



Remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. na Estação de Tratamento de Esgoto Garcia, no município de Blumenau, SC, Brasil

doi:10.4136/ambi-agua.2028

Received: 18 Oct. 2016; Accepted: 30 Aug. 2017

Mauro Giovanni Miglioli^{1*}; Jessica Geremias Zuanazzi²; Joel Dias da Silva³; Regina Maura Bueno Franco⁴; Juliane Araújo Greinert-Goulart²

¹Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB), Blumenau, SC, Brasil

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA). E-mail: mauro.miglioli@hotmail.com

²Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB), Blumenau, SC, Brasil

Departamento de Ciências Naturais (DCN). E-mail: jzuanazzi.comercial@gmail.com, julianeag@gmail.com

³Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB), Blumenau, SC, Brasil

Departamento de Engenharia de Produção e Design. E-mail: dias_joel@hotmail.com

⁴Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Departamento de Biologia Animal. E-mail: mfranco@unicamp.br

*Autor correspondente

RESUMO

Giardia spp. e *Cryptosporidium* spp. são agentes etiológicos responsáveis por uma série de epidemias de gastroenterites ocorridas, principalmente, após o consumo de água contaminada. Os cistos e oocistos destes protozoários são resistentes às variações ambientais, bem como a maioria dos processos físicos, químicos e microbiológicos utilizados nas estações de tratamento de água e esgoto. Deste modo, este estudo teve como objetivo detectar e avaliar a remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. no sistema de tratamento combinado anaeróbio + aeróbio da ETE Garcia em Blumenau, SC. Para efetuar a detecção de cistos e oocistos, as amostras de efluentes e lodos provenientes da ETE foram concentradas através de filtração em membranas de ésteres de celulose e centrifugação, seguida por reação de imunofluorescência direta (RID) utilizando o Kit diagnóstico - Merifluor®. Para a obtenção dos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos, as análises seguiram os padrões preconizados em APHA (2012). Concentrações elevadas de cistos de *Giardia* spp. (máx. 900.000 cistos L⁻¹) foram detectadas em 83,3% dos pontos analisados. Oocistos de *Cryptosporidium* spp. também foram detectados em elevadas concentrações (máx. 300.000 oocistos L⁻¹) em 66,6% dos pontos analisados. Não foram detectados cistos e oocistos nas amostras do efluente tratado, deste modo o sistema combinado da ETE Garcia apresentou uma eficiência >99,9% para a remoção das formas resistentes destes patógenos, contribuindo para a redução da contaminação ambiental por protozoários patogênicos presentes no esgoto doméstico do município de Blumenau, SC, Brasil.

Palavras-chave: eficiência de remoção, esgoto doméstico, protozoários de veiculação hídrica.

Removal of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts at a Waste Water Treatment Plant Garcia, in Blumenau, SC, Brazil

ABSTRACT

Giardia spp. and *Cryptosporidium* spp. are responsible for a number of outbreaks of gastroenteritis, particularly associated with the consumption of contaminated water. The cysts and oocysts of these protozoa are resistant to environmental variations, as well as to most of the physical, chemical and microbiological processes used in water treatment and sewage plants. This study therefore aimed to detect and evaluate the removal of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in a combined system anaerobic / aerobic Waste Water Treatment Plant (WWTP) located in the city of Blumenau, SC, Brazil. For the study of cysts and oocysts, samples of effluents and sludge from the WWTP were concentrated by filtration using a membrane of cellulose esters and by centrifugation, followed by direct immuno-fluorescence assay (RID) using the Merifluor® diagnostic kit. The analysis followed the standards published in APHA (2012) to obtain the physical, chemical and microbiological parameters. High concentrations of *Giardia* spp. (Max. 900,000 L⁻¹ cysts) were detected in 83.3% of the analyzed points. Oocysts *Cryptosporidium* spp. were detected at high concentrations (max. 300,000 oocysts L⁻¹) in 66.6% of the analyzed points. Neither cysts nor oocysts were detected in treated effluent samples. Thus, the combined system of the Garcia WWTP showed a 99.9% efficiency rate for the removal of resistant forms of pathogens, contributing to the reduction of environmental contamination by these pathogens present in the domestic sewage of Blumenau, SC.

Keywords: domestic sewage, removal efficiency, waterborne protozoa.

1. INTRODUÇÃO

A água pode ser responsável pela veiculação de uma variedade de doenças a população humana, quando contaminada e utilizada para consumo, irrigação, pesca ou recreação, resultando nas chamadas doenças de veiculação hídrica (Cheng et al., 2009).

Giardia spp. e *Cryptosporidium* spp. são conhecidos como parasitos cosmopolitas (Fregonesi et al., 2012) e agentes causais da giardiose e criptosporidiose respectivamente, com infecções associadas à indivíduos imunocomprometidos, como também aos imunocompetentes (Chappell et al., 2015). Estão entre as principais causas de doenças diarreicas em seres humanos em todo o mundo e são considerados para a Saúde Pública, os mais importantes protozoários patogênicos veiculados pela água, devido à elevada resistência à maioria dos processos convencionais para o tratamento de água potável, resistência ao cloro e a alta infectividade (Putignani e Menichella, 2010; WHO, 2011; Fregonesi et al., 2012). Esses protozoários potencialmente patogênicos também são resistentes à maioria dos processos empregados para o tratamento de esgoto doméstico (Nasser et al., 2012; Nasser, 2016). As formas infectantes destes patógenos estão presentes nas fezes dos hospedeiros infectados, que compõem o esgoto bruto que chega às ETE (Estação de Tratamento de Esgoto), tornando o esgoto doméstico, uma das principais fontes de contaminação dos mananciais (Nasser et al., 2012; Nasser, 2016).

Deste modo, *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. foram agentes patogênicos de 524 surtos de doenças de veiculação hídrica, que ocorreram em todo o mundo no período compreendido de 1984 a 2010 (Karanis et al., 2007; Baldursson e Karanis, 2011).

Outro cenário associado a esses protozoários além da veiculação hídrica é a transmissão por alimentos, deste modo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura (*Food and Agriculture Organization - FAO*) em parceria com a Organização Mundial da Saúde

(*World Health Organization* - WHO) classificou *Cryptosporidium* spp. com a 5^o posição do ranking das mais importantes zoonoses globais de origem alimentar e *Giardia duodenalis* na 11^o posição (FAO e WHO, 2014).

Devido à relevância destas enfermidades para a saúde pública, no ano de 2004, a criptosporidiose e a giardiose foram incluídas na lista “Iniciativa das Doenças Negligenciadas”, da *Organização Mundial de Saúde* (OMS) e *Organização Pan-Americana de Saúde* (OPAS), pois, restringem o desenvolvimento e a melhoria socioeconômica de vários países (Savioli et al., 2006).

