

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental

Carlos Eduardo Borges Oliveira

Remoção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em água contaminada através da utilização
da Cavitação Hidrodinâmica

Uberaba-MG

2019

Carlos Eduardo Borges Oliveira

Remoção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em água contaminada através da utilização da Cavitação Hidrodinâmica

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Dra. Márcia Benedita de Oliveira Silva

Coorientador: Dr. Julio Cesar Souza Inácio Gonçalves

Uberaba-MG

2019

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

O46r Oliveira, Carlos Eduardo Borges
Remoção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em água contaminada através da utilização da cavitação hidrodinâmica / Carlos Eduardo Borges Oliveira. -- 2019.
70 f. : il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) --
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2019
Orientadora: Profa. Dra. Márcia Benedita de Oliveira Silva
Coorientador: Prof. Dr. Júlio Cesar Souza Inácio Gonçalves

1. Cavitação hidrodinâmica. 2. *Cryptosporidium parvum*. 3. Cito-
metria de fluxo. 4. Recursos hídricos. 5. Oxidação. I. Silva, Márcia Benedita
de Oliveira. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 532.24:561.24

CARLOS EDUARDO BORGES OLIVEIRA

EFEITO DA CAVITAÇÃO HIDRODINÂMICA NA PURIFICAÇÃO DE ÁGUA
CONTAMINADA COM OOCISTOS DE CRYPTOSPORIDIUM PARVUM

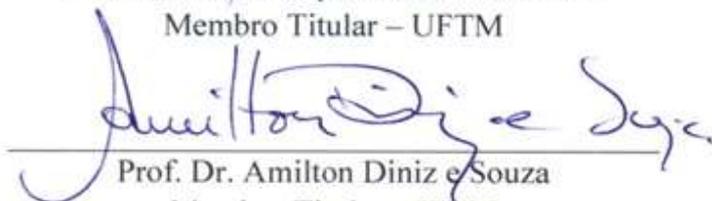
Dissertação apresentada à Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, para obtenção do título de mestre.

Aprovada em 09 de dezembro de 2019

Banca Examinadora:


Prof. Dra. Márcia Benedita de Oliveira Silva
Orientadora – UFTM


Prof. Dr. Deusmaque Carneiro Ferreira
Membro Titular – UFTM


Prof. Dr. Amilton Diniz e Souza
Membro Titular – IFTM

Dedico este trabalho a minha esposa Priscila,
minha filha Laura, minha mãe Leninha e meu pai
Toninho, obrigado pela paciência, incentivos,
compreensão e principalmente por minhas
ausências ao lado de vocês.

As minhas irmãs Paulinha, Marcela e Ana Luiza
pelo incentivo dado para superar todos os
obstáculos.

E a minha querida avó Terezinha por suas
palavras serenas de carinho afastando todo
cansaço e desânimo nos momentos adequados.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradecer a Deus, Jesus Cristo e a Nossa Senhora da Aparecida pela proteção a mim conferida todas as vezes ao sair de casa e tomar estrada para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, PPGCTA, pela oportunidade de realização deste trabalho.

A minha orientadora Professora Dra Márcia Benedita de Oliveira Silva, pela sua dedicação, paciência, esforço, compreensão e carinho, me socorrendo em todos os momentos que precisei e principalmente por me dar a segurança necessária para a conclusão deste trabalho.

Muito obrigado Professora Márcia!

Ao meu coorientador Professor Dr. Julio Cesar de Souza Inácio Gonçalves pelo incentivo em desenvolver este trabalho, por me apresentar ao tema de Cavitação Hidrodinâmica, auxiliar na montagem do sistema e por nunca me deixar desanimar diante dos obstáculos encontrados no caminho, obrigado!

Aos professor Dr Marcos Vinícius da Silva por toda a sua colaboração para a realização deste trabalho, principalmente nas leituras das amostras através da citometria de fluxo e também por sempre estar disponível para contribuir para este trabalho quando lhe foi solicitado.

Ao Professor Dr. Deusmaque Carneiro Ferreira pela ajuda e disponibilidade ofertada para o término deste trabalho assim como todos os Professores do PPGCTA.

Aos meus colegas de sala de aula do mestrado pela troca de experiências e conhecimento, assim como os momentos agradáveis durante todo o período de duração deste curso.

Ao aluno Thiago Vinícius companheiro de Laboratório de Processos Ambientais pela imensa ajuda durante os experimentos.

Enfim a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

“O ambiente limpo não é o que mais se limpa
e sim o que menos se suja”

Chico Xavier

RESUMO

A contaminação biológica de águas superficiais destinadas ao abastecimento público representa riscos à saúde humana. Dentre os protozoários patogênicos, *Cryptosporidium* spp. assume um importante papel, sendo relacionado a vários surtos de doenças de veiculação hídrica. As tecnologias convencionais de tratamento de água atendem aos parâmetros físico-químicos de potabilidade da água, entretanto em algumas situações são ineficazes na remoção de microrganismos patogênicos como o *Cryptosporidium* spp. Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) são uma alternativa de novas tecnologias que vem sendo estudadas e tem apresentado importantes resultados na remoção de agentes contaminantes e microrganismos de recursos hídricos. O objetivo do presente estudo foi avaliar o processo de cavitação hidrodinâmica na remoção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em amostras de água ultrapura contaminadas experimentalmente em diferentes pressões de entrada. As amostras de água foram contaminadas com oocistos de *C. parvum* na concentração de 1×10^5 oocistos/litro. Inicialmente foi realizada um ensaio piloto utilizando a pressão de entrada de 7.0 bar no sistema de cavitação sendo coletadas amostras de 10 mL no tempo zero e a cada 10 minutos durante 60 minutos totalizando 7 amostras para análise e contagem de oocistos através de citometria de fluxo e microscopia ótica. Posteriormente foram realizados os ensaios utilizando as pressões de entrada de 1,0, 3,0 e 5,0 bar e realizadas as contagem das concentrações de oocistos no citometro de fluxo, uma vez que este se demonstrou eficaz na quantificação. Os resultados obtidos demonstraram uma redução na quantidade de oocistos em todas as pressões utilizadas quando comparadas ao controle chegando a 73% de remoção de oocistos de *C. parvum*. As pressões de entrada de 3,0 e 5,0 bar apresentaram um modelo de cinética de primeira ordem relacionando a redução da concentração de oocistos e tempo de exposição das amostras à cavitação hidrodinâmica. A pressão de entrada 3,0 bar apresentou um maior coeficiente k (0,01677). Esses resultados demonstram que o sistema de cavitação hidrodinâmica se mostra uma alternativa promissora na remoção de oocistos de *C. parvum* com possibilidades para o tratamento de água em pequena ou grande escala.

Palavras-chave: *Cryptosporidium* spp. , Cavitação Hidrodinâmica, Citometria de Fluxo, Recursos Hídricos e Processos Oxidativos Avançados.

