; BALDURSSON e KARANIS, 2011; MEDEIROS, 2013; BONATTI e FRANCO, 2014).

O monitoramento e investigação desses protozoários em fontes notórias como os afluentes e efluentes sanitários, e o lodo de estações de tratamento de esgoto, são essenciais na obtenção de indicativos da prevalência de infecções parasitárias na população atendida, além de agregar indícios sobre a situação de circulação desses organismos nos ambientes onde há disposição de esgoto e lodo. Sobretudo, este tipo de estudo pode fornecer indicativos da potencialidade de processos de tratamento na remoção dos (oo)cistos, auxiliar futuros projetos e pesquisas quanto aos riscos e desafios associados ao controle desses patógenos, e ainda fornecer subsídios aos órgãos governamentais no estabelecimento de legislação adequada para a disposição final e reuso de lodo e efluentes no âmbito dos protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp..

Nesse sentido, o presente trabalho avaliou o desempenho de diferentes processos de tratamento de uma estação de tratamento de esgoto em escala plena na remoção dos cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp., no qual era composta por tratamento preliminar, tratamento biológico anaeróbio em reator UASB e flotação por ar dissolvido, e verificou-se também a presença desses protozoários no lodo proveniente do reator UASB e do flotador. Além do estudo da flotação por ar dissolvido em escala plena, estudou-se o desempenho desse processo em escala de bancada na remoção do parasitos, com o intuito de avaliá-lo em condições mais controladas e otimizadas. A qualidade dos efluentes foi monitorada em termos de variáveis físico-químicas e microbiológicas, buscando-se correlação entre tais variáveis e a presença dos cistos e oocistos.

2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

- Verificar e monitorar a ocorrência e remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas diferentes etapas do sistema de tratamento da Estação de Tratamento de Esgoto Monjolinho – São Carlos/SP.

2.2 – Objetivos Específicos

- Monitorar as concentrações de (oo)cistos afluentes a ETE Monjolinho, que podem refletir indiretamente as condições da saúde pública na cidade de São Carlos.
- Avaliar a capacidade de retenção de (oo)cistos pelo tratamento preliminar, pelo reator UASB e pelo processo de flotação por ar dissolvido, por comparação de qualidade parasitológica dos afluentes e efluentes de tais sistemas de tratamento.
- Verificar a eficiência do equipamento Flotateste de escala de bancada, operando em condições controladas e otimizadas, na retenção de (oo)cistos, e ainda comparar com o flotador por ar dissolvido em escala real.
- Verificar a ocorrência desses protozoários no lodo do reator UASB e do sistema de flotação por ar dissolvido, analisando a tendência desses sistemas em concentrar os (oo)cistos por seus processos físicos.
- Avaliar a qualidade das amostras a partir da análise de variáveis físico-químicas e microbiológicas, e buscar correlações com a presença dos protozoários.
- Verificar as possíveis variações das concentrações de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em diferentes épocas do ano.

3 – REVISÃO DA LITERATURA

3.1 – Aspectos importantes sobre *Cryptosporidium* spp.

Cryptosporidium spp. é um protozoário patogênico pertencente ao Filo Apicomplexa, Classe Sporozoasida, Subclasse Coccidiasina, Ordem Eucoccidiorida, Subordem Eimeriorina, Família Cryptosporidiidae (TZIPORI e WARD, 2002 apud LEVINE et al, 1988).

Em 1907, o pesquisador Tyzzer descreveu a primeira espécie, *Cryptosporidium muris* (USEPA, 2001). Não era considerado um causador de doenças em humanos, até os primeiros casos de criptosporidiose relatados em 1976 (ROSSIGNOL, 2010; USEPA, 2001).

De acordo com Ryan et al. (2014), atualmente, há 26 espécies de *Cryptosporidium* spp. consideradas válidas com base em características morfológicas, biológicas e moleculares. Dentre as espécies, pelo menos 20 já foram detectadas em humanos, sendo *Cryptosporidium hominis* e *Cryptosporidium parvum* as mais preocupantes do ponto de vista da saúde pública por serem responsáveis pela maioria dos casos de infecção (RYAN et al., 2014).

O ciclo de vida do parasito é completado em um único hospedeiro (ciclo monoxeno) e envolve fase sexuada e assexuada.

Após a ingestão dos oocistos, ocorre primeiramente o desencistamento, processo pelo qual a parede dos oocistos se abre através de sua sutura e ocorre a liberação de quatro esporozoítos infecciosos que se ligam às microvilosidades intestinais, essa ligação está intimamente vinculada ao complexo apical desses organismos. Forma-se então um vacúolo parasitóforo intracelular, porém extracitoplasmático. Nesse local os esporozoítos transformam-se em trofozoítos, e então inicia-se a fase de reprodução assexuada no hospedeiro conhecida como merogonia. Nessa fase ocorre a divisão do trofozoítos formando os merontes, que podem ser do Tipo I e Tipo II, e esses por sua vez dão origem aos merozoítos. Os merozoítos originados pelo meronte Tipo I são capazes de infectar outras células e repetir a reprodução assexuada. Já os de Tipo II iniciam o ciclo sexuada (gametogonia), gerando gametas masculinos (microgametócitos) e femininos (macrogametócitos). A divisão nuclear dos microgametócitos leva a produção de inúmeros microgametas que são liberados para fertilizar os macrogametócitos, originando o zigoto. O zigoto se transforma em oocisto, e ocorre a fase esporogonia na qual os quatro esporozoítos se desenvolvem dentro do oocisto. São formados oocistos de parede espessa e oocistos de parede delgada, que são liberados no intestino. Os oocistos de parede espessa, prontamente infectantes, são eliminados com as fezes, iniciando novamente o ciclo. Enquanto que os

oocistos de parede delgada estão, provavelmente, envolvidos em processos de autoinfecção. O ciclo biológico completa-se geralmente entre 12 e 14 horas e pode variar de acordo com o hospedeiro e a espécie de *Cryptosporidium* spp. (CURRENT e GARCIA, 1991; SMITH et al., 2005; CACCIÒ e WIDMER, 2014). A Figura 3.1 ilustra o ciclo de vida do protozoário *Cryptosporidium* spp..

Figura 3.1: Esquema ilustrativo do ciclo de vida do protozoário *Cryptosporidium* spp.

Fonte: Adaptado de Current e Garcia (1991).

Assim, os oocistos são o estágio pelo qual o protozoário *Cryptosporidium* spp. pode ser transmitido de um indivíduo infectado para outro susceptível via oral-fecal. São múltiplas as rotas de transmissão: pessoa-pessoa por contato direto ou indireto; animal-animal; animal-homem; água contaminada; alimento contaminado (FAYER et al., 2000).

A veiculação hídrica é umas das vias mais preocupantes quanto a transmissão desse parasito, já que por esse meio pode-se atingir facilmente um grande contingente da população (LIMA e STAMFORD, 2003).

Diversos surtos de veiculação hídrica causados por *Cryptosporidium* spp. já foram relatados mundialmente (BALDURSSON e KARANIS, 2011). Um surto de grande destaque ocorreu em Milwaukee, onde mais de 400 mil pessoas foram infectadas. Acredita-se que o motivo desse surto se deu por conta de falhas operacionais no processo de filtração da estação de tratamento de água da cidade permitindo a passagem de oocistos para a água tratada que foi distribuída à população (MAC KENZIE et al., 1994).

Há casos relatados de pacientes assintomáticos (AL-MEKHLAF et al., 2011), já em situações de pacientes sintomáticos a evolução clínica, severidade e persistência da infecção pode variar de pessoa a pessoa, dependendo em grande parte de seu estado imunológico (FAYER, 2004). Dentre os sintomas estão a diarreia, náusea, vômito, febre, perda de peso, problemas respiratórios, e ocasionalmente, mialgia, fraqueza, dores de cabeça e anorexia (CURRENT e GARCIA, 1991; FAYER, 2004). Dentre os indivíduos mais afetados estão idosos e crianças (NEILL et al., 1996; GATEI et al., 2006).

Em indivíduos imunocompetentes, os sintomas da doença podem se limitar num período de 1 a 3 semanas (BOUZID et al., 2013), enquanto que pessoas imunocomprometidas sofrem com a maior persistência dos sintomas (CHEN et al., 2002), além disso a criptosporidiose pode resultar em significativa mortalidade desses pacientes (MANABE et al., 1998).

A incidência de criptosporidiose pode ser significativamente afetada pela sazonalidade, sendo mais comumente relatada em estações mais quentes e chuvosas (JAGAI et al., 2009), assim o aumento da temperatura e de precipitações está associado ao aumento de incidência da doença (PERCH et al., 2001; JAGAI et al., 2009). Além da variação sazonal, há variação na distribuição geográfica das espécies de *Cryptosporidium* spp. que afetam humanos (CACCIÒ e WIDMER, 2014).

A morfologia dos oocistos varia de espécie para espécie em dimensão e forma (O'DONOGHUE, 1995), possuem tamanho de 3,5 a 8,5 µm e formato esférico ou ovóide (O'DONOGHUE, 1995; PEREIRA et al., 2009; FRANCO et al., 2012).

Diversas características dos oocistos facilitam sua dispersão e resistência no ambiente, influenciando a epidemiologia da criptosporidiose.

O tamanho reduzido dos oocistos pode permitir sua passagem em processos usualmente empregados no tratamento de água. Durante a filtração, os oocistos de *Cryptosporidium* spp. apresentam características de compressibilidade, levando-os a se comportarem como partículas de 2 a 4 µm (HSU e YEH, 2003; CAREY et al., 2004), assim tanto seu traspasse para a água tratada como sua distribuição aos consumidores é facilitada

(FRANCO et al., 2012). Segundo Alum et al. (2014), a característica de resistência e maleabilidade dos oocistos se dá pela presença de uma camada interna de glicoproteína.

As doses infectantes de oocistos para causar doença em humanos podem ser extremamente baixas. Okhuysen et al. (1999) estimaram dose infectante de 9 a 1024 oocistos de *C. parvum*, enquanto Chappell et al. (2006) relataram que 10 a 83 oocistos de *C. hominis* já são suficientes para causar doença. A baixa dose infectante aliada às altas quantidades de oocistos infectantes eliminados pelos hospedeiros, e ao grande número de possíveis hospedeiros para os oocistos (FAYER et al., 2004), colaboram na contaminação ambiental e na transmissão desses protozoários (SMITH et al., 2006). Heller et al. (2004) encontraram uma média de $1,5 \times 10^{10}$ oocistos em fezes de bezerro infectado.

A composição e estrutura (robusta e impermeável) da parede dos oocistos são os fatores determinantes para sua resistência contra pressões ambientais (JENKINS et al., 2010), permitindo que persistam no ambiente por um longo período de tempo mesmo em condições desfavoráveis (FAYER, 2004; REINOSO et al., 2008). Estudos ainda indicam que sedimentos presentes em ambientes, aquáticos ou terrestres, favorecem a sobrevivência dos oocistos por oferecer um efeito protetivo (ROBERTSON et al., 1992; ALUM et al., 2014). Além da resistência contra pressões ambientais, os oocistos são resistentes aos processos de desinfecção usualmente utilizados em estações de tratamento de água ou esgoto (MEDEIROS, 2010).

3.2 – Aspectos importantes sobre *Giardia* spp.

O protozoário *Giardia* spp. foi descrito pela primeira vez em 1681 por van Leeuwenhoek, quando examinava amostras das próprias fezes diarreicas em microscópio (ADAM, 2001). De acordo com as características genéticas, estruturais e bioquímicas, esse organismo é considerado pertencente ao Filo Metamonada, Subfilo Trichozoa, Superclasse Eopharyngia, Classe Treponomadae, Subclasse Diplozoa, Ordem Giardiida e Família Giardiidae (PLUTZER et al., 2010; CAVALIER-SMITH, 2003).

Segundo Ryan e Cacciò (2013), atualmente, 6 espécies de *Giardia* são aceitas pela maioria dos pesquisadores, com base na morfologia dos trofozoítos e/ou cistos, e dentre as espécies estão: *Giardia agilis* (hospedeiros: anfíbios), *Giardia ardeae* e *Giardia psittaci* (hospedeiros: aves), *Giardia microti* e *Giardia muris* (hospedeiros: roedores), por fim *Giardia duodenalis* (hospedeiros: mamíferos). *Giardia duodenalis* (sin. *Giardia intestinalis*; *Giardia lamblia*) é a única espécie encontrada em humanos (THOMPSON, 2004), porém as

assembleias A e B dessa espécie já foram identificadas em animais domésticos e selvagens (SMITH et al, 2006), sendo este um fator facilitador na transmissão da doença para humanos.

O ciclo de vida desse parasito é simples: depois da ingestão dos cistos pelo hospedeiro e passagem pelo estômago, ocorre o desencistamento no intestino delgado, causado, provavelmente, pela exposição ao ácido gástrico e/ou exposição a proteases pancreáticas (ADAM, 2001; LEBWOHL et al., 2003). Com o desencistamento, ocorre a liberação de trofozoítos, que se replicam por divisão binária, e então habitam o intestino delgado através da adesão à superfície epitelial por discos adesivos, provocando sintomas de diarreia e má absorção. O encistamento dos trofozoítos é decorrente de exposição aos sais biliares. Os cistos e trofozoítos são liberados nas fezes, possibilitando a transmissão e infecção de novos hospedeiros (ADAM, 2001; LEBWOHL et al. , 2003).

A ingestão de poucos cistos é suficiente para causar infecção. Foi demonstrado em 1954 que a ingestão de 10 cistos causaram infecção em dois voluntários (RENDTORFF, 1954). E indivíduos humanos infectados podem liberar mais de 2×10^6 cistos por grama de fezes (SMITH et al. 2006).

O cisto, forma resistente ambientalmente, permite amplas oportunidades de transmissão, desde a transmissão direta de um indivíduo a outro até transmissão indireta através da contaminação ambiental ou de alimentos (THOMPSON, 2004).

A maioria dos surtos de giardiose foram ligados ao consumo de água contaminada (RYAN e CACCIÒ, 2013), tornando a veiculação hídrica desse parasito uma das principais vias de transmissão.

Baldursson e Karanis (2011) relataram 199 surtos de veiculação hídrica causados por protozoários no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2010. Foi constatado que *Cryptosporidium* spp. foi o agente etiológico em 60,3% dos surtos, enquanto que *Giardia duodenalis* foi responsável por 35,2% dos surtos.

A maioria dos indivíduos infectados por *Giardia* spp. tem poucos ou nenhum sintoma (FARTHING, 1992). Quando sintomáticos, os pacientes sofrem com diarreia, dores abdominais, distensão abdominal, náusea, vômito, desidratação, má absorção intestinal e perda de peso (BURET e COTTON, 2011).

Para o tratamento da doença, os fármacos nitroimidazóis e benzimidazóis são frequentemente usados. Alguns hospedeiros ainda podem desenvolver imunidade contra a doença, porém pode levar meses para produzirem anticorpos com capacidade de eliminar os parasitos (THOMPSON, 2004).

Os cistos de *Giardia* possuem dimensão aproximada de 8 a 15 μm (FRANCO et al., 2012), e são extremamente resistentes a condições ambientais adversas, sobrevivendo no ambiente por semanas ou meses (RYAN e CACCIÒ, 2013). De acordo com alguns estudos, os cistos podem apresentar variação sazonal no ambiente e também geográfica (CASSON et al., 1990; CACCIÒ et al. 2003; AJONINA et al. 2013).

De acordo com Paget et al. (1989) os cistos têm taxa metabólica de 10 a 20% daquela apresentada pelos trofozoítos, e em baixas temperaturas a utilização de substratos pelos cistos é reduzida. Tais fatores podem colaborar para o prolongamento do tempo de vida desses organismos no ambiente.

Em estudo realizado por Olson et al. (1999) foi relatado que cistos de *Giardia* spp. se mostraram infectivos em temperatura de 4°C por 11 semanas na água, 7 semanas no solo e 1 semana em fezes de bovinos, e se tornaram não infectivos em água, fezes e solo após 1 semana à temperatura de -4°C e após 2 semanas à 25°C.

Processos de filtração em estações de tratamento podem ser eficientes barreiras para remoção de cistos da água, principalmente os processos de filtração em membrana que vêm ganhando destaque na remoção dos parasitos (PLUTZER et al. 2010).

Já com relação a processos comuns de desinfecção, os cistos se mostram resistentes. Alguns estudos revelaram que a radiação ultravioleta não é completamente eficiente na inativação de cistos (CANTUSIO NETO et al., 2006; MEDEIROS, 2010). Entretanto, Hijnen et al. (2006) demonstraram que esse método de desinfecção inativou eficientemente cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. A desinfecção com cloro apesar de amplamente utilizada se mostra pouco efetiva contra os cistos de *Giardia* spp., sendo necessárias altas concentrações de cloro e longos tempos de contato para obtenção de melhores resultados. O ozônio é um dos desinfetantes com maior potencial para inativação desses protozoários (JARROLL et al., 1981; KHALIFA et al., 2001).

3.3 – Limitações e dificuldades do Método 1623.1 para detecção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

O Método 1623.1 (USEPA, 2012) é a versão mais atualizada do método de detecção de protozoários patogênicos criado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. Ele é reconhecido e adotado em diversos países, além de apresentar diversas vantagens e melhor desempenho em recuperação dos protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

quando comparado a outros métodos que eram comumente empregados como “ICR *Protozoan Method for detecting Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts in water by fluorescent antibody procedure*”, ou o método da precipitação química ou floculação em carbonato de cálcio (HSU et al., 2001; FRANCO et al., 2012). Contudo, ainda há dificuldades para sua implantação e prática, assim como limitações em função da qualidade da matriz em estudo.

Na Tabela 3.1 estão apresentadas algumas das principais limitações dos métodos de detecção de protozoários, incluindo o Método 1623 (USEPA, 2005) versão anterior ao Método 1623.1, de acordo com Franco et al. (2012).

Tabela 3.1: Limitações do métodos de detecção de protozoários.

Fatores limitantes
Custos elevados de materiais e equipamentos; necessidade de insumos importados
Requerimento de recursos humanos especializados
Variabilidade dos resultados
Baixa eficiência de recuperação, na faixa de 1% a 50%
Composição físico-química da amostra pode influenciar na eficiência de recuperação do método
Não identifica espécie, baseado apenas na presença-ausência; além de não fornecer informações sobre infecciosidade dos organismos detectados

Fonte: Franco et al., 2012.

Os métodos de detecção de protozoários são um desafio, sendo ainda necessário o constante estudo do comportamento de diferentes matrizes diante dos métodos, e a introdução de modificações que melhorem seus desempenhos. De acordo com o Método 1623.1 (USEPA, 2012), há a possibilidade de modificações em suas etapas, desde que as porcentagens de recuperação estejam dentro dos critérios de aceitação estabelecidos por ele.

A seguir, serão apresentados estudos que utilizaram o método proposto pela USEPA para identificação dos protozoários, concomitantes aos resultados referentes à interferência individual de diversos fatores como turbidez, pH, presença de ferro, na eficiência do método.

3.3.1 – Turbidez

O Método 1623.1 (USEPA, 2012) indica que turbidez causada por compostos orgânicos e inorgânicos pode interferir na concentração, separação e identificação de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp.. Mas, apesar de considerado um forte interferente, a presença dos (oo)cistos tem sido frequentemente associada à turbidez de amostras de água assim como de esgoto, devido à facilidade de aderência dos parasitos aos compostos orgânicos e inorgânicos (ATHERHOLT *et al.*, 1998; MEDEMA *et al.*, 1998; KHANUM *et al.* 2011).

A interferência da turbidez na recuperação de (oo)cistos ou a associação dessa variável à presença dos mesmos é assunto pouco compreendido e, ainda se nota uma ausência de consenso entre os pesquisadores (CANTUSIO NETO, 2008).

McCuin *et al.* (2001) verificaram a variabilidade de recuperação de (oo)cistos por separação imunomagnética (IMS) em 3 matrizes de água (A, B e C), sendo que todas as 3 matrizes foram analisadas para diferentes valores de turbidez (50, 500 e 5000 uT). Os resultados indicaram, para as matrizes A e B, pouca redução na recuperação de oocistos de *Cryptosporidium parvum* com o aumento da turbidez de 50 para 500 uT, porém para a matriz C houve melhores valores de recuperação para cistos de *Giardia duodenalis* com o constante aumento da turbidez (55,9±4,6% em 50 uT, 62,7±6,8% em 500 uT e 70,7 ± 6,3% em 5000 uT).

Em contraste, Campbell e Smith (1997) ao usarem IMS detectaram melhores índices de recuperação de oocistos, de 47,6% ±10,4%, para amostras de água com menor turbidez (40 a 60 uT), quando comparadas a amostras com 600 uT em que houve uma queda na média de recuperação para 29,0% e maior desvio padrão (± 34,0%).

Enquanto pesquisadores revelaram que há correlação positiva entre turbidez e os índices de recuperação de (oo)cistos (DiGiorgio *et al.*, 2002; CHANG *et al.*, 2007), Francy *et al.* (2004) encontraram significativa correlação negativa para amostras de baixo a moderado nível de turbidez, e ainda relataram que para amostras com turbidez superior a 100 uT e sólidos suspensos superior a 100 mg/L obtiveram as menores médias de recuperação (inferior a 20%).

Feng *et al.* (2003) utilizando o Método 1622, mostraram através de testes estatísticos que amostras de água provenientes de um reservatório natural com valores de turbidez variando de 1,8 a 40 uT conduziram a melhores médias de recuperações de oocistos (24,9 a 85%) do que amostra de água de torneira apresentando turbidez de 0,2 uT (média de 14,4%).

As melhores recuperações foram obtidas para amostras do reservatório com turbidez de 1,8 a 5 uT, com maior recuperação para turbidez igual a 5 uT. Os autores concluem que há uma faixa ótima de turbidez que promove aumento na recuperação de oocistos, provavelmente porque os oocistos se aderem às partículas em suspensão, tornando mais fácil sua captura.

3.3.2 – Tamanho das partículas

Feng et al. (2003) adicionaram partículas de sílica à água da torneira para analisarem o efeito de quatro faixas de tamanho de partículas em suspensão na recuperação de oocistos. Em amostras com partículas de 5 a 63 µm foram alcançadas recuperações significativamente maiores do que as obtidas com água da torneira sem sílica, porém para partículas com tamanho superior a 63 µm não foram verificadas diferenças estatisticamente expressivas. Além do tamanho, os autores confirmaram que a concentração das partículas em suspensão também afetou o método de detecção.

Os resultados obtidos por Krometis et al. (2009) mostraram que a média de recuperação de (oo)cistos se reduziu com o aumento do número de partículas em suspensão, além disso, a diminuição da recuperação de *Giardia* spp. estava correlacionada com o aumento da concentração de partículas com tamanho de 2 a 30 µm. A recuperação de *Cryptosporidium* spp. foi prejudicada com o aumento de partículas com diâmetro de 2 a 10 µm. Krometis et al. (2009) sugeriram que a recuperação de *Cryptosporidium* spp. é negativamente impactada por partículas menores, que são geralmente predominantemente inorgânicas, enquanto *Giardia* spp. é afetada por uma faixa maior de partículas de diferentes tipos e tamanhos.

3.3.3 – pH

Pesquisadores questionam sobre a interferência do pH fora da neutralidade, afirmando que baixas recuperações podem ser obtidas quando a alcalinidade ou acidez de determinadas amostras não são adequadamente tamponadas e corrigidas durante a etapa de IMS (etapa descrita no item 4.5.1.2), porém quando ajustadas e mantidas a pH 7 é possível um acréscimo de 26,3% na recuperação dos protozoários. Além disso, a adição dos reagentes tampão do Kit IMS não garante a neutralidade com o decorrer do tempo e do procedimento IMS, por isso é recomendado um controle do pH mesmo após a adição dos reagentes tampão (KUHN *et al.*, 2002; USEPA, 2012). Uma possível explicação seria que a ausência do pH ótimo levaria a uma mudança na afinidade entre os anticorpos monoclonais e os (oo)cistos, levando a perdas na recuperação (KUHN *et al.*, 2002).

Francy et al. (2004) analisaram apenas o efeito do pH inicial da amostra sobre o método, diferentemente do que foi proposto por Kuhn et al.(2002), e não foi detectada nenhuma interferência negativa na recuperação de oocistos. Além disso, ao avaliarem possível correlação entre média de recuperação e alcalinidade, verificaram que não havia nenhuma relação entre ambas.

3.3.4 – Variabilidade na recuperação dos (oo)cistos

A variabilidade na recuperação de (oo)cistos pelo Método 1623 foi assunto de pesquisa para ONGERTH (2013), que identificou grande variabilidade na recuperação de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em amostras de água provenientes de um mesmo local durante um curto espaço de tempo. McCuin e Clancy (2005) também notaram significativa variação na recuperação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. para amostras de esgoto bruto e tratado.

Da mesma maneira, Krometis et al. (2009) verificaram resultados variáveis, com recuperações de 3 a 45% para *Cryptosporidium* spp., e de 0 a 74% para *Giardia* spp..

Dentro dos padrões atuais estabelecidos pela USEPA (2012) para a detecção de protozoários se considera aceitáveis valores de recuperação de 32% a 100 % para *Cryptosporidium* spp. e de 8 % a 100 % para *Giardia* spp., indicando como pode ser ampla a faixa de recuperação desses organismos.

3.3.5 – Presença de materiais interferentes

A etapa de reação por imunofluorescência direta (RID) prevista pelo Método 1623.1, cujo objetivo é a visualização e identificação dos (oo)cistos em microscópio pode ser prejudicada pela presença de material particulado na amostra (SARTORI, 2007), fato que pode dificultar a leitura e contagem dos parasitos.

Além disso, materiais que autofluorescem, como algas, ou reagem com os anticorpos monoclonais da RID podem levar a resultados falsos-positivos (KOOMPAPONG et al., 2009; NASSER *et al.*, 2012), interferindo na qualidade das análises e conclusões de estudos.

Feng et al. (2003) notaram muitos oocistos encobertos pelos sedimentos presentes nas amostras, resultando em uma fraca fluorescência transmitida a partir da ligação dos corantes FITC (isotiocianato de fluoresceína ou em inglês fluorescein isothiocyanate) e DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol ou em inglês 4',6-diamidino-2-phenylindole) com os protozoários. Assim os pesquisadores acreditam que muitos outros oocistos provavelmente foram

totalmente encobertos pelas sujidades das amostras, impossibilitando sua visualização e contagem.

A etapa de imunofluorescência é tratada como etapa chave no monitoramento de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., assim o Método 1623.1 (USEPA, 2012) sugere a necessidade de pessoas altamente qualificadas para a identificação e confirmação final dos protozoários.

De acordo com Cantusio Neto (2004), nessa etapa é essencial utilizar alguns elementos que possibilitem a confirmação das características morfológicas internas dos protozoários, como o uso do corante DAPI e a visualização em contraste de fase. A utilização desses elementos pode evitar os resultados falsos-positivos prejudiciais à análise.

3.3.6 – Presença de Ferro

O ferro é outra variável que pode limitar a eficiência do método, sendo este elemento comumente encontrado em águas superficiais, águas subterrâneas, e também associado ao esgoto bruto em concentrações de 0,5 a 20 mg.L⁻¹ e ao lodo de ETE em concentrações de 5000 a 30000 mg/kg (YAKUB e STADTERMAN-KNAUER, 2000).

Yakub e Stadterman-Knauer (2000) estudaram a interferência do ferro, em diversas concentrações, sobre a IMS seguida de reação por imunofluorescência. Suas considerações iniciais sobre as causas dessa interferência eram: acidificação do meio pela hidrólise do ferro com formação de íons H⁺, o que prejudicaria o desempenho da etapa de IMS que requer pH neutro; aparição de formas insolúveis de ferro e hidróxidos que elevariam a turbidez do meio; interação entre ferro aquoso e alguns constituintes da parede celular de microrganismos, dificultando por sua vez a associação das microesferas magnetizadas aos (oo)cistos; atividade magnética do ferro.

Em suma, os resultados obtidos revelaram que concentrações de ferro dissolvido superiores a 4 mg.L⁻¹ interferiram significativamente na recuperação de oocistos de *Cryptosporidium* spp., enquanto que para *Giardia* spp. a recuperação foi muito prejudicada a partir de 100 mg.L⁻¹, evidenciando a maior sensibilidade do *Cryptosporidium* spp. ao ferro. Os autores concluíram que o efeito do pH sobre a IMS-imunofluorescência não foi significativo, mas que a interação ferro dissolvido e superfície dos (oo)cistos é um forte limitante do método.

Kuhn et al. (2002) analisaram amostras de dois rios, com concentrações de ferro de 0,59 e 3,59 mg.L⁻¹, verificando se a presença de ferro poderia afetar adversamente a recuperação de oocistos na etapa de IMS. Foi observado que ao concentrar as amostras e

transferi-las para o tubo de lado plano para a primeira purificação do IMS, sedimentos de cores pretas ou de ferrugem foram atraídos pelo imã e o lado plano do tubo reto estava quase totalmente ocupado por essas partículas. Porém, não foi detectado efeito negativo na eficiência da etapa de IMS pela presença de ferro e materiais magnéticos. E ainda as amostras em que o ferro foi removido apresentaram menores recuperações de oocistos que aquelas que não foram manipuladas.

Da mesma maneira, Francy et al. (2004) concluíram, de acordo com seus resultados, que a recuperação de oocistos pelo Método 1623 (USEPA, 2005) não é alterada pela presença de ferro dissolvido na amostra em estudo.

O Método 1623.1 alerta sobre o prejuízo ao método causado pela presença de ferro em amostras complexas, e passa instruções sobre como remover materiais magnéticos das amostras durante a etapa de IMS.

3.3.7 – Métodos de dissociação

A escolha do protocolo para dissociar os (oo)cistos das microesferas magnetizadas é outro fator crítico (FRANCO et al., 2012).

Ware et al. (2003) defendem a dissociação térmica, que incorpora o aquecimento de (oo)cistos a 80°C por 10 minutos, ao invés da dissociação ácida. Quando comparada à dissociação ácida, a dissociação térmica acarretou aumento na recuperação de oocistos de 10% para 51% em amostras ambientais de água, e ainda melhorou os resultados do teste confirmatório de morfologia com o corante vital DAPI, de 48% para 73%. Os autores acreditam que o aquecimento pode aumentar a permeabilidade da parede celular facilitando a confirmação pelo corante DAPI, e ainda elimina a limitação na recuperação de oocistos ocasionada pela variação de pH associada a dissociação ácida.

De acordo com o Método 1623.1 (USEPA, 2012), adição de ácido a algumas matrizes de água pode gerar reações químicas interferentes, prejudicando a eficiência de recuperação do método.

3.4 – Pesquisas relacionadas a *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. no Brasil

Ainda não foram desenvolvidas muitas pesquisas sobre os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. no Brasil, sendo a maior parte delas concentrada nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro (MEDEIROS, 2013). Apesar disso, estudos com diversas abordagens alertam sobre os problemas desses patógenos no país.

Franco e Cordeiro (1996), Prado et al. (2003), Mascarini e Donalísio (2006) e Teixeira et al. (2007) mostram em suas respectivas pesquisas que a criptosporidiose e a giardiose representam uma importante causa de morbidade em crianças de zero a 5 anos. Teixeira et al. (2007) constataram a prevalência de giardiose em 18% de crianças residentes de 29 áreas de assentamento em Juiz de Fora, sendo os principais fatores de risco o número de crianças menores de cinco anos residentes na moradia, ordem de nascimento das crianças, inexistência de banheiro e origem da água de consumo.

Borges et al. (2011) levantaram dados a respeito da incidência de parasitos intestinais em pacientes atendidos pelo serviço público na cidade de Cumari, Goiás. *Giardia duodenalis* apresentou destaque pela elevada prevalência nos pacientes, que se manteve constante durante o período de pesquisa, e ainda pela elevada incidência em diferentes faixas etárias. Em média 33,6% das 1029 amostras analisadas foram positivas para *Giardia duodenalis*. Os autores ainda ressaltam a importância desse tipo de estudo, diante da escassez de registros de parasitoses intestinais no país.

Marques et al. (2005) avaliaram a prevalência de parasitos na população de Concórdia, Santa Catarina, e verificaram a prevalência de 15,9% para o parasito *Giardia duodenalis*.

Estudos também apontam para prevalência significativa de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em animais, como cães, equinos e bezerros, e alertam sobre o potencial de transmissão zoonótica desses organismos (FEITOSA et al., 2004; GOMES et al., 2008; SILVA, 2010).

Os recursos hídricos brasileiros também são objetos de estudo de pesquisadores, que reportam a ocorrência frequente e significativa dos parasitos. Cantusio Neto et al. (2010) monitoraram a ocorrência de protozoários no rio Atibaia na cidade de Campinas, cistos de *Giardia* spp. foram detectados em 87,5% das amostras em concentrações que variaram de 2,5 a 120 cistos.L⁻¹, e os oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram encontrados com frequência pouco menor, cerca de 62,5%, com concentrações de 15 a 60 oocistos.L⁻¹. Os resultados desse estudo foram associados ao despejo de esgoto sanitário não tratado no rio.

Sato et al. (2013) conduziram estudo em águas superficiais usadas como fontes de abastecimento de quatro regiões urbanizadas no estado de São Paulo. Um total de 206 amostras foram analisadas, cistos de *Giardia* spp. foram detectadas em 49,5% das amostras, apresentando concentrações entre 0,1 e 97 cistos.L⁻¹, enquanto que os oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram positivos em 9,2% das amostras, com concentrações de 0,1 a 6 oocistos. L⁻¹. Os riscos de infecção por crianças e adultos nas regiões do estudo foram

avaliados e considerados significativos. O despejo de esgoto foi considerado como principal fator dos níveis de contaminação dos recursos hídricos estudados.

Razzolini et al. (2010) investigaram a presença dos protozoários em águas de abastecimento tratadas na região sudeste do país, as concentrações de cistos de *Giardia* spp. variaram de não detectado a 0,06 cistos.L⁻¹, e os oocistos *Cryptosporidium* spp. de não detectado a 0,01 oocistos.L⁻¹. Apesar de as concentrações não serem elevadas, os autores consideraram importante o monitoramento desses organismos em águas de abastecimento não tratadas e tratadas.

Leal (2005) procurou avaliar a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em dois mananciais (subsistemas Itapecerica e Pará - MG) que abastecem uma população de aproximadamente 200 mil pessoas, e ainda a prevalência da giardiose em uma amostra da população abastecida por esses mananciais. Foi notado que os mananciais estavam contaminados com os parasitos e as taxa de prevalência *Giardia* spp. observadas foram de 3,2% e 4,1% nas pessoas residentes das áreas abastecidas pelos subsistemas Itapecerica e Pará, respectivamente.

Cantusio Neto e Franco (2002) analisaram amostras de água mineral engarrafada de diversas marcas, tendo em vista o crescente consumo desse produto no Brasil. Cistos de *Giardia* spp. não foram encontrados, enquanto que oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram detectados em duas amostras em quantidades de 0,2 a 0,5 oocistos.L⁻¹. Os resultados dessa pesquisa são de extrema importância, pois o nível de oocistos detectado já foi considerado suficiente para causar infecção.

A ocorrência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. no esgoto sanitário também vem tomando espaço nas pesquisas, como é o caso dos estudos feitos por Heller et al. (2004), Cantusio Neto et al. (2006), Tonani et al. (2013), Medeiros (2013), Goulart (2013), entre outros. Esses estudos revelam altas quantidades dos parasitos no esgoto com frequência elevada, confirmando a alta prevalência dessas doenças parasitárias no país, e o fato de o esgoto ser uma fonte potencial de parasitos contribuindo fortemente para contaminação ambiental e para riscos de infecções da população.