O Fundo das Nações Unidas para a Infância, em parceria com a Organização Mundial da Saúde, aponta as doenças diarreicas como a segunda maior causa de mortes em crianças menores de 5 anos de idade em todo o mundo. Estima-se que 1,5 milhões de crianças são levadas a óbito a cada ano vítimas destas doenças, sendo 88% destes óbitos associados à sistemas inadequados de saneamento básico, sendo que 99% destes obtidos ocorrem em países em desenvolvimento (UNICEF e WHO, 2009).

Atualmente, mais de 748 milhões de pessoas em todo o mundo não possuem serviços para a disponibilidade de água potável, e aproximadamente 2,5 bilhões pessoas não possuem serviços de coleta e tratamento do esgoto sanitário (WHO, 2014).

No Brasil, 38,7% dos esgotos gerados recebem algum tipo de tratamento (SNIS, 2014). No Estado de Santa Catarina, apenas 21,35% (Trata Brasil, 2013). Já no município de Blumenau, os serviços de coleta e tratamento de esgotos sanitários atendem cerca de 33% da população (Blumenau, 2016).

No município de Blumenau, Grott et al. (2016) relataram a presença de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em águas superficiais brutas destinadas ao abastecimento público, e Andrade et al. (2008) como parasito infectante da população humana infantil. E no município de Indaial, Volotão et al. (2008) identificaram *Giardia duodenalis* subtipo A1 (infectante para humanos) como parasito infectante de animais silvestres, porém, nenhum trabalho foi realizado na região visando detectar a presença destes protozoários em amostras de efluentes domésticos brutos, tratados ou em subprodutos deste tratamento, como os lodos biológicos, evidenciando a necessidade de pesquisas que investiguem possíveis ambientes de disseminação destes protozoários.

Deste modo, o presente trabalho teve como objetivo detectar e avaliar a eficiência de remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. no sistema combinado anaeróbio + aeróbio da ETE Garcia; em Blumenau/SC.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização da ETE Garcia

A ETE Garcia está localizada no Bairro Garcia, inserida no vale do Ribeirão de mesmo nome e a Sudeste do município de Blumenau, SC (Figura 1).

A estação contempla, com coleta e tratamento de esgoto, aproximadamente 36.846 habitantes dos bairros Garcia, Ponta Aguda, Centro, Vorstadt e Valparaíso. Utiliza sistema combinado para o tratamento de efluentes, constituída de uma estação elevatória, sistema de gradeamento mecanizado (AGUAGARD[®]), desarenador (AIRLIFTH[®]), calha do tipo Parshall para a medição de vazão e pH do esgoto bruto, reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket* - reator anaeróbio de fluxo ascendente) com sistema de captação e queima de gases, reator MBBR (*Moving Bed Biofilm Reactor* – reator biológico de leito móvel), decantador secundário, tanque de contato (desinfecção), sistema de recirculação e centrifugação de lodo (Figura 2).

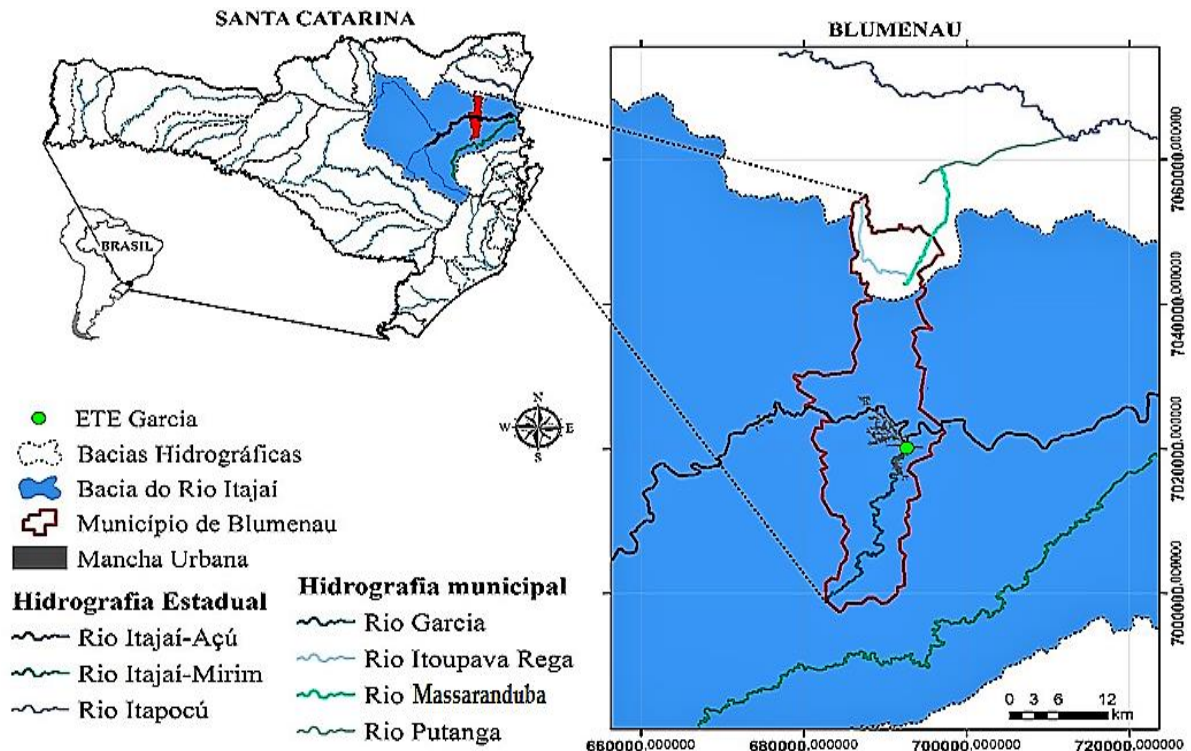


Figura 1. Localização da ETE Garcia, em Blumenau/SC, Brasil.

