



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



Instituto de Biociências de Botucatu.

Marcela Camargo Biondo

VERIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE HELMINTOS NO LODO DE ESGOTO COMPOSTADO

Botucatu/SP

2014

Marcela Camargo Biondo

**VERIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE HELMINTOS NO
LODO DE ESGOTO COMPOSTADO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo José da Silva

Botucatu/SP

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Biondo, Marcela Camargo.

Verificação da presença de helmintos no lodo de esgoto
compostado / Marcela Camargo Biondo. - Botucatu, 2014

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências
Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de
Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu Orientador: Reinaldo José da Silva
Capes: 21302006

1. Lodo de esgoto. 2. Adubos compostos. 3.
Resíduos orgânicos. 4. Compostos orgânicos. 5.
Helminto. 6. Sustentabilidade.

Palavras-chave: Lodo de esgoto; bio sólidos;
compostagem; helmintos; sustentabilidade.

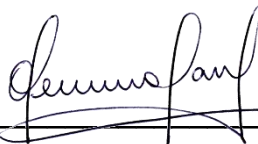
Marcela Camargo Biondo

**VERIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE HELMINTOS NO
LODO DE ESGOTO COMPOSTADO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo José da Silva

Comissão examinadora:



Prof. Dr. Reinaldo José da Silva

Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu.



Dr. Drausio Honório Moraes

Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu.

Botucatu, 12 de Dezembro de 2014.

Dedico especialmente...

À minha família.

Agradecimentos

Quero expressar aqui meus sinceros agradecimentos a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho. A todas essas pessoas fica minha eterna gratidão, em especial:

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) pela bolsa concedida durante a minha iniciação científica.

Ao Prof. Dr. Reinaldo José da Silva, meu orientador, pela amizade e incentivo.

Ao Prof. Dr. Roberto Lyra Villas Boas, devido ao assunto aqui desenvolvido por sua sugestão.

À minha mãe Ana e meu pai Carlos, que merece minha eterna gratidão pelo amor e pela brilhante educação e empenho na minha formação.

As minhas tias Andrea e Eliana, que sempre me apoiam.

A minha vó Neide e meu vô Carlos, pelo amor e carinho, grandes mestres incentivadores.

Ao meu namorado Felipe, pelo companheirismo e incentivo.

A minha segunda família, a república Nutritivas, por anos de amizade, companheirismo e aprendizados. Vocês foram parte desta conquista, Comilda, Materazzi, Melância, Ceni, Tejano, Toda Dada, Pimenta e Serra.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito e conclusão desse nosso estudo.

RESUMO

O projeto visou avaliar a contaminação por ovos e larvas de helmintos em compostos orgânicos utilizando lodo de esgoto doméstico e resíduos orgânicos, como cascas de Eucalipto, gênero *Eucalyptus*. Foram realizadas análises parasitológicas antes e após tratamento térmico em leiras com diferentes concentrações de carbono. De acordo com a metodologia empregada no presente estudo, não foram encontradas formas parasitárias que levem a risco de saúde pública, sugerindo que a compostagem seja um processo que elimine as formas de parasitas humanos existentes no lodo de esgoto. Entretanto, foram encontrados ovos e helmintos de vida livre e ácaros. Em conclusão, o presente estudo demonstrou que, pela metodologia empregada, o material derivado do lodo compostado encontra-se apto para reutilização, de uma forma adequada diminuindo o acúmulo deste resíduo e custo de depositá-lo nos aterros sanitários, sem que possa provocar consequência do ponto de vista da saúde pública e ambiental.

Palavras-chave: Lodo de esgoto, helmintos, compostagem, bio sólidos e sustentabilidade.

ABSTRACT

The main object of this project was to evaluate the contamination by helminth eggs and larvae in organic compounds using sewage sludge and organic waste, such as Eucalyptus bark, genus Eucalyptus. Parasitological analyzes were performed before and after heat treatment in piles with different concentrations of carbon. According to the methodology used in this study, there were no parasitic forms that took the risk to public health, suggesting that composting is a process that eliminates existing forms of human parasites in sewage sludge. Although, eggs, free helminth life and mites were found in the biosolid. In conclusion, the present study demonstrated that the material derived from composted sludge is fit for reuse and can be used as a fertilizer.

Key words: Sewage sludge, helminthes, composting, biossolids and sustainability.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVO	11
3 MATERIAL E MÉTODO	11
4 RESULTADOS	15
5 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	30
6 REFERÊNCIAS	34

INTRODUÇÃO

O ritmo de crescimento da população urbana tem se intensificado nos últimos anos consequentemente há um aumento na produção de resíduos sólidos urbanos. O destino inadequado dos resíduos sólidos consiste em preocupação, podendo gerar problemas no âmbito da saúde pública e degradação ambiental (CARVALHO, 2003). No Brasil, 55,2% da população urbana possui coleta de esgoto, mas apenas 28,5% possui tratamento adequado do esgoto (IBGE, 2008). Do tratamento do esgoto é produzido um resíduo, o lodo de esgoto (U.S.EPA, 1995). À medida que ocorre um aumento na coleta do esgoto, implantação de novas estações de tratamento, assim como a melhoria no processo de tratamento, utilizando-se de técnicas mais sofisticadas, a produção de lodo também aumenta (METCALF e EDDY, 1991). Portanto a gestão correta desse resíduo é de fundamental importância e chega a representar cerca de 40% do custo operacional de uma estação de tratamento de esgoto (E.T.E) (TSUTIYA, 2000).

O lodo de esgoto é um composto orgânico de composição variável, apresentando diferentes características dependendo de sua origem, tipo de tratamento e época do ano. O lodo de esgoto é rico em matéria orgânica, macro e micronutrientes além de conter alguns metais pesados e patógenos, como vírus, protozoários, bactérias, fungos e helmintos (TSUTIYA, 2000). O lodo de esgoto possui vários destinos, entre eles, o aterro sanitário, uso agrícola e florestal, landfarming, reuso industrial, incineração, conversão em óleo combustível, recuperação de solos degradados e de mineração (BETTIOL e CAMARGO, 2000). Dos destinos finais citados, o uso agrícola é o mais adequado do ponto de vista ecológico e econômico (BETTIOL e CAMARGO, 2000). Na maioria das aplicações agrícolas, o lodo contribui com nutrientes suficientes, tendo um papel importante na produção agrícola e na manutenção da fertilidade do solo (METCALF & EDDY, 1991; NOGUEIRA et al., 2008). Porém, deve-se usar o lodo com cautela devido ao fato de poder estar ali concentrados os patógenos que resistiram ao tratamento do esgoto, levando a preocupações com a saúde da população (BETTIOL e CAMARGO, 2000). Entre os patógenos presentes a maior preocupação é com os parasitas intestinais, ovos de helmintos e cistos de protozoários, pela alta frequência

em países subdesenvolvidos, longo tempo de viabilidade no meio externo e baixa dose infectante (um ovo ou cisto é suficiente para infectar o hospedeiro) (PROSAB, 1999). Os ovos de helmintos, dentre eles o de *Ascaris lumbricoides*, tem se mostrado resistentes aos tratamentos empregados. São capazes de sobreviver às condições adversas do ambiente como extremos de temperatura, variação de pH e umidade, sendo assim utilizados como indicadores parasitológicos (AHMAMID et al., 1999; PAULINO et al., 2001).

A eficiência da inativação térmica dos patógenos depende de ambos, temperatura e tempo de exposição (PROSAB, 1999). Por exemplo, para a inativação de ovos de *Ascaris lumbricoides* é necessário uma temperatura de 50 °C por 1 hora ou 55 °C por 7 minutos, após 60 °C a inativação é imediata (PROSAB, 1999). Portanto, é necessário um tratamento posterior para o lodo para destruição completa de ovos de helmintos, para que o subproduto possa ser utilizado na agricultura (PROSAB, 1999).

