



Associação Propagadora Esdeva  
 Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora – CES/JF  
 Curso de Ciências Biológicas

---

## DESAFIOS NA DETERMINAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE ÁGUAS LÓTICAS POR PARASITOS HUMANOS ATRAVÉS DO MÉTODO DE BAILENGER, RECOMENDADO PELA OMS

*Regiana Lucia Marcelino<sup>1</sup>, Brendha Lourenço Nunes<sup>2</sup>,  
 Sílvia Regina Costa Dias<sup>3</sup>*

*Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG*

Linha de Pesquisa: Saúde

### RESUMO

Em Juiz de Fora, o Rio Paraibuna atravessa o município numa faixa de 32 Km. Hoje, devido à poluição causada pelo lançamento in natura de quase todo o esgoto doméstico produzido pela cidade e no contexto das doenças infecto parasitárias, o rio é um grande vetor de propagação de doenças. Para estudar o grau de contaminação das águas do rio por formas infectantes de parasitos de interesse médico ao longo do seu trecho urbano, foi feita a coleta de água em cinco pontos ao longo do rio Paraibuna e cada frasco foi identificado e, após 24h de repouso, o sobrenadante foi sifonado e descartado. O sedimento foi ressuspensionado em 30 mL de formaldeído PA para análise utilizando o Método de Bailenger (OMS, 1997). Este método é descrito e utilizado na análise de águas de ambientes lóticos e lênticos e baseia-se na força de centrifugação a partir da densidade relativa dos reagentes de separação, sendo um método específico para busca de ovos de helmintos e cistos/oocistos de protozoários parasitos. O método é indicado para avaliar a qualidade de águas de reuso, especialmente aquelas relacionadas com a agricultura. Na análise da água de ambientes lóticos, como o Rio Paraibuna, onde são encontrados animais junto a sua margem (registramos a presença de porcos, equinos, capivaras, galinhas, cães e gatos), assim como espécies de aves (patos) e peixes, são encontradas várias formas de resistência de parasitos humanos e não humanos. Neste caso, o método identifica inclusive as formas de resistência de parasitos não humanos, tornando difícil a identificação morfológica das formas de resistência dos parasitos.

**Palavras-chave:** Águas residuais. Contaminação. Método de Bailenger. Parasitos.

### 1 INTRODUÇÃO

---

<sup>1</sup> Discente do Curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora – CES/JF. Endereço: Rua João Francisco Monteiro, 470 – Bairro Santa Cecília, Juiz de Fora/MG. Celular: (32) 991399606. E-mail: regiana.marcelino@gmail.com

<sup>2</sup> Discente do Curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora – CES/JF. Endereço: Estrada União Indústria km 130, casa 103 – Comendador Levy Gasparian/RJ. Celular: (24) 993288812. E-mail: belourenconunes@gmail.com

<sup>3</sup> Docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora. Orientador(a).

A reutilização de águas residuais na agricultura tem sido promovido como conceito de desenvolvimento sustentável (VAN DER HOEK et al., 2002). As águas residuais podem ser usadas para irrigação direta ou indiretamente através do uso de água contaminada água da superfície, que podem ocorrer devido à infraestrutura deficiente (através de efluentes não tratados, tubulações de esgoto com vazamento e estações de tratamento de águas residuais) (RUTKOWSKI et al., 2007).

Apesar dos muitos benefícios das águas residuais no uso na agricultura, essas práticas podem ter efeitos adversos impactos na saúde humana (WHO, 2006; PHAM-DUC et al., 2013). As águas residuais podem conter contaminantes prejudiciais à saúde, como metalóides / metais (CASTELS, 2012; LAM, 2015), excesso de nutrientes, hormônios (BURKHOLDER et al., 2007; DALSGAARD, 2007), compostos orgânicos, como pesticidas, componentes de produtos de consumo, produtos farmacêuticos e produtos para cuidados pessoais (HARRISON et al., 2006; SEMBLANTE et al., 2015; YANG et al., 2016) e, mais importante, microrganismos patogênicos (GERBA & SMITH, 2005; JIMÉNEZ et al., 2007; KRZYZANOWSKI et al., 2016; NAVARRO et al., 2009; PEPPER et al., 2008) .