ABSTRACT

The biological contamination of surface water used in public supply poses risks to human health. Among the pathogenic protozoa, *Cryptosporidium spp.* assumes an important role, being related to several outbreaks of waterborne diseases. Like the technologies used in water treatment and in the physical adjustment of water potability, however, some situations are ineffective in removing pathogenic microorganisms such as *Cryptosporidium spp.* Advanced Oxidative Processes (POAs) are an alternative to new technologies that have been studied and have shown important results in the removal of contaminating agents and microorganisms from water resources. The aim of the present study was to evaluate the process of hydrodynamic cavitation in the removal of *Cryptosporidium parvum* oocysts in ultrapure water samples experimentally contaminated at different inlet pressures. The water samples were contaminated with oocysts of *C. parvum* at a concentration of 1×10^5 oocysts / liter. Initially, a pilot test was performed using the inlet pressure of 7,0 bar in the cavitation system and 10 mL samples were collected at zero time and every 10 minutes for 60 minutes, totaling 7 samples for analysis and counting of oocysts through flow cytometry and microscopy. optics. Subsequently, the tests were carried out using the inlet pressures of 1,0, 3,0 and 5,0 bar and the oocyst concentrations were counted in the flow cytometer, since this was shown to be effective in quantification. The results obtained demonstrated a reduction in the amount of oocysts in all the pressures used when compared to the control reaching 73% removal of oocysts of *C. parvum*. The inlet pressures of 3,0 and 5,0 bar presented a first-order kinetics model relating the reduction in the concentration of oocysts and time of exposure of the samples to hydrodynamic cavitation. The inlet pressure 3,0 bar showed a higher coefficient k (0.01677). These results demonstrate that the hydrodynamic cavitation system is a promising alternative in the removal of oocysts of *C. parvum* with possibilities for the treatment of water on a small or large scale.

Keywords: *Cryptosporidium spp.*, Hydrodynamic Cavitation, Flow Cytometry, Water Resources and Advanced Oxidative Processes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Ciclo de Vida do <i>Cryptosporidium parvum</i>	24
Figura 2: Crescimento de estudos utilizando cavitação segundo plataforma Scopus 2018.....	39
Figura 3: Foto do galão utilizado para infecção da água ultrapura e amostra de oocistos.....	43
Figura 4: Modelo do Sistema de Cavitação Hidrodinâmica montado.....	45
Figura 5: Foto do Sistema de Cavitação utilizado e seus componentes.....	46
Figura 6: Câmaras e a Placa de Orifício utilizadas no Sistema de Cavitação Hidrodinâmica, em que (a) câmara 1, (b) placa de orifício montada, (c) câmara 2 e (d) orifício de 1,2 mm.....	47
Figura 7: Estratégia de quantificação de oocistos por citometria de fluxo	49
Figura 8: Gráfico com valores de número de oocistos de <i>C. parvum</i> antes e após a passagem da água no processo de Cavitação Hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo a uma pressão de bar.....	51
Figura 9: Gráfico com a variação de temperatura da amostra de água com oocistos de <i>C.</i> <i>parvum</i> ao longo de 60 minutos, em diferentes pressões de entrada do sistema de cavitação utilizado.....	53
Figura 10: Gráfico com a queda percentual na concentração de oocistos de <i>C. parvum</i> observada na amostra de água submetida a diferentes pressões de entrada no sistema de cavitação hidrodinâmica ao longo do tempo	57
Figura 11: Variação da redução da concentração de oocistos submetidos à pressão de 5,0 bar através do ajuste ao modelo de cinética de primeira ordem.....	58
Figura 12: Variação da redução da concentração de oocistos submetidos à pressão de 3,0 através do ajuste ao modelo de cinética de primeira ordem.....	59
Quadro 1: Determinantes epidemiológicas dos oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. e sua importância na dinâmica de transmissão.....	29
Quadro 2: Vantagens e desvantagens das tecnologias de filtração direta em relação	

ao Tratamento de ciclo completo.....	32
Quadro 3: Vantagens e desvantagens do uso da Radiação UV em tratamentos de água para consumo	35
Quadro 4: Classificação dos POAs em homogêneos e heterogêneos.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Espécies de <i>Cryptosporidium spp.</i> hospedeiros, órgãos encontrados e autores relatados por Guariz - Homem (2016).....	21
Tabela 2: Principais vantagens dos Processos Oxidativos Avançados para remoção e degradação de agentes contaminantes em efluentes e águas residuais.....	36
Tabela 3: Valores de potenciais de redução dos principais agentes oxidantes empregados nos POAs.....	37
Tabela 4: Resultados da contagem do nº de oocistos de <i>C. parvum</i> no citômetro de fluxo e microscopia ótica antes e após a passagem pelo sistema de cavitação hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo sob uma pressão de 7,0 bar.....	50
Tabela 5: Resultados da quantificação de oocistos de <i>C. parvum</i> realizada por citômetro de fluxo após a passagem pelo sistema de cavitação hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo a uma pressão de 5,0 bar.....	54
Tabela 6: Resultados da quantificação de oocistos de <i>C. parvum</i> realizada por citômetro de fluxo após a passagem pelo sistema de cavitação hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo a uma pressão de 3,0 bar.....	55
Tabela 7: Resultados da quantificação de oocistos de <i>C. parvum</i> realizada por citômetro de fluxo após a passagem pelo sistema de cavitação hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo a uma pressão de 1,0 bar.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Bar: Unidade de pressão