Dos diferentes tratamentos que o lodo recebe, a compostagem tem se mostrado a forma mais eficaz para a destruição de microrganismos patogênicos (PROSAB, 1999). No processo de compostagem são usados vários parâmetros físico-químicos para obter a desinfecção do lodo, como a temperatura, aeração, pH, estrutura, umidade e relação C:N. A compostagem é uma alternativa natural de tratamento do lodo, que pelo efeito da elevação da temperatura promove a desinfecção do resíduo, tendo como produto final um insumo de alto valor agrônomo (PROSAB, 1999). Através da compostagem do lodo de esgoto é obtido um subproduto, denominado biossólido. O biossólido é um composto devidamente tratado que não apresenta riscos à saúde humana, animal e ao meio ambiente, com potencial uso benéfico (USEPA, 1995). O tipo de biossólido usado hoje no Brasil para aplicação agrícola é o de classe A (CONAMA, 2006). Os ovos de helmintos viáveis no biossólido de classe A é de menos 0,25 ovos por grama de sólidos totais (CONAMA, 2006). Se a operação de compostagem não for conduzida adequadamente há fortes probabilidades de os organismos patogênicos sobreviverem ao processo (PROSAB, 1999).

OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo a realização de pesquisa parasitológica para avaliação da presença de ovos e larvas de helmintos nos sobrenadantes e sedimentos obtidos em amostras de lodo de esgoto, submetidos a diferentes tratamentos com distintas concentrações de carbono. O conhecimento das formas parasitárias presentes nestes materiais é importante para posterior reutilização ou disposição, sem que possam provocar consequência do ponto de vista da saúde pública e ambiental.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostragem foi realizada manualmente por uma pessoa, com auxílio de uma pá de jardim previamente lavada e descontaminada. As amostras de lodo de esgoto foram colhidas na Estação de Tratamento de Esgoto (E.T.E.) no município de Botucatu-SP, localizada na fazenda Experimental Lageado (FCA/ UNESP), entre os meses de maio e junho de 2013.

Foram avaliados seis grupos, sendo um controle, constituído da análise do lodo puro, recém retirado da centrífuga e cinco tratamentos no lodo que foram preparados pela adição de fontes de carbono (*Eucalyptus* sp.). O lodo puro foi disposto em leiras (Figuras 1 e 2). Cada leira (tratamento) apresentava diferentes concentrações de carbono (SILVA et al., 2010). A fonte de carbono vinha de cascas e sobras de Eucalipto, gênero *Eucalyptus*, e o nitrogênio, do próprio lodo. O cálculo da relação C/N dos compostos é feito baseado na densidade dos resíduos. Para a determinação da densidade da casca de Eucalipto, tendo o peso da massa da casca e o seu volume, divide a massa pelo volume e desta maneira obtém-se a densidade. Para a determinação da densidade do lodo de esgoto foi coletado o material, medido o seu volume em uma proveta e posteriormente pesado, a relação entre a massa e o volume é a densidade, que no caso do lodo de esgoto foi de 1. O cálculo foi baseado em (LOBO, 2012).



Figura 1. Leiras com os diferentes tratamentos avaliados no experimento: concentração de C de 10:1, 20:1, 30:1, 40:1 e 50:1, instalado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.



Figura 2. Leira com lodo puro, instalado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

No tratamento 1, a concentração de C foi de 10:1. No tratamento 2, a concentração foi de 20:1, no tratamento 3 de 30:1, no tratamento 4 de 40:1 e no tratamento 5 de 50:1. Cada amostra foi colhida no instante inicial de exposição ao sol e, posteriormente, novas amostras foram analisadas a cada sete dias de intervalo, até completar 30 dias (Figura 1).

Durante a primeira semana não houve revolvimento da leira, devido a alta densidade do lodo. Foi necessário um mês para o acompanhamento completo. O sistema que foi usado é o de leiras revolvidas ou windrow, é o mais simples e as leiras são periodicamente revolvidas. Durante a compostagem, as leiras devem ser revolvidas no mínimo três vezes por semana (Kuter, 1995). As amostras foram colhidas da porção superior, uma da mediana e uma da parte inferior da leira. O objetivo foi obter uma amostra composta.

As amostras colhidas foram armazenadas em frascos plásticos, previamente esterilizados, e foram levadas ao laboratório e guardadas em geladeira para posterior análise.

Cada amostra foi analisada por dois métodos. O método de FAUST (FAUST et al., 1938) e o método de HOFFMAN (HOFFMAN et al., 1934). As técnicas utilizadas para detecção de ovos e larvas de helmintos nas amostras coletadas consistem na concentração das partículas em suspensão através de flutuação (Faust) ou na sedimentação espontânea (Hoffman).

O método de HOFFMAN (HOFFMAN et al., 1934) é um método muito empregado para a demonstração de ovos pesados de helmintos (mais densos que a água), como os ovos de *Schistosoma mansoni* e ovos inférteis de *Ascaris lumbricoides*. Ocasionalmente, cistos de protozoários e mesmo ovos leves e larvas de helmintos também podem ser encontrados. A técnica consiste em colocar aproximadamente 4 gramas de lodo (aproximadamente uma colher de chá) em um frasco de borrel com cerca de 5 ml de água e triturar com bastão de vidro (ou palito descartável). Acrescenta-se 20 ml de água. A seguir, filtra-se a suspensão para um cálice cônico de 200 ml de capacidade, por intermédio de uma gaze cirúrgica dobrada em quatro. Os detritos retidos são lavados com mais de 20 ml de água, agitando-se constantemente com bastão de vidro, devendo o líquido da lavagem ser recolhido no mesmo cálice. Completa-se o volume do cálice com água. Deixa-se em

suspensão em repouso durante 2 a 24h. Terminando este intervalo de tempo, observa-se o aspecto do líquido sobrenadante para tomar uma das duas alternativas: a) se o líquido estiver turvo, descartá-lo cuidadosamente sem levantar ou perder o sedimento, colocar mais água até o volume anterior e deixar em repouso por mais 60 minutos; b) se o líquido estiver límpido, proceder-se-á coleta de uma amostra do sedimento para exame.

Posteriormente, introduz-se uma pipeta obliterada pelo dedo indicador até o fundo do cálice, contendo sedimento e o líquido sobrenadante, retira-se o dedo e deixando subir uma pequena porção do sedimento. Recoloca-se o dedo e retira-se a pipeta. Logo, coloca-se parte do sedimento numa lâmina, cobrindo-a com lamínula e examina-se com as objetivas de 10x e 40x. Serão examinadas, no mínimo, duas lâminas de cada amostra.

O método de FAUST (FAUST et al., 1938) é empregado, principalmente, para a pesquisa de cistos de protozoários e de ovos leves de helmintos. Este método baseia-se em uma diferença de densidade, em que os cistos flutuam quando tratados com uma solução de sulfato de zinco 33% e com densidade de 1,18 g/ml.

A técnica consiste em diluir 10 g de fezes em 200 ml de água filtrada e homogeneizar bem. Filtra-se, através de uma gaze cirúrgica dobrada em quatro, num copo plástico e transfere-se para um tubo de Wasserman. Centrifuga-se por um minuto a 2500 rpm. Despreza-se o líquido sobrenadante e ressuspende-se o sedimento com uma solução de sulfato de zinco a 33%, densidade de 1,18 g/ml. Centrifuga-se novamente por um minuto a 2500 rpm. Posteriormente, os cistos e ovos leves presentes estarão na película superficial. A mesma é recolhida com alça de platina, colocada numa lâmina junto com uma gota de lugol e coberta com lamínula.

A seguir, foi feita a análise de duas lâminas. Os dados de fotomicrografias dos helmintos foram obtidos em sistema computadorizado para análise de imagens QWin Lite 3.1, adaptado em microscópio DMLB (Leica). Todas as análises morfológicas foram realizadas no Laboratório de Parasitologia de Animais Silvestres, do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências, Unesp, campus de Botucatu.

RESULTADOS

No experimento realizado, nenhum ovo ou larva de helminto parasito humano, de importância em saúde pública, foi detectado nas amostras avaliadas. Apenas um ovo, de aspecto similar aos ovos de *Hymenolepis nana* (Figura 3) foi encontrado no lodo puro, na quarta semana.