Entre os patógenos microbianos, os geohelmintos são a preocupação de saúde mais importante na reutilização de águas residuais (WHO, 2006), especialmente em regiões endêmicas, principalmente devido à sua persistência no ambiente e a baixa dose infecciosa (CROMPTON & NESHEIM, 2002; MELVIN et al., 2001; NELSON & DARBY, 2001; STEPHENSON et al., 2000; TOZE, 2006). A concentração de ovos destes geohelmintos em águas residuais é uma indicação do risco para a saúde de sua aplicação (ZDYBEL et al, 2015; GASPARD et al., 1995). Apesar da adoção das águas residuais da OMS diretrizes de reutilização e o desenvolvimento de diretrizes locais, onde a adequação destes (águas residuais e lamas) para reutilização é coberta, aumento de infecções por STH para diferentes populações devido à reutilização de águas residuais / lodo continuam ser relatado.

## **2 METODOLOGIA**

Este artigo consiste em uma pesquisa de revisão bibliográfica, realizada entre Agosto e Novembro de 2019, através de busca de artigos científicos publicados em português, inglês ou espanhol, entre os anos de 1976 e 2019, nas bases de dados do Google Acadêmico (Scholar), da Biblioteca Virtual de Saúde (BVS/BIREME),

“Scientific Eletronic Libray Online” (SCieLo) e PUBMed. Utilizando os descritores “água”, “parasitoses”, “método Bailenger”, “rio”, “contaminação” e suas traduções em inglês. Foram utilizados também livros, manuais e trabalhos acadêmicos que tratassem sobre o tema.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na região da América Latina e Caribe, a geração de águas residuais urbanas está aumentando devido ao crescimento populacional (UNDESA, 2014) e à expansão dos serviços de abastecimento de água e saneamento. Em 2015, 88% da população urbana tinham acesso a instalações sanitárias melhoradas (WHO, 2015), e entre aqueles incluídos nessa porcentagem provavelmente menos de 60% estavam conectados a sistemas de coleta de esgoto (WHO, 2000).

Considerando que, na maior parte da região, não ocorreu uma expansão simultânea do tratamento das águas residuais coletadas, de forma que as águas residuais são removidas pelo escoamento direto ou pela infiltração em cursos d’água e aquíferos próximos, o que com frequência tem como resultado a poluição da água (JOURAVLEV, 2017). Ainda de acordo com o autor, em meios urbanos, rios, lagos e águas costeiras são altamente contaminados, gerando sérias consequências não apenas para o meio ambiente, mas também para a saúde e o bem-estar da população e para o desenvolvimento socioeconômico geral da região, inclusive das atividades de agricultura (JOURAVLEV, 2017).

Considerando que as águas residuais urbanas constituem uma fonte confiável, de baixo custo e rica em nutrientes, esta fonte poderia ser considerada para uso na agricultura local; mas o uso de água contaminada – principalmente água de rios com níveis inaceitáveis de poluição, mas também de esgoto bruto – para a irrigação próximo a grandes cidades (ou seja, agricultura peri urbana), praticado principalmente por agricultores de pequena escala ou mesmo na agricultura de subsistência causa preocupação (JOURAVLEV, 2017). Isso porque as normas sanitárias raramente são respeitadas, em parte porque os sistemas de monitoramento e controle são fracos, e, em alguns casos, inexistentes (JOURAVLEV, 2017).

O contato com esgoto e/ou água contaminada com esgoto implica riscos de infecção parasitária intestinal, principalmente por causa das doses infecciosas mínimas muito baixas desses parasitos (DUPONT et al. 1995; ADAM 2001), por sua

persistência no ambiente e por sua possível transmissão zoonótica (MONIS & THOMPSON, 2003). No interesse deste estudo, o que merece destaque não é a patogênese intrínseca destes parasitos mas, sim, a persistência das formas evolutivas de resistência de helmintos e protozoários no ambiente, assim como na maioria dos processos de saneamento utilizados nas estações de tratamento, onde são indicadores críticos da eficiência do tratamento (GASPARD, 1995; FABY & BRISSAUD, 1997; KATO et al., 2003).