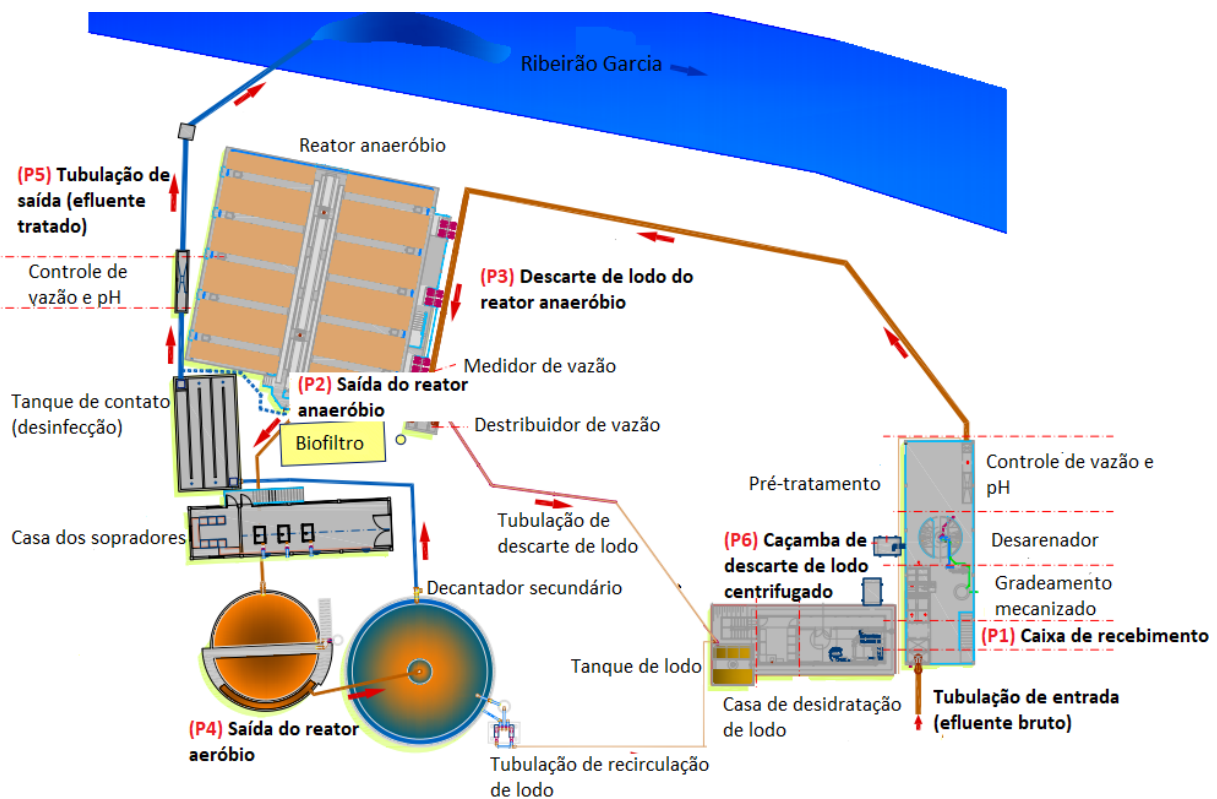


Figura 2. Planta baixa do sistema de tratamento de esgoto do Bairro Garcia.

Fonte: adaptado de Odebrecht (2016).

A estação foi projetada com capacidade de tratamento de 88 L.s^{-1} , mas, atualmente opera com apenas 30 L.s^{-1} devido ao fato de todas as residências dos bairros contemplados não estarem interligadas a rede coletora.

2.2. Amostragem

As análises parasitológicas, físicas, químicas e microbiológicas foram realizadas mensalmente durante um período de 12 meses tendo início em fevereiro de 2015 e término em janeiro de 2016.

As amostras de efluentes e lodos foram armazenadas em galões plásticos estéreis, previamente higienizados e lavados com solução de eluição contendo Tween 80 a 0,01% (1:3). Estas amostras foram coletadas de acordo com o tempo de detenção hidráulica (TDH) da ETE Garcia que varia em função da vazão que entra na mesma, sendo a vazão média mensal de 30 L.s^{-1} , e TDH de aproximadamente 34h.

Deste modo o primeiro ponto de coleta foi o efluente bruto (P1), o segundo ponto de coleta foi na saída do efluente UASB, (P2) o terceiro no lodo UASB (P3), o quarto ponto de coleta foi na saída do efluente MBBR (P4), o quinto ponto de coleta foi na saída da estação no efluente tratado (P5) que é lançado no ribeirão Garcia, e o sexto ponto de coleta foi o lodo condicionado da estação (P6) representados na Figura 2.

2.3. Detecção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos *Cryptosporidium* spp.

As análises realizadas nesta pesquisa foram conduzidas no Laboratório de Parasitologia do Departamento de Ciências Naturais e no Laboratório de Engenharia de Biomassa (LEBIO), do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA) da Universidade Regional de Blumenau (FURB), SC, Brasil.

Os cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. eventualmente presentes nas amostras de efluente bruto, lodo do reator UASB, efluente do reator MBBR e lodo condicionado foram concentradas de acordo com protocolo modificado de Robertson et al. (2000) e adaptado por Cantusio Neto et al. (2006).

Em tubos de 15 mL foram adicionados 5 mL das amostras previamente filtradas em peneiras de 1 mm^2 , adicionados 10 mL de Solução de Eluição contendo Tween 80 a 0,1% (1:3) e homogeneizado por 2 minutos com auxílio de Vórtex (KASVI® - K45-2820).

Posteriormente estas amostras foram centrifugadas a $1.500 \times g$ durante 15 minutos, com o auxílio da centrífuga (HERMLE® - Z326K), o sobrenadante foi aspirado com o auxílio de uma bomba a vácuo (TECNAL® - TE-0581). O sedimento precipitado foi armazenado em microtubos de 2 mL, com a adição antibióticos (gentamicina, penicilina e anfotericina B) e armazenados a 4°C .

As amostras de efluente tratado e efluente do reator UASB foram concentradas conforme protocolo modificado de Franco et al. (2001). As amostras foram filtradas em membranas de ésteres de celulose com 47 mm de diâmetro e porosidade de $3 \mu\text{m}$ (Milipore®), através de um sistema de filtração com bomba a vácuo (fluxo 4 L.min^{-1}) e porta filtro (Gelman®).

Após a filtração as membranas foram cuidadosamente retiradas e transferidas para placas plásticas estéreis para realização da recuperação de cistos de *Giardia* spp. e de oocistos *Cryptosporidium* spp. As superfícies das membranas foram raspadas por 20 minutos com o auxílio de alças plásticas alternadamente de lavagens manuais com solução de eluição. O material resultante das lavagens foi concentrado através de dupla centrifugação a $1.050 \times g$ durante 15 minutos por meio da centrífuga. O sobrenadante foi aspirado e descartado e o sedimento lavado com solução de eluição e centrifugado novamente. O sobrenadante foi aspirado e descartado e o sedimento precipitado foi armazenado em microtubos de 2 mL com a adição de antibióticos e armazenados a 4°C .