Br₂: Bromo

by-pass : Termo em inglês para desvio

C. parvum: *Cryptosporidium parvum*

Cl₂: Cloro

ClO₂: Dióxido de cloro

CO₂: Dióxido de carbono

cv: Cavalos de potencia

DNA: Ácido Desoxirribonucléico

DP: Dupla filtração

E. coli: *Escherichia coli*

FD: Filtração direta

FDA: Filtração direta ascendente

FDD: Filtração direta descendente

F₂: Gás Fluor

ETA: Estação de tratamento de água

g: unidade de medida de rotação

HBrO: Ácido hipobromoso

HClO: Ácido hipocloroso

HIO: Ácido hipoiodoso

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

H₂O: Água

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio

IGy: anti-*Cryptosporidium parvum*

Kw/m⁻³: Quilowatt por metro cúbico

K: kelvin

KHz: Quilohertz

KMnO₄: Permanganato de potássio

Lh⁻¹: Litros por hora

Log: Unidade logarítmica

MG: Minas Gerais
MHz: Megahertz
MJcm⁻²: Megajoule por cm²
mL: Mililitros
mm: milímetros
mPa : Megapaschal
ms⁻¹ : Metros por segundo
Nº: Número
•OH: Radical hidroxila
Oocistos L⁻¹: Oocistos por litro
Oocistos 10 L⁻¹: Oocistos por 10 litros
O₃: Ozônio
POAs: Processos Oxidativos Avançados
pH – Potencial hidrogeniônico
PPb: Partículas por bilhão
RNA: Ácido Ribonucleico
PVC: Policloreto de Vinila
spp.: Espécies
STC: Sistema de tratamento completo
UFTM: Universidade Federal de Triangulo Mineiro
UV: Ultravioleta
•O₂H: Radical hidroperoxila
•O: Oxigênio radicalar
°C: Graus célsius
UNT: Unidade de turbidez
µm: Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	19
3 REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1 <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i> : O PARASITO E A DOENÇA.....	20
3.2 OCORRÊNCIA DE <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i> ASSOCIADA A CONSUMO DE ÁGUA	25
3.3 FATORES RELACIONADOS DISSEMINAÇÃO DO <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i> NO AMBIENTE.....	28
3.4 REMOÇÃO DE <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i> EM PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ÁGUA.....	30
3.5 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS	35
3.6 TIPOS DE PROCESSOS DE CAVITAÇÃO	38
3.7 LEGISLAÇÃO SOBRE POTABILIDADE DE ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO	41
4 METODOLOGIA	42
4.1 AMOSTRAS DE OOCISTOS DE <i>CRYPTOSPORIDIUM PARVUM</i>	42
4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA CONTAMINADA COM OOCISTOS DE <i>CRYPTOSPORIDIUM PARVUM</i>	42
4.2.1 Teste piloto	42
4.2.2 Amostras submetidas ao sistema de cavitação em três pressões diferentes	43
4.3 COMPOSIÇÃO DO SISTEMA DE CAVITAÇÃO HIDRODINÂMICA	44
4.4 SUBMISSÃO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA COM OOCISTO DE <i>C. PARVUM</i> AO SISTEMA DE CAVITAÇÃO HIDRODINÂMICA.....	47
4.5 LEITURA DAS AMOSTRAS NO CITÔMETRO DE FLUXO	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50

5.1 ENSAIO “PILOTO” DA SUBMISSÃO DE ÁGUA CONTAMINADA COM OOCISTOS DE <i>CRYPTOSPORIDIUM PARVUM</i> EM UM SISTEMA DE CAVITAÇÃO HIDRODINÂMICA.....	50
5.2 VARIAÇÃO DE TEMPERATURA NO SISTEMA DE CAVITAÇÃO DURANTE OS EXPERIMENTOS.....	52
5.3 AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE OOCISTOS DE <i>C. PARVUM</i> APÓS PASSAGEM DA ÁGUA CONTAMINADA NO SISTEMA DE CAVITAÇÃO HIDRODINÂMICA SOB DIFERENTES PRESSÕES	54
5.3.1 Sistema de cavitação hidrodinâmica a uma pressão de 5,0 bar	54
5.3.2 Sistema de cavitação hidrodinâmica a uma pressão de 3,0 bar	55
5.3.3 Sistema de cavitação hidrodinâmica a uma pressão de entrada de 1,0 bar.....	56
5.3.4 Comparativo da remoção de oocistos em todas as pressões utilizadas no sistema de cavitação hidrodinâmica.....	57
6 CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

A contaminação biológica de águas superficiais destinadas ao abastecimento público representa riscos à saúde humana e apesar dos avanços tecnológicos contribuírem para a eliminação desses microrganismos da água, ainda assim sua presença se consagra como um desafio para a vigilância ambiental e para empresas que realizam o tratamento da água destinada ao consumo humano (BRETERNITZ, 2013).

O Brasil apresenta uma grande quantidade de recurso hídrico disponível para consumo humano, sendo que grande parte deste está em sua superfície através de rios, riachos, lagos, barramentos, igarapés e etc, tal característica corrobora para a contaminação por elementos tóxicos e principalmente por agentes patogênicos, como bactérias, helmintos, vírus e protozoários (BRASIL, 2013).

Dentre os protozoários patogênicos, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. assumem um importante papel relacionado à transmissão hídrica, pois são os patógenos mais comumente relatados como contaminantes de recursos hídricos no mundo inteiro (BALDURSSON; KARANIS, 2011). Vários surtos destes protozoários têm sido descritos nas últimas décadas, principalmente pela ingestão de alimentos e água contaminados. Em países desenvolvidos que normalmente apresentam uma infraestrutura de saneamento básico satisfatória, atendendo as normas técnicas exigidas por suas legislações, surtos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. são recorrentes, demonstrando que tratamentos de água nesses locais não tem apresentado efetividades na remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. (GRECA, 2010; LEAL *et al.*, 2008).

As tecnologias convencionais de tratamento de água visam à clarificação e desinfecção e incluem etapas de coagulação, floculação, decantação, filtração, desinfecção e fluoreação. Nesse processo, a etapa físico-mecânica (filtração) representa o principal mecanismo de remoção dos cistos de *Giardia* spp. (8-15 μm) e oocistos de *Cryptosporidium* spp. (4-9 μm) (HELLER *et al.*, 2006). Entretanto, Franco (2007) relatou que este processo é pouco eficiente para a remoção das formas infectantes do parasita *Cryptosporidium* spp., pois durante a filtração a compressibilidade à qual os oocistos são submetidos permite que essas formas de resistência se comportem como partículas de 2 a 4 μm . Dessa forma, podem passar pela filtração e chegar à água tratada trazendo riscos aos consumidores.

O desafio da remoção de substâncias químicas, e, mais recentemente, de microcontaminantes, na água de consumo humano, tem imposto o uso e desenvolvimento de

outras técnicas de tratamento mais eficazes, como a adsorção em carvão ativado, a oxidação, a precipitação química e a volatilização, e de processos de separação por membranas como microfiltração, ultra filtração, nano filtração e osmose reversa (BASTOS *et al.*, 2004).

De acordo com LE CHEVALLIER *et al.*, 2004, técnicas avançadas de processos de filtração (ex.: microfiltração e ultra filtração) e outras técnicas de desinfecção (ex. radiação ultravioleta e ozonização) apresentam maior capacidade de remoção de cistos/oocistos de protozoários que as técnicas convencionais. Técnicas como a ozonização e o uso de radiação ultravioleta vem sendo amplamente estudadas e apresentam altos índices de efetividade na remoção de tais patógenos, porém apresentam um fator limitante, o custo de implantação em grande escala, que impossibilita o uso destas tecnologias para remoção de cistos/oocistos no abastecimento de água para a população em geral (FAGNANI, 2010).

Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) são uma alternativa de novas tecnologias que vem sendo estudadas e tem apresentado importantes resultados na desinfecção de recursos hídricos. Tais processos são baseados na geração de radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$) que possuem como característica uma alta taxa de oxidação, sendo que o seu potencial de oxidação é bem superior à de outros agentes químicos como o ozônio, peróxido de hidrogênio, permanganato e outros (MACHADO, 2018).