Figura 3. Ovo de aspecto similar aos ovos de *Hymenolepis nana* encontrado no lodo puro, na quarta semana.

Entretanto, ao longo de todo o experimento, foram encontrados em quantidades variáveis, ácaros (Figura 4), ovos de ácaros (Figura 5), ovos não identificados (Figura 6-8), ovos larvados (Figura 9), larvas (Figura 10) e adultos (Figura 11) de nematoides.

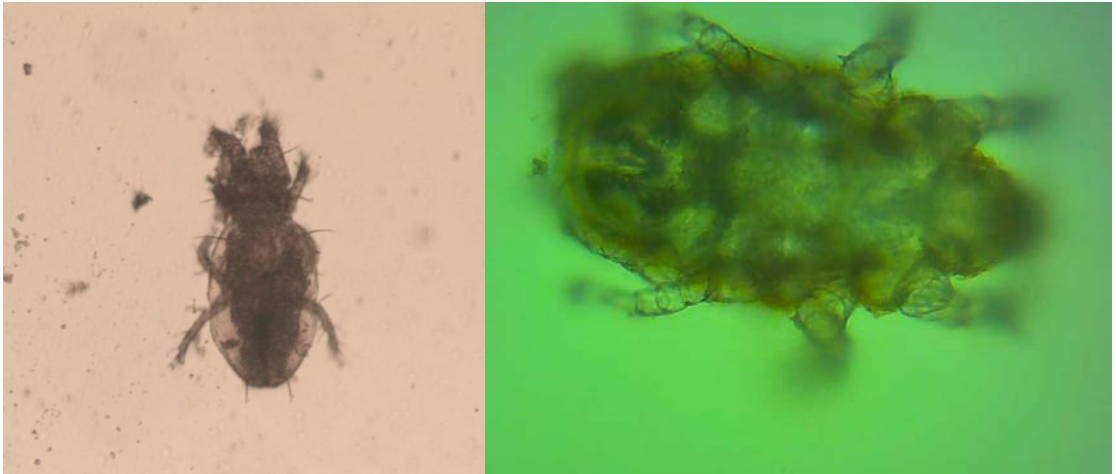


Figura 4. Ácaros encontrados nas leiras ao longo do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

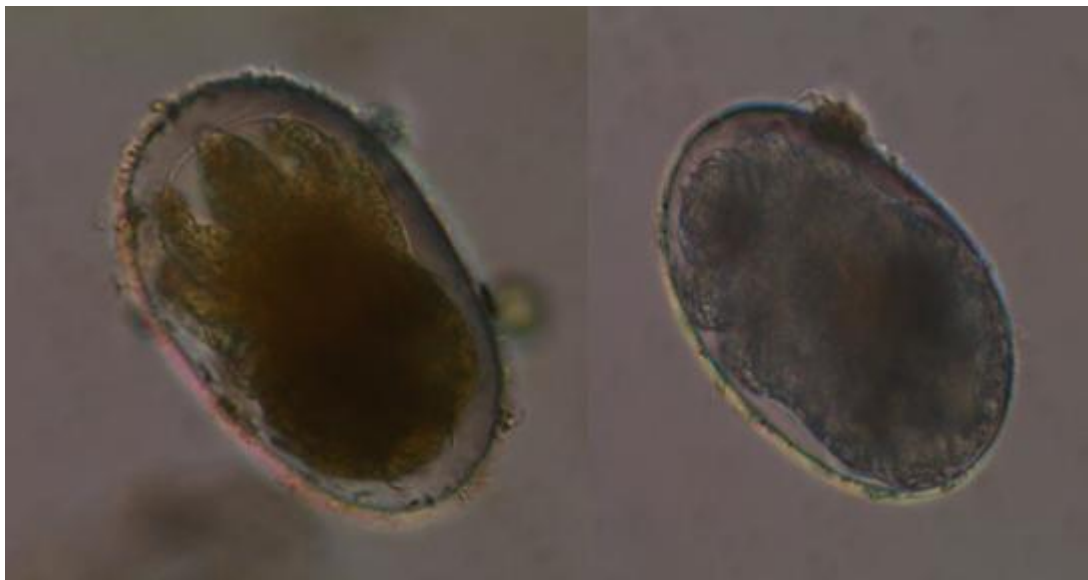


Figura 5. Ovos de ácaros encontrados nas leiras ao longo do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.



Figura 6. Ovo não identificado em leite ao longo do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.



Figura 7. Ovo não identificado em leite ao longo do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

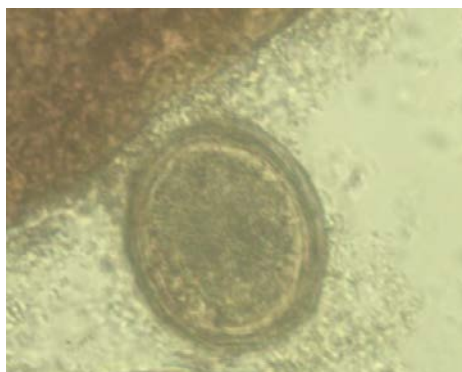


Figura 8. Ovo não identificado em leiras ao longo do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

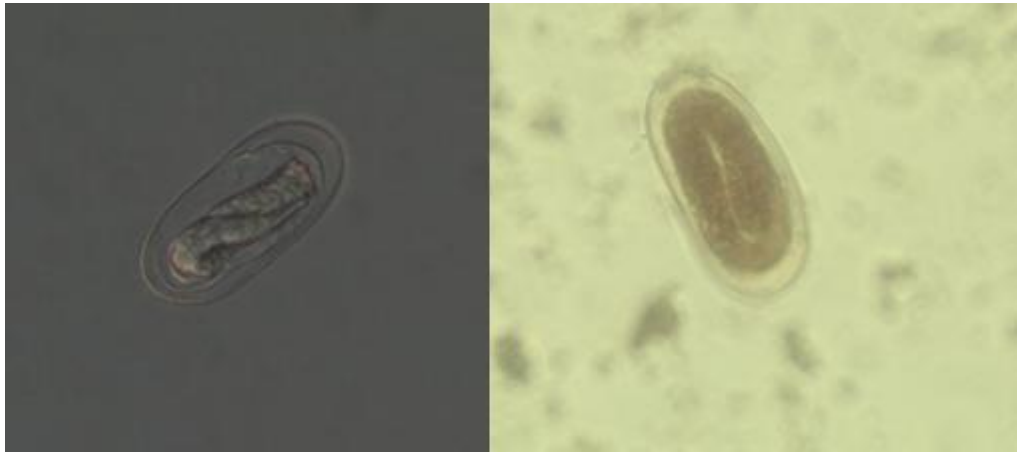


Figura 9. ovos larvados em leiras ao longo do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.



Figura 10. Larvas de nematoide em leiras ao longo do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.



Figura 11. Larvas de nematoides em leiras ao longo do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo

Considerando as semanas do experimento, na pilha testemunha, os ovos de ácaros estiveram presentes em todas as semanas, sendo que na terceira semana essa concentração foi maior que nas outras. Ovos larvados foram identificados em

todas as semanas exceto na segunda semana. Os ovos não identificados foram identificados também em todas as semanas exceto na primeira semana. A maior concentração de larvas foi na última semana e não se mostraram presentes na segunda semana de experimento (Figura 12).