O efluente de esgoto é uma fonte de contaminação do meio ambiente, o que pode ter importância para a saúde pública, principalmente se o esgoto for jogado na água que é subsequentemente usada para fins de uso doméstico, recreação ou agricultura (HO & TAM, 1998; ROBERTSON et al., 2006). Portanto, sua enumeração em uma amostra de águas residuais forneceria um meio de avaliar a eficácia da remoção de parasitas nos processos de tratamento de água (CHESNOT & SCHWARTZBROD, 2004).

A técnica de Bailenger modificada é específica para ovos de helmintos. No entanto, também nos permite detectar cistos de protozoários (BEN AYED et al., 2009). Essa técnica é utilizada principalmente por ser simples, rápida, reprodutível, barata e permitir a quantificação de parasitas em amostras de águas residuais. No entanto, também é caracterizada por uma maior presença de impurezas e sólidos em suspensão que podem obscurecer óvulos e cistos, não diferenciando espécies e genótipos e não fornece informações sobre a viabilidade dos parasitas (BEN AYED et al., 2009).

A literatura mostra que uma grande variedade de ovos de helmintos e cistos de protozoários pode ser observada nas amostras de águas residuais usando o método Bailenger modificado (BEN AYED et al., 2009). Como a presença/quantificação destas formas de resistência não são regulamentadas na maioria dos países, Ben Ayed e colaboradores (2009) destacam a necessidade de definir um nível regulatório que fixe um nível de risco aceitável, investigando e estimando a exposição ao risco, uma vez que protozoários e helmintos devem ser uma preocupação de saúde pública.

No entanto, flutuações sazonais na concentração de ovos e cistos de parasitos nas águas residuais foram relatadas por vários autores (GASSMAN & SCHWARTZBORD 1991; ROSE et al., 1991; JAKUBOWSKI et al., 1991; SYKORA et al., 1991; EL GUAMRI & BELGHYTI, 2007), de forma que o esgoto bruto e as águas contaminadas por ele pode ser considerado uma importante fonte de patógenos

parasitários do homem e de animais, no mundo ao longo de todo o ano, independente da estação. Cabe ressaltar que esses parasitas (cujo risco é diferente de uma classe para outra) também são caracterizados por sua transmissão zoonótica, baixa dose infecciosa e resistência ao meio ambiente. Modelos de avaliação de riscos mostram que os riscos são maiores para os nematoides intestinais do que para os trematódeos e cestoides (BLUM & FEACHEM, 1985; STRAUSS, 1985) devido à sua maior resistência ao meio ambiente e ao seu ciclo de vida mais simples.

Neste contexto, a técnica de Bailenger, recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), tem uma importante implicação (ponto negativo), que está relacionada à presença de impurezas que dificultam a observação microscópica e à ampla dispersão dos parasitas em amostras ambientais. Outro ponto a ser considerado é o fato dela indicar uma contaminação geral da água, sem ser possível identificar o verdadeiro risco às pessoas, uma vez que nem todos os ovos e/ou cistos de parasitos encontrados têm importância na medicina humana.

A propagação de infecções por parasitos intestinais em uma população ocorre através da dispersão dos patógenos entre os indivíduos suscetíveis em uma cadeia de transmissão na qual a água, contaminada por fezes humanas, se torna o principal veículo de transmissão, independente do grau de desenvolvimento do país ou região (GELDREICH, 1996; AMARAL et al., 2003).

No entanto, a alta taxa de despejo de resíduos e a degradação dos recursos hídricos são preocupantes no que diz respeito à qualidade da água. Apesar destas infecções serem, na maioria das vezes, assintomáticas, em crianças, elas costumam manifestar-se através de episódios de diarreia, má absorção com déficit nutricional e grave perda de peso (MOTTA; SILVA, 2002). A ingestão de água contaminada e saneamento básico deficiente são as principais causas centenas e milhões de casos de diarreia por ano, com mais de dois milhões de mortes (KOSEK et al., 2003), o que correspondia, nos países em desenvolvimento, em 2003, a 21% de todas as mortes entre crianças com menos de cinco anos de idade (PARASHAR et al., 2003).