3.5 – Ocorrência dos protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em esgoto bruto e tratado

No Brasil, não são muitos os estudos que relatam a presença de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em afluentes, efluentes e lodo de estações de tratamento de esgoto (ETEs), assim como a remoção e inativação desses protozoários pelos mais diversos

processos de tratamento de esgoto (CUTOLO e ROCHA, 2000; FARIAS et al., 2002; HELLER et al., 2004; IACOVSKI et al., 2004; SANTOS et al., 2004; CANTUSIO NETO et al., 2006; BONATI, 2007; MEDEIROS, 2013).

A concentração de microrganismos patogênicos existente no esgoto bruto ou tratado pode ser muito elevada, o que representa riscos de contaminação das águas e riscos à saúde das populações à jusante que fazem algum tipo de uso dessas águas (LIM et al., 2007; KISTEMANN et al., 2008). Na Tabela 3.2 estão expostas as concentrações de (oo)cistos no esgoto bruto e tratado segundo diferentes estudos.

Tabela 3.2: Concentração média de (oo)cistos no esgoto bruto e tratado de ETEs.

Esgoto Bruto (oo)cistos/L		Esgoto Tratado (oo)cistos/L		Local	Referência Bibliográfica
<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>		
1540	26	349	10	Canadá	Payment et al., 2001
1903	200	500	100	Noruega	Robertson et al., 2006
1519	18,8	588	12,2	Espanha	Castro-Hermida et al., 2010
1818	26	8	7	África do Sul	Dungeni e Momba, 2010
4131	NR	1566	NR	Alemanha	Ajonina et al., 2013
218	48	4,4	1,7	Alemanha	Gallas-Lindemann et al., 2013
70000	510	1000	33	Brasil	Medeiros, 2013

Nota: NR: Não realizado.

Os dados relatados na Tabela 3.2, referentes à ocorrência de cistos e oocistos no esgoto em diversos países, revelam que são patógenos de distribuição mundial. Sua alta concentração no esgoto bruto pode refletir as condições de saúde da população com relação à prevalência das doenças giardiose e criptosporidiose (ROBERTSON et al., 2006; AJONINA et al., 2013). Além disso, os altos índices de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. no esgoto tratado retratam o despreparo das estações de tratamento de esgoto na remoção desses patógenos antes de sua disposição final.

A variabilidade das concentrações desses protozoários no esgoto nos diferentes locais de estudo, também observada na Tabela 3.2, pode ser explicada pela sazonalidade dos parasitos, distribuição geográfica, condições de saneamento, condições socioeconômicas do local, grande variabilidade dos resultados gerados pelos diferentes métodos de detecção e identificação de protozoários e ainda de seus índices de recuperação (SMITH e GRIMASON, 2003; CASTRO-HERMIDA et al., 2008; ONGERTH, 2013).

3.6 – Remoção dos protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. por processos de tratamento de esgoto.

Controlar os agentes etiológicos encontrados no esgoto sanitário por processos de tratamento é essencial para limitar sua dispersão e transmissão, e é decisivo na manutenção da segurança à saúde pública (PLUTZER et al., 2010).

Segundo Plutzer et al. (2010), o tratamento efetivo do esgoto é decisivo na prevenção contra infecções por *Giardia* spp., devido à proteção das fontes hídricas contra a contaminação dentro do conceito de "barreiras múltiplas".

Dessa maneira, é necessário amplo conhecimento sobre a origem e dispersão dos patógenos *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. pelo ambiente, assim como sobre os mecanismos pelo qual os processos de tratamento de esgoto controlam e removem os patógenos, e ainda incentivos ao desenvolvimento de pesquisas que visem o aprimoramento desses processos buscando maiores eficiências de remoção e inativação (ROSE et al., 1996; CASTRO-HERMIDA et al., 2010).

Na Tabela 3.3 estão apresentados dados relativos a eficiência de diversos processos de tratamento de esgoto na remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.:

Tabela 3.3: Remoção de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. por processos de tratamento de esgoto sanitário.

Tratamento	Escala	Remoção média em log ou %		Observações	Referência Bibliográfica
		<i>Giardia</i> spp.	<i>Cryptosporidium</i> spp.		
Filtro rápido de areia	Plena	99%	97,9%	O tratamento completo era composto por tratamento preliminar seguido de lodo ativado, filtração e cloração (com tempo de contato de 16 a 24 horas), e obteve-se eficiência de remoção de 99,993% (4,14 log) para <i>Giardia</i> e 99,95% (3,27 log) para <i>Cryptosporidium</i> .	Rose et al. (1996)
Floculação-Sedimentação	Plena	76%	27%	Oocistos não foram detectados em muitas amostras, sendo que a eficiência do método de recuperação desses organismos foi de apenas 10%; alta variabilidade no número de (oo)cistos/L encontrados tanto no esgoto bruto como no efluente tratado.	Payment et al. (2001)
Oxidação com O ₂ - sedimentação	Plena	94,5%	NC	A detecção de <i>Cryptosporidium</i> spp. foi rara, assim não foi avaliada sua remoção pelos respectivos processos de tratamento; resultados indicam que a prevalência de giardiose é maior que a de criptosporidiose; ao analisar apenas o tratamento secundário, concluiu-se que a oxidação com O ₂ seguida de sedimentação foi mais eficiente quando comparado ao lodo ativado seguido de sedimentação.	Cacciò et al. (2003)
Lodo ativado-sedimentação-cloração		96%	NC		
Lodo ativado-sedimentação-filtração-ácido peracético		98,4%	NC		
Lodo ativado	Plena	98,9%	99,7%	Oocistos detectados em apenas 6,4% das amostras analisadas e em baixas concentrações; dificuldades no método de detecção de protozoários; necessidade de pós-tratamento.	Cantusio Neto et al., (2006)

Nota: NC: não calculado.

Tabela 3.3 (Continuação): Remoção de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. por processos de tratamento de esgoto sanitário.

Tratamento	Escala	Remoção média em log ou %		Observações	Referência Bibliográfica
		<i>Giardia</i> spp.	<i>Cryptosporidium</i> spp.		
Ultra-filtração em membrana	Piloto	100%	NC	Para alimentação do reator de ultrafiltração foi utilizado efluente de lodo ativado; resultados referentes à remoção de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. foram limitados pela não detecção dos mesmos no esgoto afluente e tratado; ultra-filtração em membrana é um tratamento potencial na remoção de cistos de <i>Giardia</i> spp. com necessidade de constante monitoramento.	Lonigro et al. (2006)
Lagoa aerada-sedimentação	Plena	93%	33%	Oocistos detectados em apenas 35,4% das amostras analisadas e em baixas concentrações, diferentemente do que ocorreu com os cistos de <i>Giardia</i> spp.; a alta prevalência de infecções por giardiose na Malásia estava em concordância com os resultados encontrados.	Lim et al. (2007)
Aeração estendida com O ₂ -sedimentação		96%	73%		
Sedimentação-lodo ativado-filtro de areia	Plena	99,97%	NR	Os processos de sedimentação e os filtros de areia tiveram o melhor desempenho na remoção dos patógenos. Porém as altas concentrações de cistos ainda detectadas nos efluentes foram consideradas uma ameaça de contaminação dos corpos receptores.	Kistemann et al. (2008)
Wetland	Piloto	0,08 a 1,58 log	0,25 a 1,58 log	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. foram encontrados esporadicamente nas amostras afluentes e tratadas; o processo de filtração promovida pelas <i>wetlands</i> pode ter sido o principal meio de remoção dos protozoários; o método de detecção de protozoários adotado apresentou baixos resultados de recuperação.	Redder et al. (2010)

Nota: NC: não calculado; NR: não realizado.

Tabela 3.3 (Continuação): Remoção de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. por processos de tratamento de esgoto sanitário.

Tratamento	Escala	Remoção média em log ou %		Observações	Referência Bibliográfica
		<i>Giardia</i> spp.	<i>Cryptosporidium</i> spp.		
Floculação-sedimentação	Plena	0,73 log	0,77 log	O valo de oxidação pode ter proporcionado bons resultados de eficiência de remoção dos patógenos pelo elevado tempo de detenção hidráulica; o melhor desempenho de remoção foi para a ultra-filtração precedida de processos anaeróbio-anóxico-aeróbio, com remoção global de 3,63 log para <i>Cryptosporidium</i> spp. e 4,44 log para <i>Giardia</i> spp..	Fu et al. (2010)
Filtro de areia		0,89 log	0,92 log		
Lodo ativado		1,68 log	1,52 log		
Ultra-filtração em membrana		2,4 log	1,84 log		
Valo de Oxidação		2,17 log	2,70 log		
Anaeróbio-anóxico-aeróbio		2,04 log	1,79 log		
Lagoas de estabilização: anaeróbia-facultativa-maturação	Plena	98%	96%	A lagoa anaeróbia teve melhor desempenho individual na remoção dos protozoários; no efluente final oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. e cistos de <i>Giardia</i> spp. foram detectados em 50% e 73% das amostras, respectivamente; houve variação sazonal para remoção de cistos de <i>Giardia</i> spp.	Reinoso et al. (2011)

Tabela 3.3 (Continuação): Remoção de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. por processos de tratamento de esgoto sanitário.

Tratamento	Escala	Remoção média em log ou %		Observações	Referência Bibliográfica
		<i>Giardia</i> spp.	<i>Cryptosporidium</i> spp.		
UASB	Piloto	0,36 log	NC	Cistos de <i>Giardia</i> spp. foram mais frequentemente encontrados que os oocistos de <i>Cryptosporidiu</i> spp.. O sistema UASB e lodos ativados não apresentou altas índices de remoção dos protozoários, enquanto que o filtro de areia apresentou melhora significativa na qualidade do efluente, não sendo encontrado (oo)cistos nas amostras do filtro.	Medeiros (2013)
Lodos Ativados		0,68 log	NC		
Filtro de areia		3 log	2,49 log		
Filtração lenta em areia	Piloto	98,33%	98,46%	Foi concluído que o filtro lento em areia é uma alternativa mais eficiente que o filtro rápido de areia, de maneira que assegurou uma boa qualidade de efluente em termos de remoção dos protozoários. E o efluente desse sistema foi considerado passível de ser usado na irrigação de culturas do país onde se realizou o estudo.	Okojoku et al. (2014)
Filtros biológicos	Plena	40%	NR	A remoção de cistos pelos sistemas de tratamento foram baixas, o que demanda estudos em processos mais eficientes que melhorem a qualidade dos efluentes antes de sua disposição no ambiente, tendo em vista os riscos de surtos na população. Em algumas situações foram detectados mais cistos nos efluentes do que nos afluentes, os autores mencionaram a possibilidade de maior eficiência do método de recuperação dos protozoários nas amostras de efluentes tratados.	Samie e Ntekele (2014)
Lodos Ativados		20%	NR		

Nota: NC: não calculado; NR: não realizado.

Para comparar com maior confiabilidade diferentes estudos relacionados aos tratamentos de remoção de (oo)cistos, é importante analisar as técnicas de amostragem, os parâmetros operacionais dos processos de tratamento, além dos métodos de detecção de protozoários, pois tais fatores podem variar e algumas técnicas podem ser mais eficientes que outras (ROBERTSON et al., 1999).

É essencial dispor de informações com relação à eficiência dos métodos de recuperação de protozoários para permitir avaliar, por exemplo, se baixas concentrações de (oo)cistos detectadas em efluentes tratados realmente representam a verdadeira condição de desempenho de estações de tratamento (ROBERTSON et al., 1999; PAYMENT et al., 2001). Baixos índices de recuperação podem levar a falsa ideia de que determinado tratamento é eficiente na remoção dos parasitos.

3.7 – *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em lodo de ETE

O lodo proveniente de estações de tratamento de esgoto é uma fonte de contaminação por patógenos, como os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. (RIMHANEN-FINNE et al., 2004; CHENG et al., 2009).

O principal destino do lodo de esgoto é o uso na agricultura (MEDEIROS, 2013), e quando utilizado para fertilização de terras ou de pastagens pode permitir a contaminação de aquíferos rasos e alimentos, a transmissão zoonótica, e ainda a contaminação de recursos hídricos superficiais, muitas vezes utilizados para captação de água de abastecimento. Além disso, a ocorrência de eventos de escoamento de águas pluviais em solos contaminados durante precipitações facilita ainda mais a circulação dos (oo)cistos no meio ambiente e a infecção de humanos (GRACZYK et al., 2008; RIMHANEN-FINNE et al., 2004).

Ainda assim, o interesse pelo uso agrícola do lodo de esgoto vem crescendo mundialmente por razões econômicas e ambientais (CHAURET et al., 1999; IACOVSKI et al., 2004; BONATTI e FRANCO, 2014). No que diz respeito ao Brasil, a situação é preocupante, tendo em vista que a legislação brasileira não prevê nenhum tipo de restrição quanto à presença dos parasitos *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. no lodo de esgoto que será destinado à aplicação na agricultura. Além disso, há uma falta de dados no Brasil sobre a presença desses protozoários no lodo (BONATTI e FRANCO, 2014), dificultando o esclarecimento da situação do país nesse quesito e também o trabalho dos órgãos governamentais competentes na elaboração de diretrizes para o reuso seguro desse subproduto.

Estudo conduzido por Westrell et al. (2004) revelou aumento anual de até 25% em doenças por criptosporidiose em uma comunidade que consumia produtos de terras agriculturáveis onde lodo de esgoto era aplicado.

Udeh et al. (2003) investigaram sobre a taxa de inativação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. após a mistura do lodo ao solo. A inativação dos oocistos foi avaliada através de testes de viabilidade com o corante Azul Trypan. Foi concluído que a taxa de inativação foi lenta até os primeiros 45 dias, após isto houve inativação de até 25% dos oocistos. Os autores mencionaram a hipótese de que componentes intrínsecos da mistura lodo-solo podem ser os principais fatores para essa inativação, e descartaram a influência de fatores como desidratação e temperatura.

Bonatti e Franco (2014) realizaram estudo com leiras de lodo de ETE expostas à luz solar. Foi observado, por microscopia eletrônica de varredura, que cistos de *Giardia* spp. sofreram mudanças morfológicas mínimas ao serem expostos aos raios solares por 45 dias, sugerindo que esses organismos são extremamente resistentes nessas condições ambientais adversas.

Para que o reuso do lodo seja realizado de maneira segura deve haver inativação dos patógenos em níveis que não exponham a saúde pública a riscos de infecção (IACOVSKI et al, 2004; RIMHANEN-FINNE et al. 2004; WESTRELL et al., 2004).

São poucos os estudos sobre tratamentos de lodo que conduzam à inativação eficiente de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. Whitmore e Robertson (1995) revelaram que a pasteurização do lodo promoveu a inativação de oocistos quando expostos a uma temperatura 55°C por 2 horas. Graczyk et al. (2008) afirmam que tratamento com ultrassom e micro-ondas, e estabilização com cal higienizam o lodo eficientemente em termos desses parasitos.

Rimhanen-Finne et al. (2004) afirmam que a compostagem podem ser eficiente na inativação de (oo)cistos desde que uma temperatura suficientemente elevada seja alcançada, para isso as leiras devem ser continuamente revolvidas e a temperatura monitorada.

Na maioria dos estudos, a avaliação da viabilidade/infecciosidade dos (oo)cistos não é realizada ou é inconclusiva (SIDHU e TOZE, 2009), o que se torna um problema para a avaliação consistente dos diversos tipos de tratamento de lodo na inativação dos organismos.

A determinação de microrganismos indicadores para os parasitos *Giardia* e *Cryptosporidium* no lodo é extremamente difícil e portanto, deve ser mais explorada por pesquisadores. Rimhanen-Finne et al. (2004), por exemplo, não encontraram correlação entre

microrganismos indicadores (*Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* e enterococos) e os (oo)cistos no lodo de esgoto, e então indicaram que a análise direta dos parasitos é o melhor caminho para confirmar sua presença nesse resíduo.

O lodo é um matriz complexa, e os métodos de detecção de (oo)cistos já testados nesse subproduto ainda não apresentam altas taxas de recuperação (MASSANET-NICOLAU, 2003; IACOVSKI et al., 2004; MCCUIN e CLANCY, 2005). Segundo Massanet-Nicolau (2003), o contato entre (oo)cistos e o lodo pode resultar em uma rápida aderência dos parasitos às partículas, o que dificulta a recuperação e detecção desses organismos.

Além disso, interpretação e comparação dos dados da literatura sobre protozoários patogênicos no lodo é difícil devido a inconsistências nos diferentes procedimentos de amostragem, concentração e recuperação, levando assim à necessidade do desenvolvimento de metodologia padronizada para este fim (LEPEUPLE et al., 2004; SIDHU e TOZE, 2009).

Para Bonatti e Franco (2014) a diferença significativa entre resultados de estudos relacionados com a presença dos parasitos no lodo pode ser explicada pela prevalência da doença nos locais investigados, e ainda características individuais de cada matriz de lodo.

Na Tabela 3.4 estão expostos estudos sobre a presenças dos parasitos *Giardia* ssp. e *Cryptosporidium* spp. em lodo provenientes de ETEs, as metodologias utilizadas, os dados de concentração dos organismos, e algumas considerações dos pesquisadores.

A partir da Tabela 3.4 ainda é possível observar aspectos relevantes como falta de consenso nos métodos de análise, diferentes tipos de lodo em estudo, diferentes unidades utilizadas para expressar as concentrações, e como mencionado, aspectos como esses podem dificultar a comparação de dados e o alcance de conclusões mais sólidas sobre o assunto.

Tabela 3.4: Ocorrência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em lodo de ETEs e métodos de análise.

Tipo das Amostras de Lodo	Concentração Média (Unidade)		Resumo do Método de Detecção	Observações relevantes	Referência Bibliográfica
	<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>			
Lodo bruto	NR	1 a 4 (oocistos.g ⁻¹)	Homogeneização das amostras com solução tampão; concentração das amostras por sedimentação; purificação com IMS; detecção por RID	O método de recuperação de oocistos foi considerado eficiente (39,96%). As quantidades de lodo testadas (1, 2 e 3 gramas) para detecção de oocistos demonstraram forte influencia na eficiência de recuperação do método, sendo 1 grama a quantidade mais adequada.	Iacovski et al. (2004)
Lodo tratado com cal	0,6 (cistos.450mg ⁻¹)	0,2 (cistos.450mg ⁻¹)	Detecção por RID	Os organismos <i>E. coli</i> , <i>C. perfringens</i> e enterococos não se mostraram como bons microrganismos indicadores de protozoários nas amostras de lodo tratado.	Rimhanen-Finne et al. (2004)
Lodo desidratado e estabilizado biologicamente	43 (cistos.kg ⁻¹)	110 (oocistos.kg ⁻¹)	Homogeneização das amostras de lodo com água; concentração por sedimentação/centrifugação; detecção por RID	A concentração de parasitos no lodo foi considerada baixa, porém os (oo)cistos detectados eram viáveis, assim a disposição inadequada desse resíduo representaria riscos à saúde pública	Graczyk et al. (2007)

Nota: NR: Não realizado.

Tabela 3.4 (Continuação): Ocorrência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em lodo de ETEs e métodos de análise.

Tipo das Amostras de Lodo	Concentração Média (Unidade)		Resumo do Método de Detecção	Observações relevantes	Referência Bibliográfica
	<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>			
Lodo desidratado	NR	$7,6 \times 10^2$ (oocistos. $10g^{-1}$)	Homogeneização das amostras de lodo com solução de eluição; remoção de partículas grosseiras por peneiramento; centrifugação; detecção por RID	Foi investigada a redução dos parasitos do lodo desidratado por compostagem termofílica, e observou-se uma redução significativa no número de oocistos, para uma média de $2,3 \text{ oocistos}.10g^{-1}$. Os esporos de clostrídios sulfito redutores foram considerados bons indicadores de oocistos.	Guzman et al., (2007)
Lodo desidratado e digerido biologicamente	27,27 (cistos. g^{-1})	13,47 (oocistos. g^{-1})	Purificação das amostras de lodo (1,5g) por flutuação com fenol-sacarose; Detecção por RID	O estudo mostrou que o lodo continha altas quantidades de (oo)cistos viáveis, e que tratamentos por ultra-som e micro-ondas, e estabilização com cal são eficientes para higienização do lodo.	Graczyk et al. (2008)
Lodo proveniente de tratamento primário	9 (cistos. g^{-1})	20 (oocistos. g^{-1})	Diluição das amostras com água destilada; concentração por sedimentação/ centrifugação; detecção por RID	Lodo é uma fonte de parasitos, levando a necessidade de se pesquisar tratamentos que eliminem os patógenos do lodo antes da disposição final ou uso na agricultura.	Cheng et al. (2009)

Nota: NR: Não realizado.

Tabela 3.4 (Continuação): Ocorrência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em lodo de ETEs e métodos de análise.

Tipo das Amostras de Lodo	Concentração Média (Unidade)		Resumo do Método de Detecção	Observações relevantes	Referência Bibliográfica
	<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>			
Diferentes tipos de lodo provenientes de tratamentos por desidratação, leitos de secagem, digestão anaeróbia	ND	1 (oocistos.2g ⁻¹)	10 mL de amostra de lodo foram processados diretamente por IMS seguido de detecção por RID	Não foram detectados cistos nas amostras, e oocistos foram detectados em apenas 1 das 5 amostras analisadas.	Khouja et al. (2010)
Lodo proveniente de sistemas de lodos ativados	3,2 x 10 ⁴ (cistos.g ⁻¹)	9,94 x 10 ² (oocistos.g ⁻¹)	Tripla-centrifugação; detecção por RID	A maioria dos (oo)cistos se encontravam viáveis. Diante disso e das altas concentrações o autor revela sua preocupação quanto à utilização do lodo de esgoto sem o devido tratamento com vistas aos riscos que a saúde pública pode ser exposta	Medeiros, 2013
Lodo bruto e tratado por compostagem	6 x 10 ² (cistos.g ⁻¹)	50 (oocistos.g ⁻¹)	Homogeneização das amostras de lodo com solução de eluição; detecção por RID	Houve dificuldades na detecção de (oo)cistos no lodo. Os fatores temperatura, pH e força iônica influenciaram na eficiência do método de recuperação dos organismos	Bonatti e Franco (2014)

Nota: ND: Não detectado

4 – MATERIALE MÉTODOS

4.1 – Descrição da área de estudo – ETE Monjolinho

A Estação de Tratamento de Esgoto de São Carlos/SP – ETE Monjolinho está localizada no antigo sítio Santa Adelaide, situado na estrada municipal Cônego Washington José Pêra.

Atualmente a ETE Monjolinho trata 85% de todo esgoto da cidade de São Carlos, sendo este predominantemente doméstico. Atualmente o esgoto chega por gravidade à estação, e apresenta vazão média diária de 650L.s^{-1} e máxima de aproximadamente 900L.s^{-1} .

A tecnologia empregada envolve tratamento biológico anaeróbio associado ao físico-químico. O sistema de tratamento abrange gradeamento (grosso e fino), desarenador aerado para remoção de areia e gordura, seguido de reatores UASB, processo de flotação por ar dissolvido (FAD), processo de desinfecção com radiação ultravioleta, e por fim pós-aeração (escada hidráulica). Porém, a etapa de desinfecção não era objetivo de estudo para essa pesquisa e, portanto, não fez parte do plano de amostragem e análises, assim neste trabalho entende-se por efluente final tratado como efluente após a unidade de flotação, e remoção global como o efeito conjunto apenas dos processos de tratamento preliminar, tratamento biológico em reator UAB e tratamento por flotação por ar dissolvido.

Na figura 4.1 está ilustrado o fluxograma geral da ETE-Monjolinho com os 6 pontos de coleta em destaque.

Figura 4.1: Fluxograma geral da ETE-Monjolinho.(Fonte: Modificado de Fagundes, 2010).

Nas figuras 4.2 e 4.3 são apresentadas fotos aéreas atuais da ETE em estudo, mostrando as principais unidades de tratamento.

Figura 4.2: Tratamento biológico anaeróbico por reatores UASB (vista aérea)

Legenda:

I – Mistura rápida; **II** – Floculação; **III e IV** – Flotadores; **V** – Casa de compressores; **VI** – 3 câmaras de saturação.

Figura 4.3: Unidade de tratamento por flotação por ar dissolvido (vista aérea).

Vale mencionar que o tempo de retenção hidráulica dos reatores UASB e flotador por ar dissolvido é em torno de 6 a 8 horas e 1,5 a 2 horas, respectivamente.

No sistema de flotação por ar dissolvido ocorre a recirculação pressurizada (a uma pressão de 4,5 Bar) de cerca de 15% do efluente clarificado. Para a coagulação do efluente são utilizados os produtos cloreto de polialumínio e polímero catiônico, e a mistura do coagulante com o efluente é realizada com gradiente médio de velocidade de 800 s^{-1} e tempo de mistura rápida de 10 segundos, enquanto que para o polímero o gradiente médio de velocidade é de 400 s^{-1} e o tempo de mistura de 10 segundos. Para a floculação do efluente emprega-se gradiente de médio de velocidade de 60 s^{-1} e tempo de floculação de 20 minutos.

Quanto aos efluentes tratados, esses são despejados no córrego Monjolinho, sendo que os usos de água a jusante do ponto de descarga são predominantemente agrícolas.

Os materiais retidos no gradeamento e na desarenação são encaminhados para aterro sanitário. O lodo excedente dos reatores UASB e o lodo produzido pelo sistema de flotação são desaguados por processo mecânico a partir do emprego de centrífugas, e então encaminhados para aterro sanitário. Estima-se que cerca de 50 toneladas desse subproduto são encaminhados para aterro sanitário, diariamente.

4.2 – Amostragem na ETE - Monjolinho

A amostragem na ETE-Monjolinho foi realizada com 2 objetivos principais: monitoramento da estação quanto às variáveis físico-químicas, microbiológicas e parasitológicas; e avaliação da variabilidade das concentrações de (oo)cistos no esgoto bruto em 3 diferentes trimestres do ano que compreenderam os meses de Janeiro a Setembro.

Foram feitas 8 coletas de monitoramento nos meses de Janeiro a Agosto, sempre por volta das 9 horas da manhã, e nos seguintes pontos da ETE: esgoto bruto após gradeamento grosseiro e fino (PI); efluente do tratamento preliminar (PII); efluente dos reatores UASB (PIII); lodo do reator UASB (PIV); efluente do sistema FAD (PV); lodo do sistema FAD (PVI); assim eram 6 amostras por coleta conforme explicitado na Figura 4.1. Porém, para o esgoto bruto foi realizada uma coleta a mais (início do mês de Setembro), totalizando 9 amostras desse efluente.

O lodo do reator UASB foi coletado a partir de suas tubulações de amostragem em diferentes profundidades, formando uma amostra composta. O lodo do flotador foi coletado no tanque que recebe o lodo flotado e o lodo sedimentado (removido do fundo do flotador).

No caso das amostras de efluentes, eram coletados volumes de 500 mL a 1,5 litro em cada ponto, dependendo do tipo de efluente, para realização das análises parasitológicas; 100 mL para análises microbiológicas; 1 litro para análises físico-químicas. Para as amostras de lodo eram coletados cerca de 250 mL para as análises parasitológicas e 0,5 litro para análises físico-químicas.

Na Tabela 4.1 estão apresentadas as variáveis físico-químicas, parasitológicas, e microbiológicas estudadas nos pontos de coleta.

Tabela 4.1: Relação das variáveis analisadas nos pontos de coleta.

Pontos de Coleta	Variável
Esgoto Bruto	Sólidos (totais, suspensos, dissolvidos); turbidez; cor aparente e verdadeira; DQO total e filtrada; pH; temperatura; alcalinidade parcial e total; cistos de <i>Giardia</i> spp. e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp.; <i>E. coli</i> ; coliformes totais; <i>Clostridium perfringens</i> .
Efluente Tratamento Preliminar	
Efluente UASB	
Efluente FAD	
Lodo UASB	Sólidos totais; pH; temperatura; cistos de <i>Giardia</i> e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> .
Lodo FAD	

Os frascos contendo os volumes destinados à análise parasitológica de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. foram previamente limpos, descontaminados e lavados com solução de eluição contendo Tween 80 a 0,1%, para garantir que os (oo)cistos não se aderissem à parede dos frascos.

Imediatamente após a coleta, as diversas amostras de esgoto foram transportadas para o laboratório, e em condições adequadas de preservação.

As metodologias utilizadas para cada uma das variáveis físico-químicas, parasitológicas e microbiológicas são descritas nos itens 4.4, 4.5 e 4.6.

4.3 – Descrição geral dos ensaios de coagulação-floculação-flotação em Flotateste

Foram feitos ensaios de coagulação, floculação e flotação por ar dissolvido (FAD) em escala de bancada (equipamento Flotateste – Figura 4.4 e Figura 4.5) com amostras do efluente do reator UASB da ETE-Monjolinho, a fim de se verificar o potencial desse processo em remover, principalmente, os protozoários patogênicos em condições controladas e otimizadas. O coagulante escolhido para realização dos ensaios foi o cloreto de polialumínio (PAC).

Figura 4.4: Esquema geral do Flotatestes.

Fonte: Reali, 1991.

Figura 4.5: Flotatestes utilizado nos ensaios.

O equipamento Flotatestes foi desenvolvido por Reali (1991), e é composto por 4 vasos cilíndricos com capacidade útil de 2 litros, que são independentes entre si e interligados a uma câmara de saturação.

Como nesse equipamento não foi possível alcançar altos gradientes de velocidade, a mistura rápida foi realizada no equipamento Jarteste, composto por 6 jarros em acrílico com capacidade de 2,3 litros. O alcance do gradiente médio de velocidade da mistura rápida ocorria através das hastes giratórias de cada jarro do Jarteste ajustadas por um controlador de rotação.

Os efluentes coagulados eram transferidos para os vasos cilíndricos do Flotatestes para proceder a floculação, sendo que cada vaso também possuía agitador mecânico próprio (hastes giratórias) com controlador de rotação para ajuste do gradiente médio de velocidade da floculação.

Para a flotação utilizou-se da câmara de saturação do Flotatestes, onde ocorria, sob uma pressão controlada de 4,5 Bar, saturação de água com ar comprimido. No momento da flotação, a água saturada era enviada aos jarros do equipamento que continham o efluente coagulado e floculado, e então ao se reduzir a pressão a níveis próximos da pressão atmosférica ocorria o desprendimento do ar dissolvido da água saturada e a geração das microbolhas para o processo de flotação propriamente dito. A entrada da água saturada nos jarros de flotação era controlada por registros agulha.

Os ensaios de flotação foram divididos em duas etapas fundamentais:

- ETAPA 1: Realização de Ensaios Preliminares (Etapa dividida em 2 fases)
- ETAPA 2: Realização de Ensaios de Monitoramento.

Na primeira etapa dos ensaios de flotação realizaram-se ensaios preliminares para determinação da dosagem de coagulante e polímero, e velocidade de flotação. Vale mencionar que a eficiência do processo de flotação durante os ensaios preliminares foi avaliada em termos de remoção das variáveis de controle cor aparente e turbidez.

Mesmo após tratamento por reator UASB, sistema que apresenta a vantagem de amortecimento de cargas, as características do esgoto variam muito ao longo do dia, assim os ensaios preliminares buscaram alcançar valores de dosagens de coagulante e de polímero, e velocidade de flotação mais próximos do satisfatório para o tratamento e não valores ótimos.

As condições mais satisfatórias de dosagens e velocidade de flotação obtidas durante os ensaios preliminares foram fixadas para a segunda etapa dos ensaios de flotação. Nessa

segunda etapa foi monitorado o comportamento do processo de flotação em escala de bancada no pós-tratamento dos efluentes anaeróbios.

Devido ao efeito de diluição do efluente em tratamento, ocasionado pela recirculação da água da câmara de saturação, os valores lidos ou medidos das variáveis de estudo durante as Etapas 1 e 2 foram corrigidos de acordo com a equação 4.1:

$$L_{\text{real}} = \frac{L_{\text{mistura}} \times (V_{\text{amostra}} + V_{\text{recirculação}})}{V_{\text{amostrabruta}}} \quad (4.1)$$

L_{mistura} : valor lido referente à mistura do efluente com a água de saturação

L_{real} : valor corrigido

$V_{\text{amostrabruta}}$: volume da amostra bruta

$V_{\text{recirculação}}$: volume de água recirculada

Para todos os ensaios realizados nas Etapas 1 e 2, os parâmetros operacionais de gradiente de velocidade de coagulação e de floculação, tempo de coagulação e de floculação foram fixados de acordo com Ariano (2009), que também investigou o tratamento de efluentes anaeróbios pelo processo de flotação utilizando o coagulante PAC. A taxa de recirculação e pressão de saturação foram baseadas nas condições operacionais da ETE-Monjolinho.

Os parâmetros de operação fixados durante as Etapas 1 e 2 são apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Parâmetros de operação do Flotatestes fixados.

Parâmetros Fixados						
Mistura Rápida			Floculação		Recirculação	Pressão de saturação
Adição de coagulante	Gmr (s ⁻¹)	Tmr (s)	Gf (s ⁻¹)	Tf (min)	R (%)	P (Bar)
	800	15	90	20	15	4,5
Adição de polímero	400	15				

Nota: Gmr: Gradiente de velocidade na mistura rápida; Tmr: tempo de mistura rápida; Gf: Gradiente de velocidade na floculação; Tf: tempo de floculação; R: taxa de recirculação; P: Pressão de saturação.

No entanto, na Etapa 2 ainda optou-se por investigar a influência da floculação na remoção das variáveis de interesse. Para isso, diferentes tempos de floculação e gradientes de velocidade de floculação foram testados, além destes expostos na Tabela 4.2.

A seguir será apresentada a descrição dos produtos químicos (coagulante e polímeros) utilizados durante os ensaios:

➤ PAC

Denominação: cloreto de polialúminio

Fornecimento: líquido

Teor de Al_2O_3 : 10% (dado fornecido pelo fabricante)

➤ Polímero 1 (catiônico de alta densidade de carga)

Fornecimento: pó

Tipo: ZETAG85

➤ Polímero 2 (catiônico de média a alta densidade de carga)

Fornecimento: líquido

Teor ativo: 40%

Tipo: RAPFLOC50

Ariano (2009) estudou o emprego do coagulante PAC associado a diferentes tipos de polímero no tratamento de efluente anaeróbio por flotação por ar dissolvido, e foi relatado que dentre os polímero catiônico, não-iônico e aniônico testados, o polímero catiônico alcançou os melhores resultados no tratamento. Dessa forma, para o presente estudo foram escolhidos dois polímero catiônicos para os ensaios de flotação. O polímero RAPFLOC50 também é utilizado na ETE-Monjolinho como produto auxiliar da floculação.

4.3.1 – ETAPA 1: Ensaios Preliminares

Como mencionado, os ensaios preliminares tinham como objetivo obter as dosagens adequadas de produtos químicos (coagulante e polímero) e velocidade de flotação mais satisfatória para tratamento de efluentes do reator UASB da ETE-Monjolinho em termos de remoção das variáveis de controle cor aparente e turbidez. A coleta do efluente sempre era feita no horário do meio-dia, e em volume suficiente para realização de todos os ensaios previstos para dia.

O efluente de esgoto após coletado passa a apresentar variações de suas características iniciais com o passar do tempo, assim, escolheu-se o horário do meio-dia para as coletas com o intuito de que todos os experimentos fossem feitos no período vespertino sem interrupções, garantindo ao máximo a manutenção das características iniciais do efluente para execução dos ensaios de flotação.