A capacidade destes compostos interagirem com agentes contaminantes mesmo em concentrações baixas no ambiente é outra característica promissora destes radicais, principalmente quando levamos em consideração os valores encontrados de determinados microrganismos em amostras ambientais. Outro ponto importante também a ser levantando é a característica de não gerar subprodutos nocivos à saúde do homem sendo assim considerada uma alternativa limpa para tratamento de água para o consumo humano (CORDEIRO *et al.*, 2004 *apud* FAGNANI, 2010; MACHADO, 2018).

A cavitação hidrodinâmica é considerada um importante POA, tal processo ocorre quando ocorrem variações na pressão de um determinado líquido em movimento ocasionadas por mudanças na geometria do circuito por onde este fluido escoar, alterando assim sua velocidade do escoamento, de forma que quando ocorre alteração do sistema e aumenta a constrição deste (utilização de venturis, placas de orifício ou válvulas de estrangulamento) a velocidade e a energia cinética do fluido se elevam e a pressão no local da constrição diminui abaixo da pressão de vapor ocasionando micro turbulências (formação de bolhas de cavitação que são implodidas) aumentando a taxa de fenômenos de transporte e geração de pontos quentes de temperaturas podendo chegar a níveis superiores de 1000 K e até 500 mPa de

pressão, desta forma gerando uma grande quantidade de radicais livres altamente reativos, (GOGATE; KABADI, 2008; MACHADO, 2018).

Vários estudos já foram realizados com o processo de cavitação hidrodinâmica em recursos hídricos visando à eliminação de compostos orgânicos, inorgânicos, elementos químicos, corantes, algas e outros agentes patogênicos. Batista *et al.* (2017) conseguiram uma remoção de 85% da população de microalgas do gênero *Scenedesmus* na água de um reservatório com alto grau de eutrofização. Já Abdala – Neto (2014) conseguiu a inativação de coliformes totais, *Escherichia coli* e diminuição de nitritos, nitratos, bicarbonatos e dureza total da água de amostras contaminadas com esgotos domésticos coletadas de um poço artesiano e Machado (2018) conseguiu uma eficiência de 90 % de inativação de *Paramecium* spp. em água contaminada submetida a testes com cavitação hidrodinâmica.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o processo de cavitação hidrodinâmica na remoção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em amostras de água contaminadas experimentalmente.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Inocular oocistos de *Cryptosporidium parvum* em amostras de água ultrapura;
- Submeter as amostras de água contaminadas experimentalmente pelo processo de cavitação hidrodinâmica em diferentes pressões e intervalos de tempos;
- Avaliar por meio da contagem de oocistos por citometria de fluxo, o efeito do processo de cavitação hidrodinâmica na remoção dos oocistos de *Cryptosporidium parvum* nas amostras de água contaminadas experimentalmente.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* : O PARASITO E A DOENÇA

O protozoário *Cryptosporidium spp.* é um protozoário intestinal que atinge espécies de animais domésticos, assim como o homem, reconhecido mundialmente como parasita causador de diarreia (NEWMAN *et al.*, 1999; FAYER; RYAN; XIAO, 2014). É um parasita intracelular que foi reconhecido pela primeira vez como um agente causador de diarreia em humanos em 1976 conforme foi descrito por Nime e colaboradores.

O primeiro relato de *Cryptosporidium* foi feito por Ernest Edward Tyzzer em 1907 quando constatou a presença de esporos em epitélio gástrico de camundongos, nomeando como *Cryptosporidium muris*. Tyzzer também notou que o parasito apresentava multiplicação por esporogonia, pela presença de oocistos esporulados liberados em amostras fecais dos camundongos. Cada oocisto continha quatro esporozoítos não envoltos por uma segunda camada denominada esporocisto, estrutura comum nos demais coccídios (TYZZER, 1907 *apud* FAYER & UNGAR, 1986). Já em 1912 em um novo experimento, Tyzzer relatou uma nova espécie, o *Cryptosporidium parvum*, transmitido para camundongos não infectados através de via fecal-oral e seu desenvolvimento, como relatado pelo parasitologista, ocorrendo nas microvilosidades do epitélio do intestino delgado. A morfologia dos oocistos foi descrita, inclusive relatando a diferença de tamanho entre os oocistos desta espécie bem menor (*C. muris* com 7,5 µm e *C. parvum* 4 a 5 µm) e da presença dos oocistos no epitélio do duodeno dos camundongos (LEVINE, 1984).

A classificação do *Cryptosporidium* segundo Levine (1970) seria classe Esporozoasida (LEUKART, 1879 *apud* LEVINE 1984), subclasse Coccidiasina (LEUKART, 1879 *apud* LEVINE 1984), ordem Eucoccidiorida (LÉGER & DOBOSCQ, 1910 *apud* LEVINE 1984), subordem Eimeriorina (LÉGER, 1910 *apud* LEVINE 1984) e família Cryptosporidiidae (TYZZER, 1907) neste último caso por apresentar oocisto com 4 esporozoítos, sem esporocisto. Recentemente o *Cryptosporidium* teve sua classificação taxonômica alterada segundo a European Journal of Protistology onde este foi retirado da subordem Eimeriorina e inserido na subordem Gregarina, tal alteração foi motivada por novos estudos relatando semelhanças genéticas e morfológicas entre o *Cryptosporidium spp.* e as Gregarinas como por exemplo completar o ciclo de vida fora das células de um hospedeiro, alterações estruturais a nível celular para adaptação a condições ambientais inóspitas e a presença de um grande

gamonte extracelular (RYAN *et al.*, 2016; SILVA, 2017). Desta forma foram realizados estudos comparando sequências dos genes 18S RNA e os resultados obtidos apresentaram certa semelhança do *Cryptosporidium* spp. às gregarinas, Cavalier - Smith (2014) relata a nova classificação taxonômica em que *Cryptosporidium* spp. é o único microrganismo a pertencer à subclasse Cryptogregaria onde seus integrantes seriam parasitas epicelulares de vertebrados com uma organela de alimentação semelhante ao das gregarinas porém sem a presença de apicomplasto.

Segundo Slapeta (2013) já foram citadas mais de 30 espécies diferentes de *Cryptosporidium* spp. e dentre essas 20 já foram descritas em mamíferos e constantemente novos estudos vem demonstrando novas espécies em diferentes hospedeiros. Já foram identificados mais de 61 genótipos diferentes com grande probabilidade de serem concedidos o status de espécie, aumentando a caracterização biológica e molecular (BARTA; TOMPSOM, 2006; OIE, 2016; RYAN; PAPANINI; HIJAWI, 2015; TOMPSOM *et al.*, 2008).

Guariz – Homem, (2016) cita o número de espécies descritas de *Cryptosporidium* spp. na literatura até o ano de 2016, as diferentes espécies de hospedeiros e órgãos parasitados conforme a sua adaptação feita com relatos de diversos autores (FAYER,2010; FAYER *et al.*, 2010; HOLUBOVÁ *et al.*, 2016; KVÁČ *et al.*, 2013; KVÁČ *et al.*, 2014; KVÁČ *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2015; ROBINSON *et al.*, 2010; RYAN *et al.*, 2015) conforme mostra a descrição na Tabela 1.

