

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

JOHNATAS HÉBER DA SILVA MELO

**AVALIAÇÃO DE RISCOS DE INFECÇÃO ASSOCIADOS A HELMINTOS EM
FUNÇÃO DO CONSUMO DE HORTALIÇAS CULTIVADAS EM SOLO COM
APLICAÇÃO DE BIOSSÓLIDOS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ivete Vasconcelos Lopes Ferreira
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daniele Vital Vich

MACEIÓ
2021

JOHNATAS HÉBER DA SILVA MELO

**AVALIAÇÃO DE RISCOS DE INFECÇÃO ASSOCIADOS A HELMINTOS EM
FUNÇÃO DO CONSUMO DE HORTALIÇAS CULTIVADAS EM SOLO COM
APLICAÇÃO DE BIOSSÓLIDOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Ambiental e Sanitarista.

MACEIÓ

2021

FOLHA DE APROVAÇÃO

AUTOR: JOHNATAS HÉBER DA SILVA MELO

AVALIAÇÃO DE RISCOS DE INFECÇÃO ASSOCIADOS A HELMINTOS EM FUNÇÃO DO CONSUMO DE HORTALIÇAS CULTIVADAS EM SOLO COM APLICAÇÃO DE BIOSSÓLIDOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Ambiental e Sanitarista.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ivete Vasconcelos Lopes Ferreira – UFAL

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daniele Vital Vich – UFAL

Banca Examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Karina Ribeiro Salomon – UFAL

Prof. Dr. Marcio Gomes Barboza – UFAL

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me concedido a incrível oportunidade de ter cursado essa graduação e por estar comigo em cada momento, me dando forças para superar as dificuldades e me ajudando a vencer mais um ciclo em minha vida.

Aos meus pais, Donizete Inácio e Sulamita Helena, por me ensinarem os valores da educação e por todo o esforço que fizeram para me proporcionar sempre o melhor. Só tenho a agradecer por tanto amor e incentivo, por sempre acreditarem em mim e apoiarem as minhas escolhas. Sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus irmãos, David Kenneth e Débora Suellen, por todo apoio e companheirismo nos momentos em que estivemos morando juntos ao longo desses últimos anos. Pela compreensão e paciência em cada momento de nossa convivência.

A Thayná Alcântara, minha namorada, pelo apoio ao longo desses anos e por ser uma companheira incrível. Por todos os momentos especiais e por cada gesto de incentivo, me dando força e estando comigo nos momentos mais difíceis.

A minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Ivete Lopes, por cada palavra, cada orientação, cada preocupação e dedicação desde o início deste trabalho, e a minha coorientadora, Prof^ª. Dr^ª. Daniele Vich, por aceitar a coorientação e pela ajuda para que pudéssemos desenvolver os estudos.

À banca examinadora, Prof^ª. Dr^ª. Karina Salomon e Prof. Dr. Marcio Barboza, por aceitarem avaliar o meu trabalho e colaborarem para o seu enriquecimento.

Aos amigos que estiveram comigo durante essa jornada: Ana Lua, Letícia Marinho, Mariana Dlumou, Caio Ximenes, Leandro Monteiro, José Vitor, Heverton Henrique, Marcus Yuri, Adelson Santos, Ingrid Jesus, Nicolli Albuquerque, e em especial, Flávia Fernanda e Mariana Barbosa, por cada momento de amizade e ajuda, seja com os trabalhos ou com boas conversas e risadas. Vocês tornaram essa caminhada mais prazerosa e me ajudaram a persistir até o fim.

Aos amigos de caminhada cristã, que se tornaram irmãos e estão sempre por perto. Especialmente a Rosivaldo Junior e Raniel Albuquerque.

Aos tutores que me acompanharam em diferentes momentos da graduação: Prof^ª. Selêde Nóbrega, Prof. Marllus Neves, Prof^ª. Dayana Gusmão e Engenheiro Wanderson Silva. Obrigado pelas oportunidades de monitoria, iniciação científica, grupo de pesquisa e estágio, por toda paciência, disponibilidade e ensinamentos transmitidos.

Ao Programa Especial de Capacitação Discente (PEC CTEC), por toda experiência que contribuiu para o meu desenvolvimento. A cada membro com quem convivi e que eventualmente se tornaram grandes amigos.

Um agradecimento especial aos professores Christiano Cantarelli, Cleuda Freire, Eduardo Lucena, José Carlos, Rochana Campos e William Wagner. Todos vocês, além de ótimos profissionais, são pessoas admiráveis. Obrigado por tudo. Agradeço aos demais professores por todo o conhecimento passado e dúvidas esclarecidas.

A todos que de alguma forma contribuíram de forma positiva para a realização de mais essa etapa em minha vida. Muito obrigado!

RESUMO

MELO, Johnatas Héber da Silva. **Avaliação de riscos de infecção associados a helmintos em função do consumo de hortaliças cultivadas em solo com aplicação de biossólidos**. Trabalho Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária) – Universidade Federal de Alagoas. Maceió, AL, 2021.

Com o aumento da população e do uso da água nas atividades domésticas e industriais, é notável o crescimento da geração de efluentes em todo o mundo. Devido às exigências cada vez mais restritivas de tratamento desses efluentes, eleva-se também a geração de lodo de esgoto, o qual, após o devido tratamento (desidratação, estabilização e higienização), transforma-se em um novo tipo de material, os biossólidos. Esses condicionantes do solo têm se tornado alvo de grande interesse, pois oferecem uma alternativa viável e sustentável à disposição final dos resíduos gerados em estações de tratamento de efluentes. Porém, do mesmo modo que oferecem diversos benefícios devido à sua aplicação em solos agrícolas, melhorando a capacidade do solo em reter umidade e suprimindo as necessidades nutricionais das plantas, os biossólidos também são motivos de preocupações, pois oferecem potenciais riscos à saúde humana, podendo eventualmente ocasionar contaminações e infecções por agentes patogênicos. As legislações que regulamentam as aplicações e restrições do uso desses materiais, tanto nacional quanto internacionalmente, apresentam, em diversas ocasiões, padrões de qualidade inacessíveis, mensurados apenas por estudos epidemiológicos, sem levar em consideração uma abordagem de avaliação do risco. Com isso, através de uma análise bibliométrica, feita para verificar a evolução das pesquisas sobre os temas abordados neste trabalho, observa-se a relevância e a tendência de aumento dos estudos sobre tais assuntos. Diante desse contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar a aplicação da ferramenta de Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico (AQRM) associada a ovos de helmintos (*Ascaris lumbricoides*), quando da aplicação de biossólidos no solo para o cultivo de culturas ingeridas cruas (alface e cenoura), a partir de dados secundários do lodo de esgoto caracterizado por Santos et al. (2017). O uso da AQRM forneceu estimativa do risco de infecção por *Ascaris lumbricoides* para a população da faixa etária até 15 anos, pelo consumo de alface e cenoura, a partir de modelos probabilísticos de dose-resposta para esses microrganismos, aplicados a diferentes cenários. Os resultados indicaram que o risco anual de infecção para o grupo populacional avaliado variou de $2,99 \times 10^{-2}$ a $9,48 \times 10^{-7}$ pppa (por pessoa por ano) para o consumo de alface e de $1,24 \times 10^{-1}$ a $4,19 \times 10^{-6}$ pppa para o consumo de cenoura. As variações nos riscos calculados foram atribuídas às diferentes barreiras sanitárias, como o uso de lodo *in natura* ou após secagem por 90 dias, além de diferentes níveis de higienização dos alimentos antes do consumo.

Palavras-chave: Riscos de infecção. Biossólidos. Ovos de helmintos. Ferramenta de Análise Quantitativa de Risco Microbiológico.

ABSTRACT

MELO, Johnatas Héber da Silva. **Assessment of infection risks associated with helminths as a function of the consumption of vegetables grown in soil with biosolids application.** Course Completion Work (Graduation in Environmental and Sanitary Engineering) – Federal University of Alagoas. Maceió, AL, 2021.

With the increase in population and in the use of water in domestic and industrial activities, it's remarkable the growth in the generation of effluents throughout the world. Due to the increasingly restrictive requirements for the treatment of these effluents, the generation of sewage sludge also increases, which, after the proper treatment (dehydration, stabilization and hygienization), is transformed into a new type of material, biosolids. These soil determinants have become the target of great interest, as they offer a viable and sustainable alternative for the final disposal of waste generated in effluent treatment plants. However, just as they offer several benefits due to their application in agricultural soils, improving the soil's ability to retain moisture and supplying the nutritional needs of plants, biosolids are also a matter of concern, as they pose potential risks to human health and can eventually cause contamination and infections by pathogenic agents. The laws that regulate the applications and restrictions on the use of these materials, both nationally and internationally, present, on several occasions, inaccessible quality standards, measured only by epidemiological studies, without taking into account a risk assessment approach. Thus, through a bibliometric analysis, carried out to verify the evolution of research on the topics covered in this work, the relevance and trend in the increase of studies on such subjects can be observed. Given this context, the objective of this work was to carry out the application of the Quantitative Microbiological Risk Assessment tool (QMRA) associated with helminth eggs (*Ascaris lumbricoides*), as a function of the application of biosolids in the soil, to ingested raw crops (lettuce and carrots), based on secondary data from sewage sludge characterized by Santos *et al.* (2017). The use of the QMRA provided an estimate of the risk of infection by *Ascaris lumbricoides* for the population aged up to 15 years, due to the consumption of lettuce and carrots, based on probabilistic dose-response models for these microorganisms, applied to different scenarios. The results indicated that the annual risk of infection for the population group evaluated ranged from $2,99 \times 10^{-2}$ to $9,48 \times 10^{-7}$ pppy (per person per year) for lettuce consumption and from $1,24 \times 10^{-1}$ to $4,19 \times 10^{-6}$ pppy for carrot consumption. The variations in calculated risks were attributed to different sanitary barriers, such as the use of sludge *in natura* or after drying for 90 days, in addition to different levels of food hygienization before consumption.

Keywords: Risk of infection. Biosolids. Helminth eggs. Quantitative Microbiological Risk Analysis tool.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 3.1 – Ovo, ou óvulo, de <i>Ascaris lumbricoides</i> | 24 |
| Figura 4.1 - Disposição das descargas e dos leitos de secagem no sistema experimental. | 36 |
| Figura 4.2 – Etapas utilizadas na avaliação de risco proposta pelo NRC. | 38 |
| Figura 5.1 – Principais países com mais publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus..... | 49 |
| Figura 5.2 – Evolução temporal das publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus. | 50 |
| Figura 5.3 – Principais autores com mais publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus..... | 50 |
| Figura 5.4 - Principais instituições com mais publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus..... | 51 |
| Figura 5.5 - Principais instituições brasileiras com mais associações a publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus. | 52 |
| Figura 5.6 - Principais áreas relacionadas as publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus..... | 52 |
| Figura 5.7 - Principais áreas relacionadas as publicações brasileiras sobre os temas em estudo na base da Scopus. | 53 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|--|----|
| Quadro 3.1 - Métodos para tratamento do lodo e, conseqüentemente, geração de biossólidos. | 19 |
| Quadro 3.2- Os principais helmintos encontrados em águas residuais e as doenças relacionadas. | 23 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 3.1 - Níveis de atendimento com água e esgotos dos municípios com prestadores de serviços participantes do SNIS em 2019, segundo regiões geográficas e Brasil. | 18 |
| Tabela 3.2 - Análise química do bio sólido (amostra base seca) em %, utilizado na composição de substratos para produção de mudas de três espécies usadas na arborização urbana..... | 20 |
| Tabela 3.3 - Organismos identificados em bio sólidos e lodos de esgotos sanitários. | 22 |
| Tabela 3.4 - Limites de concentrações de ovos de helmintos para utilização de bio sólidos, conforme a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, a Organização Mundial da Saúde e o Conselho Nacional de Meio Ambiente do Brasil..... | 32 |
| Tabela 4.1 - Remoção de organismos patogênicos alcançada por medidas de preparação de alimentos..... | 41 |
| Tabela 5.1 - Tipos de documentos obtidos nos resultados da pesquisa bibliométrica..... | 48 |
| Tabela 5.2 - Médias e desvios padrões da concentração de ovos viáveis de helmintos por grama de sólidos totais. | 53 |
| Tabela 5.3 - Concentrações de ovos viáveis de <i>Ascaris</i> por grama de sólidos totais utilizadas na aplicação da AQRM..... | 54 |
| Tabela 5.4 – Dose ingerida com o consumo de alface para os cenários 1, 2 e 3. | 56 |
| Tabela 5.5 – Dose ingerida com o consumo de cenoura para os cenários 1, 2 e 3..... | 56 |
| Tabela 5.6 - Avaliação de dose-resposta para o consumo semanal de alface: probabilidade de infecção em uma única exposição nos 3 cenários avaliados. | 57 |
| Tabela 5.7 - Avaliação de dose-resposta para o consumo semanal de cenoura: probabilidade de infecção em uma única exposição nos 3 cenários avaliados. | 58 |
| Tabela 5.8 - Caracterização do risco anual (P_n) para o consumo de alface: probabilidade de infecção (pppa) nos 3 cenários avaliados. | 59 |
| Tabela 5.9 - Caracterização do risco anual (P_n) para o consumo de cenoura: probabilidade de infecção (pppa) nos 3 cenários avaliados. | 59 |
| Tabela 5.10 - Concentrações toleráveis de <i>Ascaris</i> em bio sólidos aplicados em culturas de alface e cenoura. | 61 |
| Tabela 5.11 - Concentrações toleráveis de helmintos em bio sólidos para o risco anual tolerável de $1,2 \times 10^{-4}$ pppa (WHO, 2006a). | 62 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------------|--|
| AQRM | Avaliação Quantitativa de Riscos Microbiológicos |
| CONAMA | Conselho Nacional do Meio Ambiente |
| DALY | <i>Disability Adjusted Life Years</i> (anos de vida perdidos ajustados por incapacidade) |
| ETE | Estação de Tratamento de Efluentes |
| Eq | Equação |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| MDR | Ministério do Desenvolvimento Regional |
| NBR | Norma Brasileira Registrada |
| NRC | <i>National Research Council</i> |
| NEBRA | <i>North East Biosolids And Residuals Association</i> |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| pppa | Por pessoa por ano |
| PRAP | Processos de Redução Adicional de Patógenos |
| PRSP | Processos de Redução Significativa de Patógenos |
| SciELO | <i>Scientific Electronic Library Online</i> |
| SNIS | Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento |
| SNS | Secretaria Nacional de Saneamento |
| TCC | Trabalho de Conclusão de Curso |
| t ST/ha | Toneladas de sólidos totais por hectare |
| UASB | <i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i> |
| UFAL | Universidade Federal de Alagoas |
| U.S. EPA | <i>United States Environmental Protection Agency</i> |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| FOLHA DE APROVAÇÃO | 2 |
| AGRADECIMENTOS | 3 |
| RESUMO..... | 5 |
| ABSTRACT | 6 |
| LISTA DE FIGURAS | 7 |
| LISTA DE QUADROS | 8 |
| LISTA DE TABELAS..... | 9 |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | 10 |
| SUMÁRIO..... | 11 |
| 1 INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 OBJETIVOS | 16 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL..... | 16 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 16 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO | 17 |
| 3.1 LODO DE ESGOTO E BIOSSÓLIDOS | 17 |
| 3.2 GERAÇÃO E TRATAMENTO DE ESGOTO..... | 17 |
| 3.3 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DOS BIOSSÓLIDOS | 19 |
| 3.4 INFECÇÕES TRANSMITIDAS PELO SOLO | 20 |
| 3.5 MICRORGANISMOS INDICADORES | 21 |
| 3.5.1 Microrganismos alvo: Helmintos | 23 |
| 3.5.2 <i>Ascaris lumbricoides</i> | 24 |
| 3.6 METODOLOGIAS PARA ANÁLISE DE HELMINTOS | 25 |
| 3.6.1 Viabilidade de ovos de helmintos | 25 |
| 3.6.2 Métodos para quantificação de ovos de helmintos | 26 |
| 3.7 ANÁLISE QUANTITATIVA DE RISCO MICROBIOLÓGICO | 28 |
| 3.8 PADRÕES DE REÚSO DE BIOSSÓLIDOS | 29 |
| 3.8.1 Padrões Internacionais | 30 |
| 3.8.2 Padrões Nacionais | 30 |
| 3.8.3 Atualização da Resolução sobre bioossólidos | 31 |
| 3.8.4 Análise crítico-comparativa..... | 32 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.9 | IMPORTÂNCIA DA FERRAMENTA AQRM PARA FORMULAÇÃO DAS LEGISLAÇÕES..... | 32 |
| 4 | METODOLOGIA..... | 34 |
| 4.1 | PESQUISA BIBLIOMÉTRICA..... | 34 |
| 4.2 | DADOS DE BIOSSÓLIDOS A SEREM AVALIADOS | 35 |
| 4.2.1 | Caracterização da ETE e da coleta do lodo | 35 |
| 4.2.2 | Sistema de tratamento do lodo | 35 |
| 4.2.3 | Análise de helmintos no lodo | 36 |
| 4.3 | APLICAÇÃO DA AQRM..... | 37 |
| 4.3.1 | Microrganismo alvo | 37 |
| 4.3.2 | Culturas consideradas..... | 37 |
| 4.3.3 | População alvo | 37 |
| 4.3.4 | Cenários avaliados..... | 37 |
| 4.4 | ANÁLISE QUANTITATIVA DE RISCO MICROBIOLÓGICO | 38 |
| 4.4.1 | Identificação do perigo..... | 38 |
| 4.4.2 | Avaliação da exposição..... | 39 |
| 4.4.3 | Avaliação da dose-resposta | 42 |
| 4.4.4 | Caracterização do risco..... | 43 |
| 4.5 | CONCENTRAÇÕES DE HELMINTOS NO BIOSSÓLIDO QUE RESULTARIAM EM NÍVEIS DE RISCOS TOLERÁVEIS..... | 44 |
| 4.5.1 | Probabilidade de infecção tolerável para exposição única (P_i')..... | 45 |
| 4.5.2 | Dose tolerável por exposição (d_i') | 45 |
| 4.5.3 | Concentração tolerável de <i>Ascaris</i> em bioossólidos ($C_{Asc.biosld'}$)..... | 46 |
| 4.6 | DISCUSSÃO SOBRE OS VALORES ADOTADOS POR LEGISLAÇÕES E DIRETRIZES PARA A APLICAÇÃO DE BIOSSÓLIDOS | 46 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 48 |
| 5.1 | PESQUISA BIBLIOMÉTRICA..... | 48 |
| 5.1.1 | Análise dos principais países | 48 |
| 5.1.2 | Análise da evolução temporal..... | 49 |
| 5.1.3 | Análise dos principais autores..... | 50 |
| 5.1.4 | Análise das principais instituições | 51 |
| 5.1.5 | Análise das principais áreas | 52 |
| 5.2 | DADOS DE BIOSSÓLIDOS A SEREM AVALIADOS | 53 |
| 5.2.1 | Concentração de ovos viáveis de <i>Ascaris lumbricoides</i> | 54 |

| | | |
|-------|--|----|
| 5.3 | ANÁLISE QUANTITATIVA DE RISCO MICROBIOLÓGICO | 54 |
| 5.3.1 | Identificação do perigo..... | 54 |
| 5.3.2 | Avaliação da exposição..... | 55 |
| 5.3.3 | Avaliação da dose-resposta | 57 |
| 5.3.4 | Caracterização do risco anual de infecção | 58 |
| 5.4 | CONCENTRAÇÕES DE HELMINTOS NO BIOSSÓLIDO QUE RESULTARIAM EM NÍVEIS DE RISCOS TOLERÁVEIS..... | 60 |
| 5.5 | DISCUSSÃO SOBRE OS VALORES ADOTADOS POR LEGISLAÇÕES E DIRETRIZES PARA A APLICAÇÃO DE BIOSSÓLIDOS | 63 |
| 6 | CONCLUSÕES..... | 65 |
| | REFERÊNCIAS..... | 67 |

1 INTRODUÇÃO

A geração de efluentes domésticos e industriais vem crescendo em todo o mundo devido à industrialização e às grandes concentrações populacionais, o que acarreta no aumento da geração de esgoto. Visando proteger a saúde humana e o meio ambiente em decorrência da exposição a microrganismos patogênicos e substâncias indesejáveis que estão presentes nesses efluentes gerados, torna-se necessário submetê-los a tratamentos que adequem sua composição às exigidas em legislações para descarte final (BASTOS *et al.*, 2013; DIAS, 2012; IGNOTO, 2010).