A falta de saneamento básico e lançamento de esgoto no solo ou nos corpos d'água sem proceder o tratamento primário facilitam a dispersão dos parasitos no ambiente (MOTTA; SILVA, 2002; OTENIO et al., 2007; SOCCOLL et al., 2013). Destes, os geohelmintos são um grupo de patógenos que preocupam muito em decorrência das altas concentrações de ovos em nas águas residuais e cursos de rios nos quais estas são despejadas (GASPARD et al., 1995; WHO, 2006; ZDYBEL et al.,

2015), assim como à persistência no ambiente e à baixa dose infecciosa (CROMPTON & NESHEIM, 2002; MELVIN et al., 2001; NELSON & DARBY, 2001).

A maioria dos geohelmintos são parasitos intestinais do homem e apresentam formas altamente resistentes (ovos, cistos e oocistos) que, quando eliminadas junto com fezes no ambiente, protegem esses organismos contra as condições adversas e aumentam sua viabilidade, mantendo-se infectantes por anos (a exemplo dos ovos de *Ascaris lumbricoides*), o que representa grande ameaça para a saúde (SANEPAR, 1998; CUTOLO & ROCHA, 2000; MOTTA & SILVA, 2002; MEHLHORN, 2015).

A concentração desses ovos varia muito, mas indivíduos infectados podem excretar 10<sup>2</sup> a 10<sup>4</sup> ovos / g de fezes por dia (SMITH & ROSE, 1998), contribuindo para contaminação do ambiente e das águas. A matéria fecal humana é a principal preocupação, mas, em decorrência do potencial zoonótico de algumas espécies, o impacto das fezes de animais, como cães e gatos, também é importante, uma vez que suas fezes podem conter ovos de *Toxocara* sp., que podem levar à infecção por zoonoses. Estas águas contaminadas representam importante via de contaminação ambiental e de infecção de comunidades e os riscos estão diretamente relacionadas a dose de contaminação e ao parasito em questão.

Essas concentrações variam entre os locais devido a diferenças na prevalência ou intensidade de infecção na população (as concentrações de ovos de geohelmintos nos países em desenvolvimento são geralmente mais altas do que nos países desenvolvidos) (CHAN, 1997; MARA & HORAN, 2003; AMOAH et al., 2018). Estima-se que 3000 ovos / L podem ser encontrados em águas residuais de regiões endêmicas (KAMIZOULIS, 2008; MARA & SLEIGH, 2010). As concentrações encontradas na maioria dos estudos excedem os valores das diretrizes da OMS para reutilização de águas residuais (ver Figura 1) e resultam em grande morbidade (WHO, 2006).

Country	Wastewater (eggs/L)	Sludge (eggs/g)
Egypt	6–42	Mean: 67; Maximum: 735
Ghana	12.9–15.1	13–94
Morocco	840	3.3–13.3
South Africa	772	25–185
Tunisia	15–30	0–4
Brazil	166–202	75
United States	1–16	2–776
Mexico	6–98	73–177
Peru	115–273	60–260
Japan	80	1–51
China	840	2300
Syria	800	
Vietnam	450–16000	
Pakistan	142–558	
Ukraine	60	No data
France	9	5–7
Germany	No data	<1
Great Britain	No data	<6
Spain	0–1	867

Figura 1 - Concentração de ovos (por litro) de geohelmintos em águas residuais (“wastewater”) e esgoto (“sludge”) de diferentes localidades. Fonte: AMOAH et al., 2018.

A diretriz de reutilização de águas residuais da OMS recomenda o número máximo de um ovo de helminto por litro de água residual. Alguns pesquisadores sugerem a redução desse valor de orientação para  $\leq 0,1$  ovo por helminto por litro, especialmente em situações em que as crianças são expostas (BLUMENTHAL et al., 2000). No entanto, em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, onde a prevalência de infecções por helmintos é alta, existem altas concentrações de ovos nas águas residuais, inviabilizando a recomendação da OMS.