A pesquisa de cistos de *Giardia* spp. e oocistos *Cryptosporidium* spp. foi realizada por

meio da reação de imunofluorescência direta (RID) conforme as instruções do fabricante do Kit diagnóstico (Merifluor® - Meridian Bioscience, Cincinnati, Ohio). A visualização da RID foi realizada empregando o microscópio de epifluorescência (Olympus® - CH30) com filtro de excitação de 450 a 490 nm e filtro de barreira de 520 nm.

Após a enumeração dos cistos e oocistos presentes nas amostras, foi realizado o cálculo da estimativa de número médio de cistos e oocistos L^{-1} , de acordo com a Equação 1 descrita por Cantusio Neto e Franco (2004).

$$X = \frac{N}{K} \times \frac{S}{A} \quad (1)$$

em que:

- X: concentração de oocistos ou cistos L^{-1} ;
- N: número de oocistos ou cistos visualizados na lâmina;
- K: volume de sedimento analisado (μL);
- S: volume total do sedimento obtido (μL);
- A: volume filtrado da amostra (L).

O cálculo da remoção de cistos e oocistos foi realizado utilizando-se as concentrações de cistos e oocistos detectados no esgoto bruto e no efluente final da ETE (Equação 2).

$$\% \text{ remoção} = CP5.100/CP1 \quad (2)$$

em que:

- CP1: concentração de cistos ou oocistos no esgoto bruto (P1)
- CP5: concentração de cistos ou oocistos no efluente tratado (P5)

Durante todo o período das análises parasitológicas, entre o processamento das amostras, foram realizados experimentos utilizando água reagentes como amostra, seguindo os mesmos procedimentos e materiais utilizados nas amostras naturalmente investigadas. Neste experimento não foram detectados cistos ou oocistos, demonstrando que não houve contaminação dos equipamentos e materiais utilizados.

2.4. Parâmetros físicos, químicos e microbiológicos

Os seguintes parâmetros físicos, químicos e microbiológicos foram avaliados na entrada (efluente bruto) e na saída (efluente tratado) da ETE Garcia: Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO5 (fotometria); Demanda Química de oxigênio - DQO (fotometria); Turbidez (nefelometria); Temperatura (termometria), Sólidos sedimentáveis - SD60 (gravimetria); Sólidos suspensos totais - STT (gravimetria); Sólidos totais - ST (gravimetria); pH (sonda); coliformes totais e coliformes termotolerantes (membrana filtrante).

As metodologias na obtenção dos parâmetros físicos e químicos e microbiológicos seguiram os padrões publicados por APHA (2012). Estes parâmetros físicos, químicos e microbiológicos foram correlacionados com a concentração de cisto de *Giardia* spp. e de oocisto de *Cryptosporidium* spp.

2.5. Análise dos resultados

Para a série de dados, aplicou-se o teste de Shapiro Wilk a fim de testar a normalidade. Os resultados da pesquisa de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas diversas amostras da ETE Garcia foram analisados utilizando estatística descritiva: média aritmética,

desvio padrão e valores máximos e mínimos, utilizando o software Excel 2016.

Para a análise da variação sazonal da concentração de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas amostras analisadas foi aplicado o teste ANOVA de fator único.

Para a análise da existência de correlação entre os resultados da pesquisa de cistos *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. e os dados físicos, químicos e microbiológicos das amostras analisadas foi aplicado o teste não-paramétrico de coeficiente de correlação de postos de Spearman (r) utilizando o software STATISTICA 10.0 (StatSoft). Em relação à concentração de cisto de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp., para a análise de correlação, foi realizada uma previa transformação logarítmica dos dados, utilizando $\log(y + 1)$ e posteriormente aplicado o Teste t de Student (p) para verificar a significância do valor de (r). Somente valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significantes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Parâmetros físicos, químicos e microbiológicos

Durante a realização desta pesquisa o efluente bruto (entrada) e o efluente tratado (saída) da ETE Garcia apresentaram as seguintes concentrações médias referentes aos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos do efluente bruto, efluente tratado e eficiência de remoção da ETE Garcia, município de Blumenau, SC.

Amostras/ Variáveis	n	Efluente bruto (entrada)		Efluente tratado (saída)		Eficiência de remoção (%)
		Amplitude	Média \pm DP	Amplitude	Média \pm DP	
DBO5	12	(7 - 352)	(196 \pm 105)	(4 - 34)	(14 \pm 10)	91,0
DQO	12	(432 - 1835)	(780 \pm 385)	(2 - 186)	(71 \pm 40)	91,0
pH	12	(6,5 - 7,2)	(6,9 \pm 0,19)	(6,9 - 7,5)	(7,2 \pm 0,19)	-
SD60	12	(0,6 - 39)	(7,01 \pm 10,4)	(0,1 - 0,1)	(0,1 \pm 0)	99,0
STT	12	(146 - 280)	(204 \pm 37)	(3 - 60)	(17 \pm 15)	91,0
ST	12	(565 - 985)	(715 \pm 104)	(256 - 410)	(335 \pm 42)	52,0
Temperatura	12	(24 - 29)	(26 \pm 1,7)	(21 - 33)	(25 \pm 3)	-
Turbidez	12	(147 - 261)	(203 \pm 28)	(3 - 49)	(14 \pm 11)	93,0
Coliformes termotolerantes	12	(1x10 ² - 16,3x10 ⁶)	(9,21x10 ⁶ \pm 4,5x10 ⁶)	(0 - 6x10 ⁴)	(6,5x10 ³ \pm 17,1x10 ³)	99,9
Coliformes totais	12	(13x10 ⁶ - 72x10 ⁶)	(33,75x10 ⁶ \pm 14,9x10 ⁶)	(10 - 9x10 ⁴)	(34,5x10 ³ \pm 21,9x10 ³)	99,9

Nota: DBO5 = demanda bioquímica de oxigênio (mgO₂.L⁻¹); DQO = demanda química de oxigênio (mgO₂.L⁻¹); pH = potencial hidrogeniônico; SD60 = sólidos sedimentáveis (mg L⁻¹) STT = sólidos suspensos totais (mg.L⁻¹); ST = sólidos totais (mg.L⁻¹); Temperatura (°C); Turbidez (NTU); coliformes termotolerantes (UFC / 100 mL); coliformes totais (UFC / 100 mL); n = número amostral; DP = desvio padrão.

Todos estes parâmetros físicos, químicos e microbiológicos atenderam as condições e padrões estabelecidos na Resolução nº.430, de 13 de maio de 2011, a qual dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n.357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA,2011).