Tabela 1: Espécies de *Cryptosporidium* spp., hospedeiros, órgãos encontrados e autores relatados por Guariz - Homem (2016).

Espécie	Principais hospedeiros	Autor
<i>Cryptosporidium andersoni</i>	Bovinos, homem (A)	Lindsay <i>et al.</i> , (2000)
<i>Cryptosporidium avium</i>	Aves (C, I)	Holubová <i>et al.</i> , (2016)
<i>Cryptosporidium baileyi</i>	Aves (B, C, TR)	Current <i>et al.</i> ; (1986)
<i>Cryptosporidium bovis</i>	Bovinos (D)	Fayer <i>et al.</i> , (2005)
<i>Cryptosporidium canis</i>	Caninos, homem (ID)	Fayer <i>et al.</i> , (2001)
<i>Cryptosporidium cuniculus</i>	Coelho, homem (D)	Robinson <i>et al.</i> , (2010)
<i>Cryptosporidium erinacei</i>	Ouriço (D)	Kváč <i>et al.</i> , (2014)

* A-abomaso; B-bursa de Fabrícus; C-cloaca; I-Íleo; ID-intestino delgado; TR-trato respiratório; D-Desconhecido.

Fonte: Guariz - Homem (2016).

Tabela 1: Espécies de *Cryptosporidium spp.*, hospedeiros, órgãos encontrados e autores relatados por Guariz - Homem (2016). (Continuação)

Espécie	Principais hospedeiros	Autor
<i>Cryptosporidium fayeri</i>	Canguru vermelho (D)	Ryan <i>et al.</i> , (2008)
<i>Cryptosporidium felis</i>	Felinos, homem (ID)	Iseki (1979)
<i>Cryptosporidium fragile</i>	Anfíbios (E)	Jirků <i>et al.</i> , (2008)
<i>Cryptosporidium galli</i>	Aves (P)	Pavlašek (1999) e Ryan (2003)
<i>Cryptosporidium hominis</i>	Humanos (ID)	Morgan-Ryan <i>et al.</i> , (2002)
<i>Cryptosporidium huwi</i>	Lebiste (E)	Ryan <i>et al.</i> , (2015)
<i>Cryptosporidium macropodum</i>	Canguru gigante (D)	Power e Ryan (2008)
<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	Aves, homem (ID)	Slavin (1955)
<i>Cryptosporidium molnari</i>	Peixes (E)	Alvarez-Pellitero e Sitja-Bobadilla (2002)
<i>Cryptosporidium muris</i>	Roedores, homem (E)	Tyzzer (1910)
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Ruminantes, homem (ID)	Tyzzer (1912)
<i>Cryptosporidium proliferans</i>	Roedor (E)	Kváč <i>et al.</i> , (2016)
<i>Cryptosporidium ryanae</i>	Bovinos (D)	Fayer <i>et al.</i> , (2008)
<i>Cryptosporidium rubeyi</i>	Esquilos(D)	Li <i>et al.</i> , (2015)
<i>Cryptosporidium scrofarum</i>	Suínos (D)	Kváč <i>et al.</i> , (2013)
<i>Cryptosporidium serpentis</i>	Lagartos, serpentes (E)	Levine (1980); Brownstein <i>et al.</i> , (1977)
<i>Cryptosporidium scophthalmi</i>	Peixes (ID)	Alvarez-Pellitero <i>et al.</i> , (2004)
<i>Cryptosporidium suis</i>	Suínos, homem (ID, IG)	Ryan <i>et al.</i> , (2004)
<i>Cryptosporidium tyzzeri</i>	Camundongo (ID)	Ren <i>et al.</i> , (2012)
<i>Cryptosporidium ubiquitum</i>	Ruminantes, homem (ID)	Fayer <i>et al.</i> , (2010)
<i>Cryptosporidium varanii</i>	Lagartos (E)	Pavlašek <i>et al.</i> , (1995)
<i>Cryptosporidium wrairi</i>	Cobaio (ID)	Vetterling <i>et al.</i> , (1991)
<i>Cryptosporidium xiaoi</i>	Ovinos (D)	Fayer e Santin (2009)

* E-estômago; I-Íleo; ID-intestino delgado; IG-intestino grosso; D-Desconhecido.

Fonte: Guariz - Homem (2016)

As espécies que comumente causam infecção em humanos são *Cryptosporidium parvum*, *C. hominis*, *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. canis* e *C. ubiquitum*. A distribuição das

espécies varia geograficamente e temporalmente, porém na maioria dos países, *C. parvum* e/ou *C. hominis* são as espécies predominantes em infecções humanas (MOORE *et al.*, 2016).