A Etapa 1 foi dividida em Fase 1 e Fase 2 que serão descritas a seguir nos itens 4.3.1.1 e 4.3.1.2.

Para todos os ensaios da Etapa 1 foram construídas curvas de flotação a partir de coleta de amostras em 4 velocidades de flotação diferentes, conforme proposto por Reali (1991). A velocidade de flotação representa indiretamente a taxa de aplicação superficial (TAS) a que um flotador é submetido, com isso a velocidade de flotação vem sendo utilizada por diversos autores para avaliar o desempenho da FAD em função de diversas TAS, em escala de laboratório (ARIANO, 2009).

O pH de coagulação também foi medido em todos os ensaios, verificando se era mantido entre 6 e 9, sendo esse intervalo considerado ideal para o coagulante PAC. Não foi necessário estudo de correção de pH de coagulação com o intuito de otimizar o processo de flotação, visto que não foi observado pH de coagulação fora desse intervalo durante todos os ensaios.

Além disso, previamente aos ensaios da Etapa 1 o efluente do reator UASB foi caracterizado em termos das variáveis cor aparente, turbidez, alcalinidade, temperatura e pH.

O critério de avaliação para escolha das dosagens mais satisfatórias de coagulante ou de coagulante em conjunto com polímero se deu através dos seguintes aspectos:

- Maiores remoções de cor aparente e turbidez, com dosagem que atingisse turbidez remanescente de no mínimo 2 uT;
- Menor dosagem aplicada para alcançar o critério anterior.

A turbidez significativamente baixa (2 uT) escolhida como critério de avaliação foi assim determinada para verificar a potencialidade do processo de flotação em remover as variáveis de interesse, em especial os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

4.3.1.1 – Descrição da Fase 1: Variação da dosagem de coagulante

O objetivo desta primeira fase da Etapa 1 foi analisar o comportamento do processo de flotação com o emprego de dosagens variadas do coagulante PAC no tratamento do efluente anaeróbio, buscando-se uma dosagem adequada que atendesse o critério de avaliação descrito anteriormente.

Estudou-se uma ampla faixa de dosagem de coagulante: 30, 50, 70, 90, 120, 150 e 200 mg.L^{-1} , com essas dosagens expressas em miligrama da solução comercial PAC por litro de esgoto. Ou então, considerando o teor de 10% de Al_2O_3 da solução PAC, as mesmas dosagens podem ser expressas em 3, 5, 7, 9, 12, 15 e 20 miligramas de Al_2O_3 por litro de esgoto.

Para cada dosagem de coagulante foram coletadas amostras em diferentes tempos de flotação, sendo esses tempos correspondentes às diferentes velocidades de flotação (V_f) que estavam sendo investigadas, sendo elas: 8, 12, 16 e 20 cm.min^{-1} . Todas as amostras foram submetidas a determinação de cor aparente e turbidez. Os procedimentos estão expostos na Figura 4.6.

Figura 4.6: Resumos dos procedimentos realizados durante a Fase 1.

4.3.1.2 – Descrição da Fase 2: Variação dos tipos e dosagens de polímero

De posse da melhor dosagem de coagulante, a pesquisa partiu para a segunda fase que contemplou a fixação da dosagem de coagulante e variação da dosagem de diferentes tipos de polímero, conforme Figura 4.7.

Figura 4.7: Resumo dos procedimentos realizados durante a Fase 2.

Assim o objetivo foi encontrar o polímero (dentre os 2 polímeros testados) mais apropriado e sua respectiva dosagem mais satisfatória, sendo que as dosagens testadas para cada polímero foram: 0,5, 1 e 2 mg.L⁻¹, dosagens essas expressas em termos do teor ativo dos polímeros. No fim desta fase já foi possível definir o conjunto “dosagem de coagulante, tipo de polímero e dosagem de polímero” com maior eficiência em termos do critério de avaliação já descritos.

Para cada tipo e a cada dosagem de polímero estudado também foram coletadas amostras em diferentes tempos de flotação correspondentes às diferentes velocidades de flotação (Vf) citadas anteriormente. Todas as amostras foram submetidas à determinação de cor aparente e turbidez.

Selecionada a dosagem mais eficiente para cada um dos polímeros, foi escolhido o polímero que apresentou as melhores remoções de cor aparente e turbidez em conjunto com a dosagem fixa de PAC, sempre com vistas ao critério de avaliação proposto.

4.3.2 – ETAPA 2: Ensaios de monitoramento

Após os parâmetros velocidade de flotação e dosagens de coagulante e polímero serem fixados, iniciou-se os ensaios da Etapa 2. Essa etapa tinha como objetivo monitorar a flotação por ar dissolvido (FAD) no pós-tratamento de efluentes anaeróbios em condições controladas, visando a remoção de cor aparente, turbidez, sólidos suspensos totais, DQO total e particulada, carbono orgânico dissolvido, *E. coli*, coliformes totais, *Clostridium perfringens*, cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

A metodologia utilizada para cada uma das variáveis está descrita nos itens 4.4, 4.5 e 4.6.

Assim como nos ensaios preliminares, a coleta do efluente sempre era feita no horário do meio-dia, e em volume suficiente para realização de todos os ensaios previstos para o dia.

Os parâmetros tempo e gradiente de velocidade da mistura rápida, taxa de recirculação, pressão de saturação foram os mesmos utilizados nos ensaios preliminares, de acordo com a Tabela 4.2, porém o tempo e gradiente de velocidade da floculação foram variados, para se avaliar a influência da floculação no tratamento.

Foram investigados dois valores de tempo de floculação (T_f) associados a dois valores de gradiente de velocidade de floculação (G_f). Os ensaios foram realizados conforme fluxograma mostrado na Figura 4.8.

Figura 4.8: Variação das condições de floculação durante a Etapa 2.

A associação de diferentes tempos e gradientes de velocidade durante a floculação gerou um total de 4 amostras (Amostra 1: $T_f = 13$ min e $G_f = 90$ s⁻¹; Amostra 2: $T_f = 13$ min e $G_f = 110$ s⁻¹; Amostra 3: $T_f = 20$ min e $G_f = 90$ s⁻¹; Amostra 4: $T_f = 20$ min e $G_f = 110$ s⁻¹).

Além dessas amostras, o efluente do reator UASB que era submetido ao tratamento também era analisado de acordo com as variáveis já citadas para essa etapa.

Esta parte da pesquisa foi desenvolvida no decorrer de um mês, período em que se desenvolvia um ensaio de tratamento por flotação por semana. Portanto os dados de monitoramento foram obtidos em quadruplicata.

4.4 – Análises físico-químicas

Variáveis de qualidade dos efluentes e lodo foram analisadas de acordo com o estabelecido no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). Na Tabela 4.3 estão apresentados os métodos analíticos e equipamentos utilizados.

Tabela 4.3: Métodos analíticos para as variáveis físico-químicas.

Variável em análise	Métodos e Equipamentos
Alcalinidade Parcial	Titulação potenciométrica com ácido sulfúrico até pH 5,75 (Método 2320B)
Alcalinidade Total	Titulação potenciométrica com ácido sulfúrico até pH 4,3 (Método 2320B)
Temperatura	Termômetro de mercúrio
pH	Método potenciométrico. pH meter - Denver Instrument
Cor aparente	Espectrofotômetro DR 2800 (Método 2120 C)
Cor verdadeira	Espectrofotômetro DR 2800 (Método 2120 C)
Turbidez	Turbidímetro 2100 P (Método 2130 B)
DQO total e filtrada	Método colorimétrico em refluxo fechado (Método 5220 D)
Carbono orgânico dissolvido	Analizador de Carbono (TOC-Analisador de líquidos TOC-LCPN, Automostrador ASI-L - Marca Shimadzu)
Amostra filtrada para DQO	Filtração em membrana de nitrato de celulose com porosidade de 1,2 µm
Sólidos totais	Método Gravimétrico (Método 2540B)
Sólidos suspensos totais	Método Gravimétrico (Método 2540B)

4.5 – Exame parasitológico

4.5.1 – Exame de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em amostras de efluente

O método 1623.1 (USEPA, 2012) é destinado a exames de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostras de água, e basicamente, se utiliza das etapas de concentração por filtração seguida de centrifugação, purificação por separação imunomagnética (IMS), e detecção de (oo)cistos por imunofluorescência direta.

No entanto, técnicas desenvolvidas para enumerar (oo)cistos em água, geralmente não são indicadas para amostras de esgoto (BONATTI et al., 2007). Diferenças fundamentais entre água e esgoto, como número de parasitas, concentração de material particulado e natureza complexa faz com que se procure por técnicas mais específicas (ROBERTSON et al., 2000; MCCUIN e CLANCY, 2005).

Assim, esse estudo se baseou no método 1623.1 (USEPA, 2012) durante as etapas de purificação por separação imunomagnética e de detecção por reação de imunofluorescência direta, já para a etapa de concentração foram adotadas diferentes metodologias de acordo com as características de cada tipo amostra, conforme será explicitado posteriormente.

O exame parasitológico de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. se constituiu, basicamente, das seguintes fases: concentração da amostra; purificação por separação imunomagnética (IMS); dissociação ácida de (oo)cistos; detecção por reação de imunofluorescência direta (RID); confirmação da presença de (oo)cistos pelo teste com DAPI e por microscopia de contraste interferencial diferencial (DIC); e por fim a enumeração.

Em todas as etapas da metodologia para identificação e quantificação de protozoário, todo material que entraria em contato com a amostra, como proveta, erlenmeyer, tubos de centrifugação, pipetas, acessórios de filtração, tubo de lado plano, entre outros, foram previamente enxaguados com Tween 80 (0,1%).

Na Tabela 4.4 é possível visualizar o resumo das metodologias de detecção de protozoários adotadas para cada tipo de efluente, e as referências literárias referentes a cada uma das metodologias serão posteriormente citadas.

Tabela 4.4: Metodologias de detecção de protozoários para cada efluente.

Tipo de Amostra	Metodologia
Esgoto Bruto	Tripla centrifugação para amostra de turbidez elevada + IMS + RID
Efluente do tratamento Preliminar	Tripla centrifugação para amostra de turbidez elevada + IMS + RID
Efluente do reator UASB	Tripla centrifugação para amostra de turbidez média + IMS + RID
Efluente do flotador e efluente tratado em flotatete	Filtração em membrana + Tripla centrifugação + IMS + RID

4.5.1.1 – Etapa de concentração

Diferentes métodos de concentração foram utilizados para as amostras de efluentes de acordo com suas características. Para amostras com turbidez alta ou média em que se esperava uma concentração elevada de protozoários foi utilizada a tripla centrifugação, em que volumes de 50 mL ou 150 mL eram suficientes para se detectar os protozoários. Para amostras com turbidez baixa em que se esperava menores concentrações dos (oo)cistos, adotou-se a filtração em membrana seguida de tripla centrifugação, e maior volume foi necessário (1 litro). A seguir serão explicados os métodos de concentração de maneira mais detalhada.

Tripla centrifugação para amostra com turbidez elevada

O método utilizado para concentração de amostras com turbidez elevada seguiu o protocolo modificado de Robertson et al. (2000) e adaptado por Medeiros (2013). A metodologia foi realizada de seguinte maneira:

- Com auxílio de uma proveta mediu-se 50 mL de amostra, que foi transferida para frasco erlenmeyer.
- Utilizou-se a mesma proveta para se medir 50 mL de Tween 80 (0,1%), e então remover resquícios de amostras que por ventura possam ter permanecido nessa

proveta. O volume foi transferido para o mesmo frasco erlenmeyer, completando-se 100 mL.

- O erlenmeyer foi disposto sobre agitador magnético, onde houve a homogeneização da amostra por 3 minutos.
 - O objetivo de se adicionar a solução detergente Tween 80 (0,1%) à amostra é desagregar os (oo)cistos de partículas no qual possam estar aderidos.
- Após a agitação, a amostra era igualmente transferida para 2 tubos cônicos de centrifugação de 50 mL de capacidade.
- Os tubos de centrifugação foram levados à centrífuga (Centrífuga 5810, Eppendorf), onde houve a primeira centrifugação da amostra por 15 minutos a 1500 x g.
- Concluída a centrifugação, descartaram-se 45 mL de sobrenadante de cada tubo com auxílio de pipeta, permanecendo assim apenas 5 mL de amostra em cada um dos tubos.
 - A etapa de retirada de sobrenadante é extremamente delicada e deve-se tomar o cuidado de não ressuspender o sedimento formado durante a centrifugação, evitando-se assim perdas de (oo)cistos.
- Os volumes restantes nos tubos de centrifugação foram homogeneizados (ressuspensão dos sedimentos) com auxílio de pipeta Pasteur de plástico. Esses volumes foram reunidos em apenas um tubo, que totalizou aproximadamente 10 mL de amostra.
- Foram realizadas 2 lavagens com 2,5 mL de água deionizada no tubo em que foi retirada a amostra, e esse volume foi também transferido para junto da amostra de 10 mL, chegando-se a um volume de 15 mL.
- O tubo foi novamente levado à centrífuga, efetuando-se a segunda centrifugação por 15 minutos a 1500 x g.
- Descartaram-se 14,5 mL de sobrenadante, restando então, aproximadamente 0,5 mL de amostra. Este volume foi homogeneizado com pipeta Pasteur de plástico e transferido para tubo de microcentrifugação.
- No tubo de centrifugação no qual estava a amostra centrifugada foi feita uma lavagem de 0,5 mL com água deionizada, e este volume também foi repassado ao tubo de microcentrifugação, completando-se 1 mL.

- A amostra contida no tubo de microcentrifugação foi submetida à terceira centrifugação a $1500 \times g$ por 15 minutos.
- Nova retirada de sobrenadante foi feita, deixando apenas 0,5 mL no tubo de microcentrifugação, que foi homogeneizado com auxílio de pipeta Pasteur de plástico e deixado em geladeira (4 a 8°C) *overnight* ou então procedia-se com a etapa de IMS no mesmo dia. A montagem da lâmina para imunofluorescência ocorria em até 72 horas após o início da manipulação da amostra.

Na Figura 4.9 estão expostos alguns procedimentos da etapa de concentração.

Figura 4.9: Sequência simplificada da etapa de concentração.

Tripla centrifugação para amostra com turbidez média

Para amostras com turbidez média também foi seguido o protocolo modificado de Robertson et al. (2000) e adaptado por Medeiros (2013).

- Com auxílio de uma proveta foram coletados 150 mL de amostra, que foi repassada para frasco erlenmeyer.
- Da mesma forma que descrito anteriormente, utilizou-se a mesma proveta para se medir 50 mL de Tween 80 (0,1%) e transferir para o mesmo frasco erlenmeyer, completando-se 200 mL.
- O erlenmeyer foi disposto sobre agitador magnético, onde houve a homogeneização da amostra por 3 minutos.
- Em seguida a amostra era igualmente transferida para 4 tubos cônicos de centrifugação de 50 mL de capacidade.
- Os tubos de centrifugação foram levados à centrífuga, onde ocorreu a primeira centrifugação da amostra por 15 minutos a 1500 x g.
- Concluída a centrifugação, descartaram-se aproximadamente 49 mL de sobrenadante de cada tubo com auxílio de pipeta, permanecendo assim 1 mL de amostra em cada tubo.
- Os volumes restantes nos 4 tubos de centrifugação foram homogeneizados com auxílio de pipeta Pasteur de plástico. Esses volumes foram reunidos em apenas um tubo, que passaria a conter aproximadamente 4 mL de amostra.
- Foram realizadas 2 lavagens com 1,5 mL de água deionizada nos outros 3 tubos onde se encontravam a amostra, e os volumes de lavagem também foram transferidos para o tubo que continha 4 mL de amostra, chegando-se ao volume de, aproximadamente, 13 mL. Foi acrescentada água deionizada para se obter o volume final sempre de 15 mL.
- A partir desse momento, a segunda e a terceira centrifugação foram realizadas de acordo com o procedimento de tripla centrifugação para amostra com turbidez elevada

Filtração em membrana seguida de tripla centrifugação para amostra com turbidez baixa

Este método foi modificado de Franco et al. (2001), como será apresentado a seguir:

- Após os acessórios de filtração serem enxaguados com Tween 80 (0,1%), uma membrana de ésteres mistos de celulose com porosidade de 3 µm (47mm de

diâmetro, Millipore) foi colocada no suporte de filtração e preparada com algumas gotas solução detergente, em quantidade suficiente para molhá-la.

- 1 litro de amostra de baixa turbidez era filtrado por bomba de vácuo (Marconi) com fluxo de 4 L.min⁻¹ e pressão de - 500 mm Hg. A filtração de 1 litro era realizada com o emprego de 6 a 9 membranas, dependendo da qualidade da amostra coletada na ETE. A membrana era trocada cada vez que ocorria sua colmatção e consequentemente a diminuição do fluxo de filtração, e as trocas foram sucessivas até que fosse filtrado o volume total.
 - Foi optado pela troca da membrana após sua colmatção ao invés de forçar a filtração por um longo período, visto que os oocistos de *Cryptosporidium* tem uma característica de compressibilidade, e podem ficar entranhados nas fibras da membrana dificultando assim sua recuperação durante a extração mecânica.
- Cada membrana era transferida para uma placa de Petri contendo 5 mL de solução Tween 80 (0,1%).
- Em seguida, as membranas foram raspadas com alça plástica para extração mecânica dos (oo)cistos que estivessem ali presentes. Essa etapa levava em torno de 15 minutos, para cada membrana.
 - Em intervalos intermediários de 3 minutos, era cessada a raspagem para se realizar a transferência do volume inicialmente aplicado de 5 mL para tubo de centrifugação. Outros 5 mL de solução Tween 80 (0,1%) eram colocados na placa de Petri contendo a membrana, e então essa era raspada por mais 3 minutos, após isto se transferia novamente o volume para o mesmo tubo de centrifugação. Esses procedimentos de raspagem, lavagem e transferência de amostra para tubo de centrifugação eram realizados em um total de 3 vezes, totalizando-se 15 mL de amostra no tubo para cada membrana raspada.
- Em um tubo de centrifugação com capacidade de 50 mL era possível reunir o volume proveniente da raspagem de até 3 membranas, visto que cada membrana resultava em um volume de 15 mL. Portanto para amostras em que foram utilizadas 6 membranas, o volume resultante da raspagem era transferido para 2 tubos de centrifugação de 50 mL.

- Concluída a raspagem, se realizava a tripla centrifugação das amostras contidas nos tubos, conforme descrito nos itens anteriores.

Na Figura 4.10 estão ilustradas algumas das etapas de filtração de amostras.

Figura 4.10: Sequência simplificada da etapa de filtração.

4.5.1.2 – Etapa de purificação por separação imunomagnética (IMS)

Os procedimentos para purificação das amostras por separação imunomagnética (IMS) tem por finalidade separar os (oo)cistos de outras partículas presentes, e aumentar a porcentagem de recuperação dos mesmos. Para realização dessa etapa foi seguido o protocolo do fabricante dos Dynabeads (Dyna CG – Combo anti-*Cryptosporidium* & *Giardia*, Invitrogen Dynal AS, Norway), e realizaram-se os seguintes procedimentos:

- O Kit de IMS (Invitrogen Dynal AS, Norway) era retirado da geladeira antes do início dessa etapa para que atingisse temperatura ambiente.
- O volume resultante da etapa de concentração contido em tubo de microcentrifugação foi homogeneizado com pipeta Pasteur de plástico e

posteriormente transferido para o tubo de lado reto (T_{LP}). Eram realizadas 3 lavagens com 1 mL de água deionizada no tubo de microcentrifugação, e os volumes de lavagem também foram transferidos para o T_{LP} . O volume no T_{LP} era completado para 10 mL com Tween 80 (0,01%).

- Eram então acrescentados 1 mL do tampão SL-A e 1 mL do tampão SL-B ao T_{LP} contendo amostra. Os frascos contendo *Dynabeads* anti-*Cryptosporidium* e anti-*Giardia* eram homogeneizados em vortex por 10 segundos para ressuspensão das partículas, e então também foram adicionados ao T_{LP} 100 μ L dos *Dynabeads* anti-*Cryptosporidium* e 100 μ L de anti-*Giardia*.
- O T_{LP} era encaminhado ao misturador rotário de amostras (*Dynabeads*® SampleMixer, Invitrogen™ USA) por uma hora a uma velocidade de rotação de 18 rpm.
- Após 1 hora de agitação, o T_{LP} era colocado no primeiro concentrador de partículas magnéticas (DynaL MPC – 1, Cat. nº 120.01D; Invitrogen Dynal AS, Norway), com o lado plano do tubo voltado para o ímã.
- Suavemente, o tubo, preso ao primeiro concentrador, era manualmente rotacionado em um ângulo de cerca de 90° por 2 minutos, com uma inclinação por segundo.
 - O ímã tem a função de capturar os *Dynabeads* ligados aos protozoários.
- Colocava-se o tubo, ainda preso ao MPC – 1, na posição vertical e imediatamente removia-se a tampa para o descarte do sobrenadante em um recipiente, assegurando-se que o lado plano estava voltado para cima e que o sobrenadante escoaria pelo lado contrário ao lado plano.
- Removia-se o T_{LP} do MPC – 1 e realizavam-se duas lavagens no lado plano do tubo que continha os *Dynabeads* e protozoários com 0,5 mL de tampão SL-A do próprio kit diluído a 10 vezes. Misturava-se suavemente o tampão ao material do tubo.
- O líquido das duas lavagens era transferido para tubo de microcentrifugação (1,5 mL de capacidade) com auxílio de pipeta.
- O tubo de microcentrifugação era colocado em um segundo concentrador de partículas (MPC – S, Cat. nº 120.20D, Invitrogen Dynal AS, Norway) com sua faixa magnética já encaixada. O segundo concentrador com o tubo de

microcentrifugação era rotacionado em um ângulo de 180° por 1 minuto, com uma rotação por segundo.

- Após isto, os Dynabeads devem estar nitidamente aderidos à região da parede do tubo que se encontra próxima à fita magnética.
- Imediatamente depois e com o tubo ainda preso ao concentrador, o sobrenadante era aspirado com pipeta Pasteur de vidro e descartado, e isso de maneira cuidadosa para não remover o material aderido à parede.
- A fita magnética era retirada do concentrador para posterior realização da dissociação ácida.

Na Figura 4.11 estão ilustradas algumas das etapas do IMS.

Figura 4.11: Sequência simplificada da etapa de IMS.

4.5.1.3 – Etapa de dissociação ácida

A dissociação ácida foi realizada em duas etapas como é proposto no método 1623.1 (USEPA, 2012), para aumento da recuperação dos (oo)cistos, conforme os procedimentos a seguir:

- Os tubos de microcentrifugação, após a realização da etapa de IMS, continham apenas os *Dynabeads* ligados aos protozoários, e para que ocorresse a dissociação entre essas microesferas magnéticas e protozoários, e fosse levado a lâmina de imufluorescência apenas os (oo)cistos, foi utilizado ácido clorídrico (0,1 N).
- 50 µL de ácido eram adicionados aos tubos de microcentrifugação e agitados em vortex por 10 segundos para homogeneização da amostra com o ácido. Deve-se ter a cautela de manter o material no fundo do tubo, para que não atinja a tampa e haja perdas.
- Os tubos eram então colocados no concentrador de partículas magnéticas (MPC – S) sem a fita magnética, e deixados em repouso por 10 minutos, em posição vertical e temperatura ambiente.
- Decorridos 10 minutos, levaram-se as amostras ao vortéx por 10 segundos, e então os tubos voltavam ao concentrador de partículas magnéticas (MPC-S), no qual era inserida a fita magnética, mantendo-os em repouso por, no mínimo, 10 segundos.
 - Com isso pretendia-se que as esferas magnéticas estivessem aderidas à parede do tubo enquanto que os protozoários imersos na solução de ácido clorídrico.
- A partir desse momento, ocorria a preparação das lâminas presentes no kit Merifluor (MeridienBioscienceDiagnostics, Cincinnati, Ohio), onde adicionava-se 5 µL de hidróxido de sódio (1 N) nos poços que receberiam as amostras. Esse procedimento tinha por finalidade a neutralização dos 50 µL de ácido. Assim, após a adição da solução básica se transferia o sobrenadante dos tubos de microcentrifugação, com auxílio de pipeta Pasteur de vidro, para os poços das lâminas.
- Essa etapa era realizada mais uma vez, havendo assim a segunda dissociação ácida da amostra, e mais 50 µL de ácido clorídrico (0,1 N) eram utilizados. Após todo o procedimento, o sobrenadante dos tubos era transferido para poços

diferentes daqueles que receberam a amostra da primeira dissociação ácida, devido ao limite de capacidade de volume de cada poço.

- Concluída essa etapa, as lâminas ficavam em repouso até as amostras secarem em temperatura ambiente (aproximadamente 4 horas), para assim, se dar início à etapa de detecção e identificação de cistos e oocistos por reação de imunofluorescência direta (RID).

Na Figura 4.12 estão ilustradas algumas etapas da dissociação ácida.

Figura 4.12: Ilustração de algumas etapas utilizadas na recuperação de cisto de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium*.

4.5.1.4 – Etapa de reação de imunofluorescência direta (RID)

A reação de imunofluorescência direta (RID) com o kit Merifluor foi realizada para detecção e identificação dos (oo)cistos.

- Após a amostra estar completamente seca, a mesma era fixada com metanol absoluto, com 20 a 50 µL dependendo da amostra, por 10 minutos.
 - É extremamente importante que toda a amostra seja encoberta com o metanol, para que esta não seja “lavada” durante o procedimento da RID.
- Aguardados os 10 minutos, aplicava-se uma gota do fluido de detecção e uma gota do contra-corante, presentes no kit Merifluor, nos poços das lâminas, e com alça plástica, também presente no kit, esses reagentes eram cuidadosamente misturados entre si.

- A placa era colocada em câmara úmida e escura, e levada a uma estufa de amostras em temperatura de 37°C por 30 minutos.
- Decorrido o tempo, se retirava a amostra da incubadora e realizava-se a lavagem para retirada do excesso de reagentes aplicados. Para a lavagem, inclinava-se a placa a 45° e aplicavam-se 50 µL de solução de lavagem diluída a 1:20, presente no kit Merifluor, a partir da parte superior do poço. Foram realizadas três lavagens em cada poço, e aguardava-se cerca 1 minuto entre uma lavagem e outra.
- Uma a duas gotas de meio de montagem, presente no kit Merifluor, eram adicionadas aos poços e, por fim a lamínula era colocada com extremo cuidado para evitar a formação de bolhas.
- Para contagem de (oo)cistos no poço respeitou-se o prazo máximo de 7 dias (USEPA, 2012), utilizando microscópio de epifluorescência (Olympus BX51), com aumento de 300 a 800 vezes.

4.5.1.5 – Enumeração de (oo)cistos

A concentração de (oo)cistos foi calculada conforme proposto por Cantusio Neto (2004), usando-se a equação 4.2 que fornecia os dados em (oo)cistos.L⁻¹:

$$(oo)cistos.L^{-1} = \frac{\text{número de (oo)cistos detectados} \times 10^6 \times \text{volume total do sedimento (mL)}}{\text{volume de sedimento na lâmina (µL)} \times \text{volume da amostra (mL)}} \quad (4.2)$$

Critérios de positividade durante a RID: foi avaliada a presença de estruturas esféricas de 4 a 6 µm – oocisto; e ovóides de 8 a 18 µm de comprimento por 5 a 15 µm de largura – cisto. A parede deveria mostrar fluorescência verde-maçã brilhante, sem poros ou apêndices e apresentar sutura do oocisto visível (exibindo forte fluorescência). O teste confirmatório da presença de (oo)cistos era realizado a partir do corante DAPI (4',6-diamidino-2fenilindol) e pela microscopia de contraste interferencial diferencial (DIC) (Figura 4.13).

Figura 4.13: Imagens de microscopia (aumento 800x) – A: cisto de *Giardia* spp. marcado com corante FITC; B: cisto de *Giardia* spp. em microscopia DIC e marcado com corante FITC; C: cisto de *Giardia* spp. marcado com corantes FITC e DAPI .

O número mínimo detectável de organismos ((oo)cistos.L⁻¹) de cada metodologia foi calculado conforme proposto por Maciel (2014) e estabelecido pela equação 4.3.

$$NM = \frac{S}{A \times V} \quad (4.3)$$

NM: número mínimo detectável em (oo)cistos.L⁻¹

S: volume do sedimento final (μL)

V: volume total da amostra analisada (L)

A: alíquota transferida ao poço da lâmina (μL)

4.5.2 – Exames de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em amostras de lodo

O método para detecção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. no lodo foi adaptado de McCuin e Clancy (2005), que não utilizaram das técnicas de concentração de amostras, e empregaram a purificação por IMS com posterior detecção e identificação dos protozoários por reação de imunofluorescência direta (RID). Esse método é recomendado para amostras altamente contaminadas com (oo)cistos, como o lodo de ETE, sendo assim dispensável a etapa de concentração.

- Cerca de 250 mL de amostra de lodo eram transferidos para liquidificador comum para intensa homogeneização e quebra de flocos, mantido ligado por 3 minutos.
- Pesou-se 0,5 grama da amostra de lodo úmido, devidamente homogeneizado, em tubo de microcentrifugação.

- Procedeu-se com a centrifugação da amostra a 1500 x g por 15 minutos. Essa etapa tinha como único objetivo estimar o volume de sedimento, visto que essa medição é essencial para os cálculos de protozoários por grama de sólidos totais no lodo, além disso não é recomendado sedimento com mais de 0,5 mL para execução da etapa de IMS.
- Após a medição, toda amostra (sobrenadante e sedimentos) era novamente homogeneizada, não havendo assim retirada de sobrenadante, e isso com auxílio de pipeta Pasteur de plástico. Todo o volume contido no tubo de microcentrifugação era então transferido para o tubo de Leighton (tubo de lado plano). Foram realizadas 3 lavagens de 1 mL no tubo de microcentrifugação com água deionizada, sendo esse volume também transferido para o tubo de lado plano.
- No tubo de lado plano foi completado, com Tween 80 (0,1%), o volume para 10 mL. Utilizou-se Tween 80 (0,1%) com o objetivo de promover a desagregação dos (oo)cistos das partículas em suspensão.
- Prosseguiu-se com a etapa de IMS, seguindo o protocolo do fabricante dos Dynabeads (Dynal CG – Combo anti-*Cryptosporidium* & *Giardia*, InvitrogenDynal AS, Norway), conforme item 4.5.1.2.
- Concluída a etapa de IMS, foi realizada a detecção e identificação dos (oo)cistos por reação de imunofluorescência direta (RID) com o kit Merifluor, e posterior contagem de (oo)cistos utilizando microscópio de epifluorescência (Olympus BX51), conforme item 4.5.1.4.

O cálculo de (oo)cistos nas amostras de lodo foi feito conforme proposto por Bonatti (2007) e modificado por Medeiros (2013), usando-se a equação 4.4, que fornecia os dados em (oo)cistos por grama de sólidos totais:

$$(oo)cistos.grama^{-1} = \frac{\text{número de (oo)cistos detectados} \times \text{volume de sedimento final (mL)}}{\text{volume de sedimento na lâmina (}\mu\text{L)} \times \text{massa da amostra (g)}} \quad (4.4)$$

4.5.3 – Experimento controle-positivo e controle negativo

Ainda foi realizado experimento-controle positivo com a finalidade de se avaliar a sensibilidade dos métodos adotados. Para isso, a suspensão comercial de cistos e oocistos

utilizada para a contaminação artificial das amostras foi aquela denominada Color Seed™ (Biotechnology Frontiers, Austrália).

No controle interno positivo Color Seed é utilizado o fluorocromo sulforodamina, cujo nome comercial é Texas Red®, para marcar, com coloração vermelha, os (oo)cistos a serem utilizados nos ensaios de efeito da matriz, conforme pode ser visto na Figura 4.14.

Após a contaminação artificial das amostras, conforme as recomendações do fabricante, os diferentes métodos adotados de detecção de (oo)cistos, descritos anteriormente, foram normalmente processados.

Figura 4.14: Imagens de microscopia (aumento 200x) – A: cistos de *Giardia* spp. em microscopia de fluorescência, marcado com corante FITC (excitação: 450- 490 nm); cistos de *Giardia* spp. em microscopia de fluorescência e marcados com Texas Red (excitação: 510 - 550 nm).

Com relação ao controle-negativo, foram realizados três ensaios durante a pesquisa para investigar possíveis contaminações das amostras com a execução dos procedimentos de detecção de protozoários. Para isso, ao invés de amostras de esgoto, amostras de água deionizada eram submetidas aos métodos de detecção de (oo)cistos utilizados neste trabalho. Nos ensaios controle-negativo não foram encontrados (oo)cistos.

4.6 – Exames microbiológicos

4.6.1 - *Escherichia coli* e coliformes totais

Para a quantificação de *E. coli* e coliformes totais foi utilizada a técnica de “pour plate”, conforme proposto por Lourenção (2009), visto que em razão do alto aporte de sólidos na membrana filtrante, técnica normalmente empregada para amostras de água, dificultaria a identificação das colônias.

Após realizar diluições decimais das amostras, colocava-se 1 mL de amostra em placa de Petri estéril, e em seguida adicionava-se 9 mL do meio Chromocult® Coliform Agar (Merk Cat.No.1.10426) ainda líquido na temperatura de 50 a 55 °C. As placas, contendo amostra e o meio de cultivo, eram homogeneizadas e incubadas a 36 ± 1 °C por 24 ± 1 hora.

As colônias que apresentam coloração azul-escuro/violeta eram identificadas como *E. coli* e aquelas que apresentam coloração salmão/vermelha, somadas às colônias de *E. coli*, são identificadas e quantificadas como coliformes totais. Os resultados eram lidos como Unidade Formadora de Colônia (UFC) por mL.

4.6.2 – *Clostridium perfringens*

Para quantificar *Clostridium perfringens* utilizou-se a norma L5.403 (CETESB, 2004). Esse método é baseado na técnica em membrana filtrante.

Primeiramente os meios de cultura eram preparados, de acordo com as instruções do fabricante e da norma.

As amostras em diluições decimais eram aquecidas em banho maria à temperatura de $60 \pm 0,5$ °C por 15 minutos. Utilizou-se um termômetro de mercúrio para monitorar com precisão o aquecimento das amostras. As amostras passaram por banho de gelo para resfriamento imediato.

Em seguida, era iniciada a filtração das amostras (100 mL) em membrana estéril de nitrato de celulose com porosidade de 0,45 µm (Satorius Stedim Biotech GmbH, Germany). A filtração era realizada assepticamente, assim como a transferência das membranas de cada amostra para placas de Petri estéreis etiquetadas e nomeadas contendo o meio de cultura Ágar m-CP (Oxoid Ltda, England).

As placas eram incubadas em jarras de anaerobiose (Permution, Brasil; Gas Pak® System, BBL) juntamente com um sistema gerador de anaerobiose (Oxoid Ltda, England) e uma fita plástica indicadora de anaerobiose (Oxoid Ltda, England), a uma temperatura de $44,5 \pm 0,2$ °C.

Depois de 24 horas as colônias apresentavam coloração amarelo-palha. As placas foram colocadas em contato com vapores de hidróxido de amônio, e após 10 a 30 segundos as colônias típicas apresentavam coloração roxa.

Para confirmar as colônias de *C. perfringens*, cinco colônias típicas eram inoculadas, com auxílio de uma alça de inoculação, em tubos de ensaio contendo caldo de tioglicolato

(CM 0173, Oxoid Ltda, England) e eram incubadas a $35 \pm 0,5$ °C por mais 24 horas. De uma inoculação para a outra a alça era mergulhada em álcool e flambada para sua esterilização.