3.2. Pesquisa de cisto de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Nas análises realizadas no período de fevereiro de 2015 a janeiro de 2016 (Tabelas 2 e 3) foram detectadas elevadas concentrações de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

No efluente bruto (P1) da ETE Garcia foram detectados cistos de *Giardia* spp. em 100% das amostras (12/12) em concentrações que variaram de 20.000 (min.) a 60.000 (máx.) e média de 26.666 cistos L⁻¹, oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram detectados em 16,7% das amostras (2/12) em concentrações que variaram de 10.000 (min.) a 20.000 (máx.) e média de 2.500 oocistos L⁻¹, indicando que formas infectantes de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. circulam no ambiente dos bairros atendidos pela ETE e que parte da população humana e/ou animal pode estar infectada.

Greinert-Goulart (2013) também detectou cistos de *Giardia* spp. em 100% amostras de esgoto bruto, em concentração média de 98.333 cistos L-1, e oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram detectados em apenas um mês, dos 24 meses de análises, na pesquisa realizada na ETE Piçarrão, no município de Campinas, SP. O sistema de tratamento adotado na ETE Piçarrão é de Reator Anaeróbico de Fluxo Ascendente seguido de Lodos Ativado Convencional. A ETE Piçarrão, durante o estudo, contribuía para o tratamento de 23% do esgoto de Campinas, atendendo uma população de cerca de 200.000 habitantes.

Nasser et al. (2012) observaram após revisão de 30 estudos realizados em diferentes países que 76,6% das amostras analisadas de efluente bruto apresentaram positividade para *Giardia* spp., em concentrações que variaram de 0,23 a 100.000 cistos L⁻¹. Esses autores concluíram que a elevada prevalência de cistos de *Giardia* em águas residuais em várias partes do mundo, pode refletir a taxa de infecção na população humana.

Já em relação ao *Cryptosporidium* spp., Nasser (2016) mediante a análise de 25 estudos conduzidos em 13 países, constatou a prevalência do protozoário entre 6% e 100% das amostras de esgoto bruto analisadas com concentrações que variaram de 10 a 200 oocistos L⁻¹.

A menor ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* em relação aos cistos de *Giardia* em amostras de efluentes brutos já foi observada em outros estudos (Cantusio Neto et al., 2006; Greinert-Goulart, 2013; Nasser et al., 2012; Nasser, 2016) e pode ser influenciada por diversos fatores, dentre os quais o principal é a prevalência da parasitose na população que utiliza os serviços de coleta e tratamento de esgoto doméstico.

Corroborando também com os resultados de Andrade et al. (2008) em uma pesquisa realizada no município de Blumenau, SC, em um Centro de Educação Infantil Público, no qual observaram a prevalência de *Giardia duodenalis* em 18,9% das crianças analisadas e *Cryptosporidium* spp. em apenas 7,6%.

Tabela 2. Estimativa do número de cistos de *Giardia* spp. L⁻¹ detectados nas diferentes etapas de tratamento da ETE Garcia, município de Blumenau, SC.

Meses	Pontos de coleta						% de Remoção
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	
Fev/15	20.000	60.000	150	20.000	ND	400.000	99,9
Mar/15	20.000	40.000	150	ND	ND	400.000	99,9
Abr/15	20.000	60.000	ND	20.000	ND	60.000	99,9
Mai/15	40.000	30.000	150	20.000	ND	60.000	99,9
Jun/15	60.000	40.000	100	ND	ND	100.000	99,9
Jul/15	20.000	40.000	150	ND	ND	100.000	99,9
Ago/15	20.000	60.000	350	10.000	ND	300.000	99,9
Set/15	20.000	40.000	ND	20.000	ND	300.000	99,9
Out/15	20.000	60.000	154	ND	ND	250.000	99,9
Nov/15	30.000	160.000	308	10.000	ND	NR*	99,9
Dez/15	30.000	60.000	546	20.000	ND	NR*	99,9
Jan/16	20.000	80.000	ND	ND	ND	900.000	99,9
Média	26.666	60.833	171,42	10.000	0	329.167	99,9
DP	11.785	32.777	154,32	9.128	0	260.175	-
F (%)	100,0	100,0	75,0	58,3	0,0	100,0	-

Legenda: ND = não detectado; NR* = não realizado; P1 = esgoto bruto; P2 = lodo UASB; P3 = efluente UASB; P4 = efluente MBBR; P5 = efluente tratado; P6 = lodo condicionado; DP = desvio padrão; F (%) = frequência relativa.

Tabela 3. Estimativa do número de oocistos de *Cryptosporidium* spp. L⁻¹ detectados nas diferentes etapas de tratamento da ETE Garcia, município de Blumenau, SC.

Meses	Pontos de coleta						% de Remoção
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	
Fev/15	20.000	60.000	50	ND	ND	200.000	99,9
Mar/15	ND	40.000	ND	ND	ND	ND	NA**
Abr/15	ND	60.000	ND	ND	ND	ND	NA**
Mai/15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NA**
Jun/15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NA**
Jul/15	ND	40.000	ND	ND	ND	100.000	NA**
Ago/15	ND	ND	ND	ND	ND	150.000	NA**
Set/15	ND	ND	ND	ND	ND	300.000	NA**
Out/15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NA**
Nov/15	ND	80.000	ND	ND	ND	NR*	NA**
Dez/15	10.000	40.000	ND	ND	ND	NR*	99,9
Jan/16	ND	ND	ND	ND	ND	300.000	NA**
Média	2.500	26.667	4,166	0	0	87.500	99,9
DP	5.951	28.674	13,81	0	0	115.695	-
F (%)	16,7	50,0	8,3	0,0	0,0	41,7	-

Legenda: ND = não detectado; NR* = não realizado; NA** = não avaliado P1 = esgoto bruto; P2 = lodo UASB; P3 = efluente UASB; P4 = efluente MBBR; P5 = efluente tratado; P6 = lodo condicionado; DP = desvio padrão; F (%) = frequência relativa.

O ponto amostral (P2), referente ao lodo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket* - reator anaeróbio de fluxo ascendente), apresentou cistos de *Giardia* spp. em 100,0% das amostras analisadas em concentrações que variaram de 30.000 (min.) a 160.000 (máx.) e média de 60.833 cisto L⁻¹, oocistos de *Cryptosporidium* spp. também estavam presentes em 50% das amostras em concentrações que variaram de 40.000 (min.) a 80.000 (máx.) e média de 26.667 oocistos L⁻¹ evidenciando o acúmulo dos protozoários nos sistemas de retenção de lodo da estação.

Greinert-Goulart (2013) também detectou cistos de *Giardia* spp. em 100,0% amostras de lodo RAFA (reator anaeróbio de fluxo ascendente) em concentração média de 281.167 cistos L⁻¹. Já os oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram detectados em apenas um mês, em concentração de 80.000 oocistos L⁻¹.