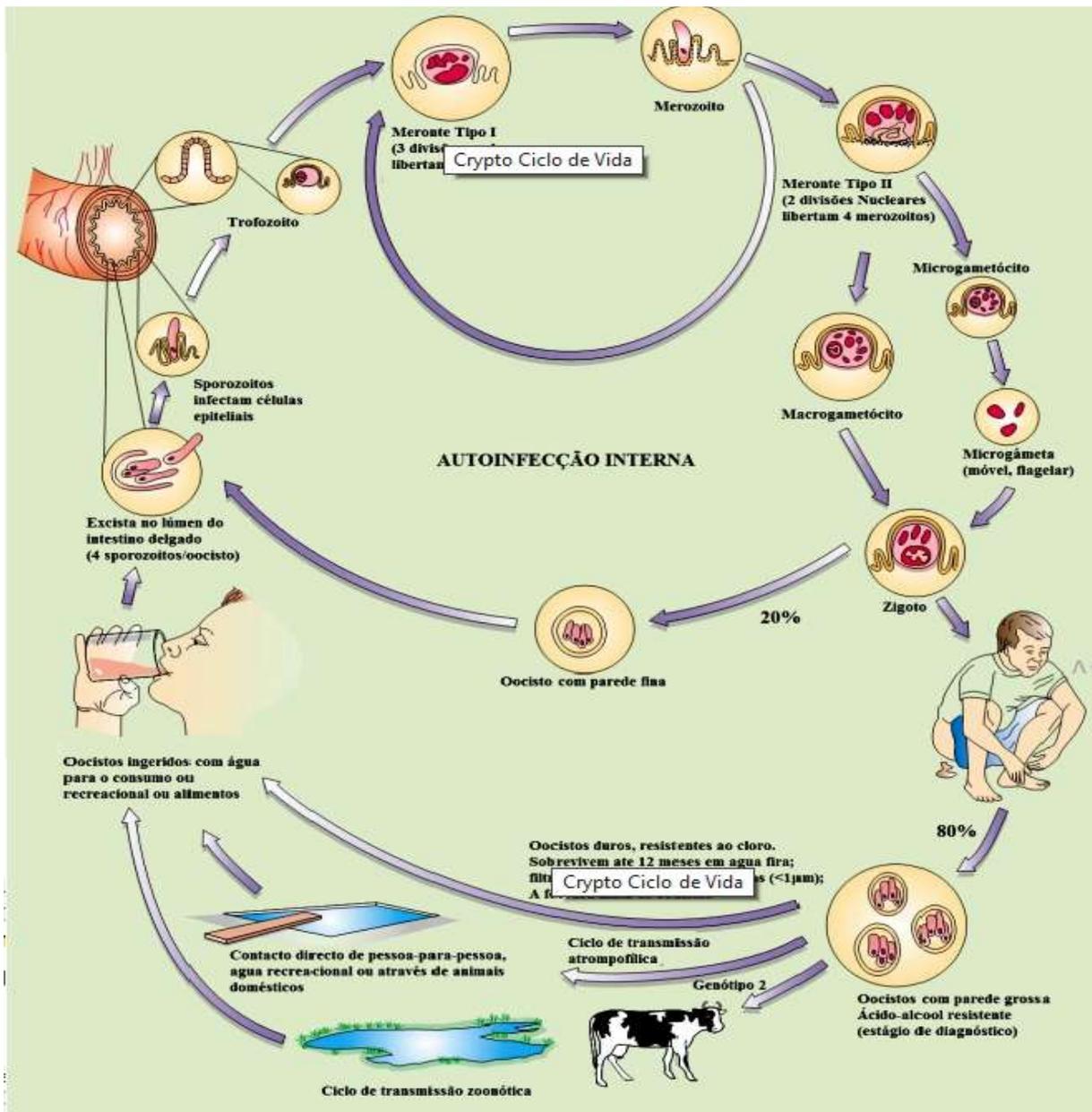
O *Cryptosporidium* spp. é um parasito considerado monoxênico, isto é, precisa de apenas um único hospedeiro para completar o ciclo biológico (TIZZER, 1910 *apud* LEAL *et al.*, 2008). Em humanos, a contaminação do hospedeiro se dá principalmente pela via feco/oral através da ingestão do oocisto esporulado, seu tamanho varia de 3,0 µm a 8,5µm, tendo formato ovalado a esférico, apresentando uma parede de dupla membrana composta por carboidratos, lipídeos, fibrilas de actina e a ligação de pontes de dissulfeto, tal característica de constituição desta camada o permite sobreviver fora do hospedeiro por muito tempo, o que lhe confere resistência contra o estresse ambiental a fatores limitantes à sua presença como, por exemplo, desinfetantes comuns a base de cloro. Os oocistos podem persistir no ambiente até seis meses em sua forma infectante principalmente em ambientes quentes e úmidos (CAREY *et al.*, 2004; LEAL *et al.*, 2008; SMITH *et al.*, 2010).

Após a ingestão ou inalação dos oocistos por um hospedeiro susceptível, acontece a excitação, quando os quatro esporozoítos móveis são liberados do oocisto e penetram nas células epiteliais do trato gastrointestinal. A exposição aos sais biliares, às enzimas pancreáticas, temperatura, dióxido de carbono e pH intestinal são estímulos para esse processo de excitação dos oocistos. Já dentro das células, os esporozoítos dão início à primeira etapa do ciclo endógeno com o processo de reprodução assexuada denominada esquizogonia ou merogonia (divisão nuclear seguida da divisão do citoplasma), formando merontes: tipo I, que contém de seis a oito merozoítos, e subsequentemente merontes tipo II, contendo quatro merozoítos no seu interior. Somente os merozoítos do tipo II dão origem ao ciclo sexuado, formando os macrogamontes (células reprodutoras femininas) e microgamontes (células reprodutoras masculinas) (CURRENT; 1990; LEAL *et al.*, 2008; SMITH *et al.*, 2010).

Os microgamontes podem produzir até 16 microgametas não flagelados e os macrogamontes originam macrogametas uninucleados que serão fertilizados pelos microgametas maduros. A união desses (macro e microgametas) origina o zigoto que posteriormente sofrerá desenvolvimento assexuado, conhecido como esporogonia, levando à produção de um oocisto esporulado contendo no seu interior quatro esporozoítos, livres, ou seja, não inseridos em esporocistos, característica que o difere dos coccídios. Os oocistos formados após esporulação do zigoto podem estar envoltos por duas camadas, formando os chamados oocistos de parede espessa (80%), que são eliminados nas fezes. Alguns oocistos, devido a uma falha na constituição da parede, formam oocistos com a chamada parede

delgada (20%) e podem excitar ainda no lúmen do intestino delgado do próprio hospedeiro, liberando os esporozoítos que vão penetrar em novas células epiteliais (autoinfecção), iniciando um novo ciclo de infecção (CURRENT, 1990; CURRENT; GARCIA, 1991; CAREY *et al.*, 2004; LEAL *et al.*, 2008; SMITH *et al.*, 2010). Na figura 1 podemos ver a ilustração do ciclo biológico do *Cryptosporidium parvum* segundo adaptação de Kosec *et al.*, 2001 realizada por Cossa, 2017.

Figura 1: Ciclo de Vida do *Cryptosporidium parvum*



Adaptação de Kosec *et al.*, 2001 realizada por Cossa, 2017.

A patogenicidade do *Cryptosporidium* spp. em humanos resulta da invasão de células epiteliais do intestino delgado pelo esporozoítos e destruição da membrana plasmática dessas

células pelo merozoíto. Com a invasão e destruição dos enterócitos, as microvilosidades podem sofrer atrofia em grau variado, além de hiperplasia das células da cripta intestinal, infiltração de células inflamatórias na lâmina própria e diminuição dos microvilos (CLARK; SEARS, 1996).

Os sintomas ocorrem geralmente entre 2 e 12 dias após a ingestão dos oocistos e são caracterizados por diarreia, dor abdominal, náusea, vômito, febre, perda de peso e caquexia. Sintomas não específicos como mialgia, debilidade, mal-estar, dores de cabeça e anorexia são também relatados, e a intensidade desses sintomas pode aumentar ou declinar paralelamente a frequência com que os oocistos se desprendem do epitélio intestinal (CHALMERS, 2014; KHALIL *et al.*, 2018).

Os fatores de risco para a criptosporidiose estão relacionados as condições precárias de estrutura sanitária e ao hospedeiro. A doença é autolimitada em adultos imuno-competentes, ou até mesmo assintomática, porém, em adultos imunocomprometidos, incluindo aqueles com HIV / AIDS, fazendo uso de drogas imunossupressoras, bebês e crianças, especialmente aquelas com desnutrição, são mais vulneráveis ao parasita, correndo assim, maior risco de apresentar sintomas da infecção (KORPE *et al.*, 2016).