Esses efluentes, em geral, passam por dois tipos de processos nas estações de tratamento: processos biológicos, para estabilização e remoção da matéria orgânica, além da redução de nutrientes indesejados, e processos físicos, no qual, segundo Dias (2012), apresentam etapas de separação da fase sólida e líquida, onde ocorre a produção de resíduos sólidos que, por ainda não terem sido submetidos a nenhum processo de tratamento de higienização, são denominados de lodo de esgoto. Quando esse lodo de esgoto é devidamente tratado (desidratado, estabilizado e higienizado), se transforma em um novo tipo de material, os bio-sólidos, onde segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, U.S. EPA (*United States Environmental Protection Agency*), são materiais orgânicos com diversos nutrientes resultantes do tratamento de lodo de esgoto.

Bastos *et al.* (2013), relatam que “em paralelo ao crescimento da produção de lodo de esgotos, cresce também o interesse pelo uso benéfico dos bio-sólidos”, devido ao seu enorme potencial de serem condicionantes de solos por causa do seu valor nutricional. Mas, por apresentarem potenciais riscos à saúde humana, frequentemente são impostos a normas rigorosas, incluindo critérios bastante exigentes de qualidade e sérias restrições de uso.

Segundo Blumenthal *et al.* (2000), é possível adotar três abordagens para o estabelecimento de critérios de qualidade para a irrigação com águas residuárias, e por conseguinte, para a utilização de bio-sólidos, são eles: (i) ausência de patógenos e/ou de organismos indicadores no lodo; (ii) a medida do risco atribuível à utilização agrícola do lodo dentre uma população exposta e (iii) a estimativa do risco mediante o emprego de modelos probabilísticos. E devido a essa busca de medida e estimativa do risco, surge a Análise Quantitativa de Risco Microbiológico (AQRM), que é uma ferramenta utilizada na

quantificação de risco de infecção, doença ou morte em decorrência da exposição a patógenos (DIAS, 2012).

A Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico fornece subsídios para o estabelecimento de leis, padrões e normas focadas na promoção e proteção da saúde humana visando a redução de patógenos nas fontes de águas, em águas de reúso, no consumo de alimentos, em bioossólidos, entre outras situações. Esta ferramenta será aplicada neste estudo, utilizando como microrganismos alvos os helmintos, pois, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), entre os principais riscos à saúde associados ao reaproveitamento de águas residuais e dos materiais bioossólidos, para uso agrícola, estão aqueles causados por ovos de helmintos, mais notadamente *Ascaris lumbricoides* (WHO, 1989).

Alguns trabalhos com aplicação de AQRM foram desenvolvidos no Laboratório de Reúso de Águas – LRA, do Centro de Tecnologia da UFAL, nos quais a ferramenta foi utilizada para avaliação de riscos relativos ao reúso de águas cinzas (ALVES, 2017; FERREIRA *et al.*, 2018) e de efluentes de estações de tratamento de esgotos domésticos (SANTOS, 2019; SILVA, 2020), sendo a pesquisa em tela a primeira a empregar avaliação de riscos quando da aplicação de bioossólidos para fins agrícolas.

Nesse contexto, o objetivo do estudo será avaliar os riscos microbiológicos associados a ovos de helmintos (*Ascaris lumbricoides*), em função da aplicação de bioossólidos no solo, para o consumo de culturas de cenoura e alface (culturas ingeridas cruas) na faixa etária de adolescentes, a partir de dados secundários de qualidade de lodos de Estações de Tratamento de Efluentes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os riscos microbiológicos associados a ovos de helmintos, em função da aplicação de bio sólidos no solo, para culturas ingeridas cruas, a partir de dados secundários de qualidade de lodos de Estações de Tratamento de Efluentes.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Fazer uma análise bibliométrica e verificar a evolução das pesquisas sobre a avaliação de riscos associados a helmintos na aplicação de bio sólidos em solos;
- Utilizar a ferramenta AQRM (Avaliação Quantitativa de Riscos Microbiológicos) para estimar a probabilidade anual do risco de infecção por helmintos (*Acaris lumbricoides*), associada ao consumo de hortaliças cruas para a faixa etária de adolescentes, considerando a aplicação de bio sólidos no solo;
- Confrontar os resultados com os riscos de infecção considerados toleráveis pela OMS;
- Confrontar os resultados com os padrões brasileiros (Resolução CONAMA nº 498/2020) adotados para aplicação de bio sólidos no solo, bem como com alguns padrões internacionais (U.S. EPA, 1993 e WHO, 2006a).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 LODO DE ESGOTO E BIOSSÓLIDOS

Andreoli *et al.* (2001) definem lodo de esgotos como resíduos do tratamento de esgotos sanitários que se apresenta em forma líquida ou líquida semissólida, dependendo da operação e processo utilizados, e com teores de sólidos totais entre 0,25 a 12%. Esses resíduos podem ser gerados após os processos de tratamento primário, então são chamados de lodo primário, ou após os processos de tratamento biológico, sendo chamado de lodo secundário.

Esses dois tipos de lodos possuem alto teor de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo e, após tratamento adequado, podem ser utilizados como condicionantes do solo em plantações agrícolas (ANDREOLI *et al.*, 2003). Outros constituintes do lodo são os metais pesados e os microrganismos, que tem sua quantidade variada em função de diversos fatores, como as características do efluente, tipo de tratamento empregado e produtos químicos utilizados (MAGALHÃES, 2012).

O termo “biossólidos” começou a ser utilizado na área do saneamento nos anos 90, e é empregado para designar o lodo de esgoto que foi suficientemente processado a fim de permitir sua reciclagem e aplicação como fertilizante, com o intuito de melhorar e manter, de maneira sustentável, a produtividade dos solos e estimular o crescimento de plantas (U.S. EPA, 1995). Objetiva destacar potencial uso benéfico do material, tendo em vista a quantidade de matéria orgânica, nutrientes, umidade e outras qualidades que os biossólidos possam conter, ao invés de ser considerado apenas um resíduo a ser disposto, por exemplo, por incineração ou aterramento sanitário (DIAS 2012; MAGALHÃES, 2012; NEBRA, 2007).

3.2 GERAÇÃO E TRATAMENTO DE ESGOTO

A geração de lodo de esgotos vem aumentando em todo o mundo como resultado da industrialização e do crescimento populacional. Nos países em desenvolvimento, o manejo do lodo de esgotos talvez não seja ainda alvo de muita preocupação, já que as águas residuárias são tratadas em menor escala, mas dadas as exigências cada vez mais restritivas de tratamento de efluentes, esse cenário está, aos poucos, sendo alterado.

Por exemplo, no Brasil, dados de 2019 informam quanto ao tratamento dos esgotos que o índice do país chega a 49,1% para a estimativa dos esgotos gerados e 78,5% para os esgotos que são coletados (SNIS, 2020), conforme indicado na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Níveis de atendimento com água e esgotos dos municípios com prestadores de serviços participantes do SNIS em 2019, segundo regiões geográficas e Brasil.

| Região | Índice de atendimento com rede (%) | | | | Índice de tratamento dos esgotos (%) | |
|---------------------|------------------------------------|-------------|-------------------|-------------|--------------------------------------|-------------------|
| | Água | | Coleta de esgotos | | Esgotos gerados | Esgotos coletados |
| | Total | Urbano | Total | Urbano | Total | Total |
| Norte | 57,5 | 70,4 | 12,3 | 15,8 | 22,0 | 82,8 |
| Nordeste | 73,9 | 88,2 | 28,3 | 36,7 | 33,7 | 82,7 |
| Sudeste | 91,1 | 95,9 | 79,5 | 83,7 | 55,5 | 73,4 |
| Sul | 90,5 | 98,7 | 46,3 | 53, | 47,0 | 94,6 |
| Centro-Oeste | 89,7 | 97,6 | 57,7 | 63,6 | 56,8 | 93,2 |
| Brasil | 83,7 | 92,9 | 54,1 | 61,9 | 49,1 | 78,5 |

Fonte: SNIS (2020).

Machado *et al.* (2004), com base em banco de dados de 275 estações de tratamento de efluentes (ETEs) que atendiam uma população de aproximadamente 12,8 milhões de habitantes, estimaram que 151.700 toneladas de lodo são produzidas por ano no Brasil, o que corresponde à uma média *per capita* de 33 gramas por dia.

A produção de lodo de esgoto em uma ETE, está diretamente ligada ao tipo de tratamento que é utilizado na fase líquida. O tratamento de forma aeróbia ou anaeróbia resulta na formação de lodo biológico, que é a biomassa que cresce à medida que o material orgânico do esgoto vai sendo consumido. Segundo Lopes (2019), “no metabolismo aeróbio ocorre a maior formação de lodo, necessitando de um processo para estabilização do lodo, enquanto que os sistemas anaeróbios, geralmente possuem uma produção baixa de lodo, já estabilizado”.

Visando o interesse em uma gestão sustentável de recursos ambientais e na proteção ao meio ambiente, tem se tornado cada vez mais importante o uso de tecnologias que objetivem o tratamento das águas residuárias e do lodo de esgoto gerado, no qual são submetidos a processos de tratamento físicos, químicos e/ou biológicos que realizam o preparo desse material para sua destinação final (LOPES, 2019; MAGALHÃES, 2012).

A disposição final dos lodos gerados comumente passa por processos de digestão anaeróbia e em seguida são destinados a aterros sanitários ou passam por processos que utilização de técnicas de incineração. Entretanto, quando são transformados em bio sólidos e utilizados na agricultura como condicionantes de solos, promovem uma reciclagem agrícola, visto que ocasionam melhorias físicas nos solos e viabilizam a reciclagem de nutrientes, incorporando, assim, fatores ambientais, sociais e econômicos à destinação final do lodo de esgoto, porém, essa solução tem sido menos utilizada, o que se caracteriza como um desperdício de potencial desse material (MAGALHÃES, 2012).

3.3 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DOS BIOSSÓLIDOS

Do ponto de vista ambiental e econômico, a utilização de técnicas que visam o tratamento e a recuperação dos nutrientes de lodo de esgoto, gerando bio sólidos, é bastante importante, e para isso pode-se utilizar diversas técnicas, conforme mostrado no Quadro 3.1, principalmente as que objetivam a estabilização da matéria orgânica: compostagem, estabilização alcalina, digestão aeróbia, digestão anaeróbia.

Quadro 3.1 - Métodos para tratamento do lodo e, conseqüentemente, geração de bio sólidos.

| | Objetivo | Tipos |
|-------------------------|--|---|
| Adensamento | Reduzir a quantidade de água presente no lodo por meios físicos. | Proporciona benefícios como redução do volume do tanque de armazenamento e equipamento de processamento. |
| Condicionamento | Processo para melhorar a separação das fases sólido-líquido do lodo. O condicionamento químico resulta na floculação das partículas. | Utilizam compostos inorgânicos (cal, cloreto férrico, sulfato ferroso, sulfato de alumínio) e/ou polímeros (sais de ferro). |
| Desaguamento | Consiste na separação do material sólido-líquido presente no lodo. | Secagem natural ou métodos mecânicos. |
| Secagem Térmica | Reduzir o teor de umidade do lodo através da aplicação de calor para evaporação da água. | Secadores diretos, secadores indiretos, secadores infravermelhos. |
| Estabilização Biológica | Minimizar os microrganismos patogênicos e reduzir, eliminar ou inibir o potencial de putrefação do lodo e da produção de odores. | Compostagem, estabilização alcalina, digestão aeróbia, digestão anaeróbia. |

Fonte: Adaptado, Lopes (2019).

A aplicação de bio-sólidos em plantações agrícolas gera a reciclagem da matéria orgânica e nutrientes, melhorando a qualidade do solo. A utilização desses materiais é uma solução bastante promissora em países como o Brasil, devido ao intemperismo no solo provocado por causa das condições climáticas existentes no país, e por isso se faz necessária a reposição do estoque de matéria orgânica dos solos.

A matéria orgânica presente no bio-sólido permite seu uso benéfico como condicionador das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo por ser rica em macro e micronutrientes (Tabela 3.2), como fósforo, nitrogênio e potássio (mesmo em pequenas quantidades). A utilização do bio-sólido como componente de substrato traz consigo uma série de benefícios, como melhorar a capacidade do solo em reter umidade e suprir as necessidades nutricionais das plantas de acordo com seu crescimento e desenvolvimento (RIBEIRO, 2017).

Tabela 3.2 - Análise química do bio-sólido (amostra base seca) em %, utilizado na composição de substratos para produção de mudas de três espécies usadas na arborização urbana.

| pH | N | P | K⁺ | Ca²⁺ | Mg²⁺ | Al³⁺ | Matéria Orgânica |
|-----------|----------|----------|----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| 5,50 | 1,94 | 0,81 | 0,19 | 1,59 | 0,19 | 2,72 | 35,30 |

Fonte: Adaptado, Ribeiro (2017).

Porém, conforme descreveu Dias (2012), “se por um lado os bio-sólidos apresentam atrativos para a utilização agrícola no que tange a aspectos agronômicos (devido à presença de matéria orgânica e importantes nutrientes), por outro se deve levar em conta os riscos potenciais à saúde humana”. Essa preocupação refere-se à proteção de todos os agentes que estão ligados à aplicação de bio-sólidos em solo, tanto consumidores de produtos cultivados com esses materiais quanto trabalhadores em contato direto com o solo, além das comunidades que vivem próximas às áreas cultivadas com bio-sólidos (WHO, 2006b).

3.4 INFECÇÕES TRANSMITIDAS PELO SOLO

A contaminação de solos tem um papel epidemiológico importante na disseminação de agentes de doenças infecciosas e/ou parasitárias, visto que a utilização de bio-sólidos em solos agrícolas podem, eventualmente, transmitir aos seres humanos agentes patogênicos. Essa transmissão pode ocorrer de duas formas, por via oral, através do consumo de alimentos

contaminados ou por ingestão acidental de solo, e por via dérmica, por exemplo, em infecções por ancilostomídeos que ocorrem por contato direto da pele com o solo.

A composição química do solo bem como suas características físicas como, por exemplo, umidade e calor, contribuem para o desenvolvimento de helmintos, comportando-se como um hospedeiro intermediário destes parasitos, uma vez que lhes oferece condições para o desenvolvimento dos seus ciclos parasitários, protegendo-os durante certo tempo na fase infectante para, posteriormente, transmiti-los ao homem (AMOR *et al.*, 2018).

Amor *et al.* (2018) afirmam que a contaminação do solo por parasitos depende do destino dado aos dejetos humanos, da contaminação da água que esse solo recebe e do destino dado aos dejetos de animais contaminados. Essa contaminação também está relacionada às condições higiênicas individuais e de saneamento da comunidade, assim como a fatores ambientais e fortemente ligada à grande fecundidade dos helmintos fêmeas destes parasitos, somada à elevada tolerância dos ovos às diferentes condições ambientais.

Segundo Ignoto (2010), a utilização de biossólidos pode causar sérios problemas de saúde, tais como: problemas respiratórios, fadiga crônica e doenças mentais, além de diversas doenças que podem aparecer em intensidades agudas, como diarreia (devido à presença de *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia*), gastrite (*Helicobacter*) e meningite (*Coxsackievirus B.*), mas também podem se intensificar para as formas mais crônicas, como úlcera e câncer de estômago (*Helicobacter*), retardo mental, demência e convulsões (*Toxoplasma*).

Considerando os riscos de doenças transmitidas ao homem pela contaminação de solos e culturas agrícolas fertilizadas com biossólidos, estes devem ser tratados com o objetivo de eliminar parcial ou totalmente os microrganismos patogênicos antes de sua utilização como fertilizante. A inativação dos patógenos contribui muito para redução dos riscos microbiológicos (WHO, 2006a).

3.5 MICRORGANISMOS INDICADORES

Grande parte das pesquisas sobre a ocorrência e infecção de patógenos presentes em biossólidos é baseada em investigações de organismos indicadores. Essas análises utilizam como microrganismos indicadores, principalmente, as bactérias do grupo coliforme, como a

Escherichia coli, cuja presença indica contaminação fecal em amostras de água e em seus processos de tratamento e de desinfecção, em alimentos e em seus processos de manipulação e elaboração, e em resíduos sólidos e líquidos (IGNOTO, 2010).

Contudo, a ausência dessas bactérias não garante que outros microrganismos patogênicos estejam ausentes (Tabela 3.3), visto que outros patógenos podem ser introduzidos no sistema de esgotamento sanitário de diversas maneiras, como pela contribuição na rede coletora de excretas de indivíduos infectados ou efluentes de abatedouros ou indústrias (MAGALHÃES, 2012).

Tabela 3.3 - Organismos identificados em biossólidos e lodos de esgotos sanitários.

| Microrganismo | Lodos de esgoto ^(a) | Biossólidos | |
|--|-----------------------------------|--|--|
| | | Digerido ^(b) | Caleado |
| Coliformes termotolerantes ^(c) | 10 ⁷ - 10 ⁸ | 10 ⁵ - 10 ⁷ | 10 ² ^(g) |
| <i>Escherichia coli</i> ^(c) | 10 ⁵ - 10 ⁷ | 10 ³ - 10 ⁶ ^(h) | 1 - 10 ² ^(g) |
| <i>Salmonella spp.</i> ^(c) | 10 ² - 10 ⁴ | 1 - 10 | ND ⁽ⁱ⁾ - 0,1 ^(j) |
| Vírus entéricos ^(d) | 10 ² - 10 ³ | 1 - 10 | 0,1 - 1 |
| Rotavírus ^(d) | 10 - 10 ³ | - | - |
| Ovos de helmintos ^(e) | 10 - 10 ² | 0,3 - 13 | ND ⁽ⁱ⁾ - 2 ^(g) |
| <i>Giardia spp.</i> ^(f) | 10 ² | 0,5 | - |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> ^(f) | 10 - 10 ³ | 1 - 10 | 0,1 - 1 |

Fonte: Adaptado, Bastos *et al.* (2009). Notas: (a) lodo primário, secundário ou de reator UASB, sem tratamento; (b) digestão aeróbia ou anaeróbia mesofílica; (c) NMP/g ST; (d) Unidade formadora de placa (UFP)/g ST; (e) ovos/g MS; (f) (oo)cistos/g ST; (g) 20-60 dias após aplicação de cal a 40-50% do peso seco, pH ≈12; (h) estimado assumindo remoção de 2log₁₀; (i) não detectado; (j) considerando remoção de 5log₁₀.