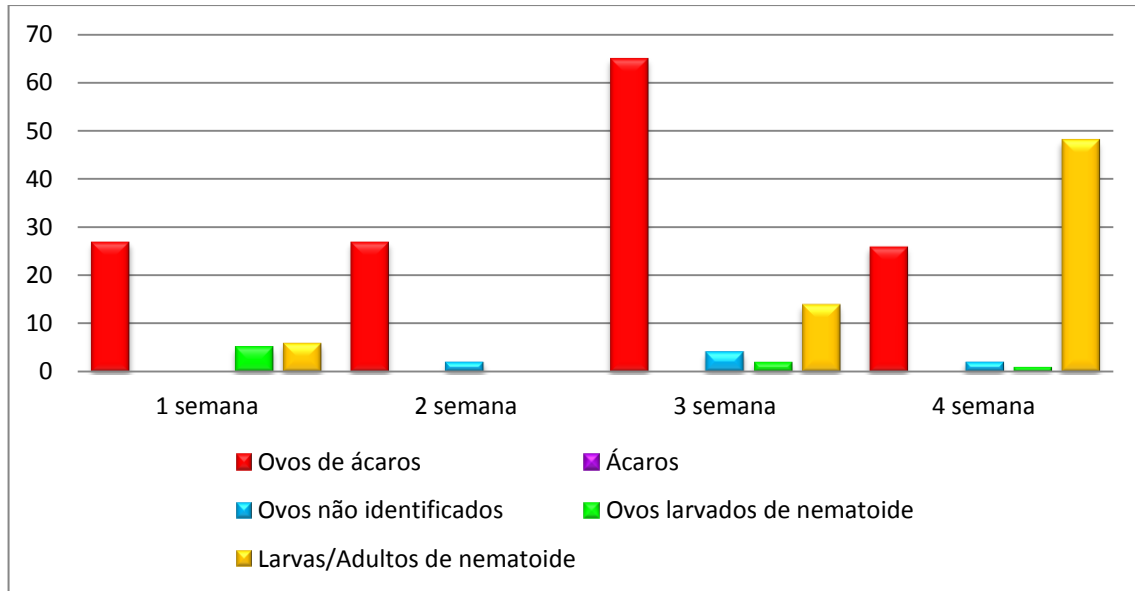


Figura 12. Quantidades de organismos encontrados na leira de lodo puro ao longo das semanas do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

Na pilha de concentração 10:1. As larvas de nematoides estiveram presentes em todas as semanas, sendo que na terceira semana essa concentração foi maior que nas outras. Ovos de ácaros foram identificados em todas as semanas apresentando maior concentração na primeira semana. Ácaros foram encontrados na terceira e quarta semanas. Os ovos não identificados foram identificados apenas na primeira semana. Ovos larvados foram identificados na terceira e quarta semanas e em pequenas quantidades (Figura 2).

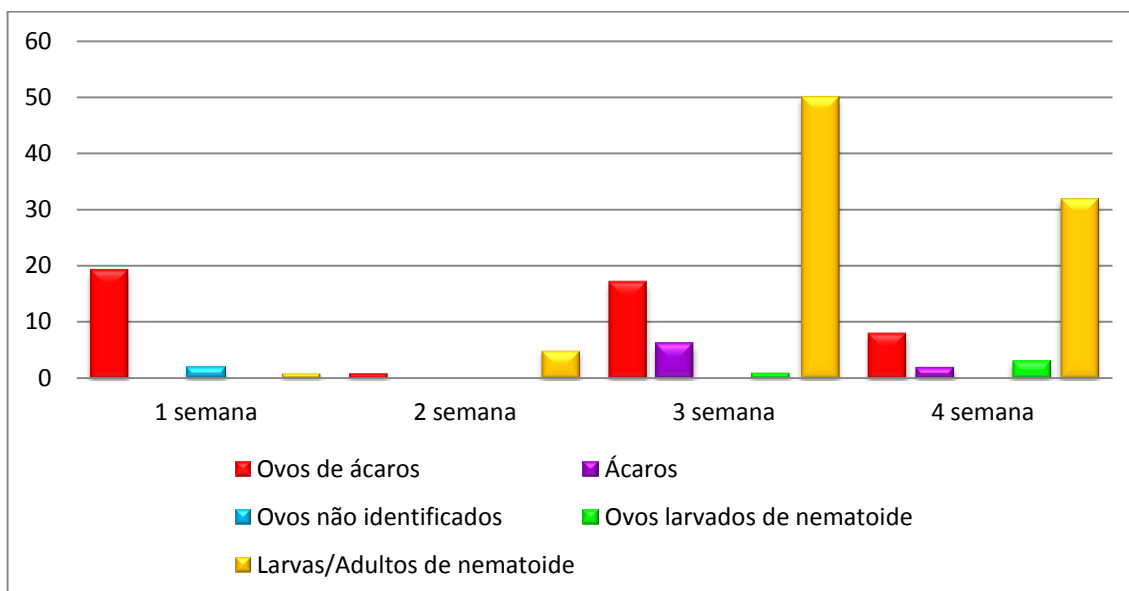


Figura 13. Quantidades de organismos encontrados na leira de concentração de carbono 10:1 ao longo das semanas do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

Na pilha de concentração 20:1, as larvas de nematoides estiveram presentes na segunda, terceira e quarta semanas, sendo que na terceira semana essa concentração foi maior que nas outras. Ovos de ácaros foram identificados em todas as semanas apresentando maior concentração na segunda semana. Ácaros foram encontrados na segunda e quarta semanas. Os ovos não identificados foram identificados na terceira e quarta semanas. Ovos larvados foram identificados apenas na quarta e em pequena quantidade (Figura 3).

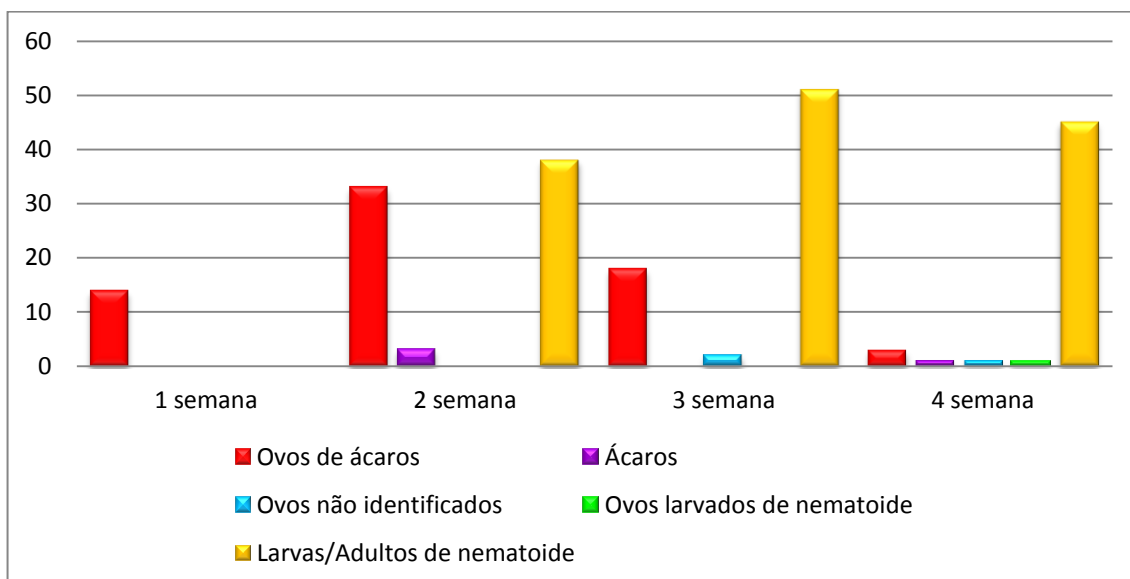


Figura 14. Quantidades de organismos encontrados na leira de concentração de carbono 20:1 ao longo das semanas do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

Na pilha de concentração 30:1, as larvas de nematoides estiveram presentes em todas as semanas, sendo que na terceira semana essa concentração foi maior que nas outras. Ovos de ácaros foram identificados na primeira e terceira semanas apresentando maior concentração na terceira semana. Ácaros foram encontrados apenas na segunda semana. Os ovos não identificados foram identificados apenas na terceira semana. Ovos de larvas foram identificados na primeira e terceira semanas e em pequenas quantidades (Figura 4).