No efluente UASB (P3) foram detectados cistos de *Giardia* spp. em 75% das amostras analisadas em concentrações que variaram de 100 (min.) a 545,45 (máx.) e média de 171,42 cisto L⁻¹, oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram detectados em apenas 8,3% das amostras (1/12) com concentração de 50 oocistos L⁻¹ evidenciando a eficiência de remoção destes protozoários no reator UASB.

Greinert-Goulart (2013) detectou cistos de *Giardia* spp. em 100,0% das amostras de efluente RAFA em concentração média de 193 cistos L⁻¹. Já os oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostras de efluente RAFA foram detectados em apenas um mês, dos 24 meses de análises, em concentração de 100 oocistos L⁻¹.

No efluente MBBR (P4) da ETE Garcia foram detectados cistos de *Giardia* spp. em 58,33% dos pontos analisados, em concentrações que variaram de 10.000 (min.) a 20.000 (máx.) e média de 10.000 cistos L⁻¹, oocistos de *Cryptosporidium* spp., não foram detectados neste ponto demonstrando a eficiência de remoção destes protozoários pelo sistema MBBR.

Greinert-Goulart (2013) detectou cistos de *Giardia* spp. em 100,0% das amostras de lodo do tanque de aeração em concentração média de 123.667 cistos L⁻¹. Oocistos de *Cryptosporidium* spp. não foram detectados neste reator corroborando com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Nos sistemas de tratamento aeróbios, como MBBR e lodos ativados, estudos indicam que pode ocorrer a remoção destes parasitos por predação exercida por componentes da microfauna presente no tanque de aeração (Stott et al., 2001; 2003; Fayer et al., 2000). Na ETE Piçarrão, no município de Campinas, Siqueira-Castro et al. (2016) observaram que os ciliados de vida livre *Euplotes aediculatus* e *Sterkiella cavicola* componentes na microfauna do sistema de lodo ativado demonstraram potencial predatório sobre oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. Estes resultados indicam que a predação por protozoários de vida livre pode ser um importante fator na remoção de cistos e oocistos de efluentes de esgoto doméstico.

No efluente tratado (P5) não foram detectados cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp., demonstrando uma remoção de 99,9% destes protozoários pelo sistema combinado da ETE Garcia.

Resultados semelhantes também foram observados por Cantusio Neto et al. (2006) na ETE Samambaia, Greinert-Goulart (2013) na ETE Piçarrão ambos no município de Campinas e por Cheng et al. (2009) na avaliação de quatro ETE irlandesas que utilizavam sistema de lodos ativados ou biofiltro percolador para o tratamento secundário de efluentes domésticos.

O maior tempo de detenção hidráulica do efluente dentro dos reatores anaeróbios e aeróbios pode contribuir para a maior eficiência na remoção dos cistos e oocistos (Nasser et al., 2012; Nasser 2016). O sistema combinado de tratamento anaeróbio + aeróbio da ETE Garcia foi projetado para tratar 88 L.s⁻¹, porém, no período da pesquisa operou com apenas 30 L.s⁻¹ aumentando deste modo o tempo de detenção hidráulica do efluente dentro dos reatores da ETE Garcia (TDH = 34h), o que pode ter contribuído para as altas taxas de remoção observadas.

Ressalta-se que estes sistemas de tratamento de esgoto doméstico em nível secundário não foram projetados para a total remoção destes protozoários. Para cada sistema é necessário realizar uma avaliação cautelosa da qualidade do efluente final para o conhecimento das taxas de remoção e a necessidade de inclusão de um tratamento terciário adicional para evitar a contaminação ambiental devido a presença de protozoários patogênicos mesmo em efluentes tratados como já demonstrado em diversos estudos (Nasser et al. 2012; Hofstra et al., 2013; Taran-Benshoshan et al., 2015; Nasser, 2016).

Neste estudo o sistema apresentou altas taxas de remoção o que demonstra a evidente contribuição do tratamento de esgoto na redução da exposição das populações humana e animal ao risco de contaminação por patógenos em função do lançamento de esgoto não tratado em mananciais superficiais.

Nas amostras de lodo condicionado (P6) (subproduto final da estação) foram detectados cistos de *Giardia* spp. em todas as amostras analisadas, com concentrações que variaram de 60.000 (min.) a 900.000 (máx.), e média de 329.167 cistos L⁻¹. Oocistos de *Cryptosporidium* spp. também estavam presentes em 41,7% das amostras, com concentrações que variaram de 100.000 (min.) a 300.000 (máx.), e média de 87.500 oocistos L⁻¹.

Em outros estudos que avaliaram lodo condicionado (Bonatti et al., 2007; Cheng et al., 2009; Greinert-Goulart, 2013) foram observadas concentrações menores de cistos e oocistos. Possivelmente, pela constituição física do lodo condicionado da ETE Garcia, o qual é resultado da reunião de vários descartes de lodo recirculado do sistema UASB, de lodo recirculado do sistema MBBR e materiais particulados do decantador secundário, submetidos a processos de centrifugação com adição de polímeros. Este processo pode ter contribuído para o aumento da taxa de sólidos totais e o acúmulo de cistos e oocistos neste sistema de descarte.

De acordo com a Resolução CONAMA N° 375/2006, retificada pela Resolução CONAMA N° 380/2002, o lodo de esgoto corresponde a uma fonte potencial de riscos à saúde pública e ao ambiente, potencializando a proliferação de vetores de moléstias e organismos nocivos, sendo necessária a adoção de medidas para dispor esse material de forma a não causar nenhum dano ao meio ambiente e a sociedade (CONAMA, 2006). Deste modo a NBR 10.004 (ABNT, 2004) alerta para os riscos com a manipulação, transporte e disposição final deste resíduo classificado como classe II – não inertes.

O sistema combinado empregado na ETE Garcia demonstrou altas taxas de remoção de cistos e oocistos a partir do esgoto bruto e o acúmulo destes no lodo condicionado. Estes resultados ressaltam a necessidade de ampliação dos serviços de tratamento de esgoto no município de Blumenau, bem como em todo o país, para redução da contaminação ambiental de mananciais superficiais e, conseqüentemente contribuindo para melhoria na saúde pública reduzindo o risco de infecção da população humana e animal.

3.3. Análise de correlação entre os resultados quantitativos da pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. e as concentrações dos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos

Após realização das análises do coeficiente de correlação de Spearman foi observada correlação negativa significativa entre a concentração de oocistos de *Cryptosporidium* e a concentração de coliformes termotolerantes no efluente bruto ($r = -0,69$; $P = 0,012$; $n = 12$). Outros autores demonstram correlações significativas, porém positivas entre a concentração de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e concentração de coliformes termotolerantes, coliformes totais e turbidez (Xiao et al., 2013). As demais correlações entre a concentração de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e os demais parâmetros avaliados foram consideradas fracas ou nulas.