Em uma etapa final, 1 mL era retirado dos tubos positivos de caldo de tioglicolato e inoculado em outros tubos contendo meio de leite modificado com ferro, que foi preparado segundo as especificações da norma L5.403 (CETESB, 2004), e incubados a $44,5 \pm 0,2$ °C. Os tubos positivos de meio de leite modificado com ferro apresentavam aparência turbulenta.

Os resultados eram lidos como unidades formadoras de colônias confirmadas de *Clostridium perfringens* em 100 mL.

Na Figura 4.15 estão expostas algumas das etapas dessa metodologia para quantificação e confirmação de *Clostridium perfringens*.

Figura 4.15: Etapas da quantificação e confirmação de *Clostridium perfringens*.

4.7 – Análise Estatística dos dados

A análise estatística dos dados foi realizada a partir do software Statistica 10 (StatSoft Inc.).

Os dados foram analisados com base em estatística descritiva: média, valores máximos e mínimos, e desvio padrão.

Para evidenciar relações entre as principais variáveis de estudo foi realizado testes estatísticos de correlação com o coeficiente de Spearman. E ainda foram aplicados testes estatísticos não-paramétricos (teste de Sinal, Wilcoxon e Kruskal Wallis) para a comparação entre médias. O teste de Sinal foi usado para comparação de média de grupos dependentes, teste de Wilcoxon para comparação de média de dois grupos independentes, e teste de Kruskal-Wallis para comparação de médias de mais de dois grupos independentes.

Todos os testes estatísticos foram feitos com nível de confiança de 95%, e quando $p < 0,05$ foi considerado que havia diferença estatística significativa entre as variáveis.

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram, de maneira geral, divididos da seguinte maneira:

- Monitoramento de variáveis físico-químicas (ETE-Monjolinho);
- Monitoramento de microrganismos indicadores (ETE-Monjolinho);
- Monitoramento de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em efluentes e no lodo (ETE-Monjolinho);
- Testes de correlação para as variáveis de interesse (ETE-Monjolinho);
- Ensaios de coagulação, floculação e flotação em escala de bancada (Flotatest).

5.1 – Monitoramento de variáveis físicas e químicas

Nas Tabelas 5.1, 5.2 e 5.3 estão sintetizados os resultados do monitoramento das variáveis físicas e químicas da ETE-Monjolinho.

Tabela 5.1: Resultados dos ensaios de monitoramento da ETE Monjolinho para o esgoto bruto e efluente do tratamento preliminar para variáveis físico-químicas.

Variáveis	Pontos de Coleta							
	Esgoto Bruto				Efluente Tratamento Preliminar			
	Média	DP	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mínimo	Máximo
AP mg CaCO ₃ .L ⁻¹	NR	NR	NR	NR	132,8	51,8	64,78	183,27
AT mg CaCO ₃ .L ⁻¹	NR	NR	NR	NR	223,2	85,16	100,16	296,5
pH	7,0	0,23	6,68	7,39	7,3	0,16	7,07	7,5
Temperatura (°C)	24,9	2,5	21,8	28,2	25,0	2,5	21,9	28,7
Cor verdadeira (uC)	117	35	64	162	121	34,5	69	163
Cor aparente (uC)	1730	268,4	1300	2070	1664	302,7	1190	1975
Turbidez (uT)	190,7	37	119	231	193	41,5	118	243
DQO total (mg.L ⁻¹)	728,6	53,25	663,67	824,37	729,26	51,4	658,16	804,8
DQO filtrada(mg.L ⁻¹)	294,9	47,7	264,7	365,9	294,8	63,9	245,27	388,73
DQO particulada	375,6	96,9	209,9	458,5	376,55	110	193,1	471,5
ST (mg.L ⁻¹)	720,9	74,4	645,5	858	693,25	106,6	529	833
SST (mg.L ⁻¹)	222,07	33,43	175,3	271,6	243,6	37,26	200,7	302,5
SDT (mg.L ⁻¹)	498,8	58,17	435,5	586,3	449,6	105,17	328,3	579,6

Nota: AP: alcalinidade parcial; AT: alcalinidade total; DQO: demanda química por oxigênio; ST : sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; DP: desvio padrão; NR: não realizado.

Tabela 5.2: Resultados dos ensaios de monitoramento da ETE – Monjolinho para efluente do reator UASB e efluente do flotador para variáveis físico-químicas.

Variáveis	Pontos de Coleta										
	Efluente UASB					Efluente FAD					Global
	Média	DP	Mínimo	Máximo	Remoção Média (%)	Média	DP	Mínimo	Máximo	Remoção Média (%)	Remoção Média (%)
AP (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	171,4	59,36	85,2	216	-	NR	NR	NR	NR	-	-
AT (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	243,02	86,6	113,1	287,57	-	NR	NR	NR	NR	-	-
pH	6,86	0,18	6,71	7,3	-	6,9	0,07	6,7	7	-	-
Temperatura (°C)	24,9	2,5	21,8	28,6	-	24,5	2,5	21,8	28,4	-	-
Cor verdadeira (uC)	98,4	60,6	30	206	42,7	22,7	8,9	13	36	80	77,3
Cor aparente (uC)	667,5	149,3	455	839	59,7	260,2	82,3	164	390	61,4	85
Turbidez (uT)	83,2	16,5	52	101	55	29	9,8	13,2	40,3	63,2	85,1
DQO total (mg.L ⁻¹)	189,8	36,65	149,2	255,3	74	87,3	18,88	62,6	108,9	53,8	88,1
DQO filtrada (mg.L ⁻¹)	73,9	18,6	50,07	95,26	74,7	53	21,79	31,2	75,6	34,9	78
DQO particulada	87,6	26,9	47,2	114,8	76,5	28,8	14,7	7,62	41,5	74	94
ST (mg.L ⁻¹)	479,5	21,6	452	508,5	29,6	439,08	33,09	394	477	8,4	36,8
SST (mg.L ⁻¹)	56,06	42	69	97	76,5	39,66	10,4	28,5	58	29,7	82,3
SDT (mg.L ⁻¹)	423,4	21,6	392,5	451	21	399,4	35	358,36	434,5	7,02	18,8

Nota: AP: alcalinidade parcial; AT: alcalinidade total; DQO: demanda química por oxigênio; ST : sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; DP: desvio padrão; FAD: flotação por ar dissolvido; NR: não realizado; Global: UASB + FAD.

Tabela 5 3: Resultados dos ensaios de monitoramento da ETE – Monjolinho para lodo do reator UASB e lodo do flotador para variáveis físico-químicas.

Variáveis	Pontos de Coleta							
	Lodo UASB				Lodo FAD			
	Média	DP	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mínimo	Máximo
pH	6,73	0,28	6,48	7,21	6,3	0,12	6,1	6,45
Temperatura (°C)	23,75	3,14	20,1	28,4	23,9	3,34	20,8	28,2
ST (mg.L ⁻¹)	41248,8	3492,37	36392,5	45416,5	22701,6	6980,8	10084	31257

Nota: ST : sólidos totais; DP: desvio padrão; FAD: flotação por ar dissolvido.

Esgoto Bruto

O potencial hidrogeniônico é fundamental na caracterização de esgotos sanitários, pois pode causar fortes influências no equilíbrio químico e na diversidade do ecossistema microbiano de tratamentos biológicos (METCALF e EDDY, 2003). A ETE-Monjolinho recebe esgoto com pH próximo da neutralidade, o que contribui para o tratamento biológico subsequente e não gera a necessidade de ajustes significativos de pH.

Os valores de DQO do esgoto bruto não variaram significativamente, apresentando média de 728,6, 294,8 e 375,6 mg.L⁻¹ para DQO total, filtrada e particulada, respectivamente.

Metcalf e Eddy (2003) classificam esgoto bruto, de acordo com suas características, em fraco, médio e forte. A composição, em geral, do esgoto considerado médio com relação a concentrações de sólidos totais, sólidos dissolvidos totais e DQO é de 720, 500 e 500 mg.L⁻¹, respectivamente. Portanto, os valores de sólidos totais e sólidos dissolvidos totais para esgoto médio sugeridos por esses autores estão bem próximos aos resultados da ETE-Monjolinho, enquanto que o resultado de DQO encontrado na ETE se mostrou superior.

Foi verificado que o afluente bruto e o efluente do tratamento preliminar exibiram características estatisticamente similares de turbidez, cor aparente e cor verdadeira, DQO total, DQO filtrada, DQO particulada, ST, SST e SDT ($p > 0,05$, teste do Sinal).

Tratamento anaeróbio por reator UASB

As arqueas anaeróbias metanogênicas são sensíveis a certas condições ambientais tais como pH, temperatura e compostos tóxicos (SEGHEZZO *et al.*, 1998), com isso seu crescimento ótimo ocorre em determinadas faixas de pH e temperatura.

A temperatura dos efluentes desse reator foi em média de 24,9 °C, com mínima e máxima de 21,8 e 28,6°C, respectivamente, portanto dentro da faixa considerada mesofílica (20 a 45°C).

Segundo Batstone *et al.* (2002), a faixa de temperatura ótima para que haja crescimento microbiano máximo em reatores anaeróbios é entre 20 e 40°C. Portanto o reator UASB trabalhou dentro da faixa ideal de temperatura e não apresentou mudanças muito bruscas que poderiam acarretar em distúrbios no sistema.

Speece (1996) considera que o reator anaeróbio deve ser operado em pH entre 6,5 e 8,2 para um desempenho satisfatório. Como pode ser observado na Tabela 5.2, os valores de pH obtidos durante o monitoramento se mostraram dentro dessa faixa considerada ideal, além disso quase não houve muita variação dessa variável que permaneceu entre 6,71 e 7,3.

O afluente ao reator UASB recebia hidróxido de cálcio com o intuito elevar seu pH e contribuir com a alcalinidade. Ao passar pelo tratamento anaeróbio percebeu-se diminuição do pH do efluente, possivelmente isso ocorreu devido à produção de ácidos voláteis. Esses resultados foram similares aos de Dias et al.(2014), que verificaram pH médio de 7,1 e 6,9 para esgoto bruto e efluente de reator UASB, respectivamente.

É necessário constante precaução com estes ácidos, pois em concentrações elevadas podem acidificar o reator, com consequente queda de remoção de matéria orgânica e da geração de metano (CHERNICHARO, 1997).

A partir das Tabelas 5.1 e 5.2 se nota a diferença entre valores de alcalinidade total e parcial entre o afluente e efluente do reator UASB, havendo, como esperado, uma geração de alcalinidade nesse reator.

A alcalinidade por titulação até pH 4,3 não avalia apenas a alcalinidade a bicarbonato, mas também inclui o tamponamento causado pelos ácidos voláteis formados no sistema (RIPLEY et al., 1986). Assim, é recomendado que se determine a alcalinidade parcial – correspondente à alcalinidade a bicarbonato – e a alcalinidade total, e pela diferença entre elas se obtém a alcalinidade intermediária, correspondente à alcalinidade por ácidos voláteis.

Segundo Ripley et al.(1986), uma digestão anaeróbia eficiente depende da manutenção da alcalinidade a bicarbonato adequada e do impedimento de concentrações exageradas de ácidos voláteis, o que leva a relação entre alcalinidade parcial e alcalinidade intermediária (AI/AP) a ser uma ferramenta útil e prática para se monitorar a estabilidade do processo anaeróbio, sendo os valores de AI/AP de 0,1 a 0,35 aqueles considerados típicos de um reator anaeróbio em condições adequadas de operação. Na Figura 5.1 estão expostos os valores AI/AP encontrados durante o monitoramento.

Figura 5.1: Relação entre alcalinidades intermediária e parcial (AI/AP) nas amostras de efluente do reator UASB.

A relação AI/AP se manteve estável na maioria dos ensaios de monitoramento e próxima à faixa considerada ideal para o processo anaeróbio, revelando a estabilidade do sistema. Apenas no ensaio 5 houve uma relação AI/AP mais elevada (0,6), que pode ter ocorrido devido a algum tipo de distúrbio no sistema.

A manta de lodo age como filtro dos sólidos e pode remover a DQO e sólidos por hidrólise, acidificação e metanização (Pereira-Ramirez et al., 2004).

Houve significativa queda nos valores de DQO para o efluente do reator UASB, quando comparados ao esgoto bruto, com resultados médios de 189,8, 73,9 e 87,6 mg.L⁻¹ para DQO total, DQO filtrada e DQO particulada, respectivamente. De tal modo que a eficiência de remoção do processo anaeróbio foi de 74% para a DQO total, 74,7% para DQO filtrada, e 76,5% para DQO particulada.

Esses resultados estão de acordo com as informações fornecidas por Jordão e Pessoa (2009), que afirmam que estes sistemas possuem eficiência de remoção de DQO na ordem de 70% no tratamento de esgoto sanitário.

Dias et al. (2014) relataram dados médios de DQO total, filtrada e particulada de 373, 169 e 222 mg.L⁻¹, respectivamente, em esgoto bruto, e após tratamento em reator UASB esses valores diminuíram para 161, 80 e 62 mg.L⁻¹. Apesar de Dias et al. (2014) apresentarem menores valores de DQO no esgoto bruto que este estudo, após o tratamento biológico os valores de DQO se mostraram próximos aos da ETE-Monjolinho. Ainda foi indicada uma menor remoção de DQO total, da ordem de 62%.

Ruiz et al. (1998) utilizaram reator UASB no tratamento de esgoto doméstico a uma temperatura de 20°C e tempo de detenção hidráulica de 24 horas, obtendo uma eficiência média na remoção de DQO de 85% , porém quando o tempo de detenção foi reduzido para 5 horas, a remoção diminuiu para 53%. Mesmo com um TDH de 6 a 8 horas, próximo das 5 horas testadas por Ruiz et al. (1998), o reator UASB da ETE-Monjolinho apresentou maior eficiência de remoção de DQO.

Aisse et al. (2000) obtiveram resultados de remoção de 70% de DQO em esgoto sanitário, enquanto que Colares (2004) ao estudar reator UASB em escala plena verificou remoção de DQO total de 72% em época mais quente, com temperaturas de 23,8 a 25,1°C, e de 65% em época mais fria, com temperaturas de 16,2 a 17,1°C.

A turbidez do efluente anaeróbio apresentou média de 83,2 uT, que conduziu a uma diminuição de 55% da turbidez afluyente. Medeiros (2013) revela remoção mais elevada em uma ETE em escala plena na cidade de Limeira, média de 70%.

A remoção de sólidos suspensos foi a mais significativa se comparada aos sólidos totais e sólidos dissolvidos totais, variando de 73,6 a 86% e exibindo média de 74,5%.

Dias et al. (2014) encontraram resultados similares, revelando médias de remoções de sólidos suspensos totais, por reator UASB, de 69 a 71% em períodos chuvosos e secos, respectivamente. Ruiz et al. (1998) relataram remoções entre 63 e 89% para sólidos suspensos em tratamento anaeróbio.

O lodo anaeróbio foi monitorado e caracterizado em termos de sólidos totais, pH e temperatura com o intuito principal de auxiliar a interpretação dos resultados de concentração de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. que seriam obtidos nesse resíduo. A concentração de sólidos totais se mostrou elevada, representando um teor médio de sólidos de 4,1%.

Tratamento físico-químico por flotação por ar dissolvido

A qualidade dos efluentes de reatores anaeróbios durante o tratamento de esgoto doméstico, não atende às exigências ambientais, conduzindo a necessidade de pós-tratamento. Nesse sentido, a flotação é alternativa atraente, sendo capaz de remover sólidos em suspensão e, quando em combinação com agentes coagulantes, remover nutrientes, como o fósforo, e parcela da matéria orgânica residual (CAMPOS et al., 1996).

O efluente tratado proveniente do flotador apresentou valores de DQO total variando de 62,6 a 108,9 mg.L⁻¹, com média de 87,3 mg.L⁻¹, DQO filtrada variando de 31,2 a 75,6

mg.L⁻¹, levando a uma média de 53 mg.L⁻¹ e DQO particulada variando de 7,6 a 41 mg.L⁻¹, e média de 28,8 mg.L⁻¹. Além disso, as eficiências médias de remoção foram de 53,8, 34,9 e 74% para DQO total, filtrada e particulada, respectivamente.

Com relação aos sólidos totais, suspensos totais e dissolvidos totais obteve-se concentrações médias de 439,1, 39,7 e 399,4 mg.L⁻¹, respectivamente. Como esperado, a remoção de sólidos suspensos foi a mais significativa, em torno de 29,7%.

Quanto à turbidez do efluente tratado por flotação obteve-se média de 29 uT, que conduziu em uma remoção de 63,2% da turbidez no efluente anaeróbio. A cor aparente e verdadeira também foram significativamente removidas por esse processo, em média 80% e 61,4%, respectivamente.

Aisse et al. (2001) investigaram o sistema reator anaeróbio e flotador por ar dissolvido da ETE Cambuí (Campo Largo-PR) para tratamento de esgoto sanitário, e o coagulante utilizado era o cloreto férrico. Foram relatados resultados de remoção global de DQO e sólidos suspensos de 87% e 83%, respectivamente, valores semelhantes aos da ETE-Monjolinho. Ainda reportaram turbidez média de 4,1 uT no efluente do flotador, porém a turbidez afluente se mostrou bem inferior ao deste estudo, com média de 13,4 uT.

Um estudo sobre tratamento de esgoto por flotação por ar dissolvido em condições otimizadas e em escala piloto, também apontou resultados mais satisfatórios de 66% para DQO e 82% para sólidos suspensos (KIM *et al.*, 2014). Da mesma forma, pesquisadores como Penetra et al. (1999) e Pinto Filho e Brandão (2000), apontaram melhores resultados de remoção dessas variáveis ao avaliarem, em escala de laboratório, o emprego da flotação por ar dissolvido para tratamento de esgoto, porém vale mencionar que ensaios realizados em escala de laboratório e em condições controladas tendem a apresentar maiores eficiências no tratamento quando comparados aos processos em escala plena.

Penetra (1998) apresentou resultados de uma instalação piloto de flotação com escoamento contínuo alimentado com efluente de reator UASB, e com emprego de uma dosagem de 65 mg.L⁻¹ de cloreto férrico, tempo de floculação de 15 minutos e gradiente de floculação de 80 s⁻¹, e observou remoção de DQO, sólidos suspensos, turbidez e cor aparente de 89, 96, 98 e 91%, respectivamente.

Ariano (2009) utilizou o mesmo coagulante usado na ETE-Monjolinho para tratar efluente anaeróbio em equipamento de flotação em escala de laboratório, com aplicação de 8,45 mg de Al₂O₃.L⁻¹ e sem adição de polímero, e alcançou remoções de sólidos suspensos totais, cor aparente, turbidez e DQO da ordem de 62,5, 52, 88 e 75%, respectivamente.

Durante o período de amostragem desse estudo, o sistema de flotação da ETE-Monjolinho passava por fase de reajustes para otimização do processo, fato que pode explicar os resultados menos satisfatórios que aqueles relatados na literatura.

Assim como foi feito para o lodo do reator anaeróbio, o lodo do flotador foi monitorado e caracterizado em termos de sólidos totais, pH e temperatura com o intuito principal de auxiliar a interpretação dos resultados de concentração dos protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. nesse subproduto. A concentração de sólidos totais no lodo flotado foi inferior ao do lodo anaeróbio, com um teor médio de sólidos de 2,2%.

5.2 – Monitoramento de microrganismos indicadores – *E. coli* e coliformes totais e *Clostridium perfringens*.

As Figuras 5.2 e 5.3 representam as concentrações de *E. coli* e coliformes totais encontradas durante o monitoramento dos sistemas de tratamento de esgoto.

As concentrações de *E. coli* variaram no esgoto bruto de 2×10^5 a 8×10^5 UFC.mL⁻¹, com média de $4,5 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹. Enquanto que no efluente do tratamento preliminar houve uma pequena redução na concentração desse microrganismo, variando de $1,2 \times 10^5$ a $7,5 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹, e média de 3×10^5 UFC.mL⁻¹. Enquanto que as concentrações médias de coliformes totais no esgoto bruto e no efluente do tratamento preliminar foram de $1,36 \times 10^6$ e 1×10^6 UFC.mL⁻¹, respectivamente.

As concentrações dos indicadores *E. coli* e coliformes totais se mostraram elevadas tanto no esgoto bruto como no efluente do tratamento preliminar, e foram consideradas estatisticamente iguais ($p > 0,05$, teste não-paramétrico do Sinal).

Payment et al. (2001) detectaram, no esgoto bruto, concentração média de *E. coli* de cerca de $1,57 \times 10^6$ UFC.100 mL⁻¹. Kistemann et al. (2008) ao estudarem a presença de *E. coli* e coliformes totais em 6 estações de tratamento de esgoto, indicaram concentrações de $0,2 \times 10^7$ a $1,3 \times 10^7$ UFC.100 mL⁻¹ e $0,9 \times 10^7$ a $4,5 \times 10^7$ UFC.100 mL⁻¹, respectivamente. Khan et al. (2014) encontraram valores superiores aos de Kistemann et al. (2008) com relação a coliformes totais, média de $9,3 \times 10^7$ UFC.100 mL⁻¹.

O efluente também apresentou concentrações significativas de *E. coli* e coliformes totais após passar pelo processo anaeróbio, com média $3,9 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹ e $1,58 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹, respectivamente. Da mesma forma, Dias et al. (2014) revelam altas concentrações de *E. coli* e coliformes totais no esgoto bruto e em efluente de reator UASB, sendo que para o

esgoto bruto obtiveram concentração média de *E. coli* de $1,3 \times 10^8$ UFC.100mL⁻¹ e coliformes totais de $1,3 \times 10^9$ UFC.100mL⁻¹, e para o efluente tratado anaerobiamente esses valores se reduziram para $4,61 \times 10^7$ UFC.100mL⁻¹ e $1,86 \times 10^8$ UFC.100mL⁻¹, respectivamente.

Após passar pelo processo físico-químico de flotação por ar dissolvido as concentrações ainda se mostraram altas para *E. coli* e coliformes totais, cerca de $6,9 \times 10^3$ e $2,8 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹, respectivamente. Elevadas concentrações de coliformes totais também foram relatadas por Aisse et al. (2001), com valores máximo e mínimo de 9×10^6 e 5×10^5 UFC.100mL⁻¹, respectivamente, após o efluente do tratamento anaeróbio ser tratado em flotor na ETE Cambuí.

Figura 5.2: Concentração de *E. coli* no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.

Figura 5.3: Concentração de coliformes totais no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.

Na Tabela 5.4 estão apresentadas as remoções médias de *E. coli* e coliformes totais pelas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.

Tabela 5.4: Remoção de coliformes totais e *E. coli* nas unidades de tratamento da ETE – Monjolinho.

Variáveis	Preliminar	UASB	FAD	Global
	Média (log)	Média (log)	Média (log)	Média (log)
	[Mín-Máx]	[Mín-Máx;]	[Mín-Máx]	[Mín-Máx]
<i>Escherichia coli</i>	0,2	0,81	0,79	1,77
	[0,097-0,57]	[0,12-1,14]	[0,34-1,14]	[1,04-2,2]
Coliformes Totais	0,14	0,84	0,85	1,78
	[0,004-0,33]	[0,42-1,1]	[0,38-1,13]	[1,35-2,17]

Nota: Mín: Mínima; Máx: Máxima

Conforme esperado, o tratamento preliminar teve o menor resultado de remoção dos microrganismos indicadores quando comparado aos demais tratamentos. Provavelmente a remoção foi por sedimentação, com média de 0,2 e 0,14 log para *E. coli* e coliformes totais, respectivamente.

De acordo com Tawfik et al. (2008), a remoção de coliformes totais e coliformes fecais por tratamento anaeróbio, como reator UASB, pode ser atribuída a mecanismos físicos de sedimentação, uma vez que os coliformes podem estar aderidos a materiais em suspensão.

O reator UASB teve uma média de remoção de *E. coli* e coliformes totais pouco menor daquela retratada por alguns estudos da literatura que indicam valores de 1 log (CHERNICHARO, 2006; MEDEIROS, 2013; KHAN *et al.*, 2014).

Dias et al. (2014) evidenciam, em seu estudo, remoção por reator UASB ainda menor ao deste estudo, em média 0,7 log para *E. coli*, porém Walia et al. (2014) trataram a remoção desse tipo de microrganismo por UASB como insignificante.

A remoção dos organismos indicadores pelo flotor foi similar ao obtido pelo reator UASB, média de 0,79 e 0,85 log para *E. coli* e coliformes totais, respectivamente. E como nesse estudo, Aisse et al. (2001) não obtiveram significativos índices de remoção de coliformes totais na flotação por ar dissolvido em escala plena.

A média de remoção global de *E. coli* e coliformes totais pela ETE-Monjolinho foi da ordem de 1,77 e 1,78, respectivamente.

Alguns estudos realizados em estações em escala plena com outros processos de tratamento revelam maiores resultados de eficiência global para remoção desses

microrganismos, como Ottoson *et al.* (2006), Kistemann *et al.* (2008) e Dias *et al.* (2014). Porém, Payment *et al.* (2001) indicam resultados de remoção bem inferiores.

Na Figura 5.4 são apresentadas as concentrações de *Clostridium perfringens* encontradas nas unidades de tratamento de esgoto.

Figura 5.4: Concentração de coliformes totais no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.

As concentrações encontradas do microrganismo indicador *Clostridium perfringens* no esgoto bruto e efluente do tratamento preliminar foram altas. No esgoto bruto variou de $1,5 \times 10^5$ a $2,6 \times 10^5$ UFC.100mL⁻¹, e apresentou média de $2,0 \times 10^5$ UFC.100mL⁻¹.

No efluente do tratamento preliminar foram encontradas concentrações pouco maiores que no esgoto bruto em alguns ensaios, sendo que as concentrações variaram de $1,0 \times 10^5$ a $2,8 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹, resultando em uma média de $2,08 \times 10^5$ UFC.100mL⁻¹.

Kistemann et al. (2008) detectaram concentrações médias de *Clostridium perfringens* variando de $0,5 \times 10^5$ UFC.100mL⁻¹ a $3,3 \times 10^5$ UFC.100mL⁻¹ nas 6 ETEs que investigaram na Alemanha, valores próximos aos encontrados na ETE-Monjolinho. Medeiros (2013) e Payment et al. (2001) indicaram menores concentração desse microrganismo em esgoto bruto, média de $3,8 \times 10^4$ UFC.100 mL⁻¹ e $1,2 \times 10^4$ UFC.100mL⁻¹, respectivamente.

O efluente anaeróbio também apresentou elevadas concentrações de *Clostridium perfringens*, com média $6,3 \times 10^4$ UFC.100mL⁻¹, e valores mínimo e máximo de $3,9 \times 10^4$ UFC.100mL⁻¹ e $1,4 \times 10^5$ UFC.100mL⁻¹, respectivamente. Da mesma forma, Medeiros (2013) encontrou alta concentração média dessa bactéria esporulada em efluente anaeróbio, cerca de $1,8 \times 10^4$ UFC.100mL⁻¹.

No efluente do processo físico-químico de flotação por ar dissolvido, a concentração média foi de $1,5 \times 10^4$ UFC.100mL⁻¹, e as concentrações mínima e máxima foram de 8×10^3 UFC.100mL⁻¹ e $2,0 \times 10^4$ UFC.100mL⁻¹.

Payment et al. (2001) também relataram altas concentrações da bactéria, média de $5,89 \times 10^3$ UFC.100mL⁻¹, em efluente final tratado em ETE. Assim como Kistemann et al. (2008), que revelaram concentrações na faixa de $0,2 \times 10^3$ UFC.100mL⁻¹ a $4,0 \times 10^3$ UFC.100mL⁻¹ em efluentes tratados por 6 diferentes ETEs.

Vale ressaltar que as concentrações finais (após flotador) dos microrganismos indicadores (*E. coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens*) não correspondem àquelas que são despejadas no corpo d'água receptor dos efluentes da ETE-Monjolinho, visto que o efluente ainda passa por desinfecção por radiação ultravioleta após o tratamento no flotador, e não foram realizadas análises desse efluente final.

Porém, no estudo de Medeiros (2013) na ETE da cidade de Limeira, composta por tratamento preliminar, reator UASB, lodos ativados e desinfecção com radiação ultravioleta, ainda foram relatadas altas concentrações dos microrganismos indicadores mesmo após a desinfecção. As concentrações médias foram de $4,2 \times 10^3$ UFC.mL⁻¹, $3,4 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹ e $6,0 \times 10^3$ UFC.100mL⁻¹ para *E. coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens*, respectivamente.

Os gráficos “boxplot”, que representaram uma análise descritiva dos dados de concentração dos microrganismos indicadores (*E. coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens*) com relação à mediana, percentis e valores máximos e mínimos, também indicam, através de suas configurações, que os dados de concentração de todos os microrganismos nas diferentes unidades de tratamento não apresentam distribuição normal e consequentemente houveram significativos desvios padrão.

Na Tabela 5.5 estão apresentadas as remoções médias de *Clostridium perfringens* após as unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.

Tabela 5.5: Remoção de *Clostridium perfringens* nas unidades de tratamento da ETE – Monjolinho.

Variável	Preliminar	UASB	FAD	Global
	Média (log)	Média (log)	Média (log)	Média (log)
	[Mín-Máx]	[Mín-Máx;]	[Mín-Máx]	[Mín-Máx]
<i>Clostridium perfringens</i>	0,097	0,54	0,59	1,14
	[0,043-0,17]	[0,3-0,75]	[0,31-0,84]	[0,87-1,42]

Nota: Mín: Mínima; Máx: Máxima

O tratamento preliminar apresentou baixo valor de remoção para o microrganismo *Clostridium perfringen*, de 0,043 a 0,17 log, com média de 0,097 log.

O reator UASB removeu a bactéria esporulada em uma média de 0,54 log. E como ocorreu para os microrganismos *E. coli* e coliformes totais, a remoção de *Clostridium perfringens* pelo reator UASB foi novamente similar à remoção do flotador, que apresentou remoção média 0,59 log. A média de remoção global de *Clostridium perfringens* foi de 1,14 log.

Medeiros (2013) determinou 1,71 log de remoção média para *Clostridium perfringens* na ETE na cidade de Limeira, cujos tratamentos foram mencionados anteriormente, resultado superior ao deste estudo. Kisteman et al. (2008) reportaram alta taxa de remoção, média 3,1 log para estação de tratamento composta por sedimentação, lodos ativados e filtração em areia, e da mesma maneira Ottoson et al. (2006) relataram alta taxa de remoção, cerca de 3,04 log para ETE com tratamento principal de biorreatores à membrana.

5.3 – Monitoramento de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

5.3.1 – Ocorrência de oocistos *Cryptosporidium* spp. no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho

As concentrações obtidas de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e a porcentagem de amostras positivas para cada efluente estão apresentadas na Tabela 5.6.

Tabela 5.6: Porcentagem de amostras positivas e a análise descritiva das amostras positivas para oocistos de *Cryptosporidium*.

Efluente	Nº de amostras analisadas	% positivas	Média (oocistos.L ⁻¹)	Mín (oocistos.L ⁻¹)	Máx (oocistos.L ⁻¹)
Bruto	9	44,4 (4/9)	1,35 x 10 ²	ND	1,8 x 10 ²
Preliminar	8	50 (4/8)	9 x 10 ¹	ND	1,2 x 10 ²
UASB	8	37,5 (3/8)	1 x 10 ¹	ND	1,33 x 10 ¹
FAD	8	25 (2/8)	5,87	ND	8,9

Nota: ND: não detectado; Mín: mínimo; Máx: Máximo.

Oocistos de *Cryptosporidium* spp. não foram detectados com muita frequência nas amostras de esgoto, com positividade em 13 de um total de 33 amostras analisadas (39%).

Nota-se que houve maior positividade para o esgoto bruto e efluente do tratamento preliminar com resultados de 44,4% e 50%, respectivamente. Castro-Hermida *et al.* (2008) relatam positividade em 100% das amostras de esgoto bruto e tratado para oocistos de *Cryptosporidium*.

Para o esgoto bruto, a média foi de 1,35 x 10² oocistos.L⁻¹ e variou de não detectado (ND) a 180 oocistos/L, sendo que os meses de detecção nesse afluente foram janeiro, fevereiro, junho e julho. Esse resultado se mostrou inferior aos dados obtidos por Farias et al.

(2002), que detectaram até $9,12 \times 10^2$ oocistos.L⁻¹ em esgoto bruto na cidade de São Paulo e obtiveram positividade em todas as amostras estudadas.

Para os demais efluentes foram encontradas concentrações menores de oocistos. No caso do efluente tratado obteve-se concentração média de 5,87 oocistos por litro, similar a outros estudos como Payment et al.(2001), Dungeni e Momba(2010), Gallas-Lindemann *et al.* (2013).

A baixa concentração de oocistos no esgoto tratado ainda deve ser motivo de preocupação, e cautela quanto aos riscos à saúde pública e contaminação ambiental, visto que as doses infectantes de oocistos podem ser extremamente baixas (OKHUYSEN et al., 1999; CHAPPELL et al.. 2006).

Sendo a detecção de *Cryptosporidium* pouco frequente nas amostras analisadas, não foi possível avaliar sua remoção pelos respectivos processos de tratamento.

Ao se confrontar os dados de *Cryptosporidium* com os dados de *Giardia*, expostos no item seguinte (5.3.2), percebe-se que a presença e quantidade de oocistos de *Cryptosporidium* nas amostras foram muito inferiores em relação a cistos de *Giardia*, assim como já relatado por outros inúmeros pesquisadores, em amostras de esgoto, no Brasil (CANTUSIO NETO et al., 2006; SANTOS et al., 2011; MEDEIROS, 2013) e em outros países (CACCIÒ et al., 2003; BRIANCESCO e BONADONNA, 2005; LONIGRO et al., 2006; LIM et al., 2007; CASTRO-HERMIDA et al., 2010; REDDER et al., 2010; GALLAS-LINDEMANN et al., 2013). Porém em estudo na Nigéria, Okojoku et al. (2014) não chegaram a resultados semelhantes, detectando maior média de concentração de *Cryptosporidium* quando comparada a *Giardia*.

As maiores concentrações de cistos de *Giardia* no esgoto podem sugerir que a giardiose está mais disseminada ou ocorre com uma maior intensidade infecciosa do que a criptosporidiose (CACCIÒ et al., 2003; LIM et al.; 2007). Além disso, a incidência de criptosporidiose pode ser significativamente afetada pela sazonalidade (JAGAI *et al.*, 2009), o que também explicaria a baixa positividade de oocistos nas amostras.

Outro fator que justificaria os resultados obtidos é a dificuldade envolvida na detecção de *Cryptosporidium* spp. devido à complexidade das amostras de esgoto e também às características do próprio oocisto, porém esse tema será melhor discutido no item 5.3.5.

5.3.2 – Ocorrência de *Giardia* spp. no esgoto bruto e nas unidades de tratamento

As concentrações de cistos de *Giardia* spp. encontradas durante o período de amostragem podem ser visualizadas na Figura 5.5.

Figura 5.5: Concentração de *Giardia* spp. no esgoto bruto durante o período de amostragem.

Foram realizadas um total de 9 coletas de esgoto bruto, sendo 3 coletas por trimestre avaliado (trimestre 1 - janeiro, fevereiro e março; trimestre 2 - abril, maio e junho; trimestre 3 - julho, agosto e setembro) e detectadas elevadas quantidades de cistos de *Giardia* spp. em 100% das amostras analisadas desse afluente, apresentando concentrações na faixa de $8,04 \times 10^3$ a $2,43 \times 10^4$ cistos.L⁻¹, média de $1,89 \times 10^4$ cistos.L⁻¹, e desvio padrão de $5,3 \times 10^3$.