Devido à essa grande diversidade de microrganismos patogênicos em biossólidos e lodos de esgoto, a análise da presença de um único indicador não é suficiente para proteger a saúde humana de infecções e doenças. Com isso, para o presente estudo, foram adotados como microrganismos alvo para serem analisados os helmintos (ou os ovos de helmintos), em especial os helmintos da espécie *Ascaris lumbricoides*.

3.5.1 Microrganismos alvo: Helmintos

O risco microbiano mais importante para a saúde ao aplicar lodo de esgotos em solos agrícolas são os helmintos transmitidos pelo solo (WHO, 2006a). Segundo Magalhães (2012), o aparecimento de certas doenças em determinada área está relacionado às condições sanitárias e de higiene específicas do local da aplicação dos biossólidos, e que nas áreas onde essas condições são precárias, helmintos intestinais são frequentemente responsáveis pelos maiores riscos à saúde.

O termo “helmintos” vem da palavra grega *ἕλμινθος* (*hélminthos*), que pode se traduzir por “verme”. Existem dois grupos de helmintos: as minhocas e as lombrigas, e podem ser encontrados em duas formas de vida, a primeira é a fase larval ou verme em crescimento ativo e a segunda forma são os ovos ou óvulos, principal forma de vida dos helmintos que oferecem risco de infecção (GERARDI; ZIMMERMAN, 2004). No Quadro 3.2 estão os principais helmintos encontrados em esgoto doméstico e as doenças associadas.

Quadro 3.2- Os principais helmintos encontrados em águas residuais e as doenças relacionadas.

| Grupo de helmintos | Organismo | Doenças |
|-----------------------------|------------------------------|-----------------------|
| Cestóides (tapeworm) | <i>Taenia saginata</i> | Tênia da carne bovina |
| | <i>Taenia solium</i> | Tênia da carne suína |
| Ancilostomídeos (Hookworms) | <i>Ancylostoma duodenale</i> | Ancilostomose |
| | <i>Necator americanus</i> | |
| Nematóides (roundworms) | <i>Ascaris lumbricoides</i> | Ascaridíase |
| | <i>Trichuris trichiura</i> | Tricuríase |
| Trematóides (flukes) | <i>Schistosoma mansoni</i> | Esquistossomose |

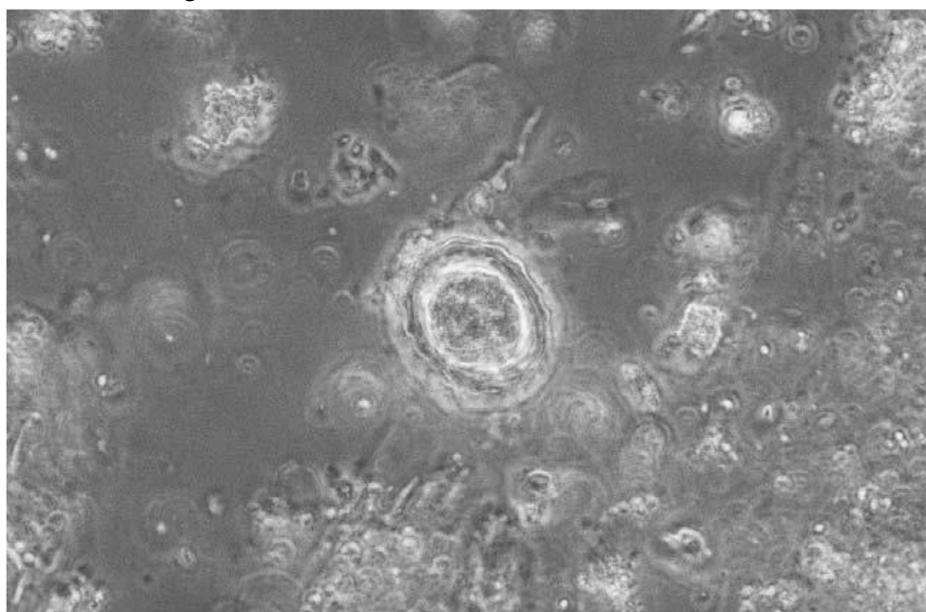
Fonte: Adaptado, Gerardi e Zimmerman (2004).

Entre os helmintos estão inclusos vários vermes que são parasitas importantes para humanos, animais e plantas. Muitos desses microrganismos são transmitidos através de dejetos humanos e animais e, em ambientes adequados, os ovos de helmintos podem sobreviver no solo por vários anos, como os ovos de *Ascaris lumbricoides*, que podem permanecer infecciosos por até sete anos (GERARDI; ZIMMERMAN, 2004).

3.5.2 *Ascaris lumbricoides*

Segundo Dias (2012), “as informações sobre concentrações e comportamento de helmintos em lodos de esgoto e biossólidos são predominantemente sobre *Ascaris*, devido à elevada prevalência desse helminto”. A espessura grossa das cascas dos ovos de *Ascaris* (Figura 3.1) evita a penetração de materiais tóxicos e fornecem resistência a muitas condições ambientais adversas, incluindo mudanças de temperatura, e por esta razão, os óvulos de ascarídeos são frequentemente considerados indicadores para medir a eficiência dos processos de tratamento de águas residuais na destruição de patógenos (GERARDI; ZIMMERMAN, 2004).

Figura 3.1 – Ovo, ou óvulo, de *Ascaris lumbricoides*.



Fonte: Gerardi e Zimmerman (2004).

Uma vez ingeridos em vegetais contaminados ou de mãos sujas, os ovos de *Ascaris lumbricoides* eclodem no intestino. As larvas penetram na parede intestinal, migram para os pulmões, sobem no trato respiratório para a garganta e, em seguida, são engolidos novamente. Os vermes adultos se aderem à parede intestinal onde atingem um comprimento de 25 cm. Após o acasalamento, uma fêmea madura pode produzir 200.000 ovos por dia. Estes são eliminados nas fezes e podem permanecer infectantes no solo por muito tempo (VACCARI *et al.*, 2006).

Navarro *et al.* (2009), considerando que, até então, a ferramenta AQRM não tinha sido aplicada para avaliar riscos de helmintos através da exposição humana à água, ao lodo ou solo contaminados com fezes, e a inexistência de curva de dose-resposta, estabeleceram o modelo para avaliação de risco de infecção para *Ascaris lumbricoides* demonstrando como pode ser utilizada para a proteção à saúde. Este modelo será utilizado como referência para o desenvolvimento desse estudo.

3.6 METODOLOGIAS PARA ANÁLISE DE HELMINTOS

A simples presença de vírus, bactérias ou cistos de protozoários no lodo de esgoto ou em biossólidos não garante a contaminação de humanos e animais, uma vez que, para infectar os hospedeiros, esses agentes patogênicos necessitam de uma dose mínima. Já os helmintos necessitam de apenas um ovo viável (ovo embrionado, para uns, e larvas filarióides, para outros) para ocasionar uma infecção, constituindo assim um grave problema de saúde pública (CARRIJO; BIONDI, 2008).

3.6.1 Viabilidade de ovos de helmintos

Em relação aos ovos de helmintos, não basta apenas avaliar o aspecto quantitativo de sua presença em esgotos. Também o aspecto qualitativo, relativo à viabilidade destes, adquire grande relevância do ponto de vista epidemiológico (ZERBINI; CHERNICHARO, 2001).

A viabilidade dos ovos de helmintos é uma característica de primordial importância, já que, de acordo com o ciclo de vida de grande parte dos helmintos (notadamente os nematódeos *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos), os ovos fertilizados que são eliminados nas fezes do hospedeiro não serão infecciosos até que se tornem embriões ativos. Ou seja, não serão capazes de causar enfermidade até que se transformem, dentro do ovo, em larvas infectivas. A etapa de desenvolvimento, desde o embrião até a larva infectiva, ocorre no solo ou nos cultivos, sendo que esta capacidade infectiva pode permanecer latente durante anos se as condições ambientais forem adequadas (GALVÁN; VICTORICA, 1998).

Em termos de saúde pública, os ovos de helmintos não-viáveis são irrelevantes, porém, quando esses são viáveis, os riscos são muito elevados. Dessa forma, a informação sobre a

quantidade de ovos viáveis é considerada de grande importância, quando esses ovos estão presentes no meio ambiente, seja no solo, no lodo, em efluentes líquidos ou nos biossólidos (ZERBINI; CHERNICHARO, 2001). Com isso, a análise de quantificação e identificação de helmintos em biossólidos é de suma importância para a certificação da qualidade destes materiais, visto que a presença de tais microrganismos pode vir a acarretar sérios agravantes a saúde da população que consome alimentos produzidos em plantações com a aplicação desses condicionantes do solo.

3.6.2 Métodos para quantificação de ovos de helmintos

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

Os métodos disponíveis baseiam-se em um dos dois princípios fundamentais: i) os ovos dos parasitos são separados, por flutuação, dos resíduos presentes na amostra, em uma solução de maior densidade relativa; ou ii) a gordura e outros materiais são separados em uma solução de interface (usualmente éter ou acetato de etila), enquanto os ovos sedimentam em uma solução não miscível, abaixo (ZERBINI; CHERNICHARO, 2001).

Ambos os procedimentos são baseados na força centrífuga. Os fatores que determinam se a concentração de determinadas espécies de ovos será satisfatória dependerão do balanço hidrofílico-lipofílico dos organismos e da densidade relativa destes, em relação ao reagente de separação. Isso significa, na prática, que o pH, ou a presença de metais pesados ou álcoois, nos reagentes utilizados, poderá alterar as propriedades das superfícies dos ovos e cada espécie responderá diferentemente a essas alterações. Assim, nenhum método concentrará todas as espécies com a mesma eficiência (AYRES; MARA, 1996; ZERBINI; CHERNICHARO, 2001).

Magalhães (2012) realizou uma pesquisa de ovos de helmintos em amostragens de alface, couve e cenouras utilizando a metodologia descrita em Oliveira e Germano (1992) (OLIVEIRA; GERMANO, 1992 *apud* MAGALHÃES, 2012), com algumas alterações. Em resumo, foram colhidas amostras de 50 g da hortalíça, que após pesadas, eram lavadas em bandeja com solução de Tween 80 0,1%. O líquido (água de lavagem) foi transferido para um cone Imhoff e permanecia em repouso por 24 h. O sobrenadante foi então aspirado e os 30 ml remanescentes (contendo o sedimento) eram centrifugados até a obtenção do volume final de 0,5 ml, os quais eram utilizados para a identificação e contagem dos ovos de helmintos em microscópio, conforme descrito para as análises de lodo.

Dias (2012) realizou a recuperação dos ovos totais e viáveis de helmintos em amostras de lodo seguindo a metodologia proposta por Meyer *et al.* (1978). O método analítico utilizado consistiu no processamento da amostra, que, ao final, resulta numa solução contendo os ovos, normalmente com volume de aproximadamente 15 mL. Como o volume da solução resultante do processamento da amostra está diretamente associada ao resultado de ovos de helmintos (o número de ovos por grama de ST é diretamente proporcional ao volume da solução), foi considerado o menor valor de ovos de helmintos por grama de ST encontrado como o limite de detecção.

Em vista dessa diversificação de metodologias propostas para a avaliação da viabilidade de ovos de helmintos, Zerbini e Chernicharo (2001) destacaram as seguintes como sendo as mais utilizadas:

- A técnica da incubação, descrita por Hass *et al.* (1962) e Meyer *et al.* (1978), modificada por Carrington e Harman (1981), utilizada para quantificar e determinar a viabilidade de ovos de helmintos em amostras de lodo de esgoto;
- A técnica de critérios morfológicos, descrita por Kagei (1982), Cemat (1987) e Reimers (1989), para a diferenciação entre ovos viáveis e não-viáveis;
- A técnica de flutuação, com a utilização de n-butanol para separar os ovos férteis dos inférteis, descrita por Stien e Schwartzbrod (1988);
- A técnica de inclusão ou exclusão de corantes biológicos, descrita por Shepherd (1962), Kagei (1982), Kaneshiro e Stern (1985), Zhou *et al.* (1985) e Galván *et al.* (1998).

3.7 ANÁLISE QUANTITATIVA DE RISCO MICROBIOLÓGICO

Avaliação de risco é o processo de estimar a probabilidade de um evento ocorrer e a magnitude de seus efeitos adversos, ela vem sendo utilizada desde a década de 1970 para estimar os efeitos adversos à saúde humana associados à exposição a agentes químicos e físicos, e posteriormente, também começou a ser utilizada para avaliar os riscos microbiológicos (IGNOTO, 2010; DIAS, 2012; MAGALHÃES, 2012).

Magalhães (2012) explica que modelos de exposição descrevem cenários com base nos quais são estimadas as doses de patógenos ingeridas a cada evento de exposição. É preciso estabelecer, previamente, os grupos de risco associados a tal prática e compreender a dinâmica dos patógenos desde a aplicação até o possível contato do material contaminado com esses indivíduos.

Com o intuito de oferecer uma forma de se utilizar informações científicas para ajudar a apoiar decisões acerca do gerenciamento dos biossólidos em nível de utilidade ou regulamentação, será utilizada a Análise Quantitativa de Risco Microbiológico, que é uma ferramenta aplicada em quatro etapas: (i) identificação do perigo; (ii) avaliação da exposição; (iii) avaliação da dose-resposta; e (iv) caracterização do risco (HAAS *et al.*, 1999).

A etapa de identificação do perigo, consiste na identificação do agente ou situação que possa introduzir um perigo e dos respectivos efeitos adversos à saúde.

A etapa seguinte, de avaliação da exposição, determina-se a dose média do agente ingerida a cada evento de exposição, bem como da frequência e duração das prováveis vias de exposição. A avaliação da dose-reposta, em geral, é feita com base em modelos probabilísticos resultantes de estudos experimentais que associam as doses do agente e a probabilidade de infecção ou doença na população exposta. Por fim, a caracterização do risco combina as informações disponíveis sobre exposição e dose-resposta, estimando-se, quantitativamente e em termos probabilísticos, os riscos decorrentes da exposição continuada a determinado agente (DIAS, 2012; HAAS *et al.*, 1999; MAGALHÃES, 2012).

Em resumo, a AQRM permite estimar riscos à saúde com base em modelos de exposição e modelos dose-resposta. Essas informações sobre a relação dose-resposta de patógenos entéricos de origem hídrica e alimentar é um componente importante em qualquer estudo sobre os riscos à saúde associados à reutilização de águas residuárias e lodo proveniente do tratamento de esgotos para a produção de culturas alimentares (NAVARRO *et al.*, 2010).

Alguns estudos de referência na aplicação da AQRM quanto ao uso de lodo de esgotos na agricultura são os de Navarro *et al.* (2009) e Navarro e Jiménez (2011).

Navarro *et al.* (2009) estabeleceram um modelo para avaliação de risco de infecção para *Ascaris lumbricoides*. No estudo, consideraram a irrigação de culturas consumidas cruas (espinafre/alface e cenoura) com esgotos domésticos *in natura*, e aplicaram este modelo para avaliar riscos à saúde humana associados à exposição a helmintos (*A. lumbricoides*) devido a safras cultivadas em solo enriquecido com bio sólidos. O estudo indicou que o risco à saúde não está associado apenas à concentração de ovos de helmintos no lodo utilizado, mas também devem ser considerados fatores como taxas de aplicação do bio sólido, tipo de cultura, lavagem prévia dos alimentos antes do consumo e taxas de consumo desses alimentos.

Amoah *et al.* (2018) determinaram, por meio da ferramenta AQRM, os riscos de infecção por *Ascaris spp.* quando da utilização de lodo para fins agrícolas de duas estações de tratamento de efluentes localizadas em Durban (África do Sul) e Dakar (Senegal), respectivamente. A aplicação do lodo ocorreu após, aproximadamente, 60 dias de secagem (sem mistura) em condições ambiente. Os riscos de infecção no período de um ano para os agricultores que aplicam o lodo, e para os consumidores de alface cultivada em solo corrigido com o lodo, nas duas cidades, foram maiores que o tolerável pela OMS (10^{-4}). Para diminuir tais riscos, os autores sugerem que a colheita seja retardada, e realizada após 40 dias de aplicação do lodo. Essa prática reduz os riscos abaixo do risco tolerável pela OMS. Sugerem também tratamento adicional do lodo por meio de compostagem com elevado pH ou tratamento térmico.

3.8 PADRÕES DE REÚSO DE BIOSSÓLIDOS

A regulamentação para o reúso agrícola de lodos de esgotos envolve o estabelecimento de padrões de qualidade dos bio sólidos (químicos e, ou microbiológicos), aliados a restrições de uso, visando a proteção à saúde humana, tanto de consumidores de produtos cultivados com bio sólidos, quanto de trabalhadores em contato direto com bio sólidos (DIAS, 2012).

Objetivando avaliar crítica e comparativamente os padrões adotados nas regulamentações sobre uso agrícola de bio sólidos para análise de microrganismos do grupo de

helminthos, serão abordadas nesse estudo as regulamentações dos EUA (U.S. EPA, 1993), da OMS (WHO, 2006a) e do Brasil (CONAMA, 2020).

A regulamentação estadunidense e da Organização Mundial da Saúde foram selecionadas pelo fato de serem normas vigentes mais antigas, e também por serem consideradas como referência no cenário mundial. Já no Brasil, o uso de bio sólidos na agricultura é regido pela Resolução CONAMA nº 498 de 19 de agosto de 2020.

3.8.1 Padrões Internacionais

Em 1993, a U.S. EPA estabeleceu critérios para uso agrícola de lodo de esgotos, nos Estados Unidos, por meio da norma comumente referenciada como “Norma 503” (U.S. EPA, 1993). Segundo essa norma, as exigências e restrições para aplicação no solo dependem da qualidade do bio sólido, definida em duas categorias: Classe A e Classe B.

Para a produção de bio sólidos Classe B, o lodo deve ser tratado por Processos de Redução Significativa de Patógenos (PRSP), porém, não é especificado o padrão de qualidade microbiológica associado a ovos de helmintos para essa categoria. Já para produção de bio sólidos Classe A, o lodo deve ser submetido a Processos de Redução Adicional de Patógenos (PRAP), alcançando, entre outros critérios, um padrão de qualidade microbiológica de concentração de ovos viáveis de helmintos menor que um ovo por 4 gramas de sólidos totais ($< 1 \text{ ovo} / 4\text{g ST}$) (MAGALHÃES, 2012; BASTOS *et al.*, 2013).