Observou-se correlação negativa significativa ($r = -0,57$; $P = 0,048$ $n = 12$) entre a concentração de cistos de *Giardia* e a turbidez do efluente bruto, as demais correlações entre a concentração de cistos de *Giardia* spp. e os demais parâmetros avaliados foram consideradas

fracas ou nulas. Correlações negativas entre a densidade de cistos, oocistos e turbidez também foram observadas por Kumar et al. (2016), indicando que a recuperação destes protozoários pode diminuir à medida que a turbidez das amostras aumenta muito, sendo necessário a melhoria das técnicas de detecção para amostras com elevada turbidez.

Porém, no estudo realizado por Greinert-Goulart (2013) foram observadas correlações positivas entre a concentração de protozoários e a turbidez do efluente do UASB. Segundo Cantusio Neto et al. (2010), características da amostra de água, tais como, sílica, presença de ácidos húmicos, bactérias, algas, metais, matéria orgânica em decomposição, bem como variações do pH e da turbidez, são fatores críticos que podem afetar negativamente a sensibilidade das diversas metodologias para detecção de cistos e oocistos.

3.4. Análise de variação sazonal dos resultados quantitativos da pesquisa de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Nas análises de variação sazonal da concentração de cistos de *Giardia* spp. em amostras de efluente bruto não foram encontradas diferenças significativas ($p = 0,13$; $F = 2,46$; $F_{crítico} = 4,06$; $n = 12$), do mesmo modo que não foi observado a variação sazonal na concentração de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostras de efluente bruto ($p = 0,56$; $F = 0,73$; $F_{crítico} = 4,06$; $n = 12$). Em relação ao efluente tratado não foi realizada análises de correlação em razão de não ter sido detectada a presença de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Diversos estudos apresentaram variações na concentração de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostras de efluente bruto e efluente tratado em diversas estações do ano, e afirmam que a distribuição sazonal da concentração de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. no esgoto bruto varia de acordo com taxa de infecção da população humana e com as características climáticas do local de estudo (Castro-Hermida et al., 2008; Cheng et al., 2009; Nasser et al., 2012; Nasser, 2016).

4. CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES

Nesse estudo, demonstrou-se a presença dos protozoários patogênicos *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. no esgoto bruto, durante os processos de tratamento e nos subprodutos finais da ETE Garcia, deste modo qualquer falha operacional na ETE pode ocasionar a contaminação do principal manancial da região (Rio Itajaí-Açu), sendo este destinado ao abastecimento público de vários municípios a jusante da Estação (i.e., Gaspar, Ilhota, Itajaí).

Portanto, faz-se necessário, o monitoramento destes efluentes, a disposição final adequada do lodo biológico e a padronização de técnicas apropriadas para a detecção desses protozoários em amostras ambientais.

Apesar da grande relevância que estes protozoários de veiculação hídrica apresentam à saúde pública, aliada a resistência de suas formas infectantes aos processos físicos, químicos e microbiológicos comumente utilizados pelas estações de tratamento de água e esgoto sanitário, estes não são levados em consideração no monitoramento da qualidade dos efluentes gerados pelas estações de tratamento de esgoto sanitário.

Assim, diversas estações de tratamento de esgoto podem estar contribuindo para a contaminação dos mananciais destinados ao abastecimento público, expondo a população que utiliza os mesmos a riscos de infecção por protozoários patogênicos de veiculação hídrica.

Deste modo, a compreensão da função particular de cada sistema de tratamento de esgoto torna-se necessária, no sentido de identificar que etapas do processo contribuirão para a remoção destes protozoários, e otimização destes processos para a total remoção/inativação das formas infectantes destes protozoários, a fim de minimizar os impactos adversos provenientes do lançamento de efluentes gerados pelas ETE no meio ambiente e na Saúde Pública.

Embora não tenha sido detectada a presença destes protozoários em amostras de efluente tratado, a utilização de ferramentas moleculares como o qPCR, para a identificação das assembleias/espécies de *Giardia* e *Cryptosporidium* e a viabilidade/infectividade de cistos e oocistos presentes no efluente bruto, serão importantes ferramentas a serem utilizadas futuramente para avaliar corretamente os riscos de infecção a população humana.

5. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal em Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) pela concessão da bolsa de mestrado ao primeiro autor. À Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB) por meio do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental pela orientação e uso de laboratórios e equipamentos. À empresa Odebrecht Ambiental LTDA pela autorização e informações pertinentes ao sistema que tratamento de esgoto sanitário do município de Blumenau.

6. REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22nd ed. Washington, DC, 2012.
- ANDRADE, J.; RODE, G.; SILVA FILHO, H. H.; GREINERT-GOULART, J. A. Parasitoses intestinais em um centro de educação infantil público do município de Blumenau (SC), Brasil, com ênfase em *Cryptosporidium* spp. e outros protozoários. **Revista de patologia tropical**, v. 37, n. 4, p. 332-340, 2008. <https://doi.org/10.5216/rpt.v37i4.5665>
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **NBR 10004**: Resíduos sólidos – Classificação. Rio de Janeiro, 2004.
- BALDURSSON, S.; KARANIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks - an update 2004-2010. **Water Research**, v. 45, p. 6603-6614, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.013>
- BLUMENAU. **Blumenau entre as 100 cidades com tratamento de esgoto no país**. Blumenau, 2016. Disponível em: <http://www.blumenau.sc.gov.br/secretarias/samae/samae/blumenau-entre-as-100-cidades-com-tratamento-de-esgoto-no-pais87>. Acesso em: 25 jul. 2016.
- 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 from a sewage treatment plant in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. **Journal of Water and Health**, v. 05, p. 1-7, 2007. <http://dx.doi.org/10.2166/wh.2007.006>
- CANTUSIO NETO, R.; FRANCO, R. M. B. 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. **Higiene Alimentar**, v. 18, n. 118, p. 52-59, 2004.
- CANTUSIO NETO, R.; SANTOS, L. 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, southeast Brazil. **Water Science and Technology**, v. 54, n. 3, p. 89-94, 2006. <http://dx.doi.org/10.2166/wst.2006.453>