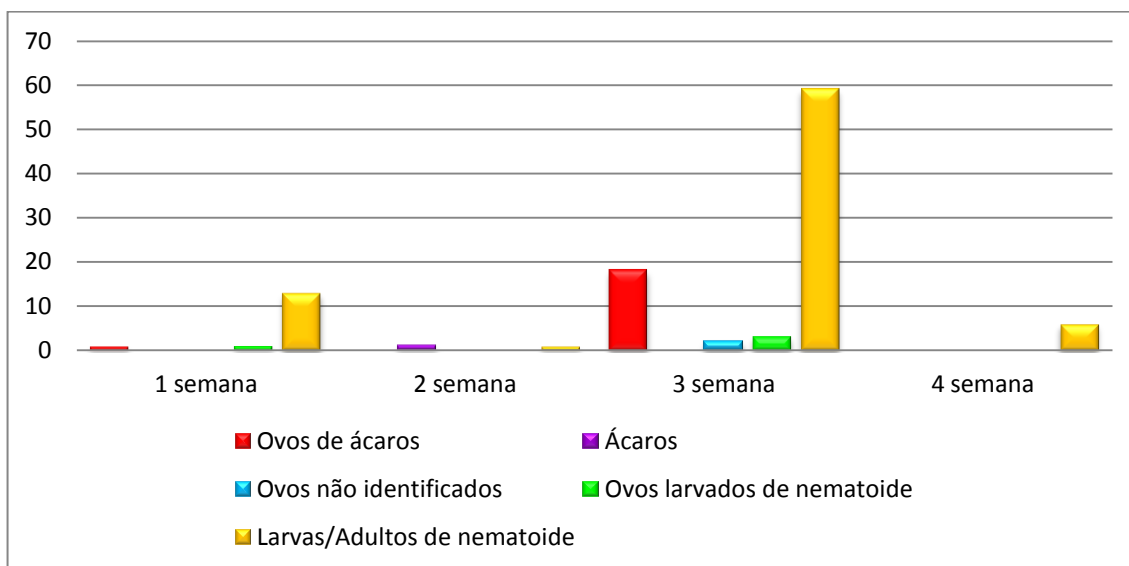


Figura 15. Quantidades de organismos encontrados na leira de concentração de carbono 30:1 ao longo das semanas do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

Na pilha de concentração 40:1, as larvas de nematoides estiveram presentes em todas as semanas, sendo que na terceira semana essa concentração foi maior que nas outras. Ovos de ácaros foram identificados na segunda, terceira e quarta semanas apresentando maior concentração na terceira semana. Ácaros foram encontrados apenas na quarta semana. Os ovos não identificados foram encontrados apenas na terceira semana. Ovos larvados foram identificados na primeira e terceira semanas e em pequenas quantidades (Figura 5).

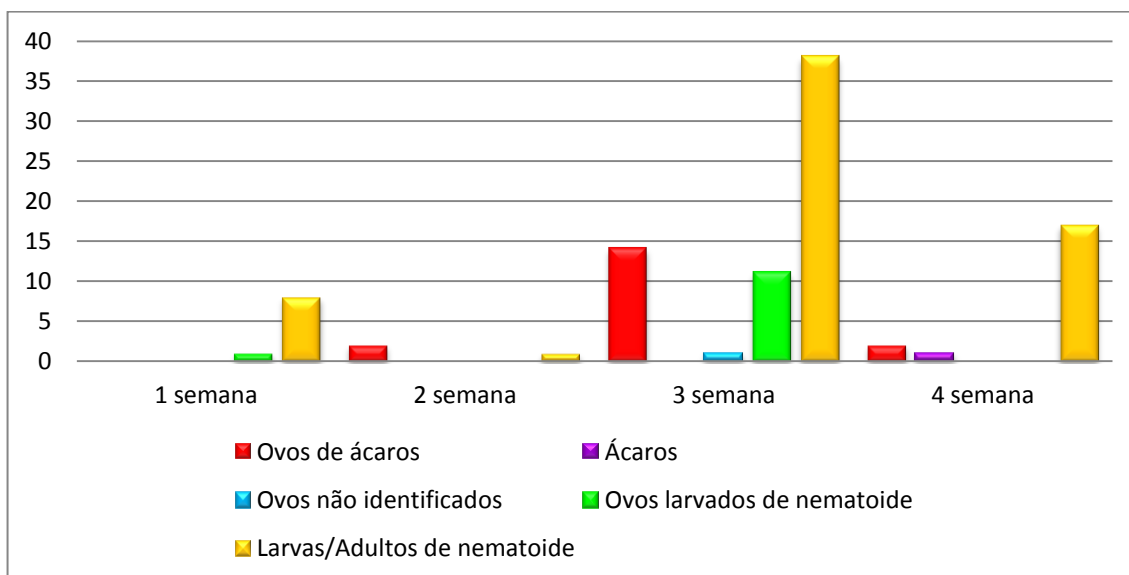


Figura 16. Quantidades de organismos encontrados na leira de concentração de carbono 40:1 ao longo das semanas do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

Na pilha de concentração 50:1, as larvas de nematoides estiveram presentes na segunda, terceira e quarta semanas, sendo que na segunda semana essa concentração foi maior que nas outras. Ovos de ácaros foram identificados em todas as semanas apresentando maior concentração na primeira semana. Ácaros foram encontrados na segunda e terceira semanas. Os ovos não identificados foram encontrados apenas na segunda semana. Ovos de larvas foram identificados na primeira semana e em pequena quantidade (Figura 6).

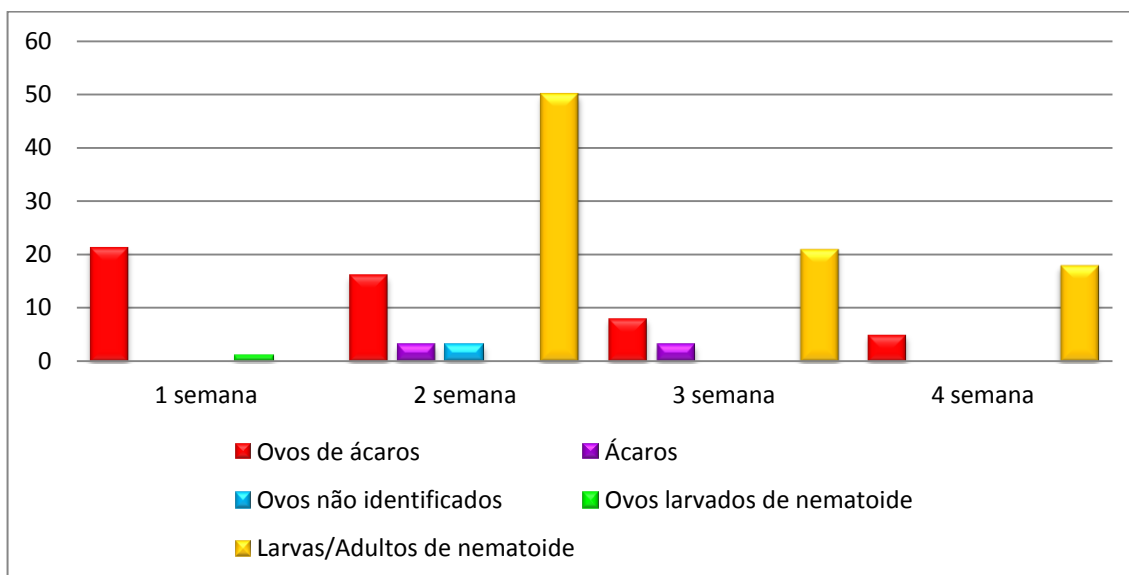


Figura 17. Quantidades de organismos encontrados na leira de concentração de carbono 50:1 ao longo das semanas do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

Considerando as semanas de tratamento, verificamos que: na primeira semana do experimento, observamos uma grande quantidade de ovos de ácaros na pilha testemunha, além de larvas e ovos de nematoide e ainda a presença de ovos não identificados. Larvas de nematoide e ovos de ácaros estiveram presentes todas as concentrações testadas, sendo que nas concentrações intermediárias aquelas em que observamos as maiores contagens dessas formas parasitárias. Ovos larvados e ovos não identificados foram observados também em pequenas quantidades nas diferentes concentrações estudadas (Figura 1).