A OMS publicou em 2006 diretrizes para o uso seguro de águas residuais, excretas e águas cinzas (WHO, 2006a), e recomendou um critério de qualidade de concentração de < 1 ovo de helmintos por litro para águas residuais usadas para irrigação, e com respeito a lodos de esgoto, sugeriu um valor de concentração de 1 ovo de helminto por grama de sólidos totais ($1 \text{ ovo} / \text{g ST}$) (BASTOS *et al.*, 2009; NAVARRO *et al.*, 2009; NAVARRO; JIMÉNEZ, 2011).

3.8.2 Padrões Nacionais

A Resolução CONAMA nº 498 de 19 de agosto de 2020 (CONAMA, 2020) define critérios e procedimentos para produção e aplicação de bio sólido em solos. Ela também estabeleceu dois níveis de qualidade de bio sólidos similares aos dos EUA. Para produção de

biossólidos Classe A e Classe B, a Resolução 498/2020 estabelece que o lodo deve ser submetido aos mesmos processos de tratamento citados na Norma 503, ou seja, respectivamente, PRAP (e outras alternativas para processos de redução de patógenos) e PRSP.

Biossólidos Classe A podem ser aplicados em qualquer cultura, porém, a Resolução CONAMA 498/2020 restringe que para o cultivo de alimentos consumidos crus e cuja parte comestível tenha contato com o solo, não se deve aplicar o biossólido um mês antes do período de colheita (CONAMA, 2020).

Biossólidos Classe B somente podem ser aplicados em cultivo de produtos alimentícios que não sejam consumidos crus, em produtos não alimentícios, pastagens, forrageiras e árvores frutíferas desde que sejam incorporados ao solo mecanicamente e que sejam obedecidas as restrições de colheita e de acesso público. Tais restrições também devem ser observadas para a categoria A (BASTOS *et al.*, 2013; CONAMA, 2020).

Com relação aos padrões de qualidade dos biossólidos, foram definidos na Resolução CONAMA nº 498/2020 que as concentrações de ovos de helmintos deveriam ser menores que 1 ovo viável de helminto por grama de sólidos totais (< 1 ovo / g ST), para a Classe A, e assim como na Norma 503, não é especificado o padrão de qualidade microbiológica associado a ovos de helmintos para os biossólidos de Classe B.

3.8.3 Atualização da Resolução sobre biossólidos

A primeira norma que definiu critérios para o uso do lodo no setor agrícola e florestal no Brasil, foi a Resolução do CONAMA nº 375 de 29 de agosto de 2006. Essa resolução define as concentrações máximas de elementos tóxicos, as cargas cumulativas máximas e os limites para presença de patógenos (CONAMA, 2006; NASCIMENTO *et al.*, 2020).

Em 2020, uma nova resolução (n.º 498 de 19 de agosto de 2020) foi publicada pelo CONAMA, com a finalidade de atualizar critérios e procedimentos para produção e aplicação de lodo de esgoto em solos, considerando que o uso do lodo de esgoto em solos é uma alternativa de destinação ambientalmente adequada e se enquadra nos princípios de reciclagem de resíduos, demonstrando claramente a preocupação em dar uma destinação final adequada para esse resíduo (CONAMA, 2020; NASCIMENTO *et al.*, 2020).

3.8.4 Análise crítico-comparativa

Do ponto de vista de controle de riscos microbiológicos, essas três regulamentações assumem a abordagem de dupla barreira de proteção à saúde (tratamento do lodo e restrições de uso de biossólidos), estabelecendo dois níveis de qualidade de biossólidos, para os quais são indicadas diferentes restrições de aplicação (DIAS, 2012; BASTOS *et al.*, 2013).

A Resolução CONAMA nº 498/2020 foi claramente formulada com base na “Norma 503” dos EUA, sendo mais rigorosa em relação a alguns aspectos de restrição de uso de biossólidos Classe A, e, portanto, está sujeita às mesmas críticas de ausência de fundamentação em avaliação de risco (BASTOS *et al.*, 2009).

Os padrões adotados nas diretrizes da OMS em 2006 foram estabelecidos usando evidências epidemiológicas em vez de uma abordagem de avaliação de risco, como foi feito para outros parâmetros, sendo então limitadas pelo desempenho de diferentes métodos de tratamento de lodo, e não pela estimativa do risco real à saúde (NAVARRO *et al.*, 2009).

Para uma melhor compreensão, foram dispostos na Tabela 3.4 os valores das concentrações adotadas como padrão de qualidade nos documentos abordados acima.

Tabela 3.4 - Limites de concentrações de ovos de helmintos para utilização de biossólidos, conforme a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, a Organização Mundial da Saúde e o Conselho Nacional de Meio Ambiente do Brasil.

| Norma 503, U.S. EPA (1993) | | Diretrizes da OMS (2006) | Resolução CONAMA 498/2020 | |
|----------------------------|------------------|--------------------------|---------------------------|------------------|
| Classe A | Classe B | | Classe A | Classe B |
| < 1 ovo/4g ST | Não especificado | 1 ovo/g ST | < 1 ovo/g ST | Não especificado |

Fonte: U.S. EPA (1993); WHO (2006a) e CONAMA (2020). Notas: g ST = grama de sólidos totais.

3.9 IMPORTÂNCIA DA FERRAMENTA AQRM PARA FORMULAÇÃO DAS LEGISLAÇÕES

Países em desenvolvimento podem não ser capazes de ofertar o tratamento lodos de esgoto necessários para atingir os valores de saúde e segurança recomendados para o uso de biossólidos, como por exemplo os da OMS, de um ovo de helminto por grama de sólidos totais. Nessas circunstâncias, é possível definir inicialmente um padrão acessível usando a AQRM com base na incidência local de helmintíases. Posteriormente, este limite pode ser reduzido

progressivamente para se tornar mais rigoroso à medida que a taxa de helmintíase na população diminui como resultado do controle parcial do risco, possibilitando assim, atingir as metas de padrões de saúde e segurança recomendada pelas legislações (NAVARRO; JIMÉNEZ, 2011).

A aplicação da Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico mostra-se, então, muito importante, pois fornece subsídios para o estabelecimento de leis, padrões e normas, especialmente quando o risco tolerável se encontra abaixo do nível que pode ser mensurado por estudos epidemiológicos. Com isso, cada país ou governo pode desenvolver um plano de gestão de risco com base no contexto local, e para estimar o risco para a saúde humana de locais relevantes a AQRM pode ser usada, visto que este procedimento permite a estimativa das taxas de infecção ou doença com base nas concentrações de patógenos, nas taxas de ingestão medidas ou estimadas e modelos de dose-resposta apropriados para a população exposta (BLUMENTHAL *et al.*, 2000; NAVARRO; JIMÉNEZ, 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 PESQUISA BIBLIOMÉTRICA

A pesquisa bibliométrica consiste na utilização de ferramentas estatísticas que mensuram a contribuição do conhecimento científico proveniente das publicações em determinadas áreas e produzem conhecimento acerca da evolução histórica e do estado do conhecimento dos estudos sobre os campos e áreas relacionadas. Tal cenário possibilita enriquecer a discussão sobre os rumos que as pesquisas tomam e as prováveis tendências temáticas (AQUINO *et. al.*, 2019).

A análise dos resultados das pesquisas sobre temas relacionados e a relevância dos temas em estudo foi realizada utilizando teses e artigos científicos da base eletrônicas de dados Elsevier's Scopus (site: www.scopus.com).

A coleta de informações foi realizada na base de busca de trabalhos científicos da Elsevier's Scopus, disponível no Portal Periódicos da CAPES. A busca foi feita no dia 15 de abril de 2021 mediante a opção de busca rápida, que localiza publicações que tenham a palavra digitada no título, no resumo ou nas palavras-chaves (*TITLE*, *ABS* ou *KEY*).

As buscas foram feitas a partir das palavras-chave “*Helminths*” and “*Risk Assessment*” or “*Biosolids*” or “*Sewage Sludge*” (“Helmintos” e “Avaliação de Risco” ou “Biossólidos” ou “Lodo de Esgoto”), e com informações relacionadas à evolução temporal, países publicadores, nome de autores, instituições e áreas relacionadas, obtidas no campo em que é possível refinar as buscas. A sintaxe de busca utilizada pode ser representada pela expressão: (TITLE-ABS-KEY (“*Helminths*”) AND TITLE-ABS-KEY (“*Risk Assessment*”) OR TITLE-ABS-KEY (“*Biosolids*”) OR TITLE-ABS-KEY (“*Sewage Sludge*”)).

Em seguida realizou-se uma análise dos resultados da pesquisa a partir de gráficos da evolução temporal da quantidade de publicações na base da Scopus e dos principais países que desenvolveram trabalhos sobre o tema. Por fim, também foi feita uma análise dos principais autores, instituições, e principais áreas, no Brasil e no mundo, em que se publica sobre os temas de estudo desse trabalho.

4.2 DADOS DE BIOSSÓLIDOS A SEREM AVALIADOS

A partir de pesquisas bibliográficas, os dados utilizados para a AQRM, como concentração de ovos viáveis de helmintos, foram retirados de um estudo desenvolvido por SANTOS *et al.* (2017), no qual os autores caracterizaram o lodo de uma unidade de tratamento UASB (reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, do inglês *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) da ETE em Feira de Santana.

4.2.1 Caracterização da ETE e da coleta do lodo

O reator UASB da ETE em Feira de Santana, possui 12 m de largura, 12 m de comprimento e 5 m de altura. Os lodos utilizados para caracterização no estudo foram retirados em dois pontos distintos do reator (chamados de ponto A e B).

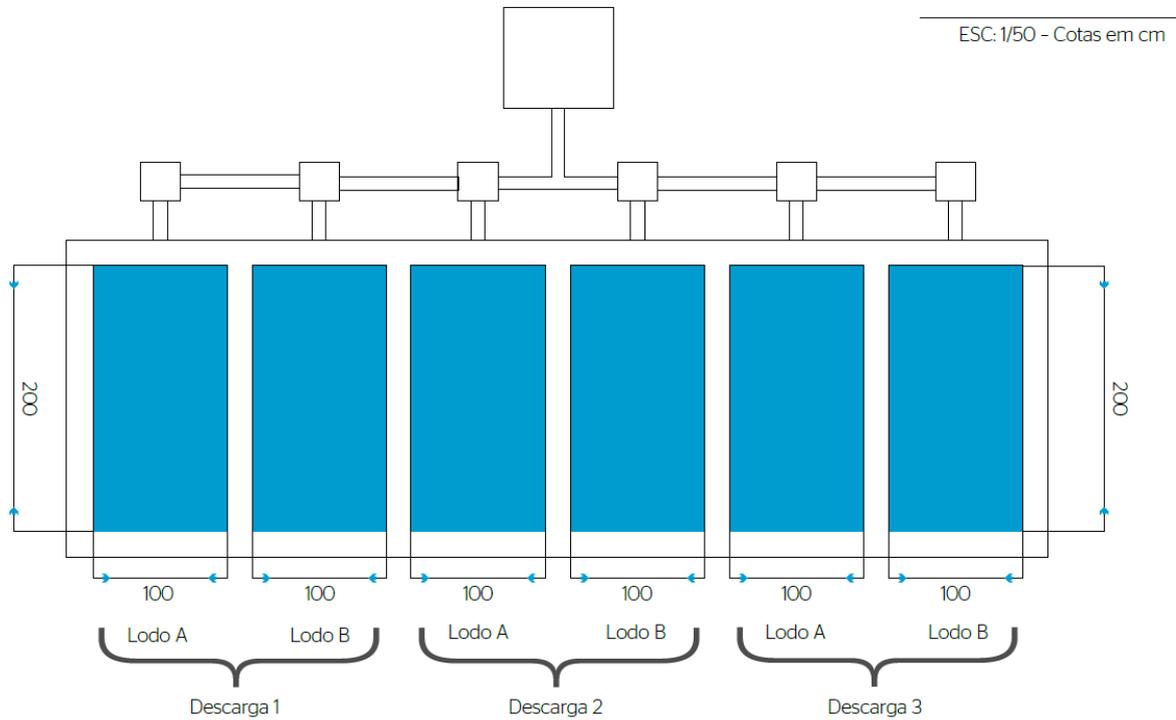
Entretanto, como Santos *et al.* (2017) afirmaram que de acordo com a análise estatística dos resultados obtidos, não houve diferença físico-química, microbiológica e parasitológica entre eles, adotou-se nesse estudo como fonte de dados os resultados do ponto B, que foi coletado da região da manta de lodo, a 3,1 m de profundidade.

O lodo foi retirado no ponto de coleta por uma bomba de sucção e transportado em caminhões limpa-fossa até o ponto de tratamento. Foram realizadas três descargas, com intervalo de um mês entre elas, sendo que a primeira ocorreu após seis meses de funcionamento do reator, que iniciou a operação sem inóculo (SANTOS *et al.*, 2017).

4.2.2 Sistema de tratamento do lodo

Cada descarga de lodo coletado foi encaminhada para uma célula de leito de secagem em escala-piloto, totalizando seis leitos, sendo três para cada ponto (Figura 4.1). Essas células apresentavam 1,00 x 2,00 x 0,50 m, com área superficial de 2 m², fundo com declividade em direção à tubulação de coleta do líquido percolado e camadas drenantes. Foi coletado aproximadamente 1,2 m³ de lodo em cada ponto do UASB, sendo que 1 m³ foi despejado na célula de leito. Os leitos permaneceram sem cobertura durante todo o experimento, a fim de simular as mesmas condições de secagem da ETE (SANTOS *et al.*, 2017).

Figura 4.1 - Disposição das descargas e dos leitos de secagem no sistema experimental.



Fonte: SANTOS *et al.* (2017).

O período de monitoramento do lodo ocorreu entre os meses de agosto de 2010 e janeiro de 2011, e a partir de cada célula de leito foram realizadas 6 coletas ao longo de 90 dias (nos tempos 0, 7, 15, 30, 60 e 90 dias), mas para utilização dos dados nesse trabalho, foram considerados os resultados das coletas feitas no dia 0 (lodo *in natura*) e dia 90, para os quais foram quantificados os ovos viáveis de helmintos.

4.2.3 Análise de helmintos no lodo

Entre as análises microbiológicas realizadas que incluíram a determinação de coliformes totais, termotolerantes e presença ou ausência de *Salmonella* spp, houve também a determinação da quantidade de ovos viáveis de helmintos, que foi realizada pelo método de centrifugação (SANTOS *et al.*, 2017).

4.3 APLICAÇÃO DA AQRM

Para estimar a probabilidade de infecção por comer vegetais crus cultivados em solo enriquecido com biossólidos, foram adotados os seguintes pressupostos:

4.3.1 Microrganismo alvo

Foram considerados nesse estudo os microrganismos da espécie *Ascaris lumbricoides* por representarem cerca de 90% do total de ovos de helmintos em alimentos cultivados com biossólidos (JIMENEZ *et al.*, 2006; NAVARRO *et al.*, 2009) e serem considerados um indicador da presença de outros ovos de helmintos, devido à sua alta resistência ambiental.

4.3.2 Culturas consideradas

Foram avaliadas na aplicação da ferramenta AQRM as culturas folhosas (alface) e raízes (cenoura), por serem culturas com diferentes modos de plantio e necessidades de nutrientes, o que permite analisar uma diversidade maior de cenários relacionados a esses vegetais. Além disso, essa escolha nos permite comparar os resultados com pesquisas utilizadas como referência e enriquece a discussão a respeito dos temas abordados neste estudo.

4.3.3 População alvo

Estudos epidemiológicos anteriores indicam que os grupos de maior risco eram crianças menores de 15 anos, pois apresentavam uma alta taxa de prevalência de *Ascaris lumbricoides* (NAVARRO *et al.*, 2009; NAVARRO; JIMÉNEZ, 2011).

4.3.4 Cenários avaliados

Além da avaliação do cenário em que não há remoção dos patógenos na alface/cenoura ingerido cru (cenário 1), presume-se uma redução de 1 log (cenário 2) a 2 log (cenário 3) de

ovos de helmintos devido à lavagem dos alimentos antes do consumo com água e com desinfetante fraco (WHO, 2006a).

4.4 ANÁLISE QUANTITATIVA DE RISCO MICROBIOLÓGICO

A aplicação da ferramenta AQRM neste trabalho tem como intuito determinar os riscos de infecção por *Ascaris lumbricoides* associados à aplicação de biossólidos no solo, para culturas de cenoura e alface (culturas ingeridas cruas).

Foi utilizada a abordagem proposta pelo NRC (*National Research Council* – Conselho Nacional de Pesquisa dos Estados Unidos) que propôs a condução da avaliação de risco à saúde humana em quatro etapas: identificação do perigo, avaliação de exposição, avaliação de dose-resposta e caracterização do risco, conforme ilustrado na Figura 4.2.

Figura 4.2 – Etapas utilizadas na avaliação de risco proposta pelo NRC.



Fonte: O autor, 2021.

4.4.1 Identificação do perigo

Nessa etapa, todos os perigos e eventos perigosos associados à prática que se deseja estudar foram mapeados, identificando as fontes de contaminação, bem como os organismos patogênicos de maior ocorrência e importância.

Com isso, foi realizado o levantamento do microrganismo em estudo, *A. lumbricoides*, levando em consideração sua natureza e consequências ao hospedeiro a partir da infecção. Esse

microrganismo foi adotado como base para determinação do risco de infecção em função da aplicação de biossólidos em solos agrícolas, pelo fato deste ser abundante nesses materiais, além de se apresentar como um potencial causador de doenças em seres humanos e ser indicativo direto da existência de outros organismos patogênicos, conforme foi abordado na revisão. A concentração de *Ascaris* pode ser considerada 90% dos ovos de helmintos encontrados nos alimentos cultivados em solo enriquecido com biossólidos (JIMENEZ *et al.*, 2006; NAVARRO *et al.*, 2009).

Além disso, *Ascaris* spp. é o único helminto transmitido pelo solo com um modelo dose-resposta já estabelecido (AMOA, *et al.*, 2018).

4.4.2 Avaliação da exposição

Nessa etapa foi estimada a quantidade de patógenos ingeridas a cada evento de exposição pelo consumo de diferentes produtos agrícolas produzidos com utilização de biossólidos. Para tal, foi empregada uma equação (Eq.1) para estimar doses de patógenos relativas a esses cenários (MAGALHÃES, 2012).

$$d_i = M \times C_i \quad (\text{Eq.1})$$

Onde: d_i é a dose por exposição; M é o consumo *per capita* de culturas; C_i é a concentração do patógeno nas culturas produzidas ou no solo/biossólido.

Para estimar a dose de patógenos ingerida pelo consumo de produtos agrícola através do modelo acima descrito, devem ser reunidas informações sobre as seguintes variáveis: (i) concentração de organismos patogênicos no biossólido; (ii) taxas de aplicação de biossólidos; (iii) decaimento natural dos microrganismos patogênicos no solo; (iv) quantidade de solo presente nas culturas no momento de colheita; (v) remoção de organismos patogênicos entre colheita e consumo e (vi) consumo per capita das culturas contempladas (MAGALHÃES, 2012).