Nasser et al. (2012) ao realizarem uma revisão na literatura sobre ocorrência de cistos no esgoto bruto em 17 países, relataram níveis de não detectado a 1×10^5 cistos.L⁻¹. Não verificaram diferenças significativas na prevalência de cistos no esgoto entre países desenvolvidos e em desenvolvimento, porém, em diversos casos, notaram flutuações significativas nas concentrações de cistos no esgoto para um mesmo local de amostragem, estando em acordo com os resultados apresentados nesse estudo.

Os 3 diferentes trimestres do ano foram comparados, estatisticamente, com relação aos dados de concentrações de cistos de *Giardia* spp. detectadas no esgoto bruto. Foi observado que houve diferença estatística entre os períodos estudados ($p < 0,05$, teste não-paramétrico

de Kruskal-Wallis). E a partir da Figura 5.5 é possível observar que as concentrações de cistos foram mais elevadas no trimestre 2.

Cacciò et al. (2003), Briancesco e Bonadonna (2005) e Ajonina et al., (2013) também avaliaram as concentrações de cistos de *Giardia* spp. no esgoto bruto em diferentes períodos do ano e notaram que as maiores concentrações de cistos ocorreram nas estações outono e inverno, enquanto que Castro-Hermida et al. (2008), ao analisarem afluentes e efluentes de 12 ETEs na Espanha, concluíram que, para todas as ETEs, as maiores quantidades de (oo)cistos foram observadas em períodos de primavera e verão.

Da mesma forma, Oda et al.(2005) e Samie e Ntekele (2014) relataram variações nas concentrações de cistos no esgoto nas diferentes épocas do ano. Além disso, Oda et al. (2005) revelaram variações nas concentrações de cistos com o decorrer do dia.

Por outro lado, Robertson et al. (2006) observaram fortes flutuações nos resultados de cistos por litro de esgoto bruto, mas não evidenciaram nenhuma relação com a sazonalidade, assim como ocorreu com Medema e Schijven (2001).

Diversos estudos conduzidos por outros pesquisadores em países desenvolvidos como Canadá, Japão, Espanha, Noruega, ou mesmo em países em desenvolvimento como África do Sul, China e inclusive no Brasil, apontam concentrações médias de cistos de *Giardia* spp. em esgoto bruto muito inferior à média encontrada no presente estudo (PAYMENT et al., 2001; ODA et al., 2005; ROBERTSON et al., 2006; CASTRO-HERMIDA, 2008; DUNGENI e MOMBA, 2010; FU et al., 2010; REINOSO et al., 2011; TONANI et al., 2013; GRONDAHL-ROSADO et al., 2014).

Em contrapartida, Cacciò et al. (2003), ao avaliarem as quantidades de cistos afluentes a 4 ETE em diferentes cidades da Itália, encontraram média de até $4,2 \times 10^4$ cistos.L⁻¹, resultado superior ao encontrado na ETE-Monjolinho, assim como resultados apresentados por estudos feitos no Brasil como Santos et al. (2011) e Goulart (2013) que relataram valores de $1,34 \times 10^5$ e $9,8 \times 10^4$ cistos.L⁻¹, respectivamente.

Além da sazonalidade do parasito, a variabilidade nas concentrações de cistos no esgoto não tratado pode ser explicada pelas condições de saneamento e socioeconômica do local, distribuição geográfica, dia e horário de amostragem, reflexos da prevalência da doença na população, grande variabilidade de resultados gerados pelos métodos disponíveis de detecção de protozoários e de suas eficiências de recuperação (ROBERTSON et al., 1999; SMITH e GRIMASON, 2003; NASSER et al., 2012; ONGERTH, 2013).

Na Figura 5.6 serão expostas as concentrações de cistos de *Giardia* spp. nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho para comparação e discussão.

Figura 5.6: Concentração de *Giardia* spp. no esgoto bruto e nas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho.

Todas as amostras analisadas, de afluente bruto ou efluente tratado, foram positivas com relação a presença de *Giardia*.

A concentração de cistos no efluente proveniente do tratamento preliminar (desarenador aerado) foi maior que a concentração do esgoto bruto em 50% dos ensaios.

O efluente do tratamento preliminar apresentou média de $2,3 \times 10^4$ cistos.L⁻¹ e desvio padrão de $9,7 \times 10^3$ cistos.L⁻¹, enquanto que para o esgoto bruto, como mencionado anteriormente, obteve-se média de $1,89 \times 10^4$ e desvio padrão de $5,3 \times 10^3$ cistos.L⁻¹. A partir da comparação do desvio padrão dos dois efluentes é possível notar que as concentrações de cistos no efluente do tratamento preliminar foram mais variáveis quando comparadas com as concentrações do esgoto bruto.

Vale ressaltar que em dois ensaios laboratoriais em específico a concentração de cistos do tratamento preliminar foi praticamente o dobro que aquela encontrada no esgoto bruto, e nos demais ensaios não se obteve resultados tão discrepantes.

Os dados de concentração de cistos de *Giardia* spp. no esgoto bruto e no efluente do tratamento preliminar foram comparados estatisticamente, e foi verificado que não houve diferença estatística entre as concentrações do organismo nos dois tipos de efluentes ($p > 0,05$, teste não-paramétrico do Sinal).

Robertson et al. (2006), ao se depararem com esse tipo de resultado, citam a possibilidade de se detectar maiores concentrações de (oo)cistos nos efluentes do que nos afluentes devido a maior eficiência de recuperação dos parasitos obtido em efluentes mais tratados. Porém essa justificativa é pouco provável para esse caso, visto que as características físico-químicas desses efluentes são extremamente semelhantes, como pode ser visto no item 5.1, e foi utilizada a mesma metodologia de detecção de protozoários para ambos.

Robertson et al. (2006), mencionam ainda outras possíveis situações, como: flutuações temporais na concentração dos protozoários; ausência de “pareamento” entre as amostras de entrada e saída; distribuição desigual dos parasitos nas amostras; ou uma combinação desses fatores.

As concentrações de cistos se reduziram significativamente após o tratamento anaeróbio por reator UASB, apresentando média de 6×10^2 cistos.L⁻¹, desvio padrão de $2,28 \times 10^2$ e concentração máxima de $9,13 \times 10^2$ cistos.L⁻¹. Esses resultados foram inferiores aos apresentados por Medeiros (2013), que detectou cistos em 100% das amostras provenientes do reator UASB (escala piloto) e média de $6,6 \times 10^3$ cistos.L⁻¹.

Goulart (2013), ao estudar uma ETE da cidade de Campinas-SP, encontrou menores quantidades de cistos em efluente de reator UASB, cerca de $1,93 \times 10^2$ cistos.L⁻¹. Samhan et al. (2007), apesar de detectarem cistos de *Giardia* spp. nos afluentes aos reatores UASB, não detectaram nos seus efluentes e concluíram que houve eficiência total do tratamento na remoção do parasito, porém atestaram limitações na metodologia de detecção de protozoários, o que também poderia justificar os resultados de não detecção.

O efluente tratado proveniente do flotador por ar dissolvido ainda resultou em elevada concentração de cistos de *Giardia* spp., média de $2,35 \times 10^2$ cistos.L⁻¹, desvio padrão de $1,66 \times 10^2$, concentrações máxima e mínima de $5,13 \times 10^2$ e $7,77 \times 10^1$ cistos.L⁻¹, respectivamente.

Dungeni e Momba (2010), Tonani et al. (2013), Gallas-Lindemann et al. (2013), ao analisarem ETEs com outros tipos de processos de tratamento, relataram concentrações de

cistos nos efluentes tratados bem inferiores às obtidas na ETE-Monjolinho. Porém as quantidades de cistos nos afluentes a essas ETEs também eram significativamente inferiores quando comparadas aos resultados desse trabalho.

Sroka et al. (2013) detectaram concentração média de cistos, em uma ETE na Polônia, em torno de $1,13 \times 10^2$ cistos.L⁻¹ no esgoto tratado. Os autores alertam sobre os riscos associados a essa elevada quantidade de cistos presente no efluente tratado, tendo em vista seu potencial de veiculação hídrica e transmissão a humanos.

Porém, ao se analisar os estudos conduzidos por Robertson et al. (2006), Castro-Hermida et al. (2010), Santos et al. (2011), Ajonina et al. (2013) se nota que os efluentes tratados, provenientes de outras ETEs em escala plena, se mostraram ainda mais contaminados com o parasito *Giardia* spp..

Assim como observado para os microrganismos indicadores, os gráficos “boxplot” mostram distribuição assimétrica para as concentrações de *Giardia* spp. em todas unidades de tratamento, justificando os elevados valores de desvios padrão.

5.3.2.1 – Estimativa da prevalência de giardiose na população

No Brasil, a giardiose, assim como a criptosporidiose, são subdiagnosticadas e não possuem notificação obrigatória pelo sistema de saúde, o que implica na impossibilidade de se determinar a prevalência na população. Porém, a contribuição por pessoas infectadas pode ser estimada a partir de concentrações de cistos e oocistos encontradas no esgoto sanitário (MEDEIROS, 2013).

De acordo com Robertson et al. (2006), é possível se associar o fluxo diário de (oo)cistos no afluente a uma ETE e o número médio de (oo)cistos eliminados por dia por pessoa infectada, e assim se estimar a extensão da doença na população que contribui para geração de esgoto afluente a uma ETE. Assim, a fim de se estimar a prevalência de giardiose na população de São Carlos foram utilizados os dados obtidos de concentração de cistos no esgoto bruto e realizados cálculos conforme proposto por Oda et al. (2005).

Sabendo que a ETE-Monjolinho atende 85% da população de São Carlos, então se considerou 85% do número de habitantes são-carlenses estimados pelo IBGE para 2014 (última publicação).

Para calcular a estimativa de número de pacientes infectados e prevalência em porcentagem na população foram usadas as seguintes equações:

$$\text{N}^\circ \text{ paciente} = \frac{\text{volume diário de esgoto afluyente (Litro)} \times \text{número de cistos por litro de esgoto}}{\text{número de cistos liberados por um paciente em um dia}} \quad (5.1)$$

$$\text{Prevalência (\%)} = \frac{\text{Número estimado de pacientes}}{\text{População}} \quad (5.2)$$

Quanto ao número de cistos liberados nas fezes de uma pessoa infectada por dia adotaram-se os valores mínimo e máximo de 10^8 a 10^9 , conforme dados de CDC (2010), sendo que os resultados mínimos e máximos de número estimado de pacientes e de prevalência foram calculados de acordo com esses valores adotados.

Na Tabela 5.7 estão apresentadas as estimativas de prevalência de giardiose na população de interesse.

Tabela 5.7: Estimativa da prevalência de giardiose na população de São Carlos.

Quantidade de esgoto por dia (Litros)	Número de cistos por litro de esgoto	População estimada pelo IBGE (2014) corrigida para 85%	Valores Estimados	
			Nº de pacientes (Mín – Máx)	Prevalência (%Mín - % Máx)
5,6 x10 ⁷	8,04 x 10 ³ (Mín)	203.114	450 – 4500	0,22 – 2,2
	1,9 x 10 ⁴ (Média)		1.064 – 10.640	0,52 – 5,2
	2,43 x 10 ⁴ (Máx)		1.360 – 13.600	0,67 – 6,7

Nota: Mínimo, Máximo

A prevalência de giardiose na população de São Carlos foi estimada entre 0,22% e 6,7%. Esses resultados estão próximos aos dados de outros estudos realizados na cidade de Pedro de Toledo (SP) (RIBEIRO JUNIOR, 2002; PEREIRA 2003). Porém o método de tais

estudos para a investigação da prevalência se deu de forma diferente, através de exames de fezes da população em geral (amostras escolhidas de maneira aleatória).

Tais dados de prevalência de giardiose na cidade de São Carlos podem estar subestimados devido a limitação do método de detecção de protozoário adotado para esgoto bruto, que apresentou valor médio de recuperação de cistos de 53,4% (item 5.3.5).

5.3.3 – Remoção de cistos de *Giardia* spp. nas unidades de tratamento

As remoções de cistos de *Giardia* spp. pelo tratamento preliminar (desarenação e remoção de gordura), tratamento biológico promovido pelo reator UASB e tratamento físico-químico por flotação por ar dissolvido, podem ser visualizadas na Figura 5.7.

Figura 5.7: Remoção de cistos de *Giardia* spp. pelas unidades de tratamento da ETE-Monjolinho, com μ representando a remoção média.

Para o tratamento preliminar (desarenador aerado) foi possível calcular o log de remoção em poucos ensaios, obtendo-se uma média de remoção de 0,063 log, e uma remoção máxima de 0,098 log (20%). Como já discutido anteriormente, em alguns casos houve maior número de cistos no efluente do que no afluente, levando a taxas negativas de remoção, evento também observado por Robertson et al. (2000) e Nkambule et al. (2008), porém com outros tipos de processos de tratamento.

Fu et al. (2010), ao estudarem o processo de desarenação em uma ETE, chegaram a taxas de remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. da ordem de 0,12 log e 0,18 log, respectivamente. Da mesma forma, Medeiros (2013) indicou remoção de cistos de 0,18 log em tratamento preliminar em ETE em escala plena.

O tratamento preliminar envolve processo físico de sedimentação e curto tempo de detenção hidráulica. Assim, cistos do protozoário *Giardia* spp. não são removidos de maneira eficaz por esse processo por serem leves e requererem períodos mais longos de tratamento para que ocorra a sedimentação.

Segundo Chernicharo (2006), no Brasil praticamente todos os estudos de viabilidade que visam o tratamento de águas residuárias incluem o reator UASB como uma das principais alternativas, e assim este vem sendo consolidado e disseminado para o tratamento de esgoto sanitário. Contudo, são poucas as referências bibliográficas que abordam sobre a remoção de patógenos, entre eles *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., através do tratamento em reatores anaeróbios (CHERNICHARO et al., 2001).

Chong et al. (2012) citam as desvantagens dos reatores UASB, dentre elas está remoção parcial de organismos patogênicos, exceto ovos de helmintos. A remoção dos ovos de helmintos em reator UASB, em geral, é alcançada basicamente pela remoção física, adsorção em flocos ou de sedimentação simples (JIMENEZ-CISNEROS, 2007).

Assim como os ovos de helmintos, a remoção de (oo)cistos pode se dar por processos físicos, porém a sedimentação pode não ser tão eficiente, visto que os (oo)cistos tem comportamento similar a partículas suspensas de baixa densidade (FRENCH et al., 2000). Além disso, estudos indicam a velocidade reduzida de sedimentação dos (oo)cistos (DAI e BOLL, 2006).

A remoção dos (oo)cistos por sedimentação em reatores UASB pode ser aumentada quando se aderem a sólidos em suspensão. Estudos como de Feng et al. (2003), indicam que esses organismos têm grande facilidade em se unirem a essas partículas.

Nesse mesmo sentido, Nasser et al. (2012) e Goulart (2013) afirmam que maiores tempos de detenção hidráulica em processos biológicos, como o tratamento anaeróbio em reator UASB, é essencial para promoção de maiores taxas de remoção de cistos, visto que a maior parte dos cistos é retida no lodo.

O reator UASB da ETE-Monjolinho teve uma significativa capacidade de remoção de cistos, apesar de não ser projetado para esse propósito. Em média, houve remoção de 1,57 log (97%), com resultados mínimo e máximo de 1,27 (94,7%) e 2,14 log (99,27%),

respectivamente, e desvio padrão de 0,27. Pôde-se então notar que independente da carga de cistos afluente ao reator UASB, proveniente do tratamento preliminar que apresentou expressiva variação na concentração de cistos, o tratamento anaeróbico se manteve estável na remoção desse organismo.

Ottoson et al. (2006) mostraram através de seus resultados que o reator UASB teve menor eficiência de remoção de (oo)cistos do que os processos de filtração terciária e biofiltração em membrana.

Verbyla et al. (2013) avaliaram dois sistemas de tratamento de águas residuárias, sendo um sistema composto por reator UASB seguido de lagoa de polimento e o outro por três lagoas de estabilização. Foi verificado que os efluentes finais do sistema UASB+lagoas continham as maiores concentrações de cistos de *Giardia* spp., em torno de 242.3 ± 42.8 e 73.3 ± 13.8 cistos.L⁻¹ nos afluentes e efluentes, respectivamente.

Goulart (2013) atribuiu a eficiência do tratamento anaeróbico ao acúmulo de cistos no lodo, e relatou médias de cistos de *Giardia* spp. em afluentes e efluentes de reator UASB (escala plena) de $9,83 \times 10^5$ e 193 por litro, respectivamente, o que conduziria a um valor médio de remoção de 2,7 log (99,8%), superior ao deste estudo. A melhor eficiência do reator UASB, objeto de estudo de Goulart (2013), provavelmente se deu pelo seu maior tempo de detenção hidráulica, de 13 horas, enquanto que o reator UASB da ETE-Monjolinho é operado com tempo de detenção de 6 a 8 horas.

Medeiros (2013), ao operar reator UASB piloto, alcançou eficiência muito inferior de remoção de cistos de *Giardia* spp., cerca de 0,36 log, mesmo com tempo de detenção hidráulica de 12 horas.

A flotação por ar dissolvido (FAD) é particularmente eficiente em remover partículas e flocos de baixa densidade (EDZWALD, 2006). Assim, a baixa densidade dos cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. permite que estes sejam passíveis de remoção por flotação por ar dissolvido, sendo removidos do efluente para o lodo flotado (EDZWALD, 2010).

Os dados disponíveis na literatura sobre remoção de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. por meio de flotação por ar dissolvido, são mais comuns quanto ao tratamento de águas de abastecimento em escala piloto e de bancada (PLUMMER et al., 1995; EDZWALD e KELLEY, 1998; EDZWALD et al., 2000), enquanto que estudos sobre esse tema no tratamento de esgoto sanitário ainda se apresentam como uma lacuna.

Porém não atendendo às expectativas, o flotador da ETE-Monjolinho não apresentou uma remoção de cistos de *Giardia* spp. tão expressiva. E através da Figura 5.7 é possível

observar que as remoções de *Giardia* spp. pelo reator UASB foram maiores que as remoções atingidas pelo flotador em todos os ensaios. Essa situação pode ser explicada pela maior eficiência de recuperação do método de detecção de protozoários para o efluente tratado proveniente do flotador quando comparada a eficiência obtida com o método utilizado para o efluente do reator UASB, ou ainda pelo fato de o flotador, durante o período de amostragem, estar em fase de reajustes, como já citado anteriormente.

O processo de flotação da ETE-Monjolinho apresentou média de remoção de cistos de *Giardia* spp. de 0,47 log (61%), remoções mínima e máxima de 0,25 log (43,8%) e 0,79 log (84%), respectivamente, e desvio padrão de 0,25.

O processo de flotação por ar dissolvido para tratamento de água tem sido apontado como efetivo na remoção de oocistos de *Cryptosporidium parvum*, com resultados superiores a 4 log (FRENCH et al., 2000). Os mesmos autores mencionam correlações estatísticas entre parâmetros operacionais da FAD e a eficiência desse processo na remoção de oocistos, como a forte correlação positiva da taxa de recirculação, do tempo de floculação e da turbidez (prévia a floculação) com a eficiência de remoção de oocistos.

Edzwald *et al.* (2000), a partir de estudos em escala piloto, avaliaram o comportamento da flotação por ar dissolvido quando submetida às condições de elevadas concentrações de (oo)cistos (310 a 3700 cistos e 2800 a 11000 oocistos por litro) para tratamento de amostras de água. As maiores eficiências, aproximadamente 3 log, foram alcançadas em épocas mais quentes (13 a 14°C), enquanto que em épocas mais frias (2 a 3°C) obtiveram-se remoções de cerca de 2 log. Além disso, compararam processo de sedimentação com o sistema de FAD, e concluíram que a flotação é mais eficiente.

5.3.3.1 – Comparação entre as remoções de cistos de *Giardia* spp. e de microrganismos indicadores nas unidades da ETE-Monjolinho.

A eficiência de remoção pela ETE-Monjolinho variou conforme o microrganismo e conforme o tratamento, como pode ser visualizado na Figura 5.8.

Figura 5.8: Eficiência do reator UASB e da flotação por ar dissolvido (FAD) em remover microrganismos indicadores e cistos de *Giardia* spp..

Em virtude das poucas amostras positivas para *Cryptosporidium* spp. não foi possível realizar testes de comparação entre as remoções desses organismos e os demais nas unidades de tratamento.

A partir da Figura 5.8 é possível afirmar apenas que houve diferença significativa na remoção de cistos de *Giardia* spp. e microrganismos indicadores pelo reator UASB, e que o reator UASB e a unidade de flotação por ar dissolvido (FAD) apresentaram remoções de cistos significativamente diferentes. Essas afirmações são possíveis de serem feitas ao se comparar os gráficos “boxplot” que não interceptam intervalos iguais de valores. Outras afirmações a partir da Figura 5.8 não são possíveis justamente pelo fato da maioria dos gráficos “boxplot” terem interceptado faixas de valores semelhantes, por isso foram realizados testes estatísticos como segue abaixo.

As remoções dos microrganismos indicadores (*E. coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens*) pelo reator UASB e pelo flotador não apresentaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$, teste de Wilcoxon).

Na unidade de flotação por ar dissolvido não foi observada diferença significativas entre suas remoções de cistos e microrganismos indicadores ($p > 0,05$, teste de Kruskal-Wallis).

5.3.4 – Ocorrência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. no lodo

O lodo da ETE-Monjolinho apresentou elevadas concentrações de cistos e oocistos, conforme reportado nas Figuras 5.9 e 5.10.

Figura 5.9: Concentração de cistos de *Giardia* spp. em lodo proveniente de reator UASB e sistema de flotação por ar dissolvido, com μ representando a média de cistos.g⁻¹.

As amostras de lodo, tanto proveniente de reator UASB como do flotador, foram 100% positivas para presença de *Giardia* spp.

Em geral, as remoções dos (oo)cistos pelos processos de tratamento de esgoto, exceto a desinfecção, se referem a transferência desses microrganismos em suspensão nos efluentes para sedimentos e/ou lodo, e não pela sua destruição ou inativação (STOTT, 2003). Isso pode ser confirmado pelos resultados, em que a ocorrência de cistos nesse subproduto foi frequente

e em quantidades expressivas, assim provavelmente a remoção dos cistos pelo reator UASB e flotador se deu pela retenção dos mesmos no lodo.

Para o lodo do reator UASB obteve-se média de $7,7 \times 10^4$ cistos.g⁻¹, concentração máxima e mínima de $2,79 \times 10^5$ e $1,7 \times 10^4$ cistos.g⁻¹, respectivamente, e ainda um elevado desvio padrão de 9×10^4 . No lodo do flotador, a concentração média foi de $9,4 \times 10^4$ cistos.g⁻¹, com máxima e mínima $1,8 \times 10^5$ e $1,42 \times 10^4$ cistos.g⁻¹, respectivamente, e desvio padrão de $5,5 \times 10^4$.

A expectativa de que o lodo do reator UASB apresentasse concentração média de cistos maior quando comparado ao lodo do flotador não foi confirmada. Assim se esperava tendo em vista a maior idade de lodo que se tem no reator UASB, e ainda, conforme os resultados, o reator UASB recebia uma carga de cistos muito superior e demonstrou uma maior remoção de cistos.

Porém, o lodo do reator UASB exibiu concentrações de sólidos totais bem superiores ao flotador (vide Figura 5.3), tal fato pode ter prejudicado a detecção dos cistos no lodo do reator UASB pelo método empregado pela maior quantidade de interferentes.

Apesar de a concentração média de cistos de *Giardia* spp. do flotador ter se apresentado maior que a concentração observada no reator UASB, não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre as concentrações desse organismo nos dois tipos de lodo ($p > 0,05$, teste não-paramétrico de Wilcoxon).

Os resultados se mostraram superiores aos dados de Bonatti (2007) que detectou até 4800 cistos de *Giardia* por grama de lodo de ETE, aos de Graczyk et al. (2008) e aos de Cheng et al. (2009) com 27 e 9 cistos de *Giardia* por grama de lodo, respectivamente, e ainda aos resultados de Gerba et al. (2011) cujas concentrações máxima e mínima foram de 10 a 1000 cistos por grama.

Para Iacovski et al. (2004), a variação da concentração de (oo)cistos no lodo depende das características da população servida pela ETE como, por exemplo, o nível de infecção dos indivíduos pelos parasitos.

Soares et al. (1994) e Medeiros (2013) obtiveram de $7,33 \times 10^4$ a $3,3 \times 10^6$ cistos por kg de lodo e $6,05 \times 10^4$ cistos por grama de lodo, respectivamente. Goulart (2013) também encontrou quantidades de cistos muito significativas no lodo, sendo as concentrações de cistos no lodo de reator UASB superiores ao lodo proveniente de tanque de aeração e lodo condicionado da ETE em estudo.

Figura 5.10: Concentração de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em lodo de esgoto proveniente de reator UASB e sistema de flotação por ar dissolvido, com μ representando a média de oocistos.g⁻¹.

Os oocistos foram encontrados em 37,5% (3/8) das amostras de lodo do UASB com média de $3,1 \times 10^2$ oocistos.g⁻¹ e desvio padrão de $1,08 \times 10^2$, e em 75% (6/8) das amostras de lodo do flotador, apresentando média de $8,69 \times 10^2$ oocistos.g⁻¹ e desvio padrão de $8,78 \times 10^2$.

Goulart (2013), por sua vez, em um estudo de 24 meses, registrou a presença de oocistos em apenas 3 destes meses para amostras de lodo.

Assim como ocorreu para os cistos de *Giardia* spp., houve maior positividade e concentração de oocistos no lodo da FAD quando comparado ao lodo do reator UASB, e como mencionado, a concentração de sólidos bastante elevada no lodo do reator UASB pode ser a causa. Além disso, como ocorreu para as amostras de efluentes, a positividade e concentração de oocistos de *Cryptosporidium* spp. no lodo foram menores quando comparadas aos cistos de *Giardia* spp..

Segundo Goulart (2013), os oocistos de *Cryptosporidium* spp. se caracterizam por seu tamanho bastante reduzido, e podem ser envolvidos pelo sólidos presentes no lodo, situação que impede a sua visualização por meio da microscopia de fluorescência.

Graczyk et al. (2008) e Cheng et al.(2009) encontraram concentrações inferiores de oocistos no lodo, cerca de 13,47 e 20 oocistos por grama de lodo de ETE, respectivamente.

Medeiros (2013) observou positividade em 60% de amostras de lodo proveniente de sistema de lodo ativado convencional, com concentração superior ao deste estudo, cerca de 958 oocistos.g⁻¹.

Iacovski et al. (2004), ao analisarem 27 amostras de lodo sanitário de uma ETE na cidade de Florianópolis-SC, constataram positividade para oocistos de *Cryptosporidium* spp. em 74% delas, e ainda boa eficiência de recuperação de oocistos através do método adotado.

5.3.5 – Experimento controle-positivo para os métodos empregados na detecção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

A Tabela 5.8 retrata os níveis de recuperação de cistos e oocistos pelos métodos adotados durante o estudo.

Tabela 5.8: Porcentagem de recuperação de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. para as diferentes metodologias utilizadas, com emprego da suspensão comercial ColorSeed.

Ensaio	Método (n° de repetições)	Recuperação de cistos (%)	Recuperação de oocistos (%)
		(Média ± DP)	(Média ± DP)
1	TC + IMS (3)	54,3 ± 19,3	12,6 ± 2,5
2	FM + TC + IMS (3)	67 ± 11,3	5,6 ± 2,88
3	IMS direto (3) ^(a)	32,6 ± 3,05	7,3 ± 2,08

Nota: ^(a)Método utilizado para detecção de protozoários nas amostras de lodo; IMS: separação imunomagnética; TC: tripla centrifugação; FM: filtração em membrana; DP: desvio padrão.

O Método 1623.1 (USEPA, 2012) não inclui o controle positivo interno ColorSeed entre os inóculos aceitos para se avaliar o desempenho de métodos de detecção de protozoários. Entre as suspensões comerciais validadas estão EasySeed™ e Waterborne AccuSpike™.

Porém o ColorSeed é uma ferramenta prática para se determinar a recuperação dos métodos em amostras ambientais já contaminadas, pois durante a enumeração dos (oo)cistos é possível diferenciar os protozoários intrínsecos da amostra ambiental daqueles semeados

(controle positivo interno – ColorSeed). Isso se dá pela utilização de filtros específicos para cada fluorocromo (FITC: excitação: 495 nm e emissão: 521 nm; Texas Red: excitação: 580 nm e emissão: 615 nm) (FRANCO et al., 2012).

De acordo com Franco et al. (2012), a suspensão ColorSeed é empregada com maior frequência para marcar os (oo)cistos a serem utilizados nos ensaios de efeito da matriz.

McCuin e Clancy (2005) revelaram que o controle interno positivo ColorSeed parece promover uma estimativa conservadora sobre a capacidade de determinado método em recuperar oocistos vivos, visto que os índices de recuperação obtidos a partir do uso do ColorSeed foram similares aos índices obtidos quando utilizados inóculos de oocistos vivos, não havendo diferenças estatísticas significativas.

Warnecke et al. (2003) testaram, em paralelo, as suspensões comerciais ColorSeed e EasySeed em ensaios de recuperação de *Giardia* e *Cryptosporidium* a partir de amostras ambientais de água. Os resultados de recuperação obtidos a partir do EasySeed foram pouco superiores (em torno de 3,3 a 4% maior) aos resultados alcançados com o uso do ColorSeed, porém, os autores julgaram como bem similares. A menor eficiência de recuperação pelo ColorSeed foi justificada pelo fato de o fluorocromo Texas Red produzir um aumento na característica de hidrofobicidade dos (oo)cistos, resultando em uma maior agregação dos (oo)cistos a interferentes e certo prejuízo à análise. Contudo, os autores concluíram que esse efeito causado pelo ColorSeed não limita seu uso, e assim é adequado como controle interno positivo no monitoramento de rotina de amostras ambientais.

Os resultados de recuperação de cistos de *Giardia* spp. para os três métodos se mostraram dentro dos padrões atuais estabelecidos pela USEPA (2012) que considera aceitável valores de recuperação para *Giardia* de 8 % a 100 %, porém o mesmo não aconteceu para os oocistos de *Cryptosporidium* que deveriam apresentar recuperações de 32% a 100 %.

O método da tripla-centrifugação seguida de separação imunomagnética (IMS) conduziu a valores de recuperação de 54,3 e 12,6% para cistos e oocistos, respectivamente. Enquanto que Medeiros e Daniel (2015), pesquisadores que sugeriram o método da tripla-centrifugação porém sem a etapa de IMS, obtiveram médias de recuperação de 85% e 62,5% para cistos em amostras com elevada (165 uT) e média (23,8 uT) turbidez, respectivamente. Para os oocistos foram encontradas recuperações de 20% para amostra com elevada turbidez e 17,5% para amostras de baixa turbidez.

A filtração em membrana seguida da tripla-centrifugação e da etapa de IMS apresentou o melhor resultado para recuperação de cistos de *Giardia* spp., da ordem de 67%, contudo para os oocistos de *Cryptosporidium* spp. obteve-se recuperação de apenas 5,6%.

Medeiros e Daniel (2015) ao compararem o método da filtração em membrana com e sem a etapa de IMS, relataram resultados mais satisfatórios na recuperação de cistos para a filtração em membrana sem a etapa de IMS, cerca de 67,5%, enquanto que para filtração em membrana seguida de IMS obteve-se resultado de 47,8%. Para os oocistos a situação não foi a mesma, sendo que o método da filtração em membrana levou a uma recuperação de 22,5% e o método da filtração em membrana seguida da etapa de IMS conduziu a recuperação de 35,3%.

Franco et al. (2001) indicaram que para a filtração em membrana (com extração mecânica dos organismos) seguida de centrifugação e sem etapa de IMS, a recuperação de oocistos e cistos em amostras de água foi de 41,6% e 91,8%, respectivamente.

Para o método de “IMS direto” aplicado às amostras de lodo, as recuperações médias foram de 32,6% e 7,3% para cistos e oocistos, respectivamente. McCuin e Clancy (2005) obtiveram média de 43,6% na recuperação de oocistos utilizando o “IMS direto”, resultado bem superior ao deste estudo, e para os cistos o método não foi testado. Vale mencionar ainda que esses pesquisadores processaram amostras de 5 gramas de lodo com teor de sólidos de 10% , enquanto que nesse estudo foram processadas amostras de 0,5 grama com menor teor de sólidos como pode ser visto na Figura 5.3.

Diversos são os fatores que podem influenciar a recuperação de cistos e oocistos, como a qualidade da matriz que se deseja estudar. De acordo com Cantusio Neto et al. (2006), a presença de uma grande variedade de interferentes como microrganismos, compostos orgânicos e inorgânicos, e ainda a falta de uma metodologia padrão podem gerar efeitos negativos na detecção de protozoários em amostras ambientais.

Estudos indicam as diversas características que limitam o método como turbidez (FRANCY et al., 2004), pH (KUHN *et al.*, 2002), presença de materiais que dificultam a visualização e identificação dos (oo)cistos em microscópio (FENG et al., 2003; SARTORI, 2007), e presença de ferro e materiais magnéticos que limitam a eficiência da etapa de purificação por separação imunomagnética (YAKUB e STADTERMAN-KNAUER, 2000; USEPA, 2012).

Durante os ensaios de monitoramento na ETE-Monjolinho observou-se que determinadas amostras possuíam sedimentos que eram atraídos pelo imã do primeiro concentrador de partículas (Dynal MPC – 1, Cat. nº 120.01D; Invitrogen Dynal AS, Norway) e

o lado plano do tubo reto passava a ficar ocupado por essas partículas, conforme ilustrado pela Figura 5.11.

Figura 5.11: Presença de materiais atraídos pelo ímã do primeiro concentrador de partículas durante a etapa de IMS.

Segundo Santos et al. (2011), a separação imunomagnética na purificação de amostras de esgoto pode ser comprometida por materiais particulados e substâncias quelantes, tais como resíduos de fármacos, e ainda a presença de compostos contendo carbono orgânico e de algumas formas de ferro que interferem na formação dos complexos microesferas anticorpos e epítomos dos oocistos e cistos.

Até mesmo o tempo de armazenamento do kit Dynal utilizado pode provocar menor recuperação de oocistos (HU et al., 2004). McCuin e Clancy (2005) ainda alertam para diferenças nas eficiências de desempenho de diferentes kits comerciais de IMS.

A grande manipulação das amostras derivada das inúmeras etapas e procedimentos que envolvem o método, como transferência de volumes entre tubos, retirada de volumes sobrenadantes, raspagem de um número considerável de membranas podem também levar a perda de organismos (SANTOS et al., 2011; ROBERTSON et al., 2000).

Para os três métodos avaliados, notou-se que a recuperação de *Giardia* spp. foi significativamente maior quando comparada a de *Cryptosporidium* spp., evidenciando assim a maior dificuldade que se teve na recuperação de oocistos. Essa situação foi relatada por outros pesquisadores como Payment et al. (2001), Cantusio Neto et al. (2006) e Medeiros e Daniel

(2015). A seguir serão expostas algumas características específicas dos oocistos que podem refletir esses resultados.

Os oocistos tem forte tendência em se aderir a materiais particulados (MEDEMA et al., 1998; FENG et al., 2003), e ainda exibem carga superficial negativa que pode resultar em uma forte ligação eletrostática com partículas de carga positiva facilitando ainda mais sua adesão a interferentes (SEARCY et al., 2005). A carga superficial negativa possivelmente se dá pela presença dos grupos carboxilato, carboxílico, e fosfato na superfície do oocisto.