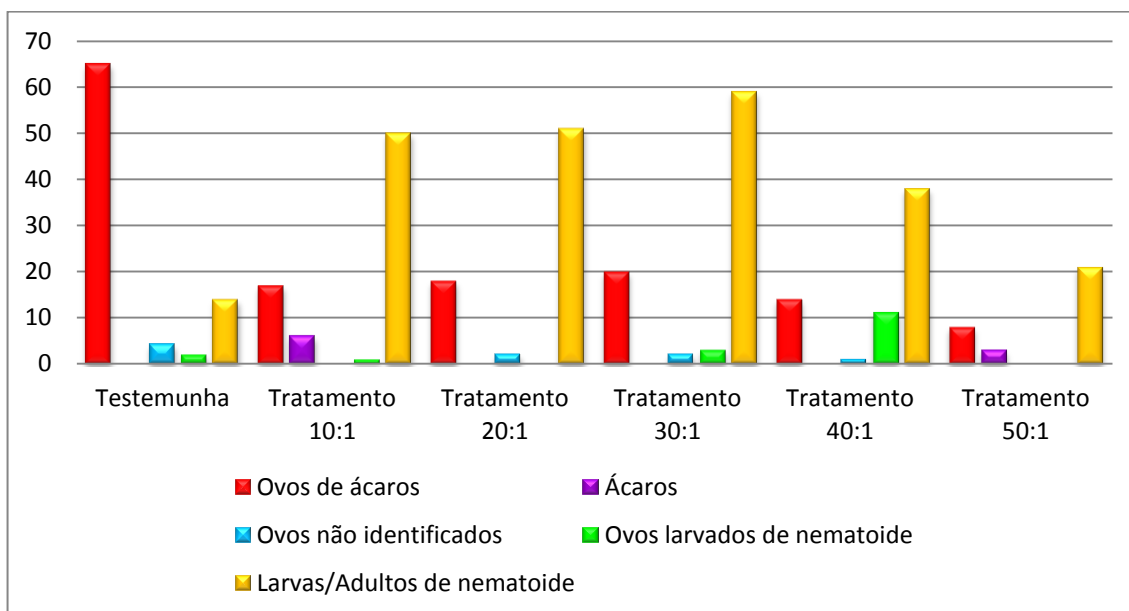


Figura 18. Quantidades de organismos encontrados na leira de concentração de carbono na primeira semana do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

Na segunda semana, observamos uma grande quantidade de ovos de ácaros no tratamento 20:1, seguido da testemunha e tratamento 50:1. As concentrações 10:1 e 40:1 apresentaram uma pequena quantidade de ovos de ácaros. Ácaros foram encontrados nos tratamentos 20:1, 30:1 e 50:1. Ovos não identificados foram encontrados na pilha testemunha e no tratamento 50:1. Não foram encontrados ovos de larvas na pilha testemunha assim como também nos tratamentos. As larvas de nematoides foram encontradas em todos os tratamentos, mas apresentou maior concentração no tratamento 50:1, seguido do tratamento 20:1 e 10:1. Os tratamentos 30:1 e 40:1 apresentou uma concentração bem menor de larvas de nematoides (Figura 2).

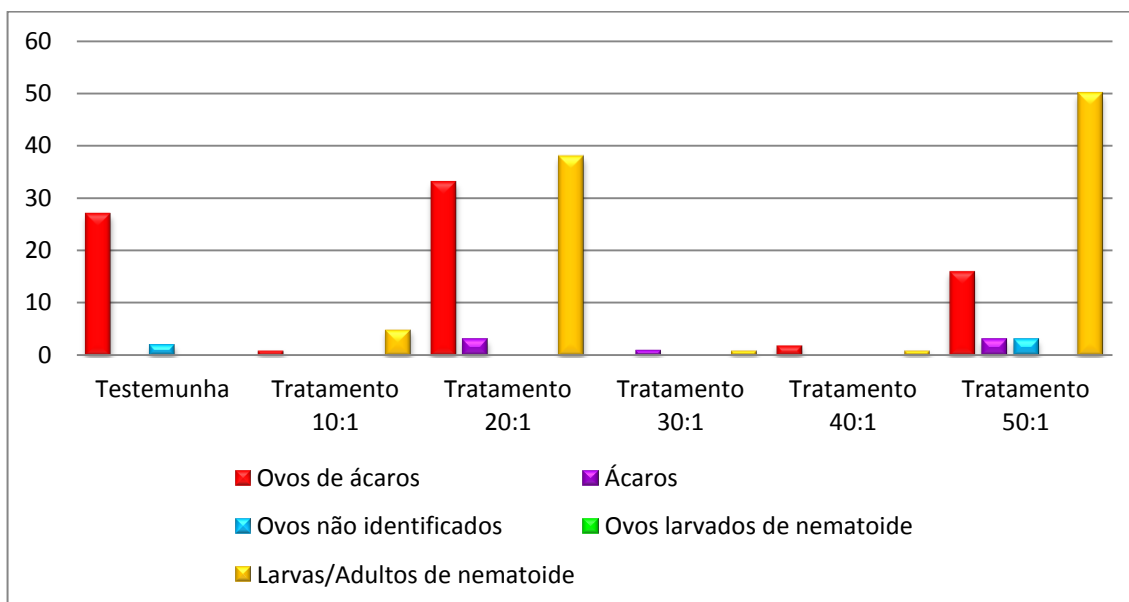


Figura 19. Quantidades de organismos encontrados nas leiras com diferentes concentrações ao longo da segunda semana do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

Na terceira semana, os ovos de ácaros foram encontrados em maior quantidade na pilha testemunha, nos tratamentos as concentrações foram menores e mais homogêneas. Ácaros foram encontrados no tratamento 10:1, 40:1 e 50:1. Os ovos não identificados foram encontrados na pilha testemunha, no tratamento 20:1, 30:1, 40:1. Os ovos larvados foram encontrados em todos os parâmetros exceto no tratamento 50:1. As larvas de nematoides foram encontradas em todos os tratamentos e na pilha testemunha, o tratamento 30:1 foi o que apresentou a maior concentração de larvas de nematoides (Figura 3).

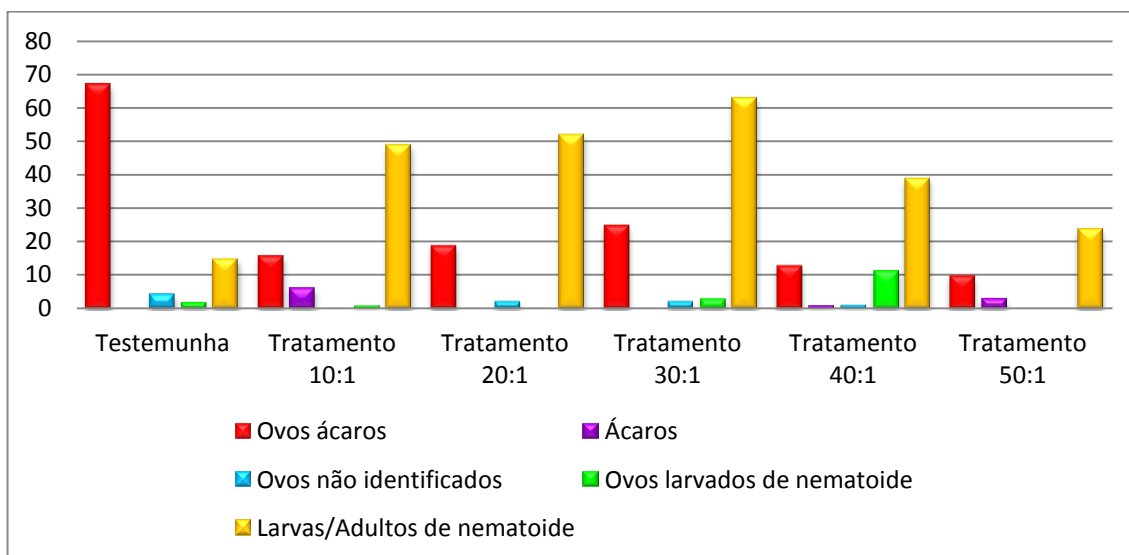


Figura 20. Quantidades de organismos encontrados nas leiras com diferentes concentrações ao longo da terceira semana do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

Na quarta semana, ovos de ácaros foram encontrados em todos os tratamentos. Os ácaros foram encontrados nos tratamentos 10:1, 20:1 e 40:1. Os ovos não identificados foram encontrados em pequenas quantidades nos tratamentos 20:1 e 30:1 e na pilha testemunha. Os ovos larvados de nematoides foram encontrados em pequena quantidade nas diferentes concentrações. As larvas de nematoides foram encontradas em todas as concentrações, a maior quantidade foi encontrada no tratamento 30:1 (Figura 4).