4.4.2.1 Concentração de organismos patogênicos no biossólido

As concentrações de microrganismos patogênicos em biossólidos dependem basicamente das características microbiológicas do lodo de esgoto e da remoção obtida pela

técnica de tratamento de lodo empregada. As informações disponíveis sobre helmintos em biossólidos e no solo são, preponderantemente, sobre *Ascaris* spp., devido à maior prevalência desse organismo em comparação a outros helmintos (MAGALHÃES, 2012).

Os dados utilizados para a aplicação da AQRM foram obtidos do estudo realizado por Santos *et al.* (2017) em um reator UASB de uma Estação de Tratamento de Efluentes em Feira de Santana na Bahia. Os pesquisadores levantaram as concentrações de ovos viáveis de helmintos no lodo de esgoto e após o sistema de tratamento do lodo, ou seja, no biossólido gerado, para o tempo igual a 0 (C_0), ou seja, lodo *in natura*, e para o tempo decorrido de 90 dias (C_{90}) no sistema de leitos de secagem. Segundo Navarro *et al.* (2009), os microrganismos da espécie *Ascaris lumbricoides* representam cerca de 90% do total de ovos de helmintos, sendo estas as concentrações utilizadas na avaliação de riscos microbiológicos.

4.4.2.2 Taxas de aplicação de biossólidos

Com base em informações sobre recomendações de adubação para hortaliças, Magalhães (2012) estimou as quantidades de biossólidos necessárias para suprir as demandas de nutrientes (NPK) das culturas. Para determinar o fator de diluição correspondente à aplicação de biossólidos em t ST/ha (toneladas de sólidos totais por hectare), foi considerado que a incorporação do material se daria em 20 cm de profundidade e em solo com densidade igual a $1,5 \text{ g/cm}^3$.

Com isso, os fatores médios de diluição relativos à incorporação do biossólido no solo, segundo recomendações de adubação de diferentes hortaliças, calculados para alface e cenoura foram, respectivamente, 0,00315 e 0,00255 grama de biossólido por grama de solo (MAGALHÃES, 2012).

4.4.2.3 Decaimento natural dos microrganismos patogênicos no solo

Em ambientes adequados, os ovos de helmintos podem sobreviver no solo por vários anos, como os ovos de *Ascaris lumbricoides*, que podem permanecer infecciosos por até sete anos (GERARDI; ZIMMERMAN, 2004). Corroborando com essa afirmativa, Bastos *et al.* (2009) não consideraram em seus estudos qualquer decaimento de ovos de helmintos, dado o

conhecimento de sua prolongada sobrevivência no solo. Por essa característica, a taxa de decaimento natural também não foi considerada nesse trabalho para análise da dose infectante.

4.4.2.4 Quantidade de solo presente nas culturas no momento de colheita

Bastos *et al.* (2009) admitiram que cada kg de alface e cenoura contém, respectivamente, 2 e 20 g de solo, valores esses muito similares aos obtidos por Magalhães (2012) no experimento realizado, no qual foi medida a quantidade de solo aderida às alfaces e cenouras imediatamente após a colheita, sem qualquer processo de lavagem.

4.4.2.5 Remoção de organismos patogênicos entre colheita e consumo

Conforme as diretrizes publicadas pela OMS (WHO, 2006a), a lavagem vigorosa de hortaliças de superfície rugosa com água de torneira pode reduzir o teor de bactérias em pelo menos 1 unidade logarítmica e, no caso das culturas de superfície lisa, em pelo menos 2 unidades logarítmicas. Também é indicado que outras medidas de preparação alimentos, como o descascamento de frutas e tuberosas e a lavagem com solução desinfetante ou detergente (como hipoclorito ou detergente líquido) seguida do enxágue com água de torneira, pode reduzir as quantidades de patógenos em 1 a 2 unidades logarítmicas (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 - Remoção de organismos patogênicos alcançada por medidas de preparação de alimentos.

| Medida de controle | Redução de patógenos (unidades log₁₀) | Observações |
|---------------------------|---|--|
| Lavagem com água | 1 | Lavagem de hortaliças, legumes e frutas com água limpa |
| Desinfecção | 2 | Lavagem de hortaliças, legumes e frutas com solução de desinfetante fraco e enxágue com água limpa |
| Descascamento | 2 | Frutas e tuberosas |
| Cozimento | 6 a 7 | Imersão dos alimentos em água fervente ou próximo à ebulição até o cozimento garante a destruição dos patógenos. |

Fonte: WHO, 2006a.

Conforme descrito anteriormente no item 4.3.4 Cenários avaliados, foram adotadas reduções de 1 log (cenário 2) e 2 logs (cenário 3) de ovos viáveis de áscaris, devido à lavagem dos alimentos com água e com solução de desinfetante fraco, respectivamente. Ressalta-se, ainda, que foi avaliado o cenário sem lavagem prévia dos alimentos (Cenário 1).

4.4.2.6 Consumo *per capita* das culturas contempladas

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) publica periodicamente, no âmbito da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), dados de aquisição *per capita* de diversos produtos alimentícios por grandes regiões, unidades de federação, renda, situação do domicílio, forma de aquisição, faixa etária, etc (IBGE, 2020). Com base nesses dados, para efeito de avaliação de risco, foi considerado que o consumo *per capita* semanal de olerícolas (folhosas e raízes) ingeridas cruas é de 7,70 g de alface e 4,20 g de cenoura (dados de consumo alimentar semanal médio *per capita* para a faixa etária de adolescentes, da Pesquisa de Orçamentos Familiares do IBGE de 2017-2018) (IBGE, 2020).

4.4.3 Avaliação da dose-resposta

A probabilidade da exposição a determinado patógeno, via consumo de alimento ou partículas de solo, resultar em infecção ou doença em qualquer indivíduo dentro de uma população é muito variável e depende de interações complexas entre agente e hospedeiro. Infeciosidade, patogenicidade e viabilidade são algumas das características inerentes ao agente patogênico e importantes nessa interação, enquanto imunidade, estado nutricional e condições socioeconômicas são algumas das características inerentes ao hospedeiro (HAAS *et al.*, 1999).

Devido a essa complexidade foram formulados modelos dose-resposta, que são modelos matemáticos, que permitem estimar o risco de infecção associado à ingestão de uma dose (d_i) de determinado microrganismo (MAGALHÃES, 2012).

Então, nessa terceira etapa, o objetivo foi relacionar a dose de *A. lumbricoides* determinada e a probabilidade de infecção em uma única exposição, utilizando estudos experimentais, anteriormente citados, que forneceram informações sobre dose-resposta para esses microrganismos. De acordo com Haas *et al.* (1999), o modelo Beta-Poisson é o que

expressa maior heterogeneidade na interação microrganismo-hospedeiro quando comparado a outros, de modo que tal modelo foi aplicado nesse estudo.

O modelo dose resposta Beta-Poisson (Eq.2), é descrito por dois parâmetros base, a dose infectante média (N_{50}) e o parâmetro de decaimento α . A dose infectante também pode ser representada pela (Eq.3), em função de uma constante de proporcionalidade β .

$$P_i = 1 - \left[1 + \left(\frac{d_i}{N_{50}} \right) \times \left(2^{\frac{1}{\alpha}} - 1 \right) \right]^{-\alpha} \quad (\text{Eq.2})$$

$$N_{50} = \beta \times \left(2^{\frac{1}{\alpha}} - 1 \right) \quad (\text{Eq.3})$$

A partir das Equações 2 e 3 o modelo dose resposta pode ser simplificado na (Eq.4):

$$P_i = 1 - \left(1 + \frac{d_i}{\beta} \right)^{-\alpha} \quad (\text{Eq.4})$$

Onde P_i é a probabilidade de infecção para uma única exposição; d_i é a dose de patógenos ingeridos e α e β são parâmetros oriundos da interação agente-hospedeiro.

Navarro et al. (2009) propuseram o ajuste de modelos beta-Poisson a dados de dose-resposta de helmintos de acordo com duas vias de exposição: (i) consumo de produtos agrícolas irrigados com águas residuárias ($N_{50} = 859$; $\alpha = 0,104$; $\beta = 1,096$); e (ii) ingestão involuntária de partículas de solo irrigado com águas residuárias ($N_{50} = 35$; $\alpha = 0,104$; $\beta = 0,044$). Assim, foram adotados como parâmetros oriundos da interação agente-hospedeiro para *Ascaris* $\alpha = 0,104$ e $\beta = 1,096$.

4.4.4 Caracterização do risco

A caracterização do risco consiste na combinação das informações sobre determinado cenário de exposição e da relação dose-resposta para expressar os riscos de infecção (a um dado agente patogênico) associados a uma população exposta a determinado perigo. Partindo do princípio de que cada evento de exposição é considerado independentemente, a estimativa da probabilidade de infecção devida a múltiplas exposições pode ser calculada de acordo com as premissas da distribuição binomial. Se a probabilidade de infecção para uma única exposição à dose d_i é dada por P_i , então a probabilidade do indivíduo não ser infectado é $1-P_i$. Logo, para n

exposições a probabilidade de não infecção é dada por $(1-P_i)^n$ e a probabilidade de infecção é dada pela (Eq.5) (HAAS *et al.*, 1999; MAGALHÃES, 2012).

$$P_n = 1 - (1 - P_i)^n \quad (\text{Eq.5})$$

Sendo P_n o risco anual, P_i a probabilidade de infecção para uma única exposição e n o número ou frequência de exposições ao longo de um ano.

O período de um ano foi adotado a fim de que se possam comparar os resultados obtidos com os valores de referência da OMS.

As diretrizes da OMS para a utilização de esgotos sanitários (WHO, 2006a) são baseadas no conceito de “carga de doença”, medida pelo indicador “anos de vida perdidos ajustados por incapacidade” (da sigla inglesa DALYs – *Disability Adjusted Life Years*), o qual permite a transformação de uma “incapacidade vivenciada” em “anos de vida saudáveis perdidos”.

Mara (2010a) afirma que a OMS assume como carga de doença tolerável 1×10^{-6} DALY pppa (por pessoa por ano), então, assumindo uma perda de $8,25 \times 10^{-3}$ DALY por casos de ascaridíase (CHAN, 1997) e, tomando como pior cenário, uma proporção de doença/infecção por *Ascaris* de 1 (ou seja, todos aqueles infectados com *Ascaris* desenvolvem ascaridíase), o risco tolerável de infecção por *Ascaris* é dado por (Eq.6):

$$\frac{\text{DALY tolerável pppa (OMS)}}{\text{DALY por casos de ascaridíase}} = \frac{10^{-6}}{8,25 \times 10^{-3}} = 1,2 \times 10^{-4} \text{ pppa} \quad (\text{Eq.6})$$

Logo, 10^{-6} DALY pppa corresponde ao nível de risco tolerável anual de $1,2 \times 10^{-4}$ pppa para *Ascaris*, e que foi o valor usado como referência na análise dos resultados obtidos após a aplicação da AQRM.

4.5 CONCENTRAÇÕES DE HELMINTOS NO BIOSSÓLIDO QUE RESULTARIAM EM NÍVEIS DE RISCOS TOLERÁVEIS

Com o objetivo de reproduzir e avaliar as restrições impostas pela Resolução CONAMA 498/2020 (CONAMA, 2020), pelas diretrizes da OMS (WHO, 2006a) e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. EPA, 1993), os modelos descritos no item 4.4 foram utilizados de forma inversa, ou seja, partindo de um nível de risco tido como

tolerável, foram calculadas as concentrações de *Ascaris* no biossólido que resultariam nesses valores.

Esse procedimento foi empregado a partir do cenário de exposição 1, considerado para a estimativa de riscos quando não há remoção dos patógenos na alface e cenoura ingeridas cruas (cenário 1), tendo em vista que os cenários 2 e 3 de remoção de 1 e 2 logs, respectivamente, resultaria em riscos menores que os obtidos no Cenário 1.

4.5.1 Probabilidade de infecção tolerável para exposição única (P_i')

A probabilidade do risco de infecção anual (P_n) foi dada na Equação 5 (Eq.5) em função de n e P_i , logo, partindo do pressuposto de que o risco de infecção anual adotado seja igual ao definido pelas diretrizes da OMS para a utilização de esgotos sanitários (MARA, 2010a; WHO, 2006a) de $1,2 \times 10^{-4}$ pppa para *Ascaris* (correspondente à 10^{-6} DALY pppa), então, podemos calcular a probabilidade de infecção associada a uma única exposição (P_i') associada ao risco anual tolerável, conforme a equação a seguir (Eq.7).

$$\begin{aligned}
 P_n &= 1 - (1 - P_i')^n \\
 (1 - P_i')^n &= 1 - P_n \\
 1 - P_i' &= (1 - P_n)^{\frac{1}{n}} \\
 P_i' &= 1 - (1 - P_n)^{\frac{1}{n}} \quad (\text{Eq.7})
 \end{aligned}$$

Onde, P_i' é a probabilidade de infecção tolerável para uma exposição única, P_n é o risco de infecção anual tolerável ($1,2 \times 10^{-4}$ pppa para *Ascaris*) e n é o número ou frequência de exposições ao longo de um ano.

Portanto, a probabilidade de infecção será função do número de exposições ao longo do período de um ano (n).

4.5.2 Dose tolerável por exposição (d_i')

A probabilidade de infecção por uma única exposição foi calculada na Equação 4 (Eq.4) em função dos valores de d_i (dose infectante por exposição), α e β (parâmetros oriundos

da interação agente-hospedeiro). Então, adotamos os mesmos valores de α e β da aplicação da AQRM (item 4.4.3) e calculamos então a dose tolerável por exposição (d_i') através da equação a seguir (Eq.8).

$$P_i' = 1 - \left(1 + \frac{d_i'}{\beta}\right)^{-\alpha}$$

$$\left(1 + \frac{d_i'}{\beta}\right)^{-\alpha} = 1 - P_i'$$

$$1 + \frac{d_i'}{\beta} = (1 - P_i')^{-\frac{1}{\alpha}}$$

$$d_i' = \beta \times ([1 - P_i']^{-\frac{1}{\alpha}} - 1) \quad (\text{Eq.8})$$

Onde d_i' é a dose tolerável de patógenos ingeridos, P_i' é a probabilidade de infecção tolerável para uma única exposição, e α e β são parâmetros oriundos da interação agente-hospedeiro.

Foram adotados como parâmetros oriundos da interação agente-hospedeiro para *Ascaris* $\alpha = 0,104$ e $\beta = 1,096$ (NAVARRO *et al.*, 2009).

4.5.3 Concentração tolerável de *Ascaris* em bio sólidos ($C_{Asc.biosld'}$)

A dose infectante por exposição foi calculada na aplicação da AQRM através da Equação 1 (Eq.1) em função do consumo *per capita* de culturas (M) e da concentração de patógenos nas culturas produzidas ou no solo/bio sólido (C_i), a partir dessa equação é possível determinar a concentração tolerável de *Ascaris* em bio sólidos ($C_{Asc.biosld'}$) para as culturas de alface e cenoura, analisando as mesmas variáveis do item 4.4.2 utilizadas para estimar a dose de patógenos ingerida pelo consumo de produtos agrícola.

4.6 DISCUSSÃO SOBRE OS VALORES ADOTADOS POR LEGISLAÇÕES E DIRETRIZES PARA A APLICAÇÃO DE BIOSSÓLIDOS

Nesta última etapa, após aplicar a ferramenta AQRM para determinar os riscos de infecções anuais e calcular as concentrações de helmintos que resultariam em níveis de riscos

toleráveis para a utilização de biossólidos em solos agrícolas, os resultados obtidos foram comparados com os valores de referência adotados pelas normas e legislações em nível nacional e internacional, acerca dos padrões de qualidade dos biossólidos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 PESQUISA BIBLIOMÉTRICA

Os temas “Avaliação de risco associados a helmintos” em “biossólidos” ou “lodos de esgoto” tem sido estudado de forma relativamente recente, principalmente em função da preocupação com o crescimento sustentável da disposição final dos resíduos de ETEs.

Com isso, analisando indicadores bibliométricos a respeito do tema, utilizando a base Elsevier’s Scopus, foram coletados dados sobre os principais autores, países, períodos, áreas e instituições que mais publicam.

Como resultado da pesquisa bibliométrica, foram obtidos 559 documentos associados à combinação das palavras chaves, conforme a Tabela 5.1 que mostra os tipos desses documentos.

Tabela 5.1 - Tipos de documentos obtidos nos resultados da pesquisa bibliométrica.

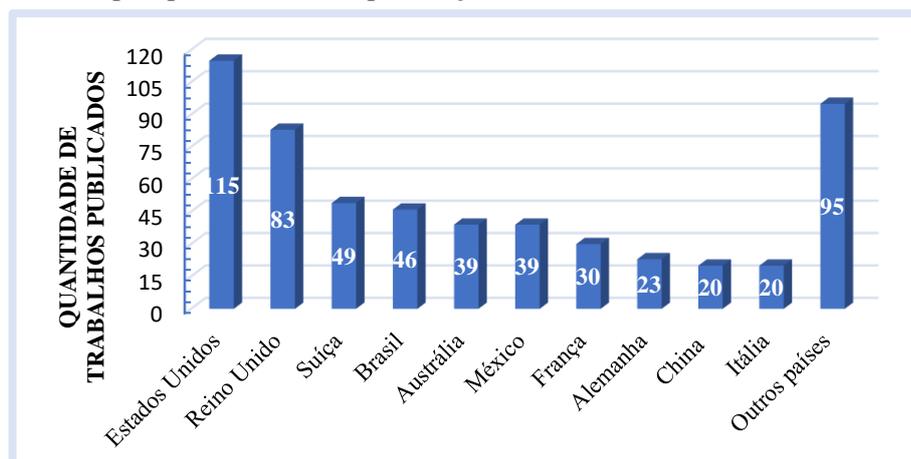
| Document Type (Tipo de Documento) | Quantidade | Porcentagem (%) |
|---|-------------------|------------------------|
| <i>Article</i> (Artigos) | 447 | 79,96 |
| <i>Review</i> (Revisões) | 50 | 8,94 |
| <i>Conference Paper</i> (Documentos de conferências) | 40 | 7,16 |
| <i>Letter</i> | 7 | 1,25 |
| <i>Book Chapter</i> (Capítulo de livros) | 5 | 0,89 |
| <i>Others</i> (Outros) | 10 | 1,79 |

Fonte: O autor, 2021.

5.1.1 Análise dos principais países

Na Figura 5.1 estão listados os 10 países que mais publicaram artigos na base Scopus, entre os anos de 1977 e 2021, nos temas adotados nessa pesquisa.

Figura 5.1 – Principais países com mais publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus.



Fonte: O autor, 2021.