O desenvolvimento das pesquisas em parasitologia humana permite-nos, hoje, ter uma grande quantidade de técnicas para a identificação e quantificação de cistos, oocistos, ovos e larvas de parasitos nas fezes, solo e outros tipos de substâncias (BARBOSA et al., 2016), mas, no entanto, esta mesma avaliação em águas de sistemas lóticos, residuais ou não, é muito mais complicada (AYRES; MARA, 1997). Neste material, uma grande diversidade de espécies parasitas humanas e animais (com tamanhos, gravidade específica e propriedades de superfície diferentes) podem estar presentes e em concentrações muito mais baixas do que em outros tipos de amostra (ex. fezes ou solo) (AYRES; MARA, 1997).

A literatura mostra que os métodos diagnósticos utilizados têm grande variação nos resultados e, muitos deles, utilizam apenas o método direto (MARTINS et al., 2015). Dentre as técnicas de concentração, a sedimentação espontânea é a mais

utilizada, por apresentar maior sensibilidade especialmente para os ovos grandes e pesados; no entanto, a identificação/quantificação das formas pequenas, leves (ou menos densas, pode estar subestimada (MARTINS et al., 2015).

Levantamentos laboratoriais de águas residuais mostram maior frequência de protozoários sobre helmintos (ALOUINI, 1998; BOURATBINE et al., 2000). A detecção de *Cryptosporidium* e *Giardia* na água tradicionalmente se baseia na identificação de (oo)cistos pelo método Bailenger modificado (OMS, 1989) ou por separação imunomagnética dos parasitas seguida de ensaio de imunofluorescência (QUINTERO-BETANCOURT et al. , 2002), que tem custo mais elevado e exige um aparato mais complexo.

Esses métodos provaram ser muito úteis para detecção de parasitos, mas não pode identificar espécies ou genótipos com potencial de infecção humana ou animal e com baixa sensibilidade na detecção de baixos níveis de parasitas, de forma que ferramentas moleculares podem superar essas limitações porque eles aumentaram a sensibilidade (KHOUJA et al., 2010). Para *Cryptosporidium* e *Giardia*, ferramentas moleculares podem classificar ainda mais esses parasitas em espécies e genótipos (JIANG et al. 2005), que permite avaliar a fonte e o potencial de infecção humana dos parasitas a serem determinados. O uso da genotipagem de RNA ribossomal é uma ferramenta que melhorou a compreensão da variedade hospedeira de espécies e genótipos de parasitos, o que é útil em investigações epidemiológicas, avaliação da transmissão zoonótica e fontes de rastreamento de infecção e contaminação (XIAO, 2010).

Embora o método de Bailenger seja recomendado para a detecção de ovos de helmintos, Khouja e colaboradores (2010) mostraram que o método também pode ser usado para detectar cistos de ameba e *Giardia* e que pode ser útil no monitoramento da contaminação de águas residuais e avaliação de tratamentos para contaminação por parasitos. Ao contrário, ferramentas moleculares, como a imunofluorescência, muitas vezes restringe o leque de diagnóstico (KHOUJA et al., 2010).

Em decorrência de todos os fatores apresentados neste trabalho, é importante ressaltar que, em complemento ao método de Bailenger, o uso de ferramentas moleculares deve ser utilizado na análise de amostras de águas. As ferramentas moleculares garantem maior sensibilidade e capacidade de caracterizar a fonte e a importância em saúde pública dos parasitos encontrados.

## ABSTRACT

In Juiz de Fora, the Paraibuna River runs through the municipality in a 32 km strip. Today, due to the pollution caused by the release into the wild of almost all domestic work produced by the city and without the context of parasitic diseases, the river is a major vector of disease spread. To study the degree of contamination of river waters by infecting forms of parasites of medical interest along the urban stretch, water was collected at five points along the Paraibuna River and each use was identified and after 24 hours of use, the supernatant was siphoned off and discarded. The pellet was resuspended in 30 mL of PA formalized for analysis using the Bailenger Method (WHO, 1997). This method is described and used in water analysis of logical and lentic environments and is based on centrifugation force from the relative proportion of selection reagents, being a specific method for searching helminth eggs and protozoan cysts / parasites. . The method is suitable for assessing the quality of reuse water, especially related to agriculture. In the analysis of water from lotic environments, such as the Paraibuna River, where animals are found near its bank (we recorded a presence of pigs, horses, capybaras, chickens, dogs and cats), as well as species of birds (ducks) and fish, Several forms of resistance to human and non-human parasites are found. In this case, the method identified as non-human parasite resistance forms, making it difficult to morphologically identify the parasite resistance forms.