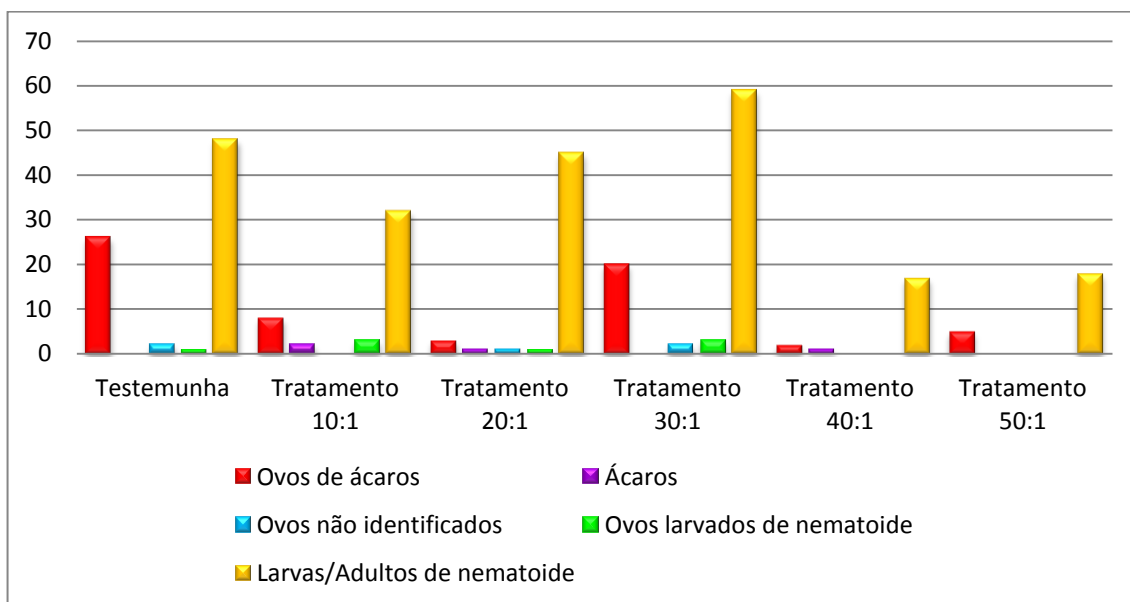


Figura 21. Quantidades de organismos encontrados nas leiras com diferentes concentrações ao longo da quarta semana do experimento realizado na Fazenda Lageado, Unesp, Botucatu, São Paulo.

DISCUSSÃO

De acordo com a metodologia empregada no presente estudo, não foram encontradas formas parasitárias que levem a risco de saúde pública, sugerindo que a compostagem seja um processo que elimine as formas de parasitas humanos existentes no lodo de esgoto.

Acerca da presença de formas infectantes de parasitos humanos no lodo de esgoto ou produto derivado e no solo, a resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), cita que a metodologia para determinação das substâncias orgânicas nestes materiais deverão adotar os métodos U.S.EPA SW-846, última edição ou outros métodos internacionalmente aceitos (CONAMA, 2006).

A técnica utilizada pela U.S. EPA, é baseada na separação dos ovos de helmintos das demais partículas de mesma dimensão e maior peso presentes no esgoto por meio de flotação com solução de sulfato de magnésio de gravidade específica 1,20. Antes da flotação, são realizadas etapas de sedimentação e centrifugação, e após a flotação, passagem através de peneira de malha específica para retenção dos ovos de *Ascaris* sp. e centrifugação.

O procedimento inicia-se com a distribuição de 5 litros da amostra, lodo de esgoto, em 6 frascos de centrífuga de 1 litro, em seguida centrifuga-se a 1000g por 10 minutos. Em seguida, aspira-se à vácuo o sobrenadante bem acima da camada de sólidos. Ressuspende-se o sedimento com o sobrenadante restante que é transferido para um homogeneizador completando o volume para 200-400 ml com água destilada. Logo depois, processar em velocidade baixa durante 1 minuto. Transferir a amostra para um béquer e completar o volume para 900 ml com solução 7X 1%. Deixar a amostra para sedimentar 4 horas ou “overnight” a 4-10°C. Após a sedimentação, aspirar o sobrenadante a vácuo bem acima da camada de sólidos e adicionar 300 ml da solução de 7X 1% e homogeneizar durante 5 minutos com agitador magnético. Umedecer uma peneira (malha 50) com água destilada antes de utilizá-la e então peneirar a amostra homogeneizada para um béquer de forma alta. Lavar a amostra através da peneira com uma pisseta contendo 7X 1%. Adicionar a solução 7X 1% para completar o volume final de 900 ml se necessário, e deixar

sedimentar durante 2 horas ou “overnight a 4-10°C”. Aspirar à vácuo o sobrenadante bem acima da camada de sólidos. Misturar o sedimento e distribuir igualmente em tubos de centrífuga cônicos, graduados com capacidade para 50 ml. Lavar completamente qualquer sedimento do frasco para dentro dos tubos, utilizando uma pisseta com água e centrifugar a 1000g por 10 minutos e desprezar os sobrenadantes. Para a etapa de flotação, adiciona-se 10 a 15 ml de uma solução de MgSO₄ (gravidade específica = 1,20) em cada tubo e homogeneizar 15 a 20 segundos em Vortex. Adicionar mais solução de MgSO₄ (gravidade específica = 1,20) para cada tubo para levar o volume para 40 ml. Centrifugar durante 5 a 10 minutos a 1000g. Não usar freio. Umedecer uma peneira de malha 400 com água destilada e então passar 25 a 35ml do sobrenadante de cada tubo pela peneira colocada sobre um béquer de forma alta. Com uma pisseta contendo água destilada, lavar o excesso de fluído de flotação e as partículas finas através da peneira. Enxaguar o sedimento coletado na peneira para dentro de um tubo cônico de 50ml através do direcionamento do jato de água da pisseta para a parte superior da peneira, lavar também a parte inferior da peneira com o jato de água da pisseta e recolher estas águas de lavagem no tubo. Usualmente de cada béquer se obtém um tubo. Centrifugar os tubos durante 5 minutos a 1000g, e descartar o sobrenadante, se mais de um tubo tiver sido utilizado por amostra, transferir os sedimentos para um único tubo, adicionar água e centrifugar novamente. Aspirar o sobrenadante acima dos sólidos. Ressuspender o sedimento em 4 ml de formalina 0,5% e colocar em frascos de cintilação com capacidade para 25 ml com tampas frouxas. Preparar os controles positivo e negativo. Para o controle positivo, colocar em frasco de cintilação 50 microlitros de ovos viáveis de *Ascaris* em 4 ml 0,1 N H₂SO₄. Para o controle negativo, aquecer os ovos viáveis de *Ascaris* a 60°C durante 15 minutos e colocar 50 microlitros em um frasco de cintilação juntamente com 4 ml 0,1 N H₂SO₄. Incubar os frascos das amostras e dos controles durante 3 a 4 semanas a 26°C. Verificar diariamente o nível de líquido de cada frasco e quando necessário adicionar água destilada para compensar a evaporação. A partir da 3ª semana, suspender o sedimento do frasco e retirar uma pequena quantidade de líquido do frasco controle para exame em microscópio. Repetir esse procedimento a cada 2 – 3 dias. Quando a maior parte dos ovos de *Ascaris* do frasco controle positivo estiverem completamente embrionados, as amostras estarão prontas para leitura. Examinar os concentrados no microscópio, utilizando uma câmara de “Sedgwick-Rafter” para

contar os ovos detectados. Classificar os ovos em embrionados ou não. Em alguns ovos de *Ascaris* embrionados pode-se observar os movimentos da larva. O cálculo dos resultados é feito a partir da divisão dos números de ovos viáveis dividido por volume da amostra (L), obtendo os ovos viáveis de *Ascaris*/L (U.S. EPA).