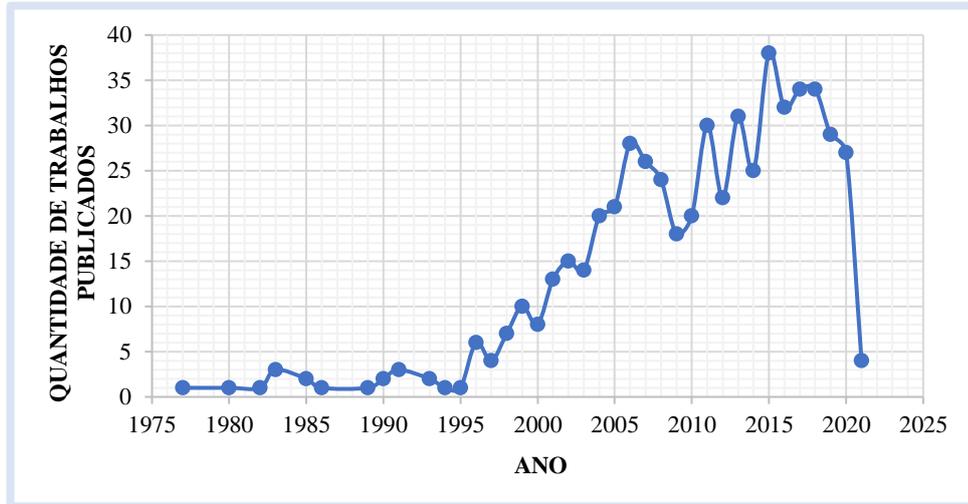
É possível observar que os Estados Unidos constituem o país que mais tem publicações na base Scopus, sendo que, sobre este tema em específico, concentra cerca de 20,6% das publicações. O Reino Unido e a Suíça alternam as posições 2 e 3 no ranking dos que mais publicam, com 14,8% e 8,8%, respectivamente. O Brasil, quando analisado especificamente sobre os temas em estudo, se encontra em 4º lugar, com 46 trabalhos publicados, equivalente a aproximadamente 8,2%.

5.1.2 Análise da evolução temporal

Como pode-se observar na Figura 5.2, as publicações na base da Scopus, levando em consideração aquelas relacionadas aos temas “avaliação de risco associados a helmintos” em “biossólidos” ou “lodos de esgoto”, apresentam crescimento considerável a partir do ano 1995, atingindo o máximo de trabalhos publicados no ano de 2015 (38 trabalhos).

Entretanto, percebe-se uma queda de publicações nos últimos anos, podendo associar as quedas dos anos de 2020 e 2021 à pandemia causada pelo novo Corona Vírus, e tendo em vista também, que no presente ano de 2021 foram publicados apenas 4 trabalhos, mas que a análise bibliométrica foi feita no mês de abril e pode não retratar os números reais ao final do ano.

Figura 5.2 – Evolução temporal das publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus.

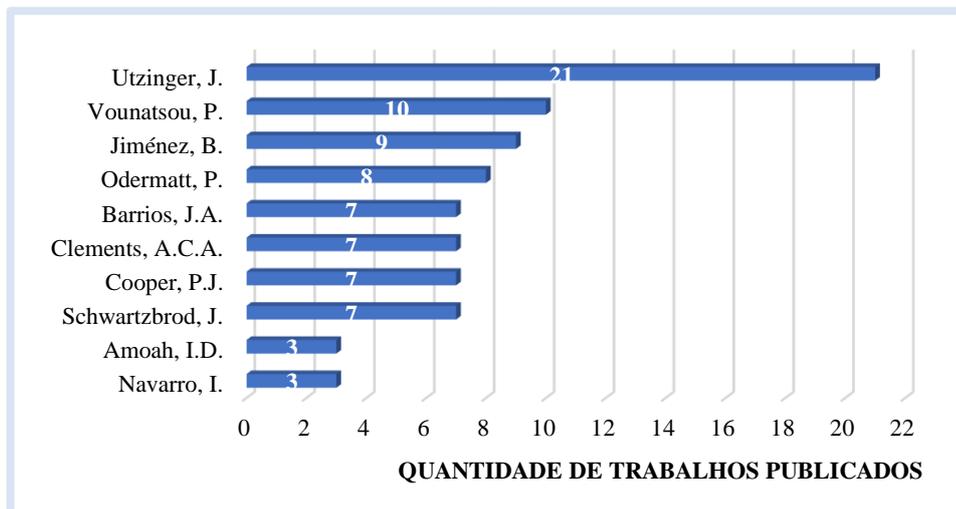


Fonte: O autor, 2021.

5.1.3 Análise dos principais autores

Na Figura 5.3 é possível observar que vários autores trazem reflexões importantes sobre “avaliação de risco associados a helmintos” em “biossólidos” ou “lodos de esgoto”, dentre eles, Ines Navarro e Blanca Elena Jiménez, pesquisadoras mexicanas que desenvolveram diversos estudos a respeito do uso de biossólidos e a avaliação de risco associados a helmintos. Seus estudos são tidos como referências até os dias atuais (AMOAH et al., 2020; KUMWENDA et al., 2017), inclusive serviu de base para este trabalho quanto ao uso de lodo de esgotos na agricultura.

Figura 5.3 – Principais autores com mais publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus.

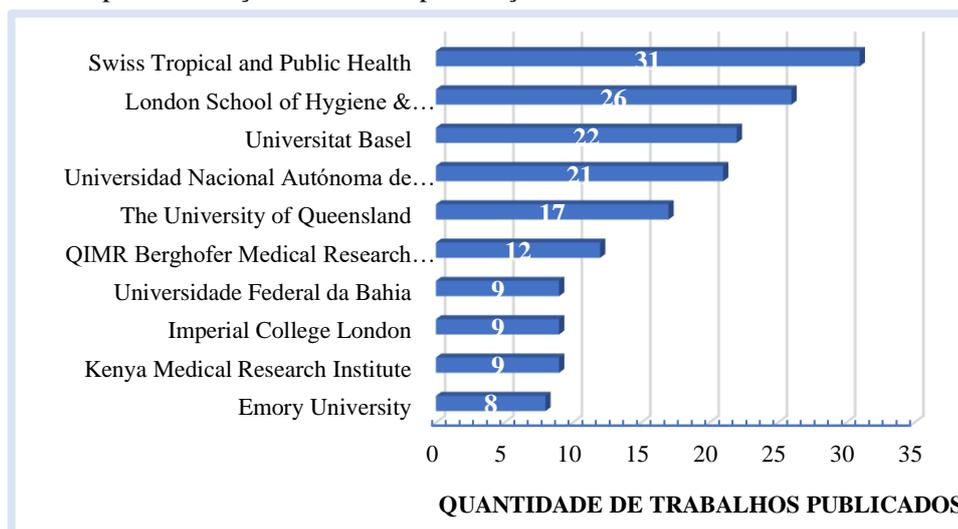


Fonte: O autor, 2021.

5.1.4 Análise das principais instituições

No mundo inteiro ocorrem pesquisas ligadas à utilização de bioossólidos devido a sua composição e benefícios que esses materiais trazem ao solo, e por isso muitas instituições de ensino têm realizado estudos sobre o tema. Na Figura 5.4, fica notório o interesse em desenvolvimento dessa área por instituições suíças, através do Instituto Suíço de Saúde Pública e Tropical (*Swiss Tropical and Public Health*) e Universidade de Basel (*Universitat Basel*), respectivamente, primeira e terceira instituição que mais publicam sobre os temas em estudo, além da Escola de Higiene e Medicina Tropical de Londres (*London School of Hygiene & Tropical Medicine*), instituição inglesa que figura em segundo lugar no ranking. É possível também destacar a Universidade Federal da Bahia com 9 publicações, aparecendo como a 7ª instituição que mais publica sobre os temas desse estudo no mundo.

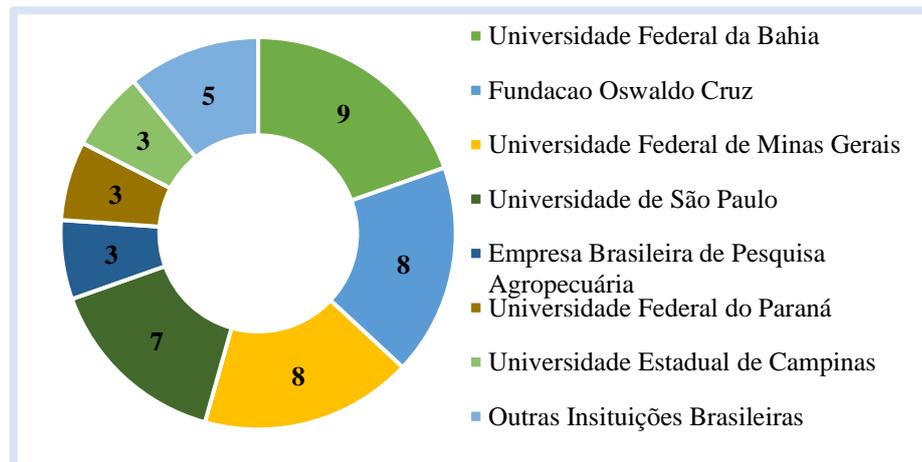
Figura 5.4 - Principais instituições com mais publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus.



Fonte: O autor, 2021.

Na Figura 5.5 observa-se as principais instituições brasileiras que se destacam na publicação de estudos sobre “avaliação de risco associados a helmintos” em “bioossólidos” ou “lodos de esgoto”, no qual, além da Universidade Federal da Bahia que figura também como destaque nas instituições ao redor do mundo, a Fundação Oswaldo Cruz e a Universidade Federal de Minas Gerais, ambas com 8 publicações, e a Universidade de São Paulo, com 7 publicações, contribuem bastante para o desenvolvimento de estudo dessas áreas no país.

Figura 5.5 - Principais instituições brasileiras com mais associações a publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus.

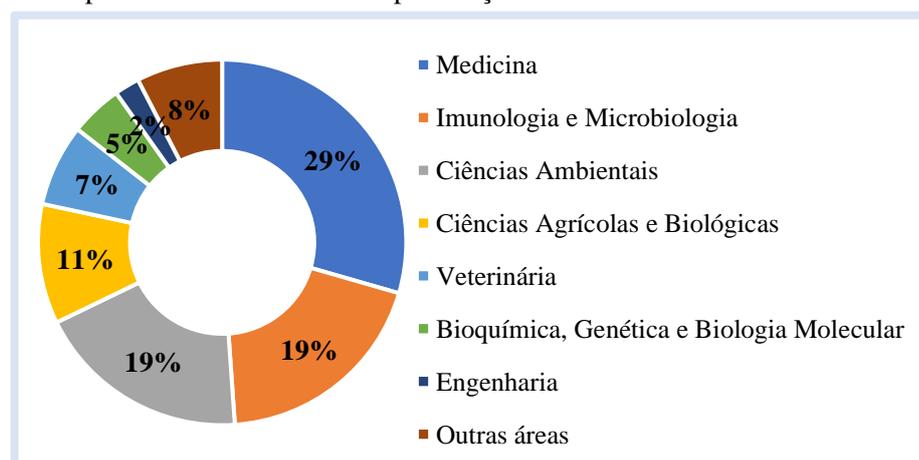


Fonte: O autor, 2021.

5.1.5 Análise das principais áreas

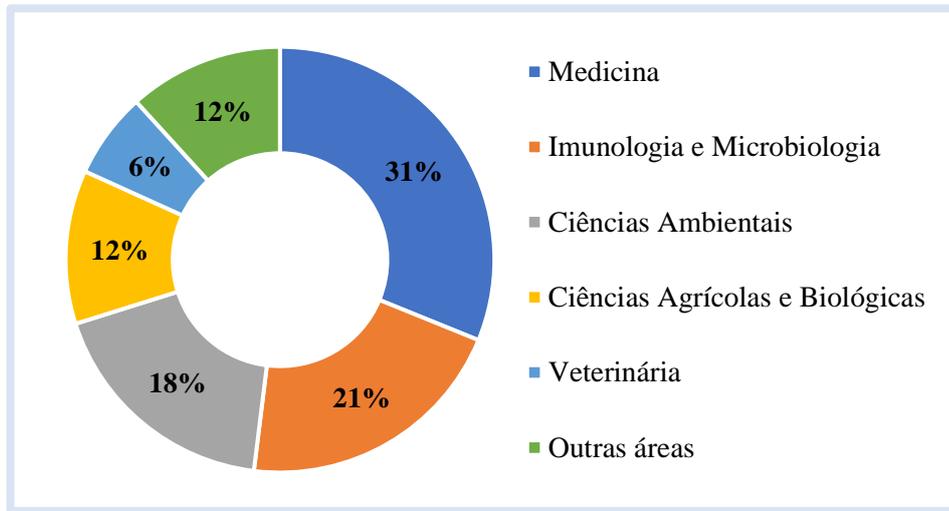
Os temas de estudo desse trabalho fazem parte de um campo multidisciplinar, sendo abordado por diversos setores de pesquisas, tendo como principais áreas associadas aos trabalhos publicados na base da Scopus, tanto no Brasil (Figura 5.7) como no mundo (Figura 5.6), as áreas de Medicina, Imunologia e Microbiologia e Ciências Ambientais. As áreas de Engenharia apenas representam cerca de 2% das publicações totais. A ideia extraída das figuras é a integração e interação dos temas desse trabalho com as várias ciências, demonstrando sua importância.

Figura 5.6 - Principais áreas relacionadas as publicações sobre os temas em estudo na base da Scopus.



Fonte: O autor, 2021.

Figura 5.7 - Principais áreas relacionadas as publicações brasileiras sobre os temas em estudo na base da Scopus.



Fonte: O autor, 2021.

5.2 DADOS DE BIODSÓLIDOS A SEREM AVALIADOS

Na Tabela 5.2 estão representadas as concentrações de ovos viáveis de helmintos no início e no final do período de secagem de lodo do estudo conduzido por Santos *et al.* (2017).

Tabela 5.2 - Médias e desvios padrões da concentração de ovos viáveis de helmintos por grama de sólidos totais.

| Tipo de lodo | Tempo (dias) | Número de ovos viáveis de helmintos/grama de sólidos totais |
|-------------------------------------|--------------|---|
| C ₀ (<i>in natura</i>) | 0 | 141,21 ± 216,64 |
| C ₉₀ (Classe A) | 90 | 0,44 ± 0,77 |

Fonte: Adaptado, SANTOS *et al.* (2017).

O material da concentração C₀ não se classifica como biossólido, visto que não passou por processo de tratamento e higienização, ou seja, é o lodo *in natura*. O material C₉₀ gerado após tratamento em leitos de secagem, pode ser classificado como biossólido Classe A, visto que a Resolução CONAMA nº 498/20 prevê que as concentrações de ovos de helmintos devem ser menores que 1 ovo viável de helminto por grama de sólidos totais (< 1 ovo / g ST), para a Classe A, e não especifica a concentração de ovos viáveis de helmintos para a Classe B.

5.2.1 Concentração de ovos viáveis de *Ascaris lumbricoides*

Como comentado anteriormente, segundo Jimenez *et al.* (2006) a concentração da espécie *Ascaris lumbricoides* em relação à quantidade total de ovos de helmintos, tanto em biossólidos como em lodos de esgotos, é de aproximadamente 90%. Assim, foram determinados 3 cenários diferentes a serem avaliados por meio da Análise Quantitativa de Risco Microbiológico, tomando como base 90% das concentrações médias do número de ovos de helmintos nas amostras de lodo no tempo inicial (C_0) e após 90 dias de secagem em leito (C_{90}), conforme indicado na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Concentrações de ovos viáveis de *Ascaris* por grama de sólidos totais utilizadas na aplicação da AQRM.

| Tipo de lodo | Tempo (dias) | Número de ovos viáveis de helmintos/g de sólidos totais | Número de ovos viáveis de <i>Ascaris</i> /g de sólidos totais |
|--------------|--------------|---|---|
| C_0 | 0 | 141,21 | 127,09 |
| C_{90} | 90 | 0,44 | 0,40 |

Fonte: O autor, 2021.

5.3 ANÁLISE QUANTITATIVA DE RISCO MICROBIOLÓGICO

A AQRM foi aplicada segundo estimativas de riscos aos consumidores de alface e cenoura produzidas com uso de lodo *in natura* (C_0) e biossólidos Classe A (C_{90}).

5.3.1 Identificação do perigo

Os microrganismos contemplados na Avaliação Quantitativa de Riscos Microbiológicos foram os helmintos da espécie *Ascaris lumbricoides*. A escolha se deu devido à importância desses organismos em termos de saúde pública e à ocorrência frequente em amostras de lodos de esgotos ou biossólidos.

5.3.2 Avaliação da exposição

As doses de patógenos ingeridas em cada evento de exposição foram calculadas segundo o modelo expresso pela Equação (Eq.9), que é uma expansão da Equação (Eq.1) em função da concentração de patógenos nos bio sólidos e dos caminhos e barreiras até o consumo das hortaliças possivelmente contaminadas (MAGALHÃES, 2012).

$$d_i = C_{Asc.biosld} * F_{dil.biosld} * D_{Asc.solo} * R_{solo.cultura} * R_{higien} * M \quad (Eq.9)$$

Onde d_i é a dose de patógenos ingerida a cada evento de exposição; $C_{Asc.biosld}$ é a concentração de microrganismo no bio sólido (em ovos viáveis de *Ascaris* / g bio sólidos); $F_{dil.biosld}$ é o fator de diluição do bio sólido no solo (g bio sólido / g solo); $D_{Asc.solo}$ é o decaimento dos patógenos no solo; $R_{solo.cultura}$ é a relação da quantidade de solo aderido às culturas (g solo / kg cultura); R_{higien} é a remoção de patógenos por medidas de higienização das hortaliças (10^{-x}); e M é o consumo *per capita* de culturas.

As variáveis do modelo de exposição foram definidas como descrito a seguir:

- Concentração de organismos patogênicos no bio sólido: Concentração de ovos viáveis de *Ascaris* por grama de sólidos totais conforme a Tabela 5.3;
- Fator de diluição por incorporação do bio sólido ao solo: calculado a partir de recomendações de adubação para diferentes culturas (MAGALHÃES, 2012);
- Decaimento dos microrganismos patogênicos no solo: Como abordado no item 4.4.2.3, o decaimento dos patógenos no solo ($D_{Asc.solo}$) não foi considerado nos cálculos para a dose infectante, tendo em vista que o ciclo de cultivo de alface é de 50 a 80 dias, o ciclo de cultivo de cenoura é de 85 a 110 dias, e os ovos de *Ascaris lumbricoides* podem permanecer infecciosos por até sete anos, tornando essa taxa de decaimento pouco relevante para os cálculos (BASTOS *et al.*, 2009; MAGALHÃES, 2012).
- Quantidade de solo aderido às culturas no momento de colheita: adotado com base nos resultados obtidos por Bastos *et al.* (2009) e Magalhães (2012) para as culturas de alface e cenoura;
- Remoção de organismos patogênicos entre colheita e consumo por meio de higienização dos alimentos: assumida com base em informações de literatura (WHO, 2006a);

- Consumo semanal *per capita* das culturas: valores especificados na Pesquisa de Orçamentos Familiares do IBGE de 2017-2018 (IBGE, 2020).