3.2 OCORRÊNCIA DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* ASSOCIADA A CONSUMO DE ÁGUA

Dentre as doenças de veiculação hídrica a criptosporidiose apresenta uma grande importância sendo classificada como uma doença emergente e re-emergente, surge em diferentes nexos de tempo, em diferentes áreas geográficas, apresenta diferentes níveis de patogenicidade, e parasita diferentes vertebrados, desde animais domésticos até animais selvagens (MADRID, 2015).

Vários países do mundo já relataram casos de criptosporidiose e em grande parte destes, essa é considerada a infecção de maior importância causada por parasitas intestinais (ROSE, 1998).

A ocorrência de *Cryptosporidium spp.* no ambiente aquático tem sido verificada em vários países com vários surtos relatados, o primeiro deles descrito na literatura ocorreu na cidade de Cobham, Reino Unido com aproximadamente 16 casos relatados no ano de 1983. Posteriormente no ano de 1984, foi relatado um surto no estado do Texas - EUA que vitimou 79 pessoas, sendo diagnosticada a contaminação da água de um poço utilizado para consumo humano, por esgoto (GALBRAITH *et al.*, 1987 *apud* KARANIS *et al.*, 2007). Posteriormente outros casos foram descritos, e dentre estes, estão o da Geórgia (EUA) em 1987, onde 13.000

peças foram afetadas, e o de Saitama (Japão), em 1996, quando 8.705 indivíduos foram acometidos. Nesses dois relatos o *Cryptosporidium* spp. foi detectado na água tratada e não-tratada. Em Oregon (EUA) houve 15.000 casos de criptosporidiose em 1992 e o parasito foi detectado na água em processo de tratamento (SMITH, 1995).

Na cidade de Las Vegas no estado de Nevada – EUA no ano de 1993 um importante surto de criptosporidiose foi relatado, mesmo esta cidade possuindo uma estação de tratamento moderna. Nesse surto, 103 casos de infecção humana foram relatados e apesar deste número não se apresentar elevado o que o tornou relevante foram o número de mortes, onde dos 103 casos, 41 pessoas foram a óbito sendo que 20 tiveram como causa da morte a criptosporidiose (SOLO-GABRIELE; NEUMEISTER, 1996; ROEFER *et al.*, 1996 *apud* KARANIS *et al.*, 2007).

O maior relato de criptosporidiose humana por contaminação de água ocorreu em Milwaukee, Wisconsin (EUA), em 1993, onde 403.000 pessoas foram infectadas e foi demonstrado que o Lago Michigan, uma das fontes de abastecimento de água desta região, durante o período da epidemia, apresentava uma concentração de dejetos muito maior do que o normal, indicando uma provável relação entre essa epidemia e a contaminação parasitológica da água que abastecia a cidade (EISENBERG *et al.*, 1998; MACKENZIE *et al.*, 1994; MORRIS *et al.*, 1998).

Dentre as fontes de contaminação das águas destaca-se a contaminação cruzada onde um microrganismo patogênico de água de esgoto, por falha nos procedimentos operacionais, contamina a água. A contaminação das águas superficiais pode ser por dejetos humanos, por esterco bovino e as águas de recreação podem ser contaminadas por efluentes industriais e agrícolas (LIMA, 2003).

Em função dos surtos ocorridos, vários estudos têm sido feitos em amostras de água tratada e não tratada em vários países. No Canadá, amostras de água não tratada e tratada foram avaliadas quanto à ocorrência do *Cryptosporidium* spp. em diversos pontos de 66 estações de tratamento de água de 14 estados e uma província. Os resultados mostraram que 97% (82/85) das amostras de água não tratadas foram positivas para o parasito e na água tratada, das 82 amostras analisadas, 22% foram positivas para *Cryptosporidium* spp. (LE-CHEVALLIER *et al.*, 1991).

Hashimoto *et al.*, (2001) encontraram um índice de 35% de incidência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em uma estação de tratamento de ciclo completo do Japão. Lee *et al.*, (2007) relataram a incidência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* em

todos os lugares onde foram coletadas amostras do Rio Nakdong, Coréia do Sul, e segundo os autores a fonte de contaminação eram resíduos de bovinos.

Em Costa Rica, 14 amostras de águas superficiais foram analisadas, sendo sete de água bruta (não tratada) e sete de água tratada sem cloração. O parasito foi encontrado em 85,7% das amostras de água não-tratada e em 57% das amostras de água tratada sem cloração (LUNA *et al.*, 2002).

No Brasil *Cryptosporidium* spp. já foi detectado em águas superficiais e profundas no município de São Paulo. No ano de 1999 Hachich *et al.*, monitoraram 29 mananciais da rede de abastecimento destinado a população do estado de São Paulo e demonstraram um índice de incidência de 5% de oocistos presentes. Gamba *et al.*, (2000) encontraram a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em poços artesianos na cidade de Itaquacetuba. SP.

Farias *et al.*, (2002), analisando amostras de esgotos verificaram que o *Cryptosporidium* spp estava presente em todas as 24 amostras analisadas, variando de 80 a 912 oocistos por litro no esgoto doméstico e de 65 a 760 oocistos quando a pesquisa foi feita no Riacho Pirassujara e efluentes de esgoto.

A ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em um sistema público de tratamento de água foi estudado em amostras de água bruta e tratada em Londrina, estado do Paraná. Por meio de uma Nested-PCR, 8,33% (2/24) das amostras de água bruta foram positivas para *Cryptosporidium* spp. (ALMEIDA, 2015).

Osaki *et al.*, (2009) pesquisaram *Cryptosporidium* spp. em 12 amostras de água bruta e 12 amostras de lodo de água provenientes de quatro estações de tratamento de água (ETA) da região metropolitana de Curitiba – PR. Oocistos foram encontrados em duas amostras de água bruta (16,7%) e três amostras de lodo (25%).

Em estudo realizado na cidade de Viçosa – MG, onde foi analisada a qualidade da água de abastecimento da cidade, foi encontrada uma concentração média de 20 oocistos L⁻¹ e picos de concentração com 510 oocistos L⁻¹ (HELLER *et al.*, 2004). Na cidade de Nova Lima – MG, em estudo realizado por Machado & Cerqueira (2003), onde foram coletadas amostras no ponto de captação no Rio das Velhas, 96 % das amostras demonstraram a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. Em Divinópolis – MG, onde foram analisadas amostras ambientais de água de dois mananciais próximos do perímetro urbano foi encontrada uma concentração de 1 a 3 oocistos/10 L e uma incidência em torno de 50 % (LEAL, 2005).

Moreira *et al.*, (2015), analisaram, entre outubro de 2011 e dezembro de 2012, 230 amostras de água, sendo 32 de água bruta e 198 de água filtrada de duas estações de

tratamento da cidade de Uberaba – MG. Os autores encontraram uma positividade de 0,43% de *Cryptosporidium* spp. na água bruta superficial coletada na Estação de Tratamento.