O método de FAUST (FAUST *et al.*, 1938) é um exame parasitológico de fezes utilizado, principalmente, para a pesquisa de cistos de protozoários e de ovos leves de helmintos. Este método baseia-se em uma diferença de densidade, em que os cistos flutuam quando tratados com uma solução de sulfato de zinco 33% e com densidade de 1,18 g/ml (NEVES, 2005). Pelo método de Faust não foram encontrados ovos viáveis de helmintos, mas na metodologia utilizada pela U.S. EPA estas formas parasitárias foram encontradas. Talvez os resultados obtidos neste estudo tenham sido negativos em razão da metodologia empregada.

Dentre todos as formas evolutivas de parasitos encontradas, apenas um ovo merece destaque, por ser muito parecido com um ovo de *Hymenolepis nana*. A infecção por *Hymenolepis nana* é geralmente assintomática. Infestações graves por *H. nana* pode causar fraqueza, anorexia, dores abdominais, dores de cabeça, irritabilidade e diarreia. A doença é comumente assintomática em adultos. Mas prolongadas infecções por múltiplos vermes, especialmente em crianças, pode causar sintomas mais severos (NEVES, 2005). No caso do presente estudo, apenas um ovo foi encontrado em todas as etapas do estudo. Novas investigações seriam importantes para confirmar esse achado, uma vez que predominantemente, ovos de parasitos humanos não foram encontrados no estudo.

Os outros resultados obtidos foram sugestivos de que sejam helmintos de vida livre e ácaros. Os nematoides de vida livre geralmente estão relacionados com a decomposição de matéria orgânica do solo e ocupam nichos alimentares baseados em uma série de recursos alimentares, sendo muito afetados por fatores físicos, como tamanho de poros, umidade e temperatura (AVERY; THOMAS, 1997). A nematofauna em agroecossistemas compreende as espécies nativas que sobreviveram ao manejo agrícola, espécies que podem ter sido introduzidas pela atividade humana e as espécies que chegaram através da dispersão natural (YEATES; BONGERS, 1999).

Nas espécies de vida livre e nos parasitos cujas larvas nascem no meio exterior, a eclosão é regulada, de um lado, pelo desenvolvimento larvário, e de outro, pelas condições ambientais, especialmente, pela temperatura e pela umidade. O processo de eclosão ocorre apenas quando a temperatura e a quantidade de umidade do meio forem adequadas, assegurando, dessa maneira, certa proteção às formas juvenis e maior probabilidade de sobrevivência dos helmintos.

Existem trabalhos realizados nos Estados Unidos, em que foi possível concluir que nematoides de vida livre aparentemente regulam as taxas de decomposição da matéria orgânica, afetando o processo de ciclagem dos nutrientes. Bactérias e fungos utilizam-se de matéria orgânica, degradando-a, enquanto ocorrem também nematoides bacteriófagos e micófagos. Estes são predados por outros organismos, como ácaros ou mesmo outros nematoides (WHITFORD et al., 1982). Estes dados corroboram com nossos achados de muitos nematoides e ácaros, sem importância em parasitologia humana, nas leiras estudadas.

O lodo de esgoto compostado é um atrativo para insetos e diversos animais, podendo assim levar aos resultados que são apresentados. Um estudo realizado no jardim zoológico do Rio de Janeiro analisou dípteros como importantes dispersores de inúmeros patógenos. Entre esses dípteros, a *Chrysomya megacephala*, uma espécie de mosca, foi a espécie que mais apresentou ovos de helmintos aderidos à sua superfície e ao seu conteúdo intestinal seguida da *Musca domestica*. Isso demonstra a atração dessas espécies por fezes que são fonte de alimento e substrato de criação. O lodo compostado estudado se encontrava numa área ao ar livre e poderia ter se tornado um ambiente propício para atração de dípteros e outros animais. É possível que o ovo similar a *H. nana* encontrado, possa ter sido veiculado por dípteros atraídos pelas leiras de compostagem.

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que, pela metodologia empregada, o material derivado do lodo compostado encontra-se apto para utilização como adubo.

REFERÊNCIAS

AHMAMID, O.; ASMANA, S.; BOUHOUM, K. The effect of waste water reuse in irrigation on the contamination of food crops by Giardia cysts and Ascaris eggs. **Int. J. Food Microbiol**; v.49, p.19-26, 1999.

AVERY, L.; THOMAS, J.H. Feeding and defecation. In: RIDDLE, D. L. et al. *Elegans* II. Cold Spring Harbor: Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1997, p.679-716

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 312p.

CARVALHO, S. M. L. Gerenciamento de resíduos hospitalares e avaliação da secagem como método de redução de volume e grau de periculosidade. 2003. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 375/2006, de 29 de agosto de 2006**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf>>. Acesso em: 18 jul. 2012.

FAUST, E. C. et al. Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. *J. Parasitol.*, v. 25, p.241-262, 1938.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation- concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. Puerto Rico. *J. Public Health*, v.9, p.281-298, 1934.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa nacional de saneamento básico. Rio de Janeiro: IBGE, 2008. Disponível em:<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pnsb2008/PNSB_2008.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2012.

KUTER, G. A. **Biosolids composting. Alexandria (USA)**: Water Environmental Federation, 1995. (Special Publication)

LOBO, T. F. **Aproveitamento da água residuária e do lodo de esgoto compostado na fertilização de gramados, arbustos e árvores na região urbana de Botucatu-SP**. Relatório (Pós Doutorado). Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

METCALF; EDDY. **Wastewater engineering treatment, disposal and reuse**. 3 ed. New York: McGraw-Hill, 1991. 1334 p. Chapter 12, p.765-783, 903-926.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 125, 249.

NOGUEIRA, T. A. R. et al. Cádmio, cromo, chumbo e zinco em plantas de milho em latossolo após nove aplicações anuais de lodo de esgoto. **Rev. Bras. Ciên. Solo**, v. 32, n. 5, p. 2195-2207, 2008.

OLIVEIRA, V. C.; MELLO, R. P.; D'ALMEIDA, J. M.; **Dípteros muscoides como vetores mecânicos de ovos de helmintos em jardim zoológico, Brasil**. *Rev. Saúde Pública* 36. p. 614-620, 2002.

PAULINO, R. C. et al. Tratamento anaeróbio de esgoto e sua eficiência na redução da viabilidade de ovos de helmintos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 34, p. 421-428, 2001.

PROGRAMA EM SANEAMENTO BÁSICO. **Manual prático para compostagem de biossólidos**. Curitiba: Prosab, 1999. 91p.

SILVA, L. F. M.; COSCIONE, A. R.; ANDRADE, C. A. Degradação do carbono e mineralização do nitrogênio em solo com diferentes históricos de uso agrícola de lodo de esgoto. In: SIMPÓSIO INTERAMERICANO DE BIOSSÓLIDO, 7., 2010, Campinas, 2010.

TSUTIYA, M. T. Alternativas de disposição final de bio sólidos gerados em estações de tratamento de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. (Ed.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 69-105.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **A guide to the biosolids risk assessments for the EPA Part 503 rule, 1995**. Washington: Office of Wastewater Management, 1995. 195p. Disponível em: <<http://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi?Dockkey=200046QX.PDF>>. Acesso em: 17 jul. 2012.

WHITFORD, W. G. et al. The role of nematodes in decomposition in desert ecosystems. In: NEMATODES IN ECOSYSTEMS. Austin: University of Texas Press, 1982. p. 98-117, Freckman, D.W. (Ed).