As avaliações da exposição para o consumo de alface e cenoura obtidas através dos valores das doses ingeridas, calculadas a partir da equação (Eq.9), estão indicadas nas tabelas a seguir (Tabela 5.4 e Tabela 5.5, respectivamente) para os seguintes cenários avaliados: sem nenhum processo de lavagem (cenário 1, sem remoção de patógenos), lavagem com água limpa (cenário 2, remoção de 1 log de ovos de *Ascaris*) e lavagem com desinfetante fraco (cenário 3, remoção de 2 logs de ovos de *Ascaris*).

Tabela 5.4 – Dose ingerida com o consumo de alface para os cenários 1, 2 e 3.

| Cenário | Tipo de lodo | $C_{Asc.biosld}^{(a)}$ | $F_{dil.biosld}^{(b)}$ | $R_{solo.cultura}^{(c)}$ | $R_{higien}^{(d)}$ | $M^{(e)}$ | $d_i^{(f)}$ |
|----------------------|--------------|------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------|-----------|-----------------------|
| 1 (sem remoção) | C_0 | 127,09 | 0,00315 | 0,002 | 10^0 | 7,70 | $6,17 \times 10^{-3}$ |
| | C_{90} | 0,40 | | | | | $1,92 \times 10^{-5}$ |
| 2 (remoção de 1 log) | C_0 | 127,09 | 0,00315 | 0,002 | 10^{-1} | 7,70 | $6,17 \times 10^{-4}$ |
| | C_{90} | 0,40 | | | | | $1,92 \times 10^{-6}$ |
| 3 (remoção de 2 log) | C_0 | 127,09 | 0,00315 | 0,002 | 10^{-2} | 7,70 | $6,17 \times 10^{-5}$ |
| | C_{90} | 0,40 | | | | | $1,92 \times 10^{-7}$ |

Fonte: O autor, 2021. Notas: (a) ovos viáveis de *Ascaris* por grama de sólidos totais de biossólidos; (b) grama de sólidos totais de biossólidos por grama de sólidos totais de solo; (c) gramas de sólidos totais de solo por 1000 gramas de alface; (d) unidades logarítmicas; (e) gramas de alface; (f) dose ingerida (ovos viáveis de *Ascaris*).

Tabela 5.5 – Dose ingerida com o consumo de cenoura para os cenários 1, 2 e 3.

| Cenário | Tipo de lodo | $C_{Asc.biosld}^{(a)}$ | $F_{dil.biosld}^{(b)}$ | $R_{solo.cultura}^{(c)}$ | $R_{higien}^{(d)}$ | $M^{(e)}$ | $d_i^{(f)}$ |
|----------------------|--------------|------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------|-----------|-----------------------|
| 1 (sem remoção) | C_0 | 127,09 | 0,00255 | 0,02 | 10^0 | 4,20 | $2,72 \times 10^{-2}$ |
| | C_{90} | 0,40 | | | | | $8,48 \times 10^{-5}$ |
| 2 (remoção de 1 log) | C_0 | 127,09 | 0,00255 | 0,02 | 10^{-1} | 4,20 | $2,72 \times 10^{-3}$ |
| | C_{90} | 0,40 | | | | | $8,48 \times 10^{-6}$ |
| 3 (remoção de 2 log) | C_0 | 127,09 | 0,00255 | 0,02 | 10^{-2} | 4,20 | $2,72 \times 10^{-4}$ |
| | C_{90} | 0,40 | | | | | $8,48 \times 10^{-7}$ |

Fonte: O autor, 2021. Notas: (a) ovos viáveis de *Ascaris* por grama de sólidos totais de biossólidos; (b) grama de sólidos totais de biossólidos por grama de sólidos totais de solo; (c) gramas de sólidos totais de solo por 1000 gramas de cenoura; (d) unidades logarítmicas; (e) grama de cenoura; (f) dose ingerida (ovos viáveis de *Ascaris*).

Com relação às doses ingeridas calculadas de ovos viáveis de *Ascaris lumbricoides* (d_i), fica clara a relevância das concentrações nos bio sólidos, bem como o grau de higienização dos alimentos antes do consumo.

Por sua vez, a despeito do consumo de cenoura (4,2 g/semana) ser menor que o de alface (7,7 g/semana) para a população alvo, as doses ingeridas de patógenos associadas ao consumo de cenoura cultivada em solo beneficiado com bio sólidos foram superiores em relação à alface, o que demonstra a importância da quantidade de solo aderido à cultura após a colheita (g solo/1000g cultura), considerando que a cenoura é uma raiz e, por conseguinte, tem mais contato com o solo. Assim, conclui-se que a concentração de *Ascaris* nos bio sólidos é importante, mas o tipo de cultura também definirá os riscos associados.

5.3.3 Avaliação da dose-resposta

A probabilidade de infecção em uma única exposição para dose de *A. lumbricoides* foi determinada conforme a equação (Eq.4), considerando os 3 cenários em estudo adotando como parâmetros oriundos da interação agente-hospedeiro para *Ascaris* $\alpha = 0,104$ e $\beta = 1,096$. No modelo Beta-Poisson, supõe-se que a dose seja distribuída por Poisson e que um organismo seja suficiente para causar infecção (NAVARRO *et al.*, 2009).

Na Tabela 5.6 e na Tabela 5.7 estão indicadas as probabilidades de infecção para uma única exposição à dose de *Ascaris* quando do consumo de alface e cenoura, respectivamente.

Tabela 5.6 - Avaliação de dose-resposta para o consumo semanal de alface: probabilidade de infecção em uma única exposição nos 3 cenários avaliados.

| Tipo de lodo | α | β | Cenário avaliado | d_i | P_i |
|--------------|----------|---------|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| C_0 | 0,104 | 1,096 | 1 (sem remoção de patógenos) | $6,17 \times 10^{-3}$ | $5,83 \times 10^{-4}$ |
| C_{90} | | | | $1,92 \times 10^{-5}$ | $1,82 \times 10^{-6}$ |
| C_0 | 0,104 | 1,096 | 2 (remoção de 1 log de patógenos) | $6,17 \times 10^{-4}$ | $5,85 \times 10^{-5}$ |
| C_{90} | | | | $1,92 \times 10^{-6}$ | $1,82 \times 10^{-7}$ |
| C_0 | 0,104 | 1,096 | 3 (remoção de 2 log de patógenos) | $6,17 \times 10^{-5}$ | $5,85 \times 10^{-6}$ |
| C_{90} | | | | $1,92 \times 10^{-7}$ | $1,82 \times 10^{-8}$ |

Fonte: O autor, 2021.

Tabela 5.7 - Avaliação de dose-resposta para o consumo semanal de cenoura: probabilidade de infecção em uma única exposição nos 3 cenários avaliados.

| Tipo de lodo | α | β | Cenário avaliado | d_i | P_i |
|--------------|----------|---------|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| C_0 | 0,104 | 1,096 | 1 (sem remoção de patógenos) | $2,72 \times 10^{-2}$ | $2,55 \times 10^{-3}$ |
| C_{90} | | | | $8,48 \times 10^{-5}$ | $8,05 \times 10^{-6}$ |
| C_0 | 0,104 | 1,096 | 2 (remoção de 1 log de patógenos) | $2,72 \times 10^{-3}$ | $2,58 \times 10^{-4}$ |
| C_{90} | | | | $8,48 \times 10^{-6}$ | $8,05 \times 10^{-7}$ |
| C_0 | 0,104 | 1,096 | 3 (remoção de 2 log de patógenos) | $2,72 \times 10^{-4}$ | $2,58 \times 10^{-5}$ |
| C_{90} | | | | $8,48 \times 10^{-7}$ | $8,05 \times 10^{-8}$ |

Fonte: O autor, 2021.

Os resultados indicam que os riscos associados ao consumo de alface para uma única exposição variaram de $1,82 \times 10^{-8}$ a $5,83 \times 10^{-4}$ (por pessoa por semana), enquanto que para o consumo de cenoura a variação foi de $8,05 \times 10^{-8}$ a $2,55 \times 10^{-3}$ (por pessoa por semana).

Navarro *et al.* (2009) avaliando os riscos de infecção por *Ascaris* pelo consumo de cenoura e espinafre cultivados com biossólidos concluíram que a probabilidade de infecção por espinafre ingerido cru é uma ou duas ordens de grandeza maior que a causada pela ingestão de cenouras. Nesse caso, os pesquisadores destacaram as elevadas taxas de aplicação de biossólidos nas culturas de espinafre em função das necessidades nutricionais.

5.3.4 Caracterização do risco anual de infecção

As estimativas de riscos de infecção anual associados ao consumo de hortaliças cultivadas em solo com aplicação de biossólido Classe A (C_{90}) e lodo *in natura* (C_0) são apresentadas, respectivamente, na Tabela 5.8 (para o consumo de alface) e na Tabela 5.9 (para o consumo de cenoura).

Tabela 5.8 - Caracterização do risco anual (P_n) para o consumo de alface: probabilidade de infecção (pppa) nos 3 cenários avaliados.

| Biossólido | n ^(a) | Cenário avaliado | P_i | P_n |
|------------|------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| C_0 | 52 | 1 | $5,83 \times 10^{-4}$ | $2,99 \times 10^{-2}$ |
| C_{90} | | (sem remoção de patógenos) | $1,82 \times 10^{-6}$ | $9,48 \times 10^{-5}$ |
| C_0 | 52 | 2 | $5,85 \times 10^{-5}$ | $3,04 \times 10^{-3}$ |
| C_{90} | | (remoção de 1 log de patógenos) | $1,82 \times 10^{-7}$ | $9,48 \times 10^{-6}$ |
| C_0 | 52 | 3 | $5,85 \times 10^{-6}$ | $3,04 \times 10^{-4}$ |
| C_{90} | | (remoção de 2 log de patógenos) | $1,82 \times 10^{-8}$ | $9,48 \times 10^{-7}$ |

Fonte: O autor, 2021. Notas: (a) como o consumo *per capita* das culturas adotado foi semanal, então, n é igual a 52 semanas/ano para calcular o risco anual.

Tabela 5.9 - Caracterização do risco anual (P_n) para o consumo de cenoura: probabilidade de infecção (pppa) nos 3 cenários avaliados.

| Biossólido | n ^(a) | Cenário avaliado | P_i | P_n |
|------------|------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| C_0 | 52 | 1 | $2,55 \times 10^{-3}$ | $1,24 \times 10^{-1}$ |
| C_{90} | | (sem remoção de patógenos) | $8,05 \times 10^{-6}$ | $4,18 \times 10^{-4}$ |
| C_0 | 52 | 2 | $2,58 \times 10^{-4}$ | $1,33 \times 10^{-2}$ |
| C_{90} | | (remoção de 1 log de patógenos) | $8,05 \times 10^{-7}$ | $4,19 \times 10^{-5}$ |
| C_0 | 52 | 3 | $2,58 \times 10^{-5}$ | $1,34 \times 10^{-3}$ |
| C_{90} | | (remoção de 2 log de patógenos) | $8,05 \times 10^{-8}$ | $4,19 \times 10^{-6}$ |

Fonte: O autor, 2021. Notas: (a) como o consumo *per capita* das culturas adotado foi semanal, então, n é igual a 52 semanas/ano para calcular o risco anual.

Sobre os resultados referentes ao consumo de hortaliças cultivadas em solo beneficiado com biossólido Classe A (C_{90} , na Tabela 5.8 e Tabela 5.9), pode-se dizer que tal prática levaria, segundo os modelos de exposição construídos, a valores de riscos anuais aceitáveis, se comparados aos valores tidos como toleráveis pela OMS. Os riscos de infecção por *Ascaris* se mostraram inferiores ao valor de risco tolerável ($1,2 \times 10^{-4}$ pppa) correspondente ao valor de DALY tolerável de 10^{-6} pppa (MARA *et al.*, 2010a), exceto para o Cenário 1 relativo ao consumo de cenoura ($4,18 \times 10^{-4}$ pppa).

Com relação ao uso de lodo *in natura* (C_0 , na Tabela 5.8 e Tabela 5.9), a AQRM resultou em estimativas de risco mais elevadas, da ordem de 3 logs em relação aos biossólidos Classe A (C_{90}). As probabilidades de infecção por *Ascaris lumbricoides* apresentaram riscos anuais superiores ao valor de $1,2 \times 10^{-4}$ pppa (valor de risco tolerável correspondente a DALY

tolerável de 10^{-6} pppa) para todos os cenários avaliados. Esses resultados associados ao uso de lodo *in natura*, poderiam, em parte, ser creditados à não consideração de decaimento desses organismos no solo (decisão tomada em função da longa sobrevivência desses microrganismos no ambiente).

No geral, considerando os resultados obtidos para o risco de infecção por ovos de helmintos, foram registrados riscos elevados apenas para a simulação de uso de lodo *in natura*.

Por fim, cabe observar que os riscos associados ao cultivo de cenoura mostraram-se sempre superiores aos de alface, possivelmente devido ao cenário construído de maior aderência de partículas de solo nesse tipo de cultura. Entretanto, exatamente por isso, tubérculos e raízes são em geral submetidos a maiores cuidados de limpeza, o que, conforme analisado nos cenários 2 e 3, reduziu o risco de infecção.

5.4 CONCENTRAÇÕES DE HELMINTOS NO BIOSSÓLIDO QUE RESULTARIAM EM NÍVEIS DE RISCOS TOLERÁVEIS

A AQRM também pode ser aplicada de forma inversa, partindo do risco tido como aceitável, por exemplo, o adotado pela OMS ($1,2 \times 10^{-4}$ pppa), e chegando-se à dose limite que poderia ser ingerida, conforme indicado nos itens 4.5.1 e 4.5.2 da metodologia.

De acordo com a (Eq.7) a probabilidade de infecção é função do número de exposições ao longo do período de um ano (n). Como foram aplicados os mesmos parâmetros e variáveis da AQRM (item 5.3), a frequência da exposição anual (n) foi igual a 52 (número de semanas em um ano) visto que os valores do consumo *per capita* para alface e cenoura eram referentes ao consumo semanal.

A partir da adoção do nível de risco anual tolerável para *Ascaris*, foram calculadas as probabilidades de infecções para uma única exposição (aqui considerada uma semana) às doses de patógenos que, ao serem ingeridas junto com as culturas analisadas nesse estudo (alface e cenoura), resultariam nesse nível de risco, e, em seguida, foram calculadas as concentrações dos microrganismos (*Ascaris* e, posteriormente, helmintos) nos bioossólidos que resultariam em tais doses.

Assim, foi determinado que o risco aceitável para uma semana de exposição é de $P_i' = 2,31 \times 10^{-6}$ (por pessoa por semana).

Com esse valor, a partir da (Eq.8, foi calculada a dose considerada aceitável, ou seja, $d_i' = 2,43 \times 10^{-5}$ ovos de *Ascaris*/g ST.

Considerando, agora, que a dose tolerável é d_i' , as concentrações toleráveis de *Ascaris* em bio sólidos foram calculadas com base na equação 9 (Eq.9), que é uma expansão da equação 1 (Eq.1) calculada em função da concentração de patógenos nos bio sólidos e dos caminhos e barreiras até o consumo das hortaliças possivelmente contaminadas.

$$d_i' = C_{Asc.biosld}' \times F_{dil.biosld} \times D_{Asc.solo} \times R_{solo.cultura} \times R_{higien} \times M$$

Como abordado no item 4.4.2.3, o decaimento dos patógenos no solo ($D_{Asc.solo}$) não foi considerado nos cálculos para a dose infectante. Analisando o Cenário 1, em que a remoção de patógenos por medidas de higienização das hortaliças (R_{higien}) é igual a 1 (10^0), a concentração tolerável de *Ascaris* em bio sólidos para a aplicação em culturas de alface e cenoura foi determinada a partir da equação 10 (Eq.10) e os resultados obtidos estão indicados na Tabela 5.10.

$$C'_{Asc.biosld} = \frac{d_i'}{F_{dil.biosld} \times R_{solo.cultura} \times M} \quad (\text{Eq.10})$$

Onde $C_{Asc.biosld}'$ é a concentração tolerável de microrganismos no bio sólido (ovos viáveis de *Ascaris* / g bio sólidos); d_i' é a dose de patógenos tolerável ingerida a cada evento de exposição; $F_{dil.biosld}$ é o fator de diluição do bio sólido no solo (g bio sólido / g solo); $R_{solo.cultura}$ é a relação da quantidade de solo aderido às culturas (g solo / kg cultura) e M é o consumo *per capita* de culturas.

Tabela 5.10 - Concentrações toleráveis de *Ascaris* em bio sólidos aplicados em culturas de alface e cenoura.

| Cultura | d_i' (a) | $F_{dil.biosld}$ (b) | $R_{solo.cultura}$ (c) | M (d) | $C_{Asc.biosld}'$ (e) |
|----------------|------------------------------|--|--|---------------------------|---|
| Alface | $2,43 \times 10^{-5}$ | 0,00315 | 0,002 | 7,7 | 0,5014 |
| Cenoura | $2,43 \times 10^{-5}$ | 0,00255 | 0,020 | 4,2 | 0,1135 |

Fonte: O autor, 2021. Notas: (a) dose ingerida (ovos viáveis de *Ascaris*); (b) grama de sólidos totais de bio sólidos por grama de sólidos totais de solo; (c) gramas de sólidos totais de solo por 1000 gramas de cultura; (d) gramas de cultura consumida; (e) ovos viáveis de *Ascaris* por grama de sólidos totais de bio sólidos.

A partir dos resultados das concentrações toleráveis de *Ascaris* foram calculadas as concentrações toleráveis de helmintos em bio sólidos para a aplicação nas culturas analisadas

(Tabela 5.11), também foram identificadas as concentrações de helmintos no bioossólido analisado por Santos *et al.* (2017), bioossólido C₉₀ (bioossólido Classe A).

Tabela 5.11 - Concentrações toleráveis de helmintos em bioossólidos para o risco anual tolerável de $1,2 \times 10^{-4}$ pppa (WHO, 2006a).

| Cultura | C_{Asc.biosld}'^(a) | C_{helmintos.biosld}'^(b) | C_{helmintos.biosld}'^(b) (Santos <i>et al.</i> , 2017) |
|----------------|--|--|---|
| Alface | 0,5014 | 0,56 | 0,44 |
| Cenoura | 0,1135 | 0,13 | 0,44 |

Fonte: O autor, 2021. Notas: (a) ovos viáveis de *Ascaris* por grama de sólidos totais de bioossólidos; (b) ovos viáveis de helmintos por grama de sólidos totais de bioossólidos.

Conforme evidenciado na Tabela 5.11, referente à aplicação de bioossólidos em culturas de alface, nota-se que o valor tolerável de concentrações de helmintos nos bioossólidos foi acima da concentração encontrada por Santos *et al.* (2017). Isso leva a crer que o cultivo de alface com a aplicação de bioossólidos ocasionaria riscos toleráveis, segundo a OMS, quanto à infecção por ovos de helmintos.