**Key words:** Wastewater. Contamination. Bailenger method. Parasites.

## REFERÊNCIAS

ADAM RD. **Biology of *Giardia lamblia***. Clin Microbiol Ver 14:447–475, 2001.

AMARAL, L. A et al. **Água de consumo humano como fatos de risco à saúde em propriedades rurais**. Revista Saúde Pública, v. 37 n. 4, p. 510-514, 2003.

AMOAHA ID, ADEGOKE AA, STENSTRÖM TA. **Soil-transmitted helminth infections associated with wastewater and sludge reuse: a review of current evidence**. Trop Med Int Health. 23(7):692–703, 2018.

AYRES, R.M.; MARA, D.D. **Análisis de aguas residuales para su uso en agricultura**: manual de técnicas parasitológicas y bacteriológicas de laboratorio. Organización Mundial de la Salud Ginebra. 1997.

BARBOSA, A.S et al. **Comparison of five parasitological techniques for laboratory diagnosis of *Balantidium coli* cysts**. Rev Bras Parasitol Vet. Jul-Sep; 286-92, 2016.

BEN AYED et al., **Presence of parasitic protozoa and helminth in sewage and efficiency of sewage treatment in Tunisia**. Parasitol Res 105:393–406, 2009.

BLUM D, FEACHEM RG **Health aspects of night soil and sludge use in agriculture. Part III: an epidemiological perspective.** Dubendorf, International Reference Centre for Waste Disposal. Report no. 05/85. 1985.

BLUMENTHAL UJ, MARA DD, PEASEY A, RUIZ-PALCIOS G, STOTT R. **Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in agriculture: recommendations for revising WHO guidelines.** Bull World Health Organ 78 (9): 1104–1116, 2000.

BURKHOLDER J, LIBRA B, WEYER P et al. **Impacts of waste from concentrated animal feeding operations on water quality.** Environ Health Perspect 115(2): 308–312, 2007.

CHAN MS. **The global burden of intestinal nematode infections-Fifty years on.** Parasitol Today 13: 438–443, 1997.

CHESNOT T, SCHWARTZBROD J **Quantitative and qualitative comparison of density-based purification methods for detection of *Cryptosporidium* oocysts in turbid environmental matrices.** J Microbiol Methods 58:375–386, 2004.

CROMPTON DWT, NESHEIM MC. **Nutritional impact of intestinal helminthiasis during the human life cycle.** Annu Rev Nutr 22:35–59, 2002.

CUTOLO, S.A.; ROCHA, A.A. **Uso de parasitas como indicadores sanitários para análise da qualidade das águas de reuso.** XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2000.

DALSGAARD A. **Special issue: wastewater use—Food safety and health aspects.** Tropic Med Health 12(2): 1–90, 2007.

DUPONT HL, CHAPPEIL CL, STERLING CR, OKHUYSEN PC, ROSE JB, JAKUBOWSKI W **The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers.** N Engl J Med 332:855–859, 1995.

EL GUAMRI Y, BELGHYTI D **Charge parasitaire des eaux usées brutes de la ville de Kénitra (Maroc).** Afrique Science 3:123–145, 2007.

FABY JA, BRISSAUD F **La réutilisation des eaux usées épurées dans les schémas directeurs d'assainissement et dans certains cas, pour économiser l'eau.** Environnement et technique 168:35–39, 1997.

GASSMAN L, SCHWARTZBROD J **Wastewater and *Giardia* cysts.** Water Sci Technol 24:183–186, 1991.