Searcy et al. (2005) ainda encontraram oocistos agregados a uma variedade de sedimentos carregados negativamente, mostrando uma característica ubíqua de ligação entre oocistos e partículas suspensas.

Assim, a purificação de amostras ambientais, etapa que se busca isolar os (oo)cistos de partículas interferentes na detecção, pode ser prejudicada e a recuperação de oocistos dificultada, mesmo quando se faz uso de soluções surfactantes que interagem com a carga superficial dos oocistos (GOULART, 2013).

Vale mencionar a importância em se testar diferentes surfactantes de acordo com as características específicas de cada amostra ambiental, e verificar qual surfactante interage melhor e promove de maneira mais eficaz a quebra nas ligações entre oocistos e sedimentos.

O método de filtração em membrana seguida de tripla-centrifugação resultou na menor taxa de recuperação de oocistos dentre os métodos estudados. Um dos fatores que pode ter contribuído para esse resultado é a característica de compressibilidade dos oocistos, que permite se comportarem como partículas de 2 a 4 µm (HSU e YEH, 2003; CAREY et al., 2004), levando-os a ficarem entranhados nas fibras da membrana filtrante, dificultando sua eluição durante a extração mecânica (raspagem).

Medeiros (2013) avaliou a influência da turbidez em ensaios de filtração em membrana. Ao comparar amostras com turbidez de 6,5 uT e de 23,8 uT, observou maiores porcentagens de recuperação, tanto de *Cryptosporidium* spp. como *Giardia* spp., para amostras de menor turbidez. No caso desse trabalho, a amostra submetida aos ensaios de filtração em membrana (efluente tratado proveniente do flotador) possuía em média 29 uT (Tabela 5.2). Portanto, uma melhor qualidade da matriz poderia ter conduzido a resultados mais satisfatórios de recuperação, principalmente no que se diz respeito aos oocistos.

O fato de os oocistos serem ainda menores em tamanho do que os cistos pode contribuir para que sejam encobertos pelas sujidades das amostras de forma mais intensa, impossibilitando até sua visualização e contagem. Feng et al. (2003) notaram muitos oocistos envoltos por sedimentos em suas amostras ambientais de estudo.

Santos et al. (2004) comparam dois tipos de anticorpos monoclonais na realização da Reação de Imunofluorescência Direta (RID) para visualização dos (oo)cistos, sendo eles o kit Merifluor (MeridianBioscience, Cincinnati, Ohio) e o kitCrypto/Giardia-Cel I.F. Test (Cellabs PTY LTD, Australia). As análises das amostras mostraram que o kit Cellabs promoveu uma fluorescência mais intensa para os oocistos contra o plano de fundo e os materiais interferentes, enquanto que o kit Merifluor levou a uma fluorescência mais intensa para os cistos. Assim, esse é outro fator que pode ter colaborado para as melhores recuperações de *Giardia* spp. frente as recuperações de *Cryptosporidium* spp, visto que durante esse trabalho foi utilizado o kit Merifluor.

5.4 – Testes de correlação para as variáveis de interesse

Em virtude das poucas amostras positiva para *Cryptosporidium* spp. não foram realizados teste de correlação para esse organismo.

Na Tabela 5.9 estão apresentados resultados de testes estatísticos de correlação entre cistos de *Giardia* spp. e variáveis físicas e químicas para amostras de lodo do reator UASB e lodo do processo de flotação por ar dissolvido (FAD).

Tabela 5.9: Resultados da Correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentração de *Giardia* spp. (cistos.g⁻¹) e variáveis físico-químicas no lodo.

Tipo de lodo	Análise de Correlação	Variáveis		
		ST	pH	Temperatura
Lodo UASB	<i>Giardia</i> spp.	-0,76	0,1	0,6
Lodo FAD	<i>Giardia</i> spp.	-0,78	0,14	0,79

Nota: ST: sólidos totais; as correlações significativas ($p < 0,05$) foram destacadas em vermelho

Os resultados da Tabela 5.9 evidenciam que as concentrações obtidas de *Giardia* estiveram negativamente ligadas às quantidade de sólidos das duas matrizes de lodo, provavelmente as elevadas quantidades de interferentes desse tipo de amostra dificultaram a visualização e detecção dos protozoários. Para minimizar esse efeito, seria interessante para estudos futuros se avaliar a homogeneização das amostras de lodo com diversos tipos de soluções detergente e com diferentes tempos de homogeneização, na tentativa de melhorar a

desagregação dos organismos das partículas interferentes, permitindo que maiores quantidade de cistos fiquem livres para serem capturados pelas esferas magnéticas da etapa de IMS (item 4.5.1.2) e então serem mais facilmente detectados e visualizados.

Nas Tabelas 5.10, 5.11, 5.12 e 5.13 estão expostos resultados de correlação entre concentrações do parasito *Giardia* spp., microrganismos indicadores e variáveis físico-químicas nos diferentes tipos de amostras monitoradas.

Tabela 5.10: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentrações de variáveis físicas, químicas, microbiológicas e parasitológicas para amostras de esgoto bruto.

Análise de Correlação	Variáveis microbiológicas e parasitológicas				Variáveis físico-químicas							
	<i>Giardia</i> spp.	<i>E. coli</i>	Coliformes Totais	<i>C. perfringens</i>	Turbidez	Cor aparente	SST	ST	DQOt	DQOp	pH	T (°C)
<i>Giardia</i> spp.		0	0,18	-0,62	0,5	0,9	0,36	0,4	0,7	0,83	-0,6	-0,16
<i>E. coli</i>			0,85	0	-0,29	-0,1	-0,4	-0,47	-0,26	-0,5	-0,1	0,7
Coliformes Totais				-0,16	-0,2	-0,08	-0,18	-0,02	0,15	0,1	-0,4	0,65
<i>C. perfringens</i>					-0,35	-0,2	-0,36	-0,35	-0,61	-0,61	0,1	0,4

Nota: SST: sólidos suspensos totais; ST: sólidos totais; DQOt: demanda química por oxigênio (total); DQOp: demanda química por oxigênio (particulada); as correlações significativas ($p < 0,05$) foram destacadas em vermelho

Tabela 5.11: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentrações de variáveis físicas, químicas, microbiológicas e parasitológicas para amostras de efluente do tratamento preliminar.

Análise de Correlação	Variáveis microbiológicas e parasitológicas				Variáveis físico-químicas							
	<i>Giardia</i> spp.	<i>E. coli</i>	Coliformes Totais	<i>C. perfringens</i>	Turbidez	Cor aparente	SST	ST	DQOt	DQOp	pH	T (°C)
<i>Giardia</i> spp.		0,04	-0,21	0,5	0,024	0,26	-0,12	0,2	0,07	0,08	-0,6	0,33
<i>E. coli</i>			0,47	0	-0,55	-0,6	-0,7	-0,61	-0,5	-0,42	-0,2	0,8
Coliformes Totais				0,2	-0,26	-0,08	0,05	0,02	0,095	0,4	-0,2	0,12
<i>C. perfringens</i>					0,5	0,2	0,1	0,3	-0,2	0,5	-0,1	-0,4

Nota: SST: sólidos suspensos totais; ST: sólidos totais; DQOt: demanda química por oxigênio (total); DQOp: demanda química por oxigênio (particulada); as correlações significativas ($p < 0,05$) foram destacadas em vermelho

Tabela 5.12: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentrações de variáveis físicas, químicas, microbiológicas e parasitológicas para amostras de efluente do reator UASB.

Análise de Correlação	Variáveis microbiológicas e parasitológicas				Variáveis físico-químicas							
	<i>Giardia</i> spp.	<i>E. coli</i>	Coliformes Totais	<i>C. perfringens</i>	Turbidez	Cor aparente	SST	ST	DQOt	DQOp	pH	T (°C)
<i>Giardia</i> spp.		0,01	0,42	0,9	0,47	0,08	0,2	0,45	-0,36	0,14	0,3	-0,14
<i>E. coli</i>			0,46	0,5	0,55	0,5	-0,3	0,3	0,25	0,5	0,3	0,52
Coliformes Totais				0,6	0,24	0,7	-0,02	0,24	0,2	0,08	-0,4	0,63
<i>C. perfringens</i>					0,6	0,2	-0,1	0,7	0,3	0,8	0,2	-0,2

Nota: SST: sólidos suspensos totais; ST: sólidos totais; DQOt: demanda química por oxigênio (total); DQOp: demanda química por oxigênio (particulada); as correlações significativas ($p < 0,05$) foram destacadas em vermelho.

Tabela 5.13: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre concentrações de variáveis físicas, químicas, microbiológicas e parasitológicas para amostras do efluente da unidade de flotação por ar dissolvido.

Análise de Correlação	Variáveis microbiológicas e parasitológicas				Variáveis físico-químicas							
	<i>Giardia</i> spp.	<i>E. coli</i>	Coliformes Totais	<i>C. perfringens</i>	Turbidez	Cor aparente	SST	ST	DQOt	DQOp	pH	T (°C)
<i>Giardia</i> spp.		-0,36	-0,24	0,56	0,07	-0,54	0,62	-0,2	-0,52	0,3	0,3	-0,2
<i>E. coli</i>			0,6	-0,1	0,4	0,83	-0,55	0,3	0,2		-0,7	0,6
Coliformes Totais				0,56	0,52	0,94	-0,16	0,14	0,45		-0,2	0,24
<i>C. perfringens</i>					0,67	0,8	0,1	-0,6	0,15	-0,63	0,9	-0,67

Nota: SST: sólidos suspensos totais; ST: sólidos totais; DQOt: demanda química por oxigênio (total); DQOp: demanda química por oxigênio (particulada); as correlações significativas ($p < 0,05$) foram destacadas em vermelho.

Ao comparar as concentrações de cistos detectadas no esgoto bruto com as variáveis físico-químicas do esgoto bruto, foram verificadas correlações significativas positivas entre a concentração de cistos com a cor aparente, e com a concentração de DQO total e DQO particulada.

Apesar de o efluente do tratamento preliminar ter características físico-químicas semelhantes às características do esgoto bruto não foram notadas as mesmas correlações entre cistos, cor aparente, DQO total e DQO particulada. Essa diferença de resultados pode ter ocorrido devido a maior variabilidade dos dados de concentração de cistos no efluente do tratamento preliminar quando comparados ao esgoto bruto.

Os (oo)cistos de protozoários podem ser considerados como partículas em suspensão (MEDEIROS, 2013), assim a correlação desses organismos com variáveis que resultam, em parcela, de partículas em suspensão, como é o caso da cor aparente e DQO particulada, pode ser esperada.

A turbidez também é uma característica física da água resultante da presença de partículas em suspensão. E apesar de ter sido observada forte correlação positiva entre cistos e cor aparente, a variável turbidez não esteve correlacionada com os cistos da mesma forma, e tampouco com os microrganismos indicadores, diferente do que já foi exposto por alguns estudos (LECHEVALLIER et al, 1991; KHANUM et al., 2011; MEDEIROS, 2013).

Em contrapartida, Goulart (2013) relatou correlação negativa entre cistos e sólidos suspensos totais em esgoto bruto, justificando que possivelmente a presença das partículas em suspensão afetou negativamente a visualização dos protozoários durante a etapa de reação de imunofluorescência.

A literatura ainda revela correlações fortes entre quantidades de oocistos de *Cryptosporidium* ssp. e cistos de *Giardia* ssp.. detectadas em amostras de esgoto e as variáveis físico-químicas pH, potencial redox, carbono orgânico total, sólidos dissolvidos totais e condutividade (BONADONNA et al. 2002; KHANUM et al., 2011; BRIANCESCO e BONADONNA, 2005).

Além da correlação com os cistos, a cor aparente esteve positivamente correlacionada com os três microrganismos indicadores para o efluente tratado por flotação. Tais resultados sugerem que, para o efluente tratado da ETE (após flotador), menores índices de cor aparente estão relacionados com melhores condições de qualidade microbiológica. Houve ainda correlação entre *E. coli* e a variável temperatura para as amostras de esgoto bruto e de

efluente do tratamento preliminar, enquanto que o organismo *Clostridium perfringens* mostrou correlação com o pH para o efluente tratado por flotação.

Estudos relatam a correlação entre microrganismos indicadores e outros tipos de variáveis físico-químicas no esgoto, como Kazmi et al. (2008) que obtiveram correlação positiva entre coliformes e sólidos suspensos, e também mencionaram que a melhora da qualidade microbiológica do efluente poderia ser associada com a remoção de sólidos suspensos. Medeiros (2013), por sua vez, relatou correlações positivas significativas entre coliformes totais e as variáveis turbidez e sólidos suspensos, e ainda entre *Clostridium perfringens* e sólidos suspensos.

No esgoto bruto ainda foi observada correlação significativa positiva do microrganismo *E. coli* com os coliformes totais, resultado similar ao de Elmund et al. (1999) que encontraram correlação moderada a alta entre tais microrganismos em amostras de uma ETE. Medeiros (2013) além verificar correlação significativa entre *E. coli* e coliformes totais em esgoto bruto, também verificou a mesma situação em amostras de efluentes de reator UASB e de lodos ativados.

Não foi comum os cistos estarem correlacionados com os microrganismos indicadores estudados, sendo que foi obtida forte correlação positiva apenas entre cistos e o organismo *Clostridium perfringens* nas amostras de efluente do reator UASB.

Ao analisar amostras de uma ETE, Bonadonna et al. (2002) mostraram que nenhum dos microrganismos indicadores estudados (*E. coli*, coliformes totais, coliformes fecais, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., estreptococos) apresentaram correlação com a presença dos parasitos *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Briancesco e Bonadonna (2005) demonstraram correlações significativas entre cistos *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp., e entre os (oo)cistos e enterococos em amostras de esgoto, porém não houve correlações dos (oo)cistos com *Clostridium perfringens* ou com *E. coli* e coliformes totais. Segundo os mesmos autores, essa ausência de associação entre parasitos e microrganismos indicadores era esperada devido a dificuldade em se associar o comportamento de (oo)cistos com o comportamento de bactérias, e ainda diversos fatores como condições ambientais, interferência de substâncias abióticas, diferenças em densidade, volumes de amostras analisados e tipos de métodos de análise podem afetar o comportamento dos microrganismos e dificultar esse tipo de associação.

Para amostras de águas, alguns estudos mostram resultados divergentes ao deste estudo, como Atherholt et al. (1998) que estudaram a relação entre concentrações de cistos *Giardia* e oocistos *Cryptosporidium* com variáveis microbiológicas em 72 amostras de

um manancial em Nova Jersey, e notaram uma correlação significativa entre as concentrações de (oo)cistos com os coliformes totais, coliformes fecais e *Clostridium perfringens*. LeChevallier et al. (1991) também evidenciaram relação positiva entre oocistos e os microrganismos indicadores coliformes totais e fecais.

Porém Chauret et al. (1995) ao estudarem a ocorrência de (oo)cistos, coliformes totais e fecais, estreptococos, *Clostridium perfringens*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e colifagos em amostras de água bruta de rios no Canadá, não obtiveram correlação significativa dos parasitos com nenhum dos microrganismos.

Nas Tabelas 5.14, 5.15 e 5.16 são apresentados os resultados de correlação entre remoções de cistos de *Giardia* spp e de microrganismos indicadores com remoções de variáveis físico-químicas para o reator UASB, unidade de flotação e ainda os dois sistemas em conjunto.

Tabela 5.14: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre remoção de variáveis físico-químicas e microbiológicas e parasitológicas pelo reator UASB.

Análise de Correlação	Variáveis microbiológicas e parasitológicas				Variáveis físico-químicas					
	<i>Giardia</i> spp.	<i>E. coli</i>	Coliformes Totais	<i>C. perfringens</i>	Turbidez	Cor aparente	SST	ST	DQOt	DQOp
<i>Giardia</i> spp.		0,07	-0,24	0,5	0,33	-0,42	-0,7	0,36	-0,45	-0,09
<i>E. coli</i>			0,7	0,9	-0,26	-0,48	0,24	-0,12	-0,3	-0,37
Coliformes Totais				0,1	-0,52	-0,14	0,17	0,02	-0,14	-0,7
<i>C. perfringens</i>					-0,2	-0,5	-0,1	-0,6	-0,7	-0,2

Nota: SST: sólidos suspensos totais; ST: sólidos totais; DQOt: demanda química por oxigênio (total); DQOp: demanda química por oxigênio (particulada); as correlações significativas ($p < 0,05$) foram destacadas em vermelho

Tabela 5.15: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre remoção de variáveis físico-químicas e microbiológicas e parasitológicas pela unidade de FAD.

Análise de Correlação	Variáveis microbiológicas e parasitológicas				Variáveis físico-químicas					
	<i>Giardia</i> spp.	<i>E. coli</i>	Coliformes Totais	<i>C. perfringens</i>	Turbidez	Cor aparente	SST	ST	DQOt	DQOp
<i>Giardia</i> spp.		0,2	-0,5	0,3	0,19	0,48	-0,6	0,61	-0,35	0,3
<i>E. coli</i>			0,21	0,6	0,83	0,88	0,21	0,55	-0,3	0,3
Coliformes Totais				-0,4	0,57	0,37	0,47	-0,52	-0,3	-0,3
<i>C. perfringens</i>					0,1	0,5	0,5	0,6	-0,5	-0,6

Nota: SST: sólidos suspensos totais; ST: sólidos totais; DQOt: demanda química por oxigênio (total); DQOp: demanda química por oxigênio (particulada); as correlações significativas ($p < 0,05$) foram destacadas em vermelho.

Tabela 5.16: Resultados da correlação (coeficiente r - Spearman, teste não-paramétrico) entre remoção de variáveis físico-químicas e microbiológicas e parasitológicas pelo reator UASB em conjunto com a unidade de FAD.

Análise de Correlação	Variáveis microbiológicas e parasitológicas					Variáveis físico-químicas				
	<i>Giardia</i> spp.	<i>E. coli</i>	Coliformes Totais	<i>C. perfringens</i>	Turbidez	Cor aparente	SST	ST	DQOt	DQOp
<i>Giardia</i> spp.		-0,2	-0,6	-0,1	-0,35	0,5	-0,3	0,5	-0,5	0,1
<i>E. coli</i>			0,76	0,7	0,7	0,6	0,8	0,24	-0,3	-0,6
ColiformesTotais				0,9	0,64	0,9	0,61	-0,36	-0,04	-0,7
<i>C. perfringens</i>					0,7	0,9	0,3	-0,5	-0,9	-0,8

Nota: SST: sólidos suspensos totais; ST: sólidos totais; DQOt: demanda química por oxigênio (total); DQOp: demanda química por oxigênio (particulada); as correlações significativas ($p < 0,05$) foram destacadas em vermelho

Em nenhuma das unidades de tratamento foi observada correlação entre a remoção de cistos de *Giardia* spp. e a remoção das variáveis microbiológicas ou físico-químicas. Em contrapartida, Robertson *et al.* (2000), estudaram, por 3 anos, a presença de *Giardia* ssp. e *Cryptosporidium* ssp. em 6 estações de tratamento de esgoto na Escócia, e observaram que as estações com menores remoções de cistos de *Giardia* ssp. também apresentaram as menores remoções de sólidos suspensos e de demanda bioquímica de oxigênio (DBO).

A remoção de *E. coli* foi aquela que apresentou correlações significativas com a remoção das variáveis estudadas, como a turbidez, cor aparente, sólidos suspensos totais, coliformes totais e *Clostridium perfringens*, de acordo com os diferentes tipos de tratamento.

Ottoson *et al.* (2006) demonstraram inúmeras correlações positivas significativas entre remoção de *E. coli* e remoção de variáveis físico-químicas e microbiológicas, dentre elas estavam a remoção de DQO, carbono orgânico total, nitrogênio Kjeldal, bactérias esporuladas anaeróbias, colifagos somáticos, enterococos, bacteriófagos F-específicos.

5.5 – Ensaios de coagulação, floculação e flotação em escala de bancada (Flotateste)

Posteriormente aos ensaios de monitoramento na ETE-Monjolinho, deu-se início aos ensaios em escala de bancada no equipamento Flotateste. Estes ensaios foram divididos em duas etapas: Ensaios Preliminares e Ensaios de Monitoramento. Os resultados serão descritos a seguir.

5.5.1– ETAPA 1: Ensaios Preliminares

Os parâmetros de operação da flotação utilizados durante os ensaios preliminares como gradiente de velocidade durante a mistura rápida e floculação, tempo de mistura rápida e tempo de floculação, pressão de saturação já foram apresentados na Tabela 4.2 (item 4.3).

5.5.1.1 – Fase 1: Definição da dosagem de PAC

Na Fase 1 foi avaliado o comportamento do processo flotação por ar dissolvido com aplicação de diferentes dosagens do coagulante PAC no tratamento de efluente de reator UASB. Primeiramente é apresentada, na Tabela 5.17, a caracterização do efluente do reator UASB da ETE-Monjolinho coletado para realização dos ensaios preliminares.

Tabela 5.17: Caracterização do efluente UASB.

Análise	Efluente UASB
Temperatura (°C)	26,3
pH	6,9
Turbidez (Ut)	65
Cor aparente (uC)	830
DQO total (mg.L ⁻¹)	110,4

Foram testadas as dosagens de 30, 50, 70, 90, 120, 150 e 200 mg.L⁻¹ e coletadas amostras em quatro diferentes velocidades de flotação para cada uma das dosagens em estudo, sendo que o tratamento foi avaliado em termos de remoção de turbidez e cor aparente. A partir disso, foram construídas as curvas de flotação para turbidez residual, fração residual de turbidez, cor residual e fração residual de cor aparente apresentadas nas Figuras 5.12, 5.13, 5.14, 5.15.

O critério de escolha da dosagem foi estabelecido em função da turbidez residual, de maneira que seria selecionada a menor dosagem que atingisse turbidez residual de no mínimo 2 uT como a mais adequada para o tratamento do efluente anaeróbio.

Figura 5.12: Turbidez residual do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com as diferentes dosagens de coagulante PAC e velocidades de flotação.

Figura 5.13: Fração residual de turbidez (T/T_0) do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com as diferentes dosagens de coagulante PAC e velocidades de flotação.

As curvas de flotação da Figura 5.12 mostram que as velocidades de flotação de 8, 12 e 16 cm.s^{-1} se destacaram para as dosagens de 70, 90, 120, 150 e 200 mg.L^{-1} por conduzir a valores semelhantes de turbidez residual, e isso apesar das velocidades de 12 e 16 cm.s^{-1} apresentarem menores tempos de flotação quando comparados ao tempo de flotação referente à velocidade de 8 cm.s^{-1} .

Ainda é possível perceber que a dosagem do coagulante PAC de 90 mg.L^{-1} foi aquela que atendeu o critério anteriormente definido para escolha da dosagem mais satisfatória. De modo que essa foi a menor dosagem de PAC necessária para se obter turbidez residual de 2 uT, porém apenas para velocidade de flotação de 8 cm.s^{-1} .

A partir da Figura 5.13 nota-se que para as dosagens de coagulante de 70, 120, 150 e 200 mg.L^{-1} , a fração residual de turbidez de todas as velocidades de flotação mostrou-se inferior a 0,1, significando que para essas dosagens foram obtidas remoções de turbidez superiores a 90% e que o sistema de flotação tratando efluente anaeróbio com o coagulante PAC é passível de trabalhar com altas taxas de aplicação superficial. A dosagem 90 mg.L^{-1} não alcançou remoção superior a 90% apenas na maior velocidade de flotação (20 cm.s^{-1}). Nas velocidades de 8, 12 e 16 cm.s^{-1} e dosagens de 70, 90, 120, 150 e 200 mg.L^{-1} observa-se fração residual de turbidez inferior ou próximo a 0,05, e portanto nessas condições as remoções de turbidez foram próximas ou superiores a 95%. As dosagens de 150 e 200 mg.L^{-1} alcançaram remoção de 98%.

Figura 5. 14: Cor aparente residual do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com as diferentes dosagens de coagulante PAC e velocidades de flotação.

Figura 5. 15: Fração residual de cor aparente (C/C_0) do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com as diferentes dosagens de coagulante PAC e velocidades de flotação.

Observa-se pela Figura 5.14 que as dosagens do coagulante PAC de 90, 120, 150 e 200 mg.L^{-1} resultaram nos menores valores de cor aparente e ainda mais próximos entre si, variando de 54 a 100 uC, e demonstraram mais uma vez serem as dosagens mais satisfatórias

dentre as testadas. Assim, do ponto de vista econômico, a menor dosagem (90 mg.L^{-1}) se destaca novamente como a mais adequada.

Além disso, as curvas de flotação estão bem horizontalizadas, revelando que as velocidades de flotação de 8, 12, 16 e 20 cm.s^{-1} resultaram em valores semelhantes de cor residual, com exceção a dosagem de 90 mg.L^{-1} que alcançou valor de 160 uC na velocidade de 20 cm.s^{-1} . Essa mesma situação foi percebida para a variável de controle turbidez com a aplicação da dosagem de 90 mg.L^{-1} , visto que apresentava valor de 2 uT na velocidade de 8 cm.s^{-1} e aumentou consideravelmente para cerca de 8 uT na velocidade de 20 cm.s^{-1} .

As dosagens de coagulante de 70, 90, 120, 150 e 200 mg.L^{-1} resultaram em fração residual de cor próximas como pode ser visto na Figura 5.15, sendo elas inferiores ou igual a 0,2 em qualquer uma das velocidades de flotação. Sendo assim, pode-se dizer que essas dosagens foram capazes de alcançar remoções de cor aparente superiores ou igual a 80% e, mais uma vez o sistema de flotação pode ser considerado passível de trabalhar com altas taxas de aplicação superficial.

Considerando o conjunto de dados e informações expostos anteriormente, é possível verificar de maneira geral que as velocidades de flotação de 8, 12 e 16 cm.s^{-1} foram as mais adequadas por conduzirem a resultados semelhantes no tratamento. Porém para a dosagem de 90 mg.L^{-1} , escolhida como a dosagem mais satisfatória, apenas a velocidade de 8 cm.s^{-1} foi capaz de atender o critério definido em turbidez residual de 2 uT, assim tal velocidade é considerada como a mais vantajosa para essa fase dos ensaios preliminares.

Mesmo não atendendo o critério de turbidez residual de 2 uT em todas as velocidades, a dosagem de 90 mg.L^{-1} foi escolhida como a mais satisfatória pois esperava-se que essa desvantagem fosse superada com o emprego do polímero em associação com o coagulante.

No tratamento do efluente, a dosagem de 90 mg.L^{-1} alcançou remoções de turbidez e cor em torno de 96% e 88%, respectivamente, para a velocidade de flotação de 8 cm.s^{-1} .

5.5.1.2 – Fase 2: Definição de tipo de polímero e dosagem de polímero

O emprego de polímero, como auxiliar de floculação, se faz interessante para melhorar a eficiência do processo de flotação, e para suavizar (horizontalizar) a curva de flotação de maneira a manter a eficiência do processo em diferentes velocidades de flotação.

A dosagem de PAC de 90 mg.L^{-1} foi selecionada na Fase 1 como a mais adequada para o tratamento de efluente anaeróbio por flotação, então foi fixada para a realização da Fase 2

dos ensaios preliminares e testada em conjunto com dois polímeros catiônicos em diferentes dosagens.

Foram testadas as dosagens de 0,5, 1 e 2 mg.L⁻¹ para cada um dos polímeros, coletadas amostras em quatro diferentes velocidades de flotação para cada uma dessas dosagens, e o tratamento foi avaliado em termos de remoção de turbidez e cor aparente. A partir disso, novamente foram construídas curvas de flotação para turbidez residual, fração residual de turbidez, cor residual e fração residual de cor, conforme é apresentado nas Figuras 5.16, 5.17, 5.18 e 5.19.

Analisando os resultados da Figura 5.16, verifica-se que ambos os polímeros apresentaram a capacidade de suavizar a curva de flotação, levando a resultados mais próximos de turbidez nas diferentes velocidades de flotação, diferentemente do que ocorreu com aplicação do coagulante PAC sem associação com nenhum polímero.

As dosagens do polímero RAPFLOC 50 de 0,5 e 2 mg.L⁻¹ conduziram aos melhores valores de turbidez residual, igual ou muito próximos a 2 uT para todas as velocidades de flotação, atendendo assim de forma mais satisfatória o critério de escolha que estabelecia que o tratamento que atingisse valor de turbidez residual menor ou igual a 2 uT seria o adequado. Além disso, entre as dosagens de 0,5 e 2 mg.L⁻¹ deve-se optar pela menor dosagem (0,5 mg.L⁻¹) como mais satisfatória em razão do custo-benefício.

O polímero ZETAG 8185 alcançou resultados de turbidez próximos ou superiores a 3 uT para todas as dosagens testadas e principalmente para a maior velocidade de flotação. Esses resultados não foram muito diferentes dos resultados obtidos com o polímero RAPFLOC 50, porém esse último ainda apresentou resultados ligeiramente melhores. Dentre as dosagens de ZETAG 8185 testadas, a dosagem de 1 mg.L⁻¹ foi aquela que levou a menores valores de turbidez.

Figura 5.16: Turbidez residual do efluente após o tratamento em Flotatestes de acordo com diferentes dosagens de dois polímeros e velocidades de flotação.

Figura 5.17: Fração residual da turbidez após o tratamento em Flotateste de acordo com diferentes dosagens de dois polímeros e velocidades de flotação.

Ao se observar a Figura 5.17 e comparar os dois polímeros, é visível que as frações de turbidez residual obtidas foram semelhantes. As dosagens de RAPFLOC 50 de 0,5 e 2 mg.L⁻¹ atingiram remoções superiores a 95% para todas as velocidades de flotação, assim como a dosagem de 1 mg.L⁻¹ do polímero ZETAG 8185.

Figura 5.18: Cor aparente residual após o tratamento em Flotatestes de acordo com diferentes dosagens de dois polímeros e velocidades de flotação.

A partir da Figura 5.18, verifica-se que novamente ambos os polímeros apresentaram a capacidade de suavizar a curva de flotação, levando a resultados mais próximos de cor aparente para as distintas velocidades de flotação estudadas.

Da mesma forma que ocorreu para a variável de controle turbidez, as dosagens do polímero RAPFLOC 50 de 0,5 e 2 mg.L⁻¹ conduziram aos melhores resultados de cor aparente residual. Além de suavizar a curva de flotação, tais dosagens diminuíram o valor da cor aparente alcançada com a aplicação individual do coagulante PAC, de 100 uC para cerca de 80 uC em todas as velocidades de flotação.

O polímero ZETAG 8185 também possibilitou resultados de cor aparente próximo a 80 uC, porém apenas para a dosagem de 1 mg.L^{-1} e na menor velocidade de flotação (8 cm.s^{-1}), sendo que essa mesma dosagem na velocidade de flotação de 20 cm.s^{-1} conduziu a um resultado de cor aparente próximo a 100 uC. Dessa maneira, mais uma vez o polímero RAPFLOC 50 se sobressaiu sobre o polímero ZETAG 8185.

Figura 5. 19: Fração residual da cor aparente após o tratamento em Flotatestes de acordo com diferentes dosagens de dois polímeros e velocidades de flotação.

Ao comparar os valores de fração residual de cor aparente obtidos pelos dois polímeros (Figura 5.19), observam-se resultados semelhantes. As dosagens de RAPFLOC 50 de $0,5$ e 2 mg.L^{-1} atingiram remoções de cor aparente da ordem de 90% para todas as

velocidades de flotação; a melhor dosagem do polímero ZETAG 8185 (1 mg.L^{-1}) proporcionou remoção em torno de 88%.

Dessa forma, para ambas as variáveis controle, turbidez e cor aparente, o polímero RAPFLOC 50 apresentou resultados ligeiramente melhores que o polímero ZETAG 8185. Além disso, tal polímero foi capaz de alcançar bons resultados com a menor dosagem testada de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, apresentando assim outra vantagem sobre o ZETAG 8185, cuja melhor dosagem foi de 1 mg.L^{-1} .

Conforme os resultados apresentados, fica evidente que a melhor opção para este ensaio foi a dosagem de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ do polímero RAPFLOC 50 associado a 90 mg.L^{-1} de solução comercial PAC, por terem sido as menores dosagens a alcançar os melhores resultados em todas as velocidades de flotação estudadas.

A velocidade de flotação representa de maneira indireta a taxa de aplicação superficial de um flotador, assim, os resultados desse estudo indicam que a associação do coagulante PAC com tal polímero é necessária por capacitar o processo de flotação por ar dissolvido a trabalhar em diferentes taxas de aplicação superficial com a mesma eficiência no tratamento, o que representa uma vantagem para flotadores empregados em estações de tratamento em escala plena, onde há uma variação diária da vazão afluente e consequentemente da taxa de aplicação superficial.

5.5.2 – ETAPA 2: Ensaios de Monitoramento

Nessa etapa da pesquisa realizaram-se 4 ensaios de pós-tratamento de efluentes do reator UASB da ETE-Monjolinho, empregando a flotação por dissolvido em escala de bancada (equipamento Flotatest).

Para isso, foram fixadas a dosagem de coagulante PAC em 90 mg.L^{-1} e dosagem do polímero RAPFLOC 50 em $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, conforme estabelecido nos ensaios preliminares (Etapa 1). Os parâmetros de operação de mistura rápida (gradiente de velocidade (G_f) e tempo de mistura rápida (T_f), taxa de recirculação e pressão de saturação foram fixados como apresentado na Tabela 4.2 (item 4.3). Enquanto que as condições de floculação foram variadas, conforme descrito previamente (item 4.3.2), de maneira que realizaram-se combinações entre dois gradientes de velocidade de floculação ($G_{f1} = 90 \text{ s}^{-1}$; $G_{f2} = 110 \text{ s}^{-1}$) e dois tempos de floculação ($T_{f1} = 13$ minutos e $T_{f2} = 20$ minutos). Assim a cada ensaio, o efluente UASB era coletado em volume suficiente e tratado para cada uma das condições de floculação.

5.5.2.1 – Remoção das variáveis físico-químicas pelo processo de flotação por ar dissolvido em escala de bancada

Na Tabela 5.18 estão expostos os resultados obtidos das variáveis físico-químicas durante os ensaios de tratamento de efluente anaeróbio em Flotateste.

Para todas as variáveis analisadas foram obtidas remoções acima de 85% com o emprego do processo de flotação, exceto DQO total e carbono orgânico dissolvido.

Como esperado após os ensaios preliminares, a turbidez média do efluente tratado apresentou-se bem reduzida para todas as condições de floculação testadas, na faixa de 2,63 a 3,6 uT, e a turbidez máxima observada foi 4,7 uT para a condição 1 ($Gf = 90 \text{ s}^{-1}$ e $Tf = 13$ minutos) em um dos ensaios. A cor aparente média variou de 77,7 a 90,8 uC nas diferentes condições de floculação. Os valores de turbidez e cor aparente do efluente após o tratamento físico-químico foram pouco maiores àqueles obtidos nos ensaios preliminares, o que pode ser decorrente da variação na qualidade do efluente UASB, que apresentou valores mais elevados para essas variáveis durante essa etapa de monitoramento.

Porém, assim como nos ensaios preliminares, a remoção média de turbidez manteve-se acima de 95% em todas as situações, chegando a 97% para a condição 4 ($Gf = 110 \text{ s}^{-1}$ e $Tf = 20$ minutos). Quanto à remoção média de cor aparente, esta ficou próxima a 90%.