Entretanto, referente à aplicação de bioossólidos em culturas de cenoura, nota-se que as concentrações estimadas de patógenos nos bioossólidos para que fossem observados os níveis de risco toleráveis são extremamente baixas, muito abaixo das concentrações usualmente encontradas em lodo de esgotos e alguns tipos de bioossólidos. Em outras palavras, pode-se inferir que esse tipo de cultura exigiria, segundo os modelos utilizados, bioossólidos praticamente “livres” de patógenos para que os níveis de risco permanecessem dentro do que a OMS considera tolerável.

No entanto, também é preciso ressaltar que os procedimentos de lavagem das culturas antes do consumo com água e com desinfetante fraco não foram considerados nos modelos, o que, na prática, poderia alterar substancialmente os resultados aqui apresentados.

5.5 DISCUSSÃO SOBRE OS VALORES ADOTADOS POR LEGISLAÇÕES E DIRETRIZES PARA A APLICAÇÃO DE BIOSSÓLIDOS

Conforme foi abordado no item 3.8 da revisão de literatura, para avaliar o cenário nacional foi considerada a Resolução CONAMA 498/2020 que define critérios e procedimentos para produção e aplicação de biossólido em solos. Para o cenário internacional foram levantadas a Norma '503' dos EUA (U.S. EPA, 1993) e as diretrizes da OMS para o uso seguro de águas residuais, excretas e águas cinzas (WHO, 2006a).

Os padrões analisados consideram as concentrações de helmintos, entretanto, esse fato não invalida a comparação mais específica com a utilização das concentrações de *Ascaris lumbricoides*, visto que esta espécie representa a maior parte dos helmintos (cerca de 90%).

Para a utilização de biossólidos Classe A, a legislação brasileira é menos restritiva do que a estadunidense, e se assemelha aos valores definidos pelas diretrizes da OMS (Tabela 3.4). Essa exigência de qualidade pode se traduzir em mais segurança na utilização desses materiais, porém, requer que o tratamento seja mais eficaz na sua desinfecção, o que pode inviabilizar economicamente uso de biossólidos para solos com plantações de produtos alimentícios ingeridos crus.

Com os resultados obtidos na caracterização das concentrações de microrganismo nos biossólidos que gerariam níveis toleráveis de riscos de infecções (0,56 ovo viável de helmintos por grama de sólidos totais de biossólidos para alface e 0,13 para cenoura), observa-se que os valores obtidos para as culturas de cenoura encontram-se abaixo dos valores indicados como parâmetros para a utilização de biossólidos, tanto para o de Classe A na Resolução CONAMA 498/2020 e para a Norma 503 da U.S. EPA, quanto para as diretrizes da OMS (Tabela 3.4), porém, os valores obtidos para as culturas de alface encontram-se abaixo dos valores indicados como parâmetros apenas para a legislação brasileira e para as diretrizes da OMS. Isso implica que tais padrões podem apresentar um risco de infecção maior que o tolerável, portanto, são mais rígidos para a utilização desses materiais em plantações.

É possível ainda avaliar que o fato de não haver uma especificação dos padrões de qualidade para utilização de biossólidos Classe B, representa muito risco na utilização desses materiais, embora a Resolução CONAMA 498/2020 especifique que a utilização dessa classe de biossólidos somente pode ocorrer para cultivo de produtos alimentícios que não sejam consumidos crus e produtos não alimentícios (CONAMA, 2020), ainda assim, recomenda-se

que sejam realizados mais estudos para adotar um limite de concentração máximo de ovos viáveis de helmintos, de modo a garantir a utilização segura desse material para os usos especificados na resolução.

Por fim, Mara *et al.* (2010b) defendem que, dependendo do contexto em questão, a referência a um nível de proteção menos rigoroso do que 10^{-6} DALY pppa, como 10^{-5} ou 10^{-4} DALY pppa poderia ser mais realista. Com isso, para um valor de DALY tolerável de 10^{-5} pppa, o valor correspondente em termos de risco anual de infecção por *Ascaris* seria de $1,2 \times 10^{-3}$ pppa (MARA *et al.*, 2010a), o que levaria ao aumento de 1 log nas concentrações toleráveis de helmintos em bio sólidos para os cultivos de alface (saindo de 0,56 para 5,60 ovos viáveis de helmintos por grama de sólidos totais de bio sólidos) e cenoura (saindo de 0,13 para 1,30 ovo viável de helmintos por grama de sólidos totais de bio sólidos). Nessas circunstâncias, seria possível definir um limite para o uso de bio sólidos Classe A mais flexível, o que tornaria mais atrativo sua aplicação em solos com plantações de produtos alimentícios.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na análise bibliométrica refletem a importância sobre os assuntos abordados neste trabalho, e demonstram que países desenvolvidos como EUA e Reino Unido investem cada vez mais em estudos sobre os bio sólidos e os riscos associados ao seu uso. O Brasil também tem se destacado no cenário mundial, no qual observa-se o aumento da contribuição das publicações sobre tais temas e a importância que as instituições brasileiras têm apresentado na divulgação de suas pesquisas.

Com relação à AQRM, as variáveis analisadas na determinação das doses infectantes, principalmente o tipo de cultura (que está diretamente ligada à relação da quantidade de solo aderido às hortaliças) e a remoção de patógenos por medidas de higienização, mostraram-se como uma importante barreira de proteção e minimização de riscos à saúde de consumidores de alimentos adubados com bio sólidos.

A determinação das concentrações de helmintos ditas toleráveis, segundo valores da OMS, nos bio sólidos, ocorreu a partir de cenários e variáveis específicas e não devem ser generalizadas para as mais diversas aplicações desses materiais.

De acordo com as simulações aqui formuladas e os resultados apresentados, as características microbiológicas do lodo *in natura* (C_0) inviabilizam seu uso como fertilizante de solos com fins agrícolas para as culturas propostas, em todos os cenários avaliados, pois, ficam evidentes os riscos de infecção anual por *Ascaris* para a faixa etária de crianças e adolescentes, quanto ao consumo de alface e cenoura, com valores que ultrapassam os toleráveis pela OMS ($1,2 \times 10^{-4}$ pppa), mesmo quando se adota a higienização prévia dos alimentos com solução desinfetante.

A partir dos resultados referentes ao consumo de hortaliças cultivadas em solo beneficiado com bio sólido Classe A (C_{90}), pode-se afirmar que tal prática levaria, segundo os modelos de exposição elaborados, a valores de riscos anuais aceitáveis, se comparados aos valores tidos como toleráveis pela OMS, pois se mostraram inferiores ao valor de risco tolerável ($1,2 \times 10^{-4}$ pppa), exceto para o Cenário 1 relativo ao consumo de cenoura.

Conclui-se então, que os estudos conduzidos para estimar os riscos de infecção, por patógenos presentes em bio sólidos ou culturas fertilizadas por bio sólidos, evidenciam os

diversos fatores que podem influenciar na determinação do risco, como o tratamento do antes da aplicação no solo com fins agrícolas, a exposição dos consumidores aos alimentos cultivados em solos fertilizados com bio sólidos e procedimentos que visam a redução de microrganismos patogênicos antes do consumo dos alimentos.

Quanto aos padrões de qualidade de bio sólidos, entende-se que os seus limites para utilização apresentam uma certa flexibilidade, visto que concentrações de helmintos menores que os limites impostos, resultaram em riscos de infecções muito próximos, e em alguns casos maiores, que os toleráveis pela OMS. Mas, há a necessidade de se reavaliar o risco tolerável máximo adotado pela OMS, por ser muito restritivo, tendo em vista que a redução de tais riscos toleráveis poderiam ocasionar em uma maior flexibilidade quanto ao uso dos bio sólidos em solos agrícolas, o que tornaria mais atrativo o uso desses materiais para solos com plantações de produtos alimentícios, principalmente em países subdesenvolvidos.

Por fim, mais uma vez ressalta-se a importância da etapa da avaliação de exposição na condução da Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico, e fica evidente a necessidade do estabelecimento do risco tolerável associado à utilização de bio sólidos em cultivos agrícolas e em outras aplicações. E também há necessidade de se comunicar a todos os consumidores de culturas produzidas com aplicação de bio sólido no solo sobre os riscos a que estão expostos para que os mesmos tomem medidas de controle e proteção, lembrando também que procedimentos de higienização desses alimentos podem reduzir, consideravelmente, os riscos associados ao seu consumo a níveis abaixo dos toleráveis, segundo a Organização Mundial da Saúde, e devem ser considerados na formulação de políticas públicas sobre reuso de bio sólidos para fins agrícolas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, I. G. G. Avaliação quantitativa de riscos microbiológicos (AQRM) associados à *E. coli* em águas cinzas: estudo de caso em Maceió-AL. 68f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental e Sanitária). Universidade Federal de Alagoas. 2017
- AMOAHA, I. D.; REDDY, P.; SEIDU, R.; STENSTRÖM, T. A. Concentration of soil-transmitted helminth eggs in sludge from South Africa and Senegal: A probabilistic estimation of infection risks associated with agricultural application. *Journal of Environmental Management*. v. 206 p.1020-1027, 2018.
- AMOAHA, I. D.; KUMARI, S.; REDDY, P.; STENSTRÖM, T. A.; BUX, F. Impact of informal settlements and wastewater treatment plants on helminth egg contamination of urban rivers and risks associated with exposure. *Environ Monit Assess*, 192, 713, 2020.
- AMOR, A. L. M. FONSECA, C. H. A. BRITO, E. M. S. TRZAN, G. F. L. ANDRADE, R. S. ALBUQUERQUE, W. A. REIS, L. B. MIRANDA, F. S. SANTOS, G. A. Encontro de formas parasitárias no solo: manutenção de um ambiente contaminante propício a infecções e reinfecções. *Saúde, Alimentos e Meio Ambiente no Recôncavo da Bahia*, p. 41-52. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 161 p. Cruz das Almas, Bahia. 2018.
- ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. *Lodo de esgotos: tratamento e disposição final*. Belo Horizonte: DESA/UFMG, v. 6, 2001.484 p.
- ANDREOLI, C. V.; FERREIRA, A. C.; CHERNICHARO, C. A. Secagem e higienização de lodos com aproveitamento do biogás. In: CASSINI, S. T. (Coord). *Digestão anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do biogás*. Rio de Janeiro: ABES, 2003.
- AQUINO, C. N. P.; PEREIRA, L. A. C.; CRUZ, J. L. V.; SHIMODA, E. Análise bibliométrica da produção científica na base scopus sobre desenvolvimento regional. *Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional*, v. 15, n. 3, 2019.
- AYRES, R; MARA, D. Analysis of wastewater for use in agriculture. *A laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques*. WHO, Geneva. 1996.
- BASTOS, R. K. X.; BEVILACQUA, P. D.; DIAS, G. M. F.; BARONY, F. J. A. Análise crítica da legislação brasileira para uso agrícola de lodos de esgotos na perspectiva da avaliação

quantitativa de risco microbiológico. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales. Investigación, desarrollo y práctica*, v. 2, n. 1, p. 143-159, 2009.

BASTOS, R. K. X.; BEVILACQUA, P. D.; MARA, D. D. Análise crítico-comparativa das regulamentações brasileira, estadunidense e britânica de qualidade microbiológica de biossólidos para uso agrícola. *Revista DAE*, v. 191, n. 1, p. 10-20, 2013.

BLUMENTHAL, U. J.; MARA, D. D.; PEASEY, A.; RUIZ-PALACIOS, G.; STOTT, R. Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in agriculture: recommendations for revising WHO guidelines. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 78, p. 1104-1116, 2000.

CARRIJO, J. R.; BIONDI, G. F. Levantamento de ovos de helmintos em lodo de esgoto oriundo de Campo Grande (MS) após tratamento anaeróbico. *Ciência animal brasileira*, v. 9, n. 1, p. 207-211, 2008.

CHAN, M.S. The global burden of intestinal nematode infections—fifty years on. *Parasitology Today*, v. 13, n. 11, p. 438–443. 1997.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 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 Brasília, DF: Diário Oficial da União, 30 de ago. 2006.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 498, de 19 de agosto de 2020. Define critérios e procedimentos para produção e aplicação de biossólido em solos, e dá outras providências. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 20 de ago. 2020.

DIAS, E. H. O. Tratamento de lodo de esgoto por secagem em estufa: higienização e produção de biossólidos para uso agrícola. 162 f., 2012. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2012.

FERREIRA, I. V. L.; ALVES, I. G. G.; BARBOZA, M. G. Avaliação Quantitativa de Riscos Microbiológicos (AQRM) associados à E. coli em águas cinzas: Estudo de caso em Maceió-AL. In: XIV SIMPÓSIO ÍTALO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 2018, Foz do Iguaçu, PR, *Anais Eletrônicos*.

- GALVÁN, M.; VICTORICA, J. Implicaciones sanitarias de la presencia de huevos viables de nemátodos en el agua para riego y necesidad de su evaluación rápida. In: *Anais eletrônico XXVI Congresso Interamericano de ingeniería sanitaria y ambiental*. Lima, Peru, 9 p. 1998.
- GERARDI, M. H.; ZIMMERMAN, M. C. *Wastewater pathogens*. John Wiley & Sons, p. 179. 2004.
- HAAS, C. N.; ROSE, J.; GERBA, C. P. Quantitative microbial risk assessment. New York: John Wiley & Sons, p. 449. 1999.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2017-2018: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. 120 p. IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento - Rio de Janeiro. 2020.
- IGNOTO, R. F. Avaliação quantitativa do risco microbiológico em águas e biossólidos: estado da arte. 89 f., 2010. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública). Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2010.
- JIMENEZ, B.; AUSTIN, A.; CLOETE, E.; PHASHA, C. Using Ecosan sludge for crop production. *Water Science & Technology*, v.54, n.5 pp 169–177. 2006.
- KUMWENDA, S.; MSEFULA, C.; KADEWA, W.; NGWIRA, B.; MORSE, T. Estimating the Health Risk Associated with the Use of Ecological Sanitation Toilets in Malawi. *Journal of Environmental and Public Health*. v.2017, Article ID 3931802, 1-13p. 2017.
- LOPES, W. S. Caracterização, solubilização e tratamento de lodos de esgotos com recuperação de subprodutos. 133 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Universidade Estadual da Paraíba. Centro de Tecnologia. 2019.
- MACHADO, M. F. S.; FIGUEIREDO, R.F.; CORAUCCI FILHO, B. Produção brasileira de lodos de esgotos. *Sanare - Revista Técnica da Sanepar*, v.22, n.22, p.66-74, 2004.
- MAGALHÃES, T. B. Uso agrícola de biossólidos: análise crítica da Resolução CONAMA 375/2006 na perspectiva da metodologia de avaliação quantitativa de risco microbiológico. 202 f., 2012. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2012.
- MARA, D. D.; SLEIGH, A. Estimation of Ascaris infection risks in children under 15 from the consumption of wastewater-irrigated carrots. *Journal of Water and Health*, v. 8, n. 1, p. 35-39, 2010a.

- MARA, D. D.; SLEIGH, A. Estimation of norovirus and *Ascaris* infection risks to urban farmers in developing countries using wastewater for crop irrigation. *Journal of Water and Health*, v. 8, n. 3, p. 572-576, 2010b.
- MEYER, K. B., MILLER, K. D; KANESHIRO, E. S. Recovery of *Ascaris* eggs from sludge. *Journal Parasitology*. 64 (2), p. 380 – 383. 1978.
- NASCIMENTO, A. V. S.; PASSOS, E. S.; SOARES, J. H. A. Águas residuárias em Sergipe: Um enfoque para o reuso de águas cinzas e residuárias e o aproveitamento do lodo de esgoto urbano. 16 f. 2020.
- NAVARRO, I.; JIMÉNEZ, B.; CIFUENTES, E.; LUCARIO, S. Application of helminth ova infection dose curve to estimate the risks associated with biosolid application on soil. *Journal of Water and Health*, v. 7, n. 1, p. 31-44, 2009.
- NAVARRO, I., TEUNIS, P., MOE, C., JIMÉNEZ, B. Approaches to evaluate and develop health risk-based standards using available data. Cap. 4. In: *Risks and Risk Assessment*. p. 63-88, 2010.
- NAVARRO, I.; JIMÉNEZ, B. Evaluation of the WHO helminth eggs criteria using a QMRA approach for the safe reuse of wastewater and sludge in developing countries. *Water Science and Technology*, v. 63, n. 7, p. 1499-1505, 2011.
- NEBRA - North East Biosolids And Residuals Association. A National Biosolids. Regulation, Quality, End Use and Disposal Survey, Final Report, North East Biosolids and Residuals Association. Tamworth: NEBRA. 2007.
- RIBEIRO, J. G. Proporções de biossólido na composição de substratos para produção de mudas para arborização urbana. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2017.
- SANTOS, D. S.; TESHIMA, E.; DIAS, S. M. F.; ARAÚJO, R.; SILVA, C. M. R. Efeito da secagem em leito nas características físico-químicas e microbiológicas de lodo de reator anaeróbio de fluxo ascendente usado no tratamento de esgoto sanitário. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 22, n. 2, p. 341-349, 2017.
- SANTOS, P. A. A. Avaliação Quantitativa de Riscos Microbiológicos (AQRM) associados ao reuso de efluentes. 56f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental e Sanitária). Universidade Federal de Alagoas. 2019.

SILVA, L. H. Avaliação microbiológica do efluente de uma ETE descentralizada com vistas ao reúso. 69f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental e Sanitária).

Universidade Federal de Alagoas. 2020.

SNIS. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento – SNS. 24º Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2019. Brasília: SNS/MDR, 2020.

U.S. EPA - United States Environmental Protection Agency. Basic Information about Biosolids. Disponível em: <<https://www.epa.gov/biosolids/basic-information-about-biosolids#basics>>. Acesso em: 12 jan. 2021.

U.S. EPA - United States Environmental Protection Agency. The standards for the use or disposal of sewage sludge. Washington, DC: Federal Register, Code of Federal Regulations [CFR], Title 40, Part 503. 1993.

U.S. EPA - United States Environmental Protection Agency. A guide to the biosolids risk assessments for the EPA Part 503 Rule. Washington, DC: EPA, Office of Wastewater Management, 1995.

VACCARI, D.; STROM, P. F.; ALLEMAN, J. E. Effect of microbes on human health. Cap. 12. p.343-386. In: Environmental Biology for Engineers and Scientists. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. 2006.

WHO (OMS). Health Guidelines for the Use of Wastewater in Agriculture and Aquaculture (Technical Report Series No. 778). World Health Organization (Organização Mundial da Saúde), Geneva. 1989.

WHO (OMS). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater (Vol. 4). Wastewater use in agriculture. World Health Organization (Organização Mundial da Saúde), Geneva. 2006a.

WHO (OMS). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. (Vol. 1). Policy and regulatory aspects. World Health Organization (Organização Mundial da Saúde), Geneva. 2006b.

ZERBINI, A. M.; CHERNICHARO, C. A. L. Metodologias para quantificação, identificação e análise de viabilidade de ovos de helmintos em esgotos brutos e tratados. *Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios: aspectos metodológicos*, p. 71-107. 2001.