GASPARD P **Contamination parasitaire dans l'environnement : prospective pour une gestion des risques sanitaires.** Thèse Université Henri Poincaré, Nancy I. 1995.

GASPARD PG, WIART J, SHWARTZBROD J. **Urban sludge reuse in agriculture: waste treatment and parasitological risk.** *Biores Technol* 52(1): 37–40, 1995.

GELDREICH, E.E. **La amenaza mundial de los agentes patógenos transmitidos por el agua.** In: *La Calidad del agua potable em América Latina. Ponderación de los riesgos microbiológicos contra los riesgos de los subproductos de la desinfección química.* ILSI Argentina. OPS/OMS, 1996.

GERBA CP, SMITH JE JR. **Sources of pathogenic microorganisms and their fate during land application of wastes.** *J Environ Qual* 34(1): 42–48, 2005.

HARRISON EZ, OAKES SR, HYSSELL M, HAY A. **Organic chemicals in sewage sludges.** *Sci Total Environ* 367(2–3):481–497, 2006.

HO BSW, TAM TY ***Giardia* and *Cryptosporidium* in sewage contaminated river waters.** *Water Res* 32:2860–2864, 1998.

JAKUBOWSKI W, SYKORA JL, SORBER CA, CASSON LW, GAVAGHAN PD **Determining giardiasis prevalence by examination of sewage.** *Water Sci Technol* 24:173–178, 1991.

JOURAVLEV, A. **Águas residuais: o recurso inexplorado. América Latina e Caribe.** In: *RELATÓRIO MUNDIAL DAS NAÇÕES UNIDAS SOBRE DESENVOLVIMENTO DOS RECURSOS HÍDRICOS.* UNESCO. 2017.

KAMIZOULIS G. **Setting health based targets for water reuse (in agriculture).** *Desalination* 218(1–3): 154–163, 2008.

KATO S, FOGARTY E, BOWMAN D **Effect of anaerobic and aerobic digestion on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Ascaris suum* eggs.** *Int J Environ Health Res* 13:169–179, 2003.

KHOUJA, LBA, CAMA, V, XIAO, L. **Parasitic contamination in wastewater and sludge samples in Tunisia using three different detection techniques.** *Parasitol Res* 107:109–116, 2010.

KRZYZANOWSKI F JR, LAURETTO MS, NARDOCCI AC, SATO MIZ, RAZZOLINI MTP. **Assessing the probability of infection by *Salmonella* due to sewage sludge use in agriculture under several exposure scenarios for crops and soil ingestion.** *Sci Total Environ* 568(12): 66–74, 2016.

KOSEK, M; BERN, C; GUERRANT, R. L. **The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000.** Bulletin of the World Health Organization, Geneve, v. 81, p. 197-204, 2003.

LAM S, NGUYEN-VIET H, TUYET-HANH TT, NGUYEN-MAI H, HARPER S. **Evidence for public health risks of wastewater and excreta management practices in Southeast Asia: a scoping review.** Int J Environ Res Public Health 12 (10): 12863–12885, 2015.

MARA D, HORAN N. **Handbook of Water and Wastewater Microbiology.** Academic Press: London, 2003.

MARTINS, M et al. **Progression of the load of waterborne and intestinal parasitic diseases in the State of Amazonas.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 48(Suppl I):42-54, 2015.

MEHLHORN, H. **Encyclopedia of parasitology**, 4th edn. Springer New York, Berlin, 2015.

MELVIN DM, BROOKE MM, SADUN EH. **Common Intestinal Helminths of Humans.** DHEW Publication No. (CDC) 80-8286, Atlanta, Georgia, USA, 2001.

MONIS PT, THOMPSON RCA ***Cryptosporidium* and *Giardia*—zoonoses: fact or fiction?** Infection, Genetics and Evolution 3:233–244, 2003.

MOTTA, M.E.F.A.; SILVA, G.A.P. **Diarreia por parasitas.** Rev. Bras. Saúde Mater. Infant. 2(2):117-127, 2002.

NAVARRO I, JIMENEZ B, LUCARIO S, CIFUENTES E. **Application of helminth ova infection dose curve to estimate the risks associated with biosolid application on soil.** J Water Health 7(1): 31–44, 2009.