A remoção de DQO particulada foi superior à remoção de DQO total e muito significativa por se tratar de um processo físico-químico de alta capacidade em remover materiais particulados, assim a remoção média de DQO particulada apresentou-se pouco superior a 90% para todas as condições de floculação, com exceção a condição 2 ($Gf = 90 \text{ s}^{-1}$ e $Tf = 20$ minutos) cuja remoção média foi de 83,7%. Para o carbono orgânico dissolvido, obteve-se remoção média ao redor de 50% em todos os casos estudados. Os sólidos suspensos totais foram removidos de maneira eficiente, com remoção média variando 85,9 a 90,9% de acordo com a condição de floculação testada.

As remoções médias das variáveis físico-químicas no equipamento Flotateste apresentaram-se superiores àquelas encontradas durante o monitoramento do flotador em escala plena da ETE-Monjolinho.

Tabela 5.18: Resumo estatístico dos dados físico-químicos obtidos a partir das amostras dos ensaios de tratabilidade em Flotatest e para amostras de efluente UASB.

		Variáveis físico-químicas		
		Média±DP	Mín-Máx	Remoção média±DP
UASB	Turbidez (uT)	91,15 ± 8	81,5 - 101	
	Cor aparente (uC)	756 ± 128,5	569 - 850	
	DQOtotal (mg.L ⁻¹)	196,5± 37,1	141,5 - 221,5	
	DQOparticulada (mg.L ⁻¹)	107,1± 25,4	73,6 - 133,9	
	COD (mg.L ⁻¹)	51,3 ± 28,5	31,74 - 84	
	SST (mg.L ⁻¹)	83,6 ± 5,25	78 - 89	
Condição 1 Gf: 90 s ⁻¹ ; Tf:13min	Turbidez (uT)	3,6 ±1,14	2,58 - 4,7	95,98 ± 1,5
	Cor aparente (uC)	90,8 ± 31,6	56 - 120	88,2 ± 2,6
	DQOt (mg.L ⁻¹)	74,9 ± 13,7	55 - 85,1	61,8 ± 1,24
	DQOparticulada (mg.L ⁻¹)	16,14± 25,4	6,1 - 22,1	92 ± 3,66
	COD (mg.L ⁻¹)	22,34 ± 3,9	17,86 - 25	49 ± 23,5
	SST(mg.L ⁻¹)	9,6 ± 3,7	5,5 - 12	88,6 ± 3,84
Condição 2 Gf: 90 s ⁻¹ ; Tf:20 min	Turbidez (uT)	2,87 ± 1	1,78 - 3,92	96,78 ± 1,2
	Cor aparente (uC)	82,5 ± 24,5	55 - 106	89,2 ± 1,76
	DQOtotal (mg.L ⁻¹)	67 ± 13,1	49 - 80,6	65,8 ± 2,5
	DQOparticulada (mg.L ⁻¹)	7 ± 4,15	3,5 - 12	83,7 ± 9,6
	COD (mg.L ⁻¹)	21,4 ± 3,3	17,6 - 23,4	51 ± 22,7
	SST (mg.L ⁻¹)	7,41 ± 3,25	3,25 - 11	90,9 ± 5,2
Condição 3 Gf: 110 s ⁻¹ ; Tf:13min	Turbidez (uT)	3 ± 1,17	1,49 - 4	96,61 ± 1,5
	Cor aparente (uC)	84,7 ± 23,4	57 - 107	88,9 ±1,52
	DQOtotal (mg.L ⁻¹)	68,7 ± 12,8	52 - 82,3	64,8 ± 2,9
	DQOparticulada (mg.L ⁻¹)	8,22 ± 4	4 - 13,6	92,3 ± 6,35
	COD (mg.L ⁻¹)	22,9 ± 5	17,5 - 27,5	48,8 ± 21,6
	SST (mg.L ⁻¹)	11,6 ± 2,5	9 - 14	85,9 ± 3,86
Condição 4 Gf: 110 s ⁻¹ ; Tf :20min	Turbidez (uT)	2,63 ± 0,86	1,59 - 3,64	97 ± 1,2
	Cor aparente (uC)	77,7 ± 17,9	61 - 99	89,7 ± 1,4
	DQOtotal (mg.L ⁻¹)	62,5 ± 14,4	48 - 77,8	67,9 ± 5,3
	DQOparticulada (mg.L ⁻¹)	7,7 ± 2,5	4 - 9,7	92,5 ± 3,25
	COD (mg.L ⁻¹)	22,9 ± 5	17,5 - 27,5	47,2 ± 23,9
	SST (mg.L ⁻¹)	7,5 ± 3,12	4 - 10	90,9 ± 4

Nota: DQO: demanda química por oxigênio; COD: carbono orgânico dissolvido; SST: sólidos suspensos totais; Gf: gradiente de velocidade de floculação; Tf: tempo de floculação; DP: desvio padrão; Mín-Máx: mínimo-máximo.

Ao analisar a Tabela 5.18 percebe-se que a condição 4 ($Gf = 110 \text{ s}^{-1}$; $Tf = 20$ minutos) foi aquela que conduziu a melhores resultados de remoção média para as variáveis turbidez, cor aparente, DQO total e particulada. Com relação a remoção de sólidos suspensos totais tal condição apresentou resultado equivalente à condição 2 ($Gf = 90 \text{ s}^{-1}$; $Tf = 20$ minutos).

Ao se aplicar teste estatístico não foram constatadas diferenças significativas entre as diferentes condições de floculação na remoção das diferentes variáveis físico-químicas ($p > 0,05$, teste de Kruskal Wallis). Diferentemente, Penetra et al. (2003) estudaram tratamento de efluente anaeróbio por flotação por ar dissolvido em escala piloto com emprego do coagulante cloreto férrico e sem associação com polímeros, e ainda com aplicação de gradientes de velocidade de floculação variando de 80 a 100 s^{-1} e tempo de floculação de 13 e 20 minutos, e os melhores resultados para remoção de fósforo, DQO, turbidez, sólidos suspensos se deram com gradiente de velocidade de 80 s^{-1} e tempo de floculação de 20 minutos.

5.5.2.2 – Remoção de microrganismos indicadores pelo processo de flotação por ar dissolvido em escala de bancada

Na Tabela 5.19 estão apresentadas as concentrações médias detectadas de *E. coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens* nos efluentes de reator UASB e nos efluentes tratados por flotação.

Após os ensaios de tratabilidade em Flotateste, o efluente ainda apresentava concentrações elevadas dos microrganismos indicadores, mostrando que esse processo não é indicado para remoção desses organismos. Esses resultados são similares aos encontrados no efluente do flotador da ETE-Monjolinho durante o monitoramento, cujas concentrações médias de *E. coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens* foram em torno de $6,9 \times 10^3 \text{ UFC.mL}^{-1}$, $2,8 \times 10^4 \text{ UFC.mL}^{-1}$ e $1,5 \times 10^4 \text{ UFC.100mL}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 5.19: Concentração média de microrganismos indicadores no efluente do reator UASB e nas amostras tratadas por flotação em diferentes condições de floculação.

Concentração média dos microrganismos indicadores			
Amostras	<i>E. coli</i>	Coliformes totais	<i>Clostridium perfringens</i>
	Média (DP)	Média (DP)	Média (DP)
UASB	$9,33 \times 10^4$ ($\pm 3,05 \times 10^4$)	$2,77 \times 10^5$ ($\pm 2,8 \times 10^4$)	$5,93 \times 10^4$ ($\pm 1 \times 10^4$)
Condição 1 Gf: 90 s^{-1} ; Tf: 13 min	$2,7 \times 10^4$ ($\pm 1,1 \times 10^4$)	$6,62 \times 10^4$ ($\pm 4,4 \times 10^4$)	$1,68 \times 10^3$ ($\pm 1,4 \times 10^3$)
Condição 2 Gf: 90 s^{-1} ; Tf: 20 min	$1,97 \times 10^4$ ($\pm 1 \times 10^4$)	$4,93 \times 10^4$ ($\pm 3,1 \times 10^4$)	$2,98 \times 10^3$ ($\pm 2,4 \times 10^3$)
Condição 3 Gf: 110 s^{-1} ; Tf: 13 min	$2,12 \times 10^4$ ($\pm 1 \times 10^4$)	$5,44 \times 10^4$ ($\pm 3,2 \times 10^4$)	$1,42 \times 10^3$ ($\pm 1,1 \times 10^4$)
Condição 4 Gf: 110 s^{-1} ; Tf: 20 min	$1,73 \times 10^4$ ($\pm 6,7 \times 10^3$)	$4,21 \times 10^4$ ($\pm 2,4 \times 10^4$)	$1,46 \times 10^3$ ($\pm 1,3 \times 10^4$)

Nota: *E. coli* e coliformes totais em UFC.mL⁻¹; *Clostridium perfringens* em UFC.100mL⁻¹; Gf: gradiente de velocidade de floculação; Tf: tempo de floculação.

Na Tabela 5.20 estão apresentadas as remoções médias de *E. coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens* atingidas nos ensaios de flotação.

Cada condição de floculação resultou em remoções estatisticamente iguais de *E. coli* e coliformes totais ($p > 0,05$, teste de Kruskal Wallis). No entanto, houve diferenças significativas entre as remoção de *E. coli* e *Clostridium perfringens*, e entre os coliformes totais e *Clostridium perfringens* para todas as condições ($p < 0,05$, teste de Kruskal Wallis), sendo que em todas as condições de floculação a remoção da bactéria esporulada superou as remoções de *E. coli* e coliformes totais.

As remoções de *E. coli* e coliformes totais pelo flotador da ETE-Monjolinho foram de 0,79 e 0,85 log (item 5.2), respectivamente, resultados próximos aos alcançados nos ensaios em escala de bancada. Com relação ao *Clostridium perfringens*, os ensaios em Flotatest

levaram a resultados superiores de remoção, variando de 1,45 a 1,77 log, enquanto que no flotador em escala plena a remoção média foi de apenas 0,59 log.

Tabela 5.20: Remoção média de microrganismos indicadores nos efluentes do reator UASB utilizados em cada ensaio de tratabilidade em Flotateste.

Remoção média dos microrganismos indicadores (log)			
Amostras	<i>E. coli</i>	Coliformes totais	<i>Clostridium perfringens</i>
	Média de remoção (±DP)	Média de remoção (±DP)	Média de remoção (±DP)
Condição 1 Gf: 90 s⁻¹; Tf: 13 min	0,55 (±0,34)	0,66 (±0,43)	1,71 (±0,4)
Condição 2 Gf: 90 s⁻¹; Tf: 20 min	0,7 (±0,26)	0,78 (±0,4)	1,45 (±0,43)
Condição 3 Gf: 110 s⁻¹; Tf: 13 min	0,65 (±0,22)	0,71 (±0,32)	1,73 (±0,31)
Condição 4 Gf: 110 s⁻¹; Tf: 20 min	0,73 (±0,2)	0,82 (±0,3)	1,77 (±0,4)

Nota: Gf: gradiente de velocidade de floculação; Tf: tempo de floculação

Avaliando de maneira geral, a condição 4 de floculação apresentou média de remoção pouco maior para todos os microrganismos indicadores quando comparada as demais condições. Por outro lado, não foram constatadas diferenças estatísticas significativas entre as 4 condições de tratamento na remoção dos microrganismos ($p > 0,05$, teste de Kruskal Wallis), e portanto não é possível afirmar que alguma das condições apresente vantagem sobre as demais na remoção de qualquer um dos organismos indicadores.

5.5.2.3 – Remoção dos protozoários patogênicos pelo processo de flotação por ar dissolvido em escala de bancada

Na Tabela 5.21 estão apresentadas as concentrações detectadas dos cistos e oocistos de protozoários nos efluentes do reator UASB utilizados para cada ensaio de tratabilidade em Flotateste.

Tabela 5.21: Concentração de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. nos efluentes do reator UASB utilizados em cada ensaio de tratabilidade em Flotatestes.

Concentração de (oo)cistos no efluente UASB		
	cistos.L⁻¹	oocistos.L⁻¹
Ensaio 1	1,46 x 10 ³	1,0 x 10 ¹
Ensaio 2	2,28 x 10 ³	2,0 x 10 ¹
Ensaio 3	2,2 x 10 ³	6,67
Ensaio 4	6,03 x 10 ²	ND
Média ± DP	1,64 x 10 ³ ± 7,8 x 10 ²	1,22 x 10 ¹ ± 6,9

Nota: ND: Não detectado; DP: desvio padrão.

Nessa etapa da pesquisa detectou-se maiores concentrações de cistos no efluente do reator UASB do que na etapa de monitoramento da ETE-Monjolinho (item 5.3), etapa em que se encontrou média de 6×10^2 cistos.L⁻¹ nesse efluente anaeróbio. Enquanto que a concentração média de $1,22 \times 10^1$ oocistos.L⁻¹ foi bem próxima àquela obtida durante o monitoramento da ETE (1×10^1). Essa diferença pode ter sido decorrente da diferença nos horários de coletas entre a etapa de monitoramento da ETE (9 horas) e etapa de ensaios em Flotatestes (meio-dia).

Não foram detectados oocistos em nenhuma das amostras de efluente tratado em Flotatestes. Para essas amostras foi utilizado o método de filtração em membrana seguida de purificação imunomagnética, que resultou em baixa porcentagem de recuperação (5,6%) de oocistos, sendo possivelmente esse o motivo para a não detecção do organismo. Ainda outro fator que pode ter colaborado para esses resultados foram as baixas concentrações de oocistos no efluente anaeróbio, como observado na Tabela 5.21, que após o tratamento por flotação podem ter sido reduzidas para níveis abaixo do limite mínimo de detecção. Dessa maneira, não foram calculados as remoções de oocistos pelo processo de flotação.

Na Figura 5.20 estão apresentadas as concentrações de cistos encontradas nos ensaios.

Figura 5.20: Concentrações detectadas de cistos no efluente tratado durante os ensaios de flotação por ar dissolvido (Flotatest) em diferentes condições de floculação. Onde, Gf: gradiente de velocidade de floculação e Tf: tempo de floculação.

As concentrações de cistos de *Giardia* spp. no efluente tratado foram um pouco variáveis nos quatros ensaios realizados para todas as condições de floculação, variando, de maneira geral, de não detectado a uma concentração máxima de 32,3 cistos.L⁻¹ (condição 1). Esses resultados se mostram muito inferiores aos encontrados no efluente do flotador da ETE-Monjolinho, cuja concentração média foi de 2,35 x 10² cistos.L⁻¹.

Tais resultados mostram a potencialidade da flotação em proporcionar um efluente com baixas concentrações de cistos, assim, se otimizado esse processo pode remover os protozoários de maneira satisfatória e colaborar para um efluente de melhor qualidade.

No ensaio 1 não foram detectados cistos para as condições 1, 2 e 3, e para a condição 4 a concentração foi extremamente baixa (0,7 cistos.L⁻¹). No ensaio 2 foram detectados cistos em todas as amostras, sendo que a condição 2 (Gf: 90 s⁻¹; Tf: 20 minutos) se mostrou a mais favorável dentre os tratamentos por ter apresentado o menor número de cistos por litro (7,3 cistos.L⁻¹), e no ensaio 3, novamente a condição 2 se mostrou a mais eficiente. No ensaio 4, as

concentrações de cistos foram menores que aquelas detectadas nos ensaios 2 e 3, e a condição 1 foi aquela que conduziu a menor concentração de cistos.

A condição 2 (Gf : 90 s^{-1} ; Tf : 20 minutos) de tratamento levou a menor média de concentração de cistos ($4,8 \text{ cistos.L}^{-1}$), sugerindo que pode ser a condição de floculação mais adequada para a remoção de cistos. Dentre as condições de floculação testadas, a condição 2 é aquela que possivelmente levou a formação de flocos maiores, tendo em vista que possui o menor gradiente de velocidade e consequentemente as menores tensões de cisalhamento, e o maior tempo de floculação que permite maior agregação de partículas na formação dos flocos. Esses fatores podem ter contribuído para maior nível de adesão dos cistos com os flocos, e facilitado a flotação dos organismos.

Apesar de a condição 2 ter conduzido a menor concentração de cistos, não foram encontradas diferenças estatísticas entre as médias de concentração de cistos nas diferentes condições de floculação ($p > 0,05$, teste de Kruskal Wallis).

Uma situação que deve ser mencionada é que nos ensaios 2 e 3, nos quais foram observadas as maiores concentrações de cistos, também foram os ensaios com maiores valores de turbidez. Para os ensaios 1 e 4, a turbidez variou de 2,3 a 2,7 uT e de 1,5 a 2,6 uT, respectivamente, de acordo com as diferentes condições de floculação, já nos ensaios 2 e 3 os valores de turbidez variaram de 3,9 a 4,7 uT e de 2,9 a 4,5 uT, respectivamente. Isso sugere que de certa forma a turbidez pode ser um bom indicativo da presença de cistos em efluentes tratados e de boa qualidade em termos de turbidez, e deve ser considerada como uma variável de importância no monitoramento da qualidade final do efluente.

Na Tabela 5.22 estão apresentadas as remoções de cistos obtidas em cada condição de floculação, calculadas com base na quantidade inicial de cistos expostos na Tabela 5.21 e a quantidade de cistos após o tratamento (Figura 5.22). Para os casos que não foram encontrados cistos no efluente tratado, a remoção foi calculada a partir do número mínimo de organismos detectável para esse efluente (Equação 4.3)

Tabela 5.22: Remoção (em log) de cistos de *Giardia* spp. de acordo com as diferentes condições de floculação.

Remoção de <i>Giardia</i> spp. (log)	Condição 1 Gf: 90 s ⁻¹ ; Tf: 13 min	Condição 2 Gf: 90 s ⁻¹ ; Tf: 20 min	Condição 3 Gf: 110 s ⁻¹ ; Tf: 13 min	Condição 4 Gf: 110 s ⁻¹ ; Tf: 20 min
Ensaio 1	≥3,3	≥3,3	≥3,3	3,3
Ensaio 2	2,0	2,5	2,1	2,3
Ensaio 3	1,8	2,4	2,1	2,2
Ensaio 4	3,3	2,4	3,0	2,3
Média ± DP	2,6 ± 0,78	2,7 ± 0,44	2,6 ± 0,61	2,5 ± 0,53

Nota: Gf: gradiente de velocidade de floculação; Tf: tempo de floculação; DP: desvio padrão; o símbolo $\geq$ indica que não houve detecção de organismos no ensaio e o cálculo de remoção considerou o número mínimo detectável por volume.

A flotação por ar dissolvido promoveu remoções elevadas dos cistos inicialmente presentes no efluente em tratamento. As remoções médias para as diferentes condições de tratamento foram semelhantes, com o menor resultado de 2,5 log para condição 4 (Gf: 110 s⁻¹; Tf: 20 min) e maior resultado de 2,7 log para condição 2 (Gf: 110 s⁻¹; Tf: 20 min). E a maior taxa de remoção ocorreu no ensaio 1, em que se obteve resultado de 3,3 log para todos os casos estudados.

Esses resultados estão próximos aos de Edzwald *et al.* (2000), que indicaram remoções de cistos de 2 a 3 log no tratamento de água por flotação.

Por outro lado, tais dados se mostram muito superiores aos resultados do flotador da ETE-Monjolinho, que atingiu remoção média de cistos de 0,47 log. Como já discutido, a ETE passava por período de reajustes em seu processo, além disso processos realizados em escala de bancada sob condições controladas tendem a apresentar melhores eficiências de tratamento.

A condição 2 (Gf: 90 s⁻¹; Tf: 20 minutos) apresentou média de remoção ligeiramente superior com relação às demais. Porém, não foram constatadas diferenças estatísticas entre as médias de remoção de cistos nas diferentes condições de floculação ($p > 0,05$, teste de

Kruskal Wallis), indicando que as condições de floculação testadas agiram de forma similar na remoção de cistos.

Em contrapartida, French et al. (2000) revelam forte correlação positiva do tempo de floculação durante o processo de flotação com a eficiência de remoção de protozoários, entretanto os resultados foram descritos com relação a oocistos de *Cryptosporidium* e não com cistos de *Giardia*.

Nos ensaios de monitoramento da ETE-Monjolinho a unidade de flotação por ar dissolvido não apresentou diferença significativas entre suas remoções de cistos e microrganismos indicadores (item 5.3.3.1). De maneira diferente ocorreu com os ensaios em Flotatest, cujas remoções de cistos foram significativamente diferentes das remoções dos microrganismos indicadores ($p < 0,05$, teste de Kruskal Wallis), sendo que as remoções de cistos foram superiores.

Tendo em vista a alta resistência desse organismo a diversos desinfetantes, a flotação pode ser uma boa alternativa para remover cistos de *Giardia* spp..

Porém, vale mencionar que dependendo do destino final do efluente tratado como, por exemplo, o reuso, ainda seria necessário o pós-tratamento para minimizar os riscos de transmissão e contaminação por esse protozoário devido a sua baixa dose infectante, visto que em alguns ensaios deste trabalho foram encontradas concentrações de até 32,3 cistos.L⁻¹. Além disso, processos físico-químicos promovem a transferência dos organismos para o lodo e não a inativação dos mesmos, tornando necessária a higienização desse subproduto.

Ao comparar tais resultados com os de Oliveira (2012), nota-se que a flotação é mais eficiente que a sedimentação na remoção de cistos. Oliveira (2012) ao tratar efluente de reator UASB (concentração média de $7,96 \times 10^3$ cistos.L⁻¹) pelo processo de sedimentação em escala de bancada (Jarteste) e com emprego do cloreto férrico como coagulante, relatou remoção de 1,3 log (95%), e quando foi empregado o sulfato de alumínio como coagulante, a remoção reduziu-se para 1 log (90%).

6 – CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos conclui-se que:

- Elevadas quantidades e frequente positividade de cistos de *Giardia* spp. foram encontradas tanto nas amostras de esgoto, bruto e tratado, quanto nas amostras de lodo da ETE-Monjolinho, indicando de maneira indireta a incidência desses protozoários na população atendida pela ETE. Com relação aos oocistos de *Cryptosporidium* spp. a positividade de sua presença nas amostras não foi tão frequente e quando detectados mostravam-se em concentrações bem inferiores aos cistos, refletindo a dificuldade que se teve em recuperar oocistos a partir dos métodos adotados, ou ainda a menor incidência de criptosporidiose na população.
- A partir dos dados de concentração de cistos no esgoto bruto, estimou-se que a prevalência de giardíase na população de São Carlos esteve entre 0,22% e 6,7%. Esses resultados podem estar subestimados devido as dificuldades do método de detecção de protozoários e ainda a complexidade da amostra de esgoto.
- Nos diferentes períodos do ano foram encontradas diferentes quantidades de cistos de *Giardia* spp., com resultados estatisticamente diferentes para os trimestres estudados.
- As remoções de cistos de *Giardia* spp. pelas unidades de tratamento da ETE, foram, em média, 1,57 e 0,47 log pelos tratamento anaeróbio e flotação por ar dissolvido, respectivamente, assim, de maneira inesperada o reator UASB superou o flotador quanto a remoção de protozoários.
- O efluente após a flotação apresentava elevadas quantidades de microrganismos indicadores. As remoções médias de *E. coli* e coliformes totais não chegaram a 1 log no reator UASB e tampouco através do flotador por ar dissolvido. A remoção global da ETE foi de 1,77 log para *E. coli* e de 1,78 log para coliformes totais. A remoção média da bactéria *Clostridium perfringens* foi ainda menor que aquelas encontradas para *E. coli* e coliformes totais, obtendo-se remoções médias de 0,54 log pelo reator UASB e 0,59 log pelo flotador.
- As remoções de cistos e de microrganismos indicadores pelo reator UASB foram estatisticamente diferentes, sendo que esse tratamento biológico foi capaz de remover os cistos mais eficientemente, fato que pode ter sido decorrente do maior tamanho dos cistos facilitando sua remoção por sedimentação no reator. O flotador por ar dissolvido não apresentou diferenças estatísticas nesse quesito.

- Os ensaios preliminares em Flotateste indicaram que a dosagem do coagulante PAC de 90 mg.L^{-1} associado a dosagem de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ do polímero RAPFLOC foram as dosagens que apresentaram os resultados mais satisfatórios para o tratamento de efluente anaeróbio em termos de remoção de turbidez e cor aparente.
- O processo de flotação por ar dissolvido realizado em escala de bancada (Flotateste) com diferentes condições de floculação alcançou remoções médias de cistos de *Giardia* spp. entre 2,5 e 2,7 log, revelando ser um processo eficiente no tratamento desses organismos. As diferentes condições de floculação testadas não apresentaram diferenças estatísticas quanto a remoção dos protozoários.
- Os experimentos controle-positivo evidenciaram as dificuldades envolvidas na recuperação de cistos e oocistos a partir de esgoto e lodo. As características biológicas dos (oo)cistos, a grande manipulação das amostras, a complexidade do método e das amostras podem ser os fatores mais relevantes e limitantes dos métodos de detecção e identificação dos protozoários. A filtração em membrana seguida de tripla centrifugação e de etapa IMS apresentou melhores resultados de recuperação de cistos.
- A forte correlação positiva entre cistos e sólidos totais no lodo revelam como a variável sólidos totais pode ser um potencial interferente na detecção e visualização de cistos.
- A respeito da correlação de cistos de *Giardia* spp. e microrganismos indicadores, foi encontrada forte correlação positiva apenas entre cistos e *Clostridium perfringens* para amostras de efluente de reator UASB. Assim os microrganismos indicadores estudados podem não refletir de maneira consistente a presença dos cistos, o que leva à necessidade de estudo de outros indicadores.
- Os cistos se correlacionaram positivamente com as variáveis cor aparente, DQO total e particulada nas amostras de esgoto bruto, mostrando assim que tais variáveis podem ser indicadores do nível de contaminação do esgoto bruto pelo parasito no caso da ETE-Monjolinho.
- Não foi encontrada nenhuma correlação entre a remoção de cistos e remoção de microrganismos indicadores ou de variáveis físico-químicas, sugerindo assim a dificuldade de se prever a remoção desse organismo durante sua passagem em uma estação de tratamento de esgoto.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, R. D. Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 14, n. 3, p. 447-475, 2001.

AISSE, M. M.; LOBATO M. B.; BONA A.; GARBOSSA, L. H. P. Estudo comparativo do reator UASB e do reator anaeróbio compartimentado sequencial no tratamento de esgoto sanitário. **In: 27º Congresso Interamericano de Ingenieria Sanitária y Ambiental**. Porto Alegre, Brasil, Anais Eletrônicos, 2000.

AISSE, M. M.; JÜRGENSEN, D.; LOBATO, M.B. & ALÉM SOBRINHO, P. Avaliação do sistema reator RALF e flotação por ar dissolvido, no tratamento de esgoto sanitário. **In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, João Pessoa, Brasil, Anais Eletrônicos, 2001.

AJONINA, C.; BUZIE, C.; OTTERPOHL, R. The detection of *Giardia* cysts in a large-scale wastewater treatment plant in Hamburg, Germany. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 76, n. 8, p. 509–514, 2013.

AL-MEKHLAFI, H. M.; MAHDY, M. A.; AZLIN, M. .Y; FATMAH, M. S.; NORHAYATI, M. Childhood *Cryptosporidium* infection among aboriginal communities in peninsular Malaysia. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 105, n. 2, p. 135–143, 2011.

ALUM, A.; ABSAR, I.; ASAAD, H.; RUBINO, J. R.; IJAZ, K. M. Impact of environmental conditions on the survival of *cryptosporidium* and *giardia* on environmental surfaces. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2014, p. 1-7, 2014.

ARIANO, G. C. (2009) **Coagulação, floculação e flotação do efluente de reatores anaeróbios, tratando esgoto sanitário, com aplicação de diferentes dosagens de coagulante em função da variação da turbidez do esgoto afluyente ao longo do dia**. 181 p. Dissertação (Mestrado), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

APHA, WEF, AWWA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21 st Edition. 2005.

ATHERHOLT, T.B.; LECHEVALLIER, M.W; NORTON, W.D.; ROSEN, J.S. Effect of rainfall on Giardia and Crypto. **Journal of the American Water Works Association**, v. 90, p. 66-80, 1998.

BALDURSSON, S; KARANIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2004 – 2010. **Water Research**, v. 45, n. 20, p. 6603-6614, 2011.

BATSTONE, D. J.; KELLER, J.; ANGELIDAKI, I.; KALYUZHNYI, S. V.; PAVLOSTATHIS, S. G.; ROZZI, A.; SANDERS, W. T.; SIEGRIST, H.; VAVILIN, V.A. 2002. **Anaerobic Digestion Model n. 1.** (ADM1). Iwa Task Group, IWA Task Group for Mathematical Modelling of Anaerobic Digestion Processes, IWA Publishing, London.

BONADONNA, L.; BRIANCESCO, R.; OTTAVIANI, M.; VESCHETTI, E. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and correlation with microbial, chemical and physical water variables. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 75, p. 241–252, 2002.

BONATTI, T. R. (2007) **Ocorrência de cistos de *Giardia* spp., oocistos de *Cryptosporidium* spp. e ovos da família Ascarididae em amostras de lodo de esgoto.** Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BONATTI, T. R.; FRANCO, R. M. B.; CANTUSIO NETO, R. Comparison of two methodologies for detection of *Giardia* spp. cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts in activated sludge samples from a sewage treatment plant in the city of Campinas, São Paulo State, Brazil. **Journal of Water Health**, v. 5, n. 4, p. 609-614, 2007.

BONATTI, T. R.; FRANCO, R. M. B. Real scale environmental monitoring of zoonotic protozoa and helminth eggs in biosolid samples in Brazil. **J. Parasit. Dis.**, DOI 10.1007/s12639-014-0549-9, 2014.

BORGES, W. F., & MARCIANO, F. M. (2011). Parasitos intestinais : elevada prevalência de *Giardia lamblia* em pacientes atendidos pelo serviço público de saúde da região sudeste de Goiás, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n. 2, p. 149–157, 2011.

BOUZID, M.; HUNTER, P. R.; CHALMERS, R. M.; TYLER, K. M. *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 1, p. 115–134, 2013.

BRIANCESCO, R.; BONADONNA, L. an italian study on *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater, fresh water and treated water. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 104, n. 1-3, p. 445–457 , 2005.

BURET, A.G.; COTTON, J. Pathophysiological Processes and Clinical Manifestations of Giardiasis. In: Lujan, H.D.; Svard S.G., *editors*. 1st ed. **Giardia. A Model Organism**. New York: Springer Wien, 2011. pp. 301–310.

CACCIÒ, S. M.; GIACOMO, M.; AULICINO, F. A.; POZIO, E.. *Giardia* cysts in wastewater treatment plants in Italy giardia cysts in wastewater treatment plants in Italy. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 6 , p- 3393-3398, 2003.

CACCIÒ, S. M.; WIDMER, G. *Cryptosporidium*: parasite and disease. Springer, 2014. 564 p.

CAMPBELL, A.; SMITH, H. Immunomagnetic Separation of *Cryptosporidium* oocysts from water samples: round robin comparison of techniques. **Water Science and Technology**, v. 35, n. 11-12, p. 397-401, 1997.

CANTUSIO NETO, R.; FRANCO, R. M. B. Occurrence of *Cryptosporidial* oocysts and *Giardia* cysts in bottled mineral water commercialized in the city of Campinas, State of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 97, n.2, p. 205-207, 2002.

CANTUSIO NETO, R. **Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. em diferentes pontos do processo de tratamento de água, em Campinas, São Paulo, Brasil**. 89p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP. 2004.

CANTUSIO NETO, R.; SANTOS, J. U.; FRANCO, R. M. B. Evaluation of activated sludge treatment and the efficiency of the disinfection of *Giardia* species cysts and *Cryptosporidium* oocysts by UV at a sludge treatment plant in Campinas, south-east Brazil. **Water Science & Technology**, v. 54, n. 3, p. 89 , 2006.

CANTUSIO NETO, R. (2008). **Estudos dos métodos: floculação em carbonato de cálcio e adaptação das técnicas de filtração em membrana e separação imunomagnética para**

detecção de *Cryptosporidium* e *Giardia* em amostras hídricas. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

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

CAMPOS, J. R.; REALI, M.A.P.; DOMBROSKI, S.A.G.; MARCHETTO, M. & LIMA, M.R.A. Tratamento Físico-Químico por Flotação de Efluentes de Reatores Anaeróbios. **In: 25º Congresso Interamericano Ingeniería Sanitaria y Ambiental**, México. Anais Eletrônicos, 1996.

CAREY, C. M.; LEE, H.; TREVORS, J. T. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocysts. **Water Research**, v. 38, p. 818-862, 2004.

CASSON, L. W.; SORBER, C. A.; SYKORA, J. L.; GAVAGHAN, P. D.; SHAPIRO, M. A.; JAKUBOWSKI, W. *Giardia* in wastewater-effect of treatment. **Research Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 62, n. 5, p. 670-675, 1990.

CASTRO-HERMIDA, J. A.; GARCÍA-PRESEDO, I.; GONZÁLES-WARLETA, A. A. M.; COSTA, J. M. C.; MEZO, M. Contribution of treated wastewater to the contamination of recreational river areas with *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis*. **Water Research**, v. 42, n. 13, p. 3528–3538, 2008.

CASTRO-HERMIDA, J. A.; GARCÍA-PRESEDO, I.; GONZÁLES-WARLETA; MEZO, M. *Cryptosporidium* and *Giardia* detection in water bodies of Galicia, Spain. **Water research**, v. 44, n. 20, p. 5887–5896, 2010.

CAVALIER-SMITH, T.. Protist phylogeny and the high-level classification of Protozoa. **European Journal of Protistology**, v. 39, n. 4, p. 338–348, 2003.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) (2010). **Giardiasis Surveillance** – United States, 2006–2008. Surveillance Summaries, MMWR, 59(SS-6).

CETESB (2004) Método de Ensaio L5.403. *Clostridium perfringens* – Determinação em amostras de água pela técnica de membrana filtrante (método de ensaio). 23 p.

CHANG, C.; HUANG, C.; PAN, J. R.; BI-JU WU, B. Modification of immunomagnetic separation procedures for analysis of *Cryptosporidium* at spiked oocysts and turbid sample conditions. **Journal Environmental Engineering and Management**, v. 17, n. 5, p. 333–338, 2007.

CHAPPELL C. L.; OKHUYSEN, P. C.; LANGER-CURRY, R.; WIDMER, G.; AKIYOSHI, D. E.; TANRIVERDI, S.; TZIPORI, S. *Cryptosporidium hominis*: experimental challenge of healthy adults. **Am J Trop Med Hyg.**, v. 75, p. 851–857, 2006.

CHAURET, C.; ARMSTRONG, N.; FISHER, J.; SHARMA, R.; SPRINGTHORPE, S.; SATTAR, S. Correlating *Cryptosporidium* and *Giardia* with microbial indicators. **J. Am. Water Works Assoc.**, v. 87, n. 11, p. 76-84, 1995.

CHEN, X. M.; KEITHLY, J. S.; PAYA, C. V.; LARUSSO, N. F. Cryptosporidiosis. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 22, p. 1723-1731, 2002.

CHENG, H. A.; LUCU, F. E.; GRACZYK, T. K.; BROADERS, M. A.; TAMANG, L.; CONOLLY, M. Fate of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocysts and *Giardia duodenalis* cysts during secondary wastewater treatments. **Parasitology research**, v. 105, n. 3, p. 689–96, 2009.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores Anaeróbios. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias**. v. 5. Belo Horizonte. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG. 1997.

CHERNICHARO, C. A. L., VAN HANDEL, A.C., FORESTI, E., CYBIS, L.F. Introdução. In: **CHERNICHARO, C. A. L. Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**. Rio de Janeiro, ABES, 2001, p. 1-12.