- 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 & Technology**, v. 62, n. 1, p. 217-222, 2010. <http://dx.doi.org/10.2166/wst.2010.312>
- CASTRO-HERMIDA, J. A.; GARCÍA-PRESEDO, I.; ALMEIDA, A.; GONZÁLEZ-WARLETA, M.; CORREIA, C. J. M.; 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. 3528-38, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.05.001>
- CHAPPELL, C. L.; OKHUYSEN, P. C.; LANGER-CURRY, R. C.; LUPO, P. J.; WIDMER, G.; TZIPORI, S. *Cryptosporidium muris*: Infectivity and Illness in Healthy Adult Volunteers. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, n. 1, p. 50–55, 2015. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.14-0525>
- CHENG, H. A.; LUCY, F. E.; GRACZYK, T. K.; BROADERS, M. A.; TAMANG, L.; CONNOLLY, M. Fate of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocysts and *Giardia duodenalis* cysts during secondary wastewater treatments. **Parasitology Research**, v. 105, p. 689–696, 2009. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-009-1440-y>
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução 375, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 30 ago. 2006.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, n. 92, 16 maio 2011, p. 89.
- FAYER, R.; TROUT, J. M.; WALSH, E.; COLE, R. Rotifers ingest oocysts of *Cryptosporidium parvum*. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 161–163, 2000. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.2000.tb00026.x>
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites**. Rome, 2014. 324 p. (Microbiological Risk Assessment Series)
- 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 do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, n. 2, p. 109-111, 2001. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652001000200011>
- FREGONESI, B. M.; SAMPAIO, C. F.; RAGAZZI, M. F.; TONANI, K. A. A.; SEGURAMUÑOZ, S. I. *Cryptosporidium* e *Giardia*: desafios em águas de abastecimento público. **O Mundo da Saúde**, v. 36, n. 4, p. 602-609, 2012.
- GREINERT-GOULART, J. A. **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**. 2013. 196f. Tese (Programa de Pós-Graduação Instituto de Biologia) - Universidade Regional de Campinas, Campinas, 2013.

- GROTT, S. C.; HARTMANN, B.; SILVA FILHO, H. H.; FRANCO, R. M. B.; GREINERT-GOULART, J. A. Detecção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. na água bruta das estações de tratamento no município de Blumenau, SC, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, n. 3, 2016. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1853>
- HOFSTRA, N.; BOUWMAN, A. F.; BEUSEN, A. H. W.; MEDEMA, G. J. Exploring global *Cryptosporidium* emissions to surface water. **Science of the Total Environment**, v. 442, p. 10-19, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.10.013>
- KARANIS, P.; KOURENTI, C.; SMITH, H. Waterborne transmission of protozoan parasites: A worldwide review of outbreaks and lessons learnt. **Journal of Water and Health**, v. 5, n. 1, p. 1-38, 2007. <http://dx.doi.org/10.2166/wh.2006.002>
- KUMAR, T.; MAJID, M. A. A.; ONICHANDRAN, S.; JATURAS, N.; ANDIAPPAN, H.; SALIBAY, C. C. et al. Presence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in water samples from Southeast Asia: towards an integrated water detection system. **Infectious Diseases of Poverty**, V. 5, N. 3, 2016. <https://doi.org/10.1186/s40249-016-0095-z>
- 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, p. 477-484, 2012. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05335.x>
- NASSER, A. M. Removal of *Cryptosporidium* by wastewater treatment processes: a review. **Journal of Water and Health**, v. 14, n. 1, p. 1-13, 2016. <http://dx.doi.org/10.2166/wh.2015.131>
- ODEBRECHT AMBIENTAL. **Website**. Disponível em: <http://www.odebrechtambiental.com>. Acesso em: 22 maio 2016.
- PUTIGNANI, L.; MENICHELLA, D. Global distribution, public health and clinical impact of the protozoan pathogen *Cryptosporidium*. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 753, n. 512, 2010. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/753512>
- ROBERTSON, L. J.; PATON, C. A.; CAMPBELL, A. T.; SMITH, P. G.; JACKSON, M. H.; GILMOUR, R. A. et al. *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts at sewage treatment works in Scotland, UK. **Water Research**, v. 34, n. 8, p. 2310-2322, 2000.
- SAVIOLI, L.; SMITH, H.; THOMPSON, A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the “Neglected Diseases Initiative”. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 5, p. 203-208, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2006.02.015>
- SIQUEIRA-CASTRO, I. C. V.; GREINERT-GOULART, J. A.; BONATTI, T. R.; YAMASHIRO, S.; FRANCO, R. M. B. First report of predation of *Giardia* sp. cysts by ciliated protozoa and confirmation of predation of *Cryptosporidium* spp. oocysts by ciliate species. **Environmental Science Pollution Research**, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-6689-y>
- SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO. **Diagnóstico dos serviços de água e esgotos – 2012**. Brasília, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, 2014.
- STOTT, R.; MAY, E.; MATSUSHITA, E.; WARREN, A. Protozoan predation as a mechanism for the removal of *Cryptosporidium* oocysts from wastewaters in constructed wetlands. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 11-12, p. 191-198, 2001.

- STOTT, R.; MAY, E.; RAMIREZ, E.; WARREN, A. Predation of *Cryptosporidium* oocysts by protozoa and rotifers: implications for water quality and public health. **Water Science and Technology**, v. 47, n. 3, p. 77–83, 2003.
- TARAN-BENSHOSHAN, M.; OFER, N.; DALIT, V. O.; AHARONI, A.; REVHUN, M.; NITZAN, Y. et al. *Cryptosporidium* and *Giardia* removal by secondary and tertiary wastewater treatment. **Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering**, v. 50, n. 12, p. 1265-1273, 2015. <http://dx.doi.org/10.1080/10934529.2015.1055152>
- TRATA BRASIL. **Saneamento, nova realidade**: o Brasil está muito longe do ideal. 2013. Disponível em: http://www.tratabrasil.org.br/novo_site/?id=5760. Acesso em: 19 jul. 2016.
- UNITED NATIONS CHILDREN'S FUND - UNICEF, WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Diarrhoea**: why children are still dying and what can be done. New York: Unicef; Geneva: WHO, 2009. 58 p.
- VOLOTÃO, A.; SOUZA JUNIOR, J. C.; GRASSINI, C.; PERALTA, J. M.; FERNANDES, O. Genotyping of *Giardia duodenalis* from Southern brown howler monkeys (*Alouatta clamitans*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 158, p. 133-137, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.07.003>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Guidelines for drinking-water quality**. 4th ed. Geneva, 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Investing in water and sanitation**: increasing access, reducing inequalities. UN-Water Global Analysis and Assessment of Sanitation and Drinking-Water GLAAS 2014 Report. New York, 2014. p. 108.
- XIAO, G.; QIU, Z.; QI, J.; CHEN, J.; LIU, F.; LIU, W. et al. Occurrence and potential health risk of *Cryptosporidium* and *Giardia* in the Three Gorges Reservoir, China. **Water research**, n. 47, p. 2431-2445, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2013.02.019>