NELSON KL, DARBY JL. **Inactivation of viable *Ascaris* eggs by reagents during enumeration.** Appl Environ Microbiol 67(12): 5453–5459, 2001.

OTENIO, M. H et al. **Sanemanto básico, qualidade de água, e levantamento de enteroparasitas relacionando ao perfil sócioeconômicoambiental de escolares de uma área rural do município de Bandeirantes-PR.** Salusvita, Bauru, 26(2):179-188, 2007.

PARASHAR, U. D.; BRESEE, J. S.; GLASS, R. I. **The global burden of diarrhoeal disease in children (editorial).** Bulletin of the World Health Organization, Geneve, 81:236, 2003.

PEPPER IL, ZERZGHI H, BROOKS JP, GERBA CP. **Sustainability of land application of Class B biosolids.** J Environ Qual 37: S58–S67, 2008.

PHAM-DUC P, NGUYEN-VIET H, HATTENDORF J et al. ***Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infections associated with wastewater and human excreta use in agriculture in Vietnam.** Parasitol Int 62(2): 172–180, 2013.

ROBERTSON LJ, HERMANSEN L, GJERDE BK **Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in sewage in Norway.** Appl Environ Microbiol 72:5297–5303, 2006.

ROSE JB, GERBA CP, JAKUBOWSKI W **Survey of potable water supplies for *Cryptosporidium* and *Giardia*.** Environ Sci Technol 25:1393–1400, 1991.

SANEPAR. **Manual de Métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem de lodo de esgoto.** Companhia de Saneamento do Paraná. Curitiba: Sanepar, 1998.

SEMBLANTE GU, HAI FI, HUANG X, BALL AS, PRICE WE, NGHIEM LD. **Trace organic contaminants in biosolids: impact of conventional wastewater and sludge processing technologies and emerging alternatives.** J Hazard Mater 300(14): 1–17, 2015.

SOCOLL, V.T et al. **Avaliação de métodos de remoção e inativação de formas de resistência de protozoários parasitos encontrados em água.** In BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. 3º Caderno de pesquisa em engenharia de saúde pública. Brasília: Funasa, 256 p, 2013.

STEPHENSON LS, LATHAM MC, OTTESEN EA. **Malnutrition and parasitic helminth infections.** Parasitology 121 (Suppl): S23–S38, 2000.

STRAUSS M **Survival of excreted pathogens in excreta and faecal sludges.** IRCWD News 23:4–9, 1985.

SYKORA GL, SORBER CA, JAKUBOWSKI W, CASSON LW, GAVAGHAN PD, SHAPIRO M **Distribution of *Giardia* cysts in wastewater.** Wat Sci Tech 24:187–192, 1991.

TOZE S. **Reuse of effluent water—benefits and risks.** Agric Water Manag 80(57): 147–159, 2006.

UNDESA. **World urbanization prospects: the 2014 revision.** New York: United Nations Department of Economic and Social Affairs (UNDESA), 2014.

WHO. **Global water supply and sanitation assessment 2000 report.** New York: United Nations Children's Fund (UNICEF); Geneva: World Health Organization (WHO), 2000.

WHO. **Progress on sanitation and drinking water: 2015 update and MDG assessment.** New York: United Nations Children's Fund (UNICEF); Geneva: World Health Organization (WHO), 2015. (UNICEF/WHO Joint Monitoring Programme for Water Supply and Sanitation).

WHO. **Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater—Volume 2: Wastewater Use in Agriculture.** WHO-World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2006.

YANG S, HAI FI, PRICE WE, MCDONALD J, KHAN SJ, NGHIEM LD. **Occurrence of trace organic contaminants in wastewater sludge and their removals by anaerobic digestion.** *Biores Technol* 210(8): 153–159, 2016.

ZDYBEL J, CENCEK T, KARAMON J, KŁAPEC T. **Effectiveness of selected stages of waste water treatment in elimination of eggs of intestinal parasites.** *Bull Vet Inst Pulawy* 59 (1): 51–57, 2015.