CHERNICHARO, C. A. L. Post-treatment options for the anaerobic treatment of domestic wastewater. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 5, n. 1, p. 73–92, 2006.

CHONG, S.; SEN, T. K.; KAYAALP, A.; ANG, H. M. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment – A State-of-the-art review. **Water Research**, v. 46, p. 3434-3470, 2012.

COLARES, E. R. C.; BENETTI, A. D. Influência da temperatura dos esgotos domésticos na remoção de matéria orgânica e sólidos suspensos em reator de manta de lodo – ETE Esmeralda – Porto Alegre/RS. In: **23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, Campo Grande, Brasil, Anais Eletrônicos, 2001.

CURRENT, W. L.; GARCIA, L. S. Cryptosporidiosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 4, n. 3, p. 325–358, 1991.

CUTOLO, S. A.; ROCHA, A. A. Uso de parasitas como indicadores sanitários para análise da qualidade das águas de reuso. In: Congresso Iberoamericano de Ingeniería Sanitaria Y Ambiental, 27., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental.

DAI, X.; BOLL, J. Settling velocity of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia*. **Water Research**, v. 40, p. 1321–1325, 2006.

DIAS, D. F. C.; POSSMOSER-NASCIMENTO, T. E.; RODRIGUES, A. J. V.; von SPERLING; M. Overall performance evaluation of shallow maturation ponds in series treating UASB reactor effluent: Ten years of intensive monitoring of a system in Brazil. **Ecological Engineering**, v. 71, p. 206–214, 2014.

DIGIORGIO, C. L.; GONZALEZ; *Cryptosporidium* and *Giardia* recoveries in natural waters by using Environmental Protection Agency Method 1623. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p.5952–5955, 2002.

DUNGENI, M.; MOMBA, M. N. B. The abundance of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in treated effluents produced by four wastewater treatment plants in the Gauteng Province of South Africa. **Water SA**, v. 36, n. 4, p. 425–432, 2010.

EDZWALD, K. J.; KELLEY, M. B. Control of *Cryptosporidium* from reservoirs to clarifiers to filters. **Water Science and Technology**, v. 37, n. 2, 1998.

EDZWALD, K. J.; TOBIASON, J. E.; PARENTO, L. M.; KELLEY, M. B.; KAMINSKI, G. S.; DUNN, H. J.; GALLANT, P. B. *Giardia* and *Cryptosporidium* removals by clarification and filtration under challenge conditions. **American Water Works Association**, v. 92, n. 12, 2000.

EDZWALD, K. J. Dissolved air flotation in drinking water treatment, In: NEWCOMBE, G.; DIXON, D. **Interface Science and Technology**, Elsevier, v. 10, p. 89-107, 2006.

EDZWALD, K. J. Dissolved air flotation and me. **Water Research**, v. 44, n. 7, p. 2077-2106, 2010.

ELMUND, G. K.; ALLEN, M. J.; RICE, E. W. Comparison of *Escherichia coli*, total coliform, and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency. **Water Environment Research**, v. 71, n. 3, p. 332-339, 1999.

FAGUNDES, T. S. (2010) **Uso do polímero natural a base de Amido com auxiliar de floculação no pós-tratamento de efluentes UASB com flotação por ar dissolvido**. 111 p. Trabalho de Graduação (Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

FARIAS, E. W. C.; GAMBA, R. C.; PELLIZARI, V. H.; Detection of *Cryptosporidium* spp. oocysts in raw sewage and creek water in the city of São Paulo , Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 41–43 , 2002.

FARTHING, M. J. G. *Giardia* comes of age: progress in epidemiology, immunology and chemotherapy. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 30, p. 563-569, 1992.

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

FAYER, R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. **Veterinary parasitology**, v. 126, n. 1-2, p. 37–56, 2004.

FEITOSA, F. L. F.; SHIMAMURA, G. M.; ROBERTO, T.; MEIRELES, M. V.; NUNES, C. M.; CIARLINI, P. C.; BORGES A. S. Prevalência de criptosporidiose em bezerros na região de Araçatuba, Estados de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34 n. 1, p. 189-193, 2004.

FENG, Y. Y.; ONG, S. L.; HU, J. Y., SONG, L. F.; NG, W. J. Effect of particles on the recovery of *cryptosporidium* oocysts from source water samples of various turbidities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 4, p 1898-1903, 2003.

FONSECA, A. F.; HERPIN, U.; PAULA, A. M.; VICTÓRIA, R. L. Agricultural use of treated sewage effluents: agronomic and environmental implications and perspectives for Brazil. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 2, p. 194–209, 2007.

FRANCO R. M. B.; CORDEIRO, N. S. Giardiose e criptosporidiose em creches no município de Campinas, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 29, n. 6, p. 585-591, 1996.

FRANCO, R. M. B.; ROCHA-EBERHARDT, R; CANTUSIO NETO, R. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia River, Campinas, Brazil. **Revista Instituto de Medicina Tropical São Paulo**, v. 43, n. 2, p. 109-111, 2001.

FRANCO, R. M. B.; BRANCO, N.; LEAL, D. A. G. Parasitologia ambiental: Métodos de concentração e detecção de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em amostras de água. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n. 2, p. 119–135 , 2012.

FRANCY, D. S.; SIMMONS, O. D.; WARE, M. W.; GRANGER, E. J.; SOBSEY, M. D.; SCHAEFER, F. W. Effects of seeding procedures and water quality on recovery of *Cryptosporidium* oocysts from stream water by using U . S . Environmental Protection Agency Method 1623, **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 7, p. 4118–4128 , 2004.

FRENCH, K.; GUEST, R. K.; FINCH, G. R.; HAAS, C. N. Correlating *Cryptosporidium* removal using dissolved air flotation in water treatment. **Water Research**, v. 34, n. 16, p. 4116-4119, 2000.

FU, C Y; XIE, X; ZHANG, H. T.; WU, Q. Y.; CHEN, J. N. HU, H. Y. Monitoring and evaluation of removal of pathogens at municipal wastewater treatment plants. **Water Science and Technology**, v. 61, n. 6, p. 1589–99 , 2010.

GALLAS-LINDEMANN, C; SOTIRIADOU, I; PLUTZER, J. KARANIS, P. Prevalence and distribution of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater and the surface, drinking and ground waters in the Lower Rhine, Germany. **Epidemiology and infection**, v. 141, n. 1, p. 9–21 , jan. 2013.

GATEI, W.; WAMAE, C. N.; WARURU, A.; MULINGE, E.; WAITHERA, T.; GATIKA, S. M.; KAMWATI, S. K.; REVATHI, G.; HART, C. A. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 1, p. 78-82, 2006.

GERBA, C. P. et al. Sources of microbial pathogens in municipal solid waste landfills in the United States of America. **Waste Management and Research**, v. 29, n. 8, p. 781-790, 2011.

GOMES, A. L.; BARRETTA, C.; ZIEGLER, D. P.; SAUSEN, L.; STOEVEER, N.; SANGIONI, L. A.; VOGEL, F. S. F.; MONTEIRO, S. A.; ZANELLA, A. Prevalência de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em equinos estabulados no Jockey Club de Santa Maria-RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, 2008.

GOULART, J. A. G. (2013) **Estudo da remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. e caracterização da microfauna em estações de tratamento de esgoto: instrumentos de avaliação e controle do processo**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GRACZYK, T. K.; LUCY, F. E.; TAMANG, L.; MIRAFLOR, A. Human enteropathogen load in activated sewage sludge and corresponding sewage sludge end products. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 6, p. 2013–2015, 2007.

GRACZYK, T. K.; KACPRZAK, M.; NECZAJ, E.; TAMANG, L.; GRACZYK, H.; LUCY, F. E.; GIROUARD, A. S. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in sewage sludge and solid waste landfill leachate and quantitative comparative analysis of sanitization treatments on pathogen inactivation. **Environmental Research** v. 106, n. 1, p. 27–33 , 2008.

GRONDAHL-ROSADO, R. C.; TRYLAND, I.; MYRMEL, M.; AANES, K. J.; ROBERTSON, L. J. Detection of Microbial Pathogens and Indicators in Sewage Effluent and River Water During the Temporary Interruption of a Wastewater Treatment Plant. **Water Quality, Exposure and Health**, v. 6, n. 3, p. 155–159, 2014.

GUZMÁN, C.; JOFRE, J.; MONTEMAYOR, M.; LUCENA, F. Occurrence and levels of indicators and selected pathogens in different sludges and biosolids. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 6, p. 2420–2429, 2007.

HELLER, L.; BASTOS, R. K. X.; VIEIRA, M. B. C. M.; BEVILACQUA, P. D.; BRITO, L. A.; MOTA, S. M. M.; OLIVEIRA, A. G.; MACHADO, P. M.; SALVADOR, D. P.; CARDOSO, A. B. Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 13, n. 2, p. 79-92, 2004.

HIJNEN, W. A. M.; BEERENDONK, E. F.; MEDEMA, G. J. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: a review. **Water Research**, v. 40, p. 3-22, 2006.

HSU, B.; HUANG, C.; HSU, Y.; JIANG, G.; HSU, C. L. Evaluation of two concentration methods for detecting *Giardia* and *Cryptosporidium* in water. **Water Research**, v. 35, n. 2, p. 419-424, 2001.

HSU, B.M.; YEH, H. H. Removal of *Giardia* and *Cryptosporidium* in drinking water treatment: a pilot-scale study. **Water Research**, v. 37, p. 1111-1117, 2003.

HU, J.; FENG, Y.; ONG, S. L. NG, W. J.; SONG, L.; TAN, X.; CHU, X. Improvement of recoveries for the determination of protozoa *Cryptosporidium* and *Giardia* in water using method 1623. **Journal of Microbiology Methods**, v. 58, p. 321-325, 2004.

IACOVSKI, R. B.; BARARDI, C. R. M.; SIMÕES, C. M. O. Detection and enumeration of *Cryptosporidium* spp. oocysts in sewage sludge samples from the city of Florianópolis (Brazil) by using immunomagnetic separation combined with indirect immunofluorescence assay. **Waste Management & Research**, v. 21, p. 171-176, 2004.

JAGAI, J. S.; CASTRONOVO, A. D.; MONCHAK, J.; NAUMOVA, E. N. Seasonality of Cryptosporidiosis: A Meta-Analysis Approach. **Environmental Research**, v. 109, n.4, p. 465-478, 2009.

JARROLL, E. L.; BINGHAM, A. K.; MEYER, E. A. Effect of chlorine on *Giardia lamblia* cyst viability. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 483-487, 1981.

JENKINS, M. B.; Eaglesham, B. S.; Anthony, L. C.; Kachlany, S. C.; BOWMAN, D. D.; GHIORSE, W. C. Significance of wall structure, macromolecular composition, and surface polymers to the survival and transport of *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 6, p. 1926-1934, 2010.

JIMENEZ-CISNEROS, B. E. Helminth ova control in wastewater and sludge for agricultural reuse. In: **Water and Health–Encyclopedia of Life Support Systems**, Eolss Publishers, Oxford ,UK, 2007.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. Tratamento de esgotos domésticos. 5° ed. Rio de Janeiro: ABES, 2009. 940p.

KAZMI, A. A. TYAGI, V. K.; TRIVEDI, R. C.; KUMAR, A. Coliforms removal in full-scale activated sludge plants in India. **Journal of Environmental Management**, v. 87, n. 3, p. 415-419, 2007.

KHALIFA, A. M.; EL TEMSAHY, M. M.; ABOU EL NAGA, I. F. Effect of ozone on theviability of some protozoa in drinking water. **Journal Egyptian Society Parasitology**, v. 31, p. 603–616, 2001.

KHAN, A. A.; GAUR, R. Z.; MEHROTRA, I.; DIAMANTIS, V.; LEW, B.; KAZMI, A. A. Performance assessment of different STPs based on UASB followed by aerobic post treatment systems. **Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v. 12, n. 1, p. 43, 2014.

KHANUM, H., KHANAM, S. S.; SULTANA, M.; UDDIN, M. H.; DHAR, R. C.; ISLAM, M. S. Occurrence of *Giardia* in the effluents of a wastewater treatment plant in Dhaka. **Bangladesh Journal of zoology** v. 39, n. 2, p. 147-156, 2011.

KHOUJA, L. B. A.; CAMA, V.; XIAO, L. Parasitic contamination in wastewater and sludge samples in Tunisia using three different detection techniques. **Parasitology Research**, v. 107, n. 1, p. 109–16, 2010.

KIM, Y.; CHOI, D.; CUI, M.; LEE, B.; KIM, B.; PARK, K.; JUNG, H.; LEE, B. Dissolved air flotation separation for pretreatment of membrane bioreactor in domestic wastewater treatment. **Journal of Water Supply: Research and Technology**, v. 64, n. 2, p. 186-193, 2014.

KISTEMANN, T.; RIND, E.; RECHENBURG; A.; KOCH, C.; CLABEN, T.; HERBST, S.; WIENAND, I.; EXNER, M. A comparison of efficiencies of microbiological pollution

removal in six sewage treatment plants with different treatment systems. **International journal of hygiene and environmental health** v. 211, n. 5, p. 534–45 , 2008.

KOOMPAPONG, K.; SUTTHIKORNCHAI, C.; SUKTHANA, Y. *Cryptosporidium* oocyst detection in water samples: floatation technique enhanced with immunofluorescence is as effective as immunomagnetic separation method. **The Korean journal of parasitology**, v. 47, n. 4, p. 353–357, 2009.

KROMETIS, L. H.; CHARACKLIS, G. W.; SOBSEY, M. D. Identification of particle size classes inhibiting protozoan recovery from surface water samples via U.S. Environmental Protection Agency method 1623. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 20, p. 6619–21, 2009.

KUHN, R. C.; ROCK, C. M.; OSHIMA, K. H. Effects of pH and magnetic material on immunomagnetic separation of *Cryptosporidium* oocysts from concentrated water samples. **Applied and Environmental Microbiology** v. 68, n. 4, p. 2066–2070 , 2002.

LEAL, P. M. R. M. (2005) **Avaliação Do risco microbiológico associado à ocorrência de protozoários em sistemas de abastecimento de água: um estudo na cidade de Divinópolis, Minas Gerais** 73 p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia da UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

LEBWOHL, B.; DECKELBAUM, R. J.; GREEN, P. H. R. Giardiasis. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 57, n. 7, p. 906–13, 2003.

LECHEVALLIER, M. W.; NORTON, W. D.; LEE, R. G. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in surface water supplies. **Applied and Environmental Microbiology**, . 57, n. 9, p. 2610-2616, 1991.

LEPEUPLE, A. S.; GAVAL, G.; JOVIC, M.; ROUBIN, M.R.D. **Literature review on levels of pathogens and their abatement in sludges, soil and treated biowaste**. Horizontal Project, WP3: Hygienic parameters, 2004.

LIM, Y. A. L.; HAFIZ, W.; NISSAPATORN, V. Reduction of *Cryptosporidium* and *Giardia* by sewage. **Tropical Biomedicine**, v. 24, n. 1, p. 95–104 , 2007.

LIMA, E. C.; STAMFORD, T. L. M. *Cryptosporidium spp.* no ambiente aquático: aspectos relevantes da disseminação e diagnóstico. **Ciências e Saúde Coletiva**, v. 8, n. 3, p. 791-800, 2003.

LONIGRO, A; POLLICE, A; SPINELLI, R.; BERRILLI, F; CAVE, D.; D'ORAZI, C.; CAVALLO, P.; BRANDONISIO, O. *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in membrane-filtered municipal wastewater used for irrigation. **Applied and environmental microbiology**, v. 72, n. 12, p. 7916–8 , 2006.

LOURENÇÃO, J. **Avaliação da resistência de microrganismos patogênicos à desinfecção sequencial com Ozônio-radiação ultravioleta e Cloro-radiação ultravioleta.** 140p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos. 2009.

MACIEL, P. M. F. (2014) **Remoção de Giardia spp. e Cryptosporidium spp. em águas de abastecimento com turbidez elevada utilizando cloreto de polialumínio: Estudo em escala de bancada e desafios analíticos.** Dissertação (Mestrado). 163p. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MAC KENZIE, W. R.; NEIL, J. H.; PROCTOR, M. E.; GRADUS, M. S.; BLAIR, K. A.; PETERSON, D. E.; KAZMIERCZACK, J. J.; ADDISS, D. G.; FOX, K. R.; ROSE, J. B., DAVIS, J. P. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. **The New England Journal of Medicine**, v. 331, n. 3, p. 161-167, 1994.

MANABE, Y. C.; CLARK, D. P.; MOORE, R. D.; LUMADUE, J. A.; DAHLMAN, H. R.; BELITSOS, P. C.; CHAISSON, R. E.; SEARS, C. L. Cryptosporidiosis in patients with AIDS—correlates of disease and survival. **Clinical Infectious Diseases**, v. 27. p. 536–542, 1998.

MARQUES, S. M. T.; BANDEIRA, C.; QUADROS, R. M. Prevalência de enteroparasitoses em Concórdia Santa Catarina, Brasil. **Parasitol. Latinoam.**, v. 60, p 78-81, 2005.

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

MASSANET-NICOLAU, J. New method using sedimentation and immunomagnetic separation for isolation and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Giardia lamblia* cysts. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 11, p. 6758–6761, 2003.

MCCUIN, R. M.; BUKHARI, Z.; SOBRINHO, J.; CLANCY, J. L. Recovery of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from source water concentrates using immunomagnetic separation. **Journal of Microbiological Methods**, v. 45, n. 2, p. 69–76, 2001.

MCCUIN, R. M.; CLANCY, J. L. Methods for the recovery, isolation and detection of *Cryptosporidium* oocysts in wastewaters. **Journal of microbiological methods**, v. 63, n. 1, p. 73–88, 2005.

MEDEIROS, R. C. (2010) **Comparação da resistência de protozoários patogênicos – *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. – e de microrganismos indicadores à desinfecção sequencial Cloro-Radiação Ultravioleta e Ozônio-Radiação Ultravioleta**. 210 p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MEDEIROS, R. C. (2013). **Avaliação do comportamento dos protozoários – *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. – e de micro-organismos indicadores frente ao tratamento de esgoto sanitário**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MEDEIROS, R. C.; DANIEL, L. A. Comparison of selected methods for recovery of *Giardia* spp. cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts in wastewater. **Journal of Water and Health**, in Press, DOI: 10.2166/wh.2015.228, 2015.

MEDEMA, G. J.; SCHETS, F. M.; TEUNIS, P. F. M.; HAVELAAR, A. H. Sedimentation of free and attached *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in water. **Applied Environmental Microbiology**, v. 64, n. 11, 4460-4466, 1998.

MEDEMA, G. J.; SCHIJVEN, J. F. Modelling the sewage discharge and dispersion of *Cryptosporidium* and *Giardia* in surface water. **Water Research**, v. 35, n. 18, p. 4307–4316, 2001.

METCALF & EDDY. Inc. **Wastewater Engineering treatment Disposal Reuse**. 4. ed. New York, McGraw - Hill Book, 1815p. 2003.

NASSER, A. M.; VAIZEL-OHAYON, D.; AHARONI, A.; REVHUN, M. Prevalence and fate of *Giardia* cysts in wastewater treatment plants. **Journal of applied microbiology**, v. 113, n. 3, p. 477–84, 2012.

NEILL, M. A.; RICE, S. K.; AHMAD, N. V.; FLANIGAN, T. P. Cryptosporidiosis: an unrecognized cause of diarrhea in elderly hospitalized patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 168-170, 1996.

NKAMBULE, S. J.; DLAMINI, M. S.; GRIMASON, A. M. The removal of *Giardia* spp. cysts by waste stabilisation ponds in Matsapha sewage treatment plant, Swaziland. **Journal of Environmental Health Research**, v. 7, n. 1, 2008.

ODA, T.; KAWABATA, M.; UGA, SHOJI. Detection of *Giardia* cysts in sewage and estimations of giardiasis prevalence among inhabitants in Hyogo Prefecture, Japan. **Tropical Medicine and Health**, v. 33, n. 1, p. 1–5, 2005.

O'DONOGHUE, P. J. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 2, p. 139–195, 1995.

OKHUYSEN, P. C.; CHAPPELL, C. L.; CRABB, J. H.; STERLING, C. R.; DUPONT, H. L. Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. **J. Infect. Dis.**, v. 180, p. 1275–1281, 1999.

OKOJOKWU, O. J.; INABO, H.I. ; YAKUBU, S. E. Parasitological profile of raw wastewater and the efficacy of biosand filter in reduction of parasite ova and cysts. **Appl. Sci. Environ. Manage**, v. 18, p. 5-9, 2014.

OLIVEIRA, G. L. (2012) **Processos de tratamento biológico e físico-químico combinados visando o reuso de esgoto sanitário**. 177 p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

OLSON, M. E.; GOH, J.; PHILLIPS, M.; GUSELLE, N.; MCALLISTER, T. *Giardia* cyst and *Cryptosporidium* oocyst survival in water, soil an cattle feces. **Journal of Environmental Quality**, v. 28, n. 6, p. 1991-1996, 1999.

ONGERTH, J. E. The concentration of *Cryptosporidium* and *Giardia* in water--the role and importance of recovery efficiency. **Water research** v. 47, n. 7, p. 2479–88 , 2013.

OTTOSON, J.; HANSEN, A.; BJORLENIUS, B.; NORDER, H.; STENSTROM, T. A.; Removal of viruses, parasitic protozoa and microbial indicators in conventional and membrane processes in a wastewater pilot plant. **Water research**, v. 40, n. 7, p. 1449–57 , abr. 2006.

PAGET, T. A.; JARROL, E. L.; MANNING, P.; LINDMARK, D. G; LLOYD, D. Respiration in the Cysts and Trophozoites of *Giarda muris*. **Journal of General Microbiology**, v. 135, p. 145–154, 1989.

PAYMENT, P.; PLANTE, R.; CEJKA, P.. Removal of indicator bacteria, human enteric viruses, *Giardia* cysts, and *Cryptosporidium* oocysts at a large wastewater primary treatment facility. **Canadian Journal of Microbiology** v. 47, n. 3, p. 188–193 , 2001.

PENETRA, R. G. (1998). **Pós-tratamento físico-químico por flotação de efluentes de reatores anaeróbios de manta de lodo (UASB)**. 398 p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

PENETRA R. G.; REALI M. A. P.; FORESTI, E.; CAMPOS, J. R. Post-treatment of effluents from anaerobic reactor treating domestic sewage by dissolved-air flotation, **Water Science and Technology**, v. 40, n. 8, p. 137-143, 1999.

PENETRA, R. G.; REALI, M. A.; CAMPOS, J. R. Influence of flocculation conditions in the performance of an experimental domestic sewage treatment plant consisting of an anaerobic expanded bed reactor followed by dissolved air flotation. **Water Sci. Technol.**, v. 48, n. 6, p 285-293, 2003.

PERCH, M.; SODEMANN, M.; JAKOBSEN, M. S.; VALENTINER-BRANTH, P.; STEINSLAND, H.; FISCHER, T. K.; LOPES, D. D.; AABY, P.; MOLBAK, K. Seven years' experience with *Cryptosporidium parvum* in Guinea-Bissau, West Africa. **Annals of Tropical Paediatrics**, v.21,n. 4, p. 313–318, 2001.

PEREIRA, R. A. T. (2003) **Diagnóstico parasitológica e sorológico de toxocaríase, esquistossomose mansoni e parasitos intestinais**. 129 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.

PEREIRA, J. T.; SOCCOL, V. T.; COSTA, A. O.; CASTRO, E. A.; OSAKI, S. C.; PAULINO, R. C. *Cryptosporidium* spp.: para controlar é necessário conhecer. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 10, n. 2, p. 13-25, 2009.

PEREIRA-RAMIREZ, O.; QUADRO, M.S.; ANTUNES, R.M.; KOETZ, P.R. Influence of recirculation flow and alkalinity on the performance of an UASB reactor on piggery slurry treatment. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, p. 103-110, 2004.

PINTO FILHO, A.C.T.; BRANDÃO, C.C.S. Avaliação do potencial da flotação por ar dissolvido sob pressão como pós-tratamento para efluentes de reatores anaeróbios de fluxo ascendente. **In: 27º Congresso da AIDIS**, Porto Alegre - RS, Brasil, Anais Eletrônicos, 2000.

PLUMMER, J.D.; EDZWALD, J.K.; KELLEY, M.B.; Removal of *Cryptosporidium parvum* from drinking water by dissolved air flotation. **Journal of the American Water Works Association** v. 87, n. 9, p. 85–95, 1995.

PLUTZER J, ONGERTH J, KARANIS P. *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 213, 2010.

PRADO MS, STRINA A, BARRETO ML, OLIVEIRA-ASSIS AM, PAZ LM, CAIRNCROSS S. Risks factors for infection with *Giardia duodenalis* in pre-school children in the city of Salvador, Brazil. **Epidemiol Infect**, v. 131, n. 2, p. 899-906, 2003.

RAZZOLINI, M. T. P.; SANTOS, T. F. S.; BASTOS, V. K. Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* cysts/oocysts in watersheds and drinking water sources in Brazil urban areas. **Journal of Water and Health**, v. 8, n. 2, p. 399–404, 2010.

REALI, M.A.P. (1991). **Concepção e Avaliação de um Sistema Compacto para Tratamento de Águas de Abastecimento Utilizando o Processo de Flotação por Ar Dissolvido e Filtração com Taxa Declinante**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo.

REDDER, A. DURR, M.; DAESCHLEIN, G.; BAEDER-BEDERSKI, O.; KOCH, C.; MULLER, RO.; EXNER, M.; BORNEFF-LIPP, M.; Constructed wetlands--Are they safe in reducing protozoan parasites? **International journal of hygiene and environmental health**, v. 213, n. 1, p. 72–77 , 2010.

REINOSO, R; BECARES, E; SMITH, H V. Effect of various environmental factors on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, n. 4, p. 980–986, 2008.

REINOSO, R.; BLANCO, S.; TORRES-VILLAMIZAR; L. A.; BECARES, E. Mechanisms for parasites removal in a waste stabilisation pond. **Microbial ecology**, v. 61, n. 3, p. 684–92 , abr. 2011.

RENDTORFF, R. C. The experimental transmission of human intestinal protozoan parasites. II. *Giardia lamblia* given in capsules. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 59, n. 2, p. 209-220, 1954.

RIBEIRO JUNIOR, A. G. M. (2002) **Epidemiologia das parasitoses intestinais e toxocaríase no município de Pedro de Toledo – SP**. 86 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.

RIMHANEN-FINNE, R.; VUORINEN, A.; MARMO, S.; MALMBERG, S.; HÄNNINEN M. L. Comparative analysis of *Cryptosporidium*, *Giardia* and indicator bacteria during sewage sludge hygienization in various composting processes. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, p. 301–305, 2004.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 5, p. 406–411 , 1986.

ROBERTSON, L. J.; CAMPBELL, A. T.; SMITH, H. V. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under Various Environmental Pressures. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 11, p. 3494–3500, 1992.

ROBERTSON, L.J.; SMITH, P.G.; GRIMASON, A.T.; SMITH, H.V. Removal and destruction of intestinal parasitic protozoans by sewage treatment Processes. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 9, n. 2, p. 85-96, 1999.

ROBERTSON, L. J.; PATON, C. A.; CAMPBELL, A. T.; SMITH, P. G.; JACKSON, M. H.; GILMOUR, R. A.; BLACK, S. E.; STEVENSON, D. A. *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts at sewage treatment works in Scotland, UK. **Water Research**, v. 34, n. 8, p. 2310–2322, 2000.

ROBERTSON, L. J.; HERMANSEN, L.; GJERDE, B. K. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in sewage in Norway. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 8, p. 5297–5303, 2006.

ROSE, J. B.; DICKSON, L. J.; FARRAH, S. R.; CARNAHAN, R. P. Removal of pathogenic and indicator microorganisms by a full-scale water reclamation facility. **Water Research**, v. 30, n. 11, p. 2785–2797, 1996.

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

RUIZ, I.; SOTO, M.; VEIGA, M. C.; LIGERO, P.; VEGA, A.; BLÁZQUEZ, R. Performance of and biomass characterization in a UASB reactor treating domestic wastewater at ambient temperature. **Water S. A.**, v. 24, p. 215–222, 1998.

RYAN, U.; CACCIÒ, S. M. Zoonotic potential of *Giardia*. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 12–13, p. 943–56, 2013.

SAMHAN, S. A.; AL-SA'ED, R. M.; MAHMOUD, N. Removal of Pathogenic Microorganisms in Pilot-scale UASB-septic Tanks and Albireh Urban Wastewater Treatment Plant in Palestine. **Water International**, v. 32, n. 5, p. 787–798, 2007.

SAMIE, A.; NTEKELE, P.. genotypic detection and evaluation of the removal efficiency of *Giardiaduodenalis* at municipal wastewater treatment plants in Northern South Africa. **Tropical Biomedicine**, v. 31, n. 1, p. 122–133, 2014.

SANTOS, L. U.; BONATTI, T. R.; CANTUSIO NETO, R. FRANCO, R. M. B. Occurrence of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in activated sludge. **Rev. Int. Med. Trop. S. Paulo**, v. 46, n. 6, p. 309–313, 2004.

SANTOS, L. U.; CANTUSIO NETO, R.; FRANCO, R. M. B.; GUIMARÃES, J. R. Detecção de oocisto de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. em amostras de esgoto bruto ou tratado : avaliação crítica dos métodos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 16, n. 2, p. 115–120 , 2011.

SARTORI, L. (2007) Relatório de Pesquisa de Pós-Doutorado. **Avaliação da presença de microrganismos patogênicos no rio Monjolin (SP) e a resistência aos desinfetantes combinados ozônio-radiação ultravioleta, ácido peracético-radiação ultravioleta e cloro-radiação ultravioleta.** p. 71.

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

SEARCY, K. E.; PACKMAN, A. I.; ATWILL, E. R.; HARTER, T. Association of *Cryptosporidium parvum* with Suspended Particles: Impact on Oocyst Sedimentation. **Applied and Environmental Microbiology**, 71, n. 2, p. 1072-1078 , 2005.

SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B.; HAMELERS, H. V. M.; LETTINGA, G. A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 65, p. 175–190 , 1998.

SIDHU, J. P. S.; TOZE, S. G. Human pathogens and their indicators in biosolids: a literature review. **Environment International**, v. 35, n. 1, p. 187-201, 2009.

SILVA., M. M. D. (2010) **Prevalência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em populações de cães de diferentes regiões do município de Porto Alegre, RS, Brasil.** 138 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO (SNIS). **Diagnósticos dos serviços de água e esgoto – Ano de referência 2011.** 432 p. Ministério das Cidades - Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, Brasília/DF. 2013.

SMITH H. V.; GRIMASON A. M. *Giardia* and *Cryptosporidium* in water and wastewater. In: Mara D, Horan NJ. The handbook of water and wastewater microbiology. Academic Press, 2003. 819 p.

SMITH, H. V; NICHOLS, R. A. B.; GRIMASON, A. M. *Cryptosporidium* excystation and invasion: getting to the guts of the matter. **Trends in parasitology**, v. 21, n. 3, p. 133–42, 2005.

SMITH, H. V.; CACCIO, S. M.; TAIT, A.; MCLAUCHLIN, J.; THOMPSON, R. C. A. Tools for investigating the environmental transmission of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in humans. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 4, p. 160–167, 2006.

SOARES, A. C.; STRAUB, T. M.; PEPPER, I. L.; GERBA, C. P. Effect of anaerobic digestion on the occurrence of enteroviruses and *Giardia* cysts in sewage sludge. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 29, n. 9, 1994.

SPEECE, R.E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment**. Ed. Archae Press, Nashville, 394p. 1996.

SROKA, J.; STOJECKI, K.; ZDYBEL, J.; KARAMON, J.; CENCEK, T.; DUTKIEWICZ, J. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in effluent from sewage treatment plant from eastern Poland. **Ann. Agric. Environ Med.**, n. 1, p. 57–62, 2013.

STOTT, R. Fate and behaviour of parasites in wastewater treatment systems. In: MARA, D.; HORAN, N. **Handbook of Water and Wastewater Microbiology**, Academic Press, London, 2003, p. 491-521.

TAWFIK, A.; SOBHEY, M.; BADAWY, M. Treatment of a combined dairy and domestic wastewater in an up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor followed by activated sludge (AS system). **Desalination**, v. 227, p. 167-177, 2008.

TEIXEIRA, J. C.; HELLER, L.; BARRETO, M. L. Infecção por *Giardia duodenalis* : fatores de risco para crianças residentes em áreas de assentamento subnormal no Brasil, **Cad. Saúde Pública**, v. 23, n. 6, p. 1489–1493, 2007.

THOMPSON, R. C. A. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 1-2, p. 15–35, 2004.

TONANI, K. A. A.; PADULA, J. A.; FREGONESI, B. M.; ALVES R. I. S.; SAMPAIO, C. F.; BEDA, C. F.; HACHICH, E. M.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Persistence of *Giardia*, *Cryptosporidium*, Rotavirus, and Adenovirus in treated sewage in São Paulo state, Brazil. **The Journal of parasitology**, v. 99, n. 6, p. 1144–7, 2013.

TZIPORI, S.; WARD, H.. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 10, p. 1047–1058, 2002.

UDEH, P. J.; JOHN, G.; VEENSTRA, J. N. Field inactivation of oocysts exposed to agricultural land. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 142, p. 211-228, 2003.

US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY OFFICE OF WATER. Washington, DC 20460. **Cryptosporidium: Human Health Criteria Document**. EPA-822-K-94-001, 2001.

US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY OFFICE OF WATER. Washington. **Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by filtration/IMS/FA**. EPA 815-R-05-002, 2005.

US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY OFFICE OF WATER. WASHINGTON, DC 20460. **Method 1623.1: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by filtration/IMS/FA**. EPA 816-R-12-001. 2012.

VERBYLA, M. E.; OAKLEY, S. M.; MIHELIC, J. R. Wastewater Infrastructure for Small Cities in an Urbanizing World: Integrating Protection of Human Health and the Environment with Resource Recovery and Food Security. **Environmental Science & Technology**, v. 47, p. 3598–3605, 2013.

WALIA, R.; KUMAR, P.; MEHROTRA, I. Performance of UASB based sewage treatment plant in India. **Internacional Journal of Current Engineering and Technology**, v. 4, n. 3, p. 1543–1548, 2014.

WARE, M. W., WYMER, L.; LINDQUIST, H. D. A.; SCHAEFER, F. W. Evaluation of an alternative IMS dissociation procedure for use with Method 1622: detection of *Cryptosporidium* in water. **Journal of Microbiological Methods**, v. 55, n. 3, p. 575–583, 2003.

WARNECKE, M.; WEIR, C.; VESEY, G. Evaluation of an internal positive control for *Cryptosporidium* and *Giardia* testing in water samples. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 244–248, 2003.

WESTRELL, T.; SCHONNING, C.; STENSTROM, T. A.; ASHBOLT, N. J. QMRA (quantitative microbial risk assessment) and HACCP (hazard analysis and critical control points) for management of pathogens in wastewater and sewage sludge treatment and reuse. **Water Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 23–30, 2004.

WHITMORE, T. N.; ROBERTSON, L. J. The effect of sewage sludge treatment process on oocyst of *Cryptosporidium parvum*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 78, n. 1., P. 34-36, 1995.

YAKUB, G. P.; STADTERMAN-KNAUER, K. L. Evaluation of immunomagnetic separation for recovery of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* from high-iron matrices. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 8, p. 3628-3631, 2000.