3.3 FATORES RELACIONADOS COM A DISSEMINAÇÃO DO *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. NO AMBIENTE

A disseminação da criptosporidiose é facilitada por características intrínsecas da morfologia do patógeno como, por exemplo, a constituição de sua parede celular podendo ser bem espessa garantindo assim algumas características de resistência a danos físicos, químicos, impermeabilidade a agentes de desinfecção hospitalares e principalmente a agentes utilizados em tratamentos de água para consumo humano a base de cloro (BELLI, *et al.*, 2006).

A transmissão pode ocorrer pela ingestão de alimentos ou águas contamina, entre humanos, entre animais e entre humanos e animais, desta forma o *Cryptosporidium* spp. é considerado um patógeno zoonótico (FAYER *et al.*, 2000). A contaminação cruzada pode ocorrer através da liberação de oocistos nas fezes do hospedeiro (animal ou humano), sendo lançadas em águas utilizadas para consumo humano submetidas a tratamentos ineficientes levando a contaminação dos reservatórios de abastecimento. Outra via de contaminação importante que pode levar a contaminação de mananciais é pela adubação orgânica de pastagens, tal técnica é realizada com esterco (bovino e/ou outras espécies animais) gerado pelas práticas pecuárias onde podem ocorrer animais doentes liberando oocistos que, podem ser levados e depositados em recursos hídricos. A contaminação pode ocorrer também através da prática de recreação em corpos d'água superficiais perto de comunidades sem acesso a saneamento básico ou contaminados por efluentes industriais (DUBEY; FAYER, 1982; FAYER *et al.*, 2000; LIMA, 2003).

Animais jovens, como bezerros com diarreia, podem chegar a liberar $1,0 \times 10^{10}$ oocistos por grama de fezes, que pela proximidade destes animais com corpos d'água se tornam um grande potencial de contaminação hídrica (FAYER; UNGAR, 1986; NOURY *et al.*, 1993).

A quantidade necessária de oocistos de *Cryptosporidium* spp. é outra característica importante a ser relatada na infecção humana. Vários pesquisadores relatam que a ingestão de apenas 30 oocistos pode levar a infecções entéricas, desta forma mesmo as pequenas concentrações de oocistos encontradas nas amostras ambientais podem vir a originar a criptosporidiose humana, como por exemplo, foi relatado por Kemp *et al.* (1995), onde amostras de esgotos de fazenda chegaram a apresentar uma concentração de 19 oocistos L⁻¹.

Outra característica que facilita a disseminação da criptosporidiose é o tamanho do oocisto, tal fato dificulta a eficiência dos filtros utilizados na maioria das estações de tratamentos de água para consumo humano, durante o processo de filtração partículas de até 4 μm de tamanho conseguem ser removidas porém, durante a filtração a compressibilidade à qual os oocistos são submetidos permite que essas formas se comportem como partículas de 2 a 4 μm que continuam na água mesmo após a passagem por estações de tratamento (CACCIO *et al.*, 2005; FRANCO, 2007).

O Quadro 1 apresenta algumas características do *Cryptosporidium* spp. que facilita sua disseminação e dinâmica de transmissão, (VIEIRA,2012).

Quadro 1: Determinantes epidemiológicas dos oocistos de *Cryptosporidium* spp. e sua importância na dinâmica de transmissão

Características dos oocistos	Importancia epidemiológica
Elevada resistência ao cloro	Permite sobreviver à grande maioria dos tratamentos de desinfecção da água para consumo e fins recreativos
Tamanho bastante reduzido	Dificulta a filtração dos oocistos e requer a utilização de métodos específicos e direcionados para tratamento eficaz da água
Baixa dose infecciosa	Facilita a aquisição do parasita; Estudos referem que a dose infecciosa média para a espécie <i>C. parvum</i> varia entre 9 a 1042 oocistos
Excretados plenamente esporulados	Permite a fácil transmissão através do contato direto entre indivíduos
Potencial zoonótico	Reservatórios animais, os quais são responsáveis pela dispersão dos oocistos no ambiente, contaminação da água e alimentos.

Fonte: Vieira, 2012.

Outro fator a ser considerado é a resistência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. a condições ambientais inóspitas, podendo chegar a períodos variados de sobrevivência, em água doce pode chegar a permanecerem viáveis por mais de 170 dias e em água salgada por mais de 30 dias. Entretanto, quando dispersos no meio ambiente juntamente com as fezes dos hospedeiros se mostram muito mais resistentes e somente quando estes passam por processos de desidratação tem seu potencial de resistência diminuído (CHAURET *et al.*, 1995; FAYER, 1997).

Alguns estudos demonstram a resistência do oocisto de *Cryptosporidium* spp. a determinados agentes químicos, podemos citar como exemplo o cloro, onde a concentração deste utilizada em estações de tratamentos de água para consumo humano, exigidas pela legislação, se mostra ineficaz no processo de desinfecção para este patógeno, porém, alguns agentes químicos como formaldeído (10%), amônia (5 a 10%), água sanitária comercial (70%), peróxido de hidrogênio (10 volumes a 3%) se mostram eficazes na eliminação do oocisto. No entanto, esses produtos não podem ser utilizados em hospitais devido a sua toxicidade e nem em estações de tratamentos devido as grandes concentrações necessárias não apropriados para a finalidade médica ou para o consumo humano (MEINHARDT *et al.*, 1996 *apud* GRECA, 2010).

3.4 REMOÇÃO DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. EM PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ÁGUA

A água bruta proveniente de corpos d'água superficiais geralmente contém material flutuante (pequenos galhos e folhas de árvores, grama), areia fina, silte (fragmento de mineral ou rocha menor que areia fina), argila, e, algumas vezes, matéria orgânica natural e algas. Organismos, tais como protozoários, bactérias e vírus também podem estar presentes e representar riscos à saúde pública, razão pela qual sua inativação deve ser prioridade em qualquer sistema de tratamento. Quando não se emprega a coagulação química, a filtração lenta e a cloração são os principais processos de tratamento capazes de assegurar a produção de água com qualidade que pode ser usada pelo ser humano (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

As tecnologias convencionais de tratamento visam à clarificação e desinfecção da água e incluem etapas de coagulação, floculação, decantação, filtração, desinfecção e fluoreação. O processo de coagulação consiste na adição de um agente coagulante (sulfato de alumínio, cloreto de ferro ou outro agente) na água bruta, formando um precipitado deste composto

adicionado, tal processo ocorre na unidade de mistura rápida. Posteriormente ocorre a floculação onde a água coagulada é submetida a um processo lento de agitação onde ocorre a formação de flocos que passam a apresentar uma massa específica suficiente e até um tamanho satisfatório para que possam ser removidos por decantação ou flotação (MACEDO, 2007; DI BERNARDO; PADUA, 2011).

A decantação é um fenômeno físico natural onde ocorre a retirada das impurezas aglutinadas em flocos devido à força gravitacional, desta forma as partículas com densidades inferiores à da água emergem a superfície e o restante vão para o fundo (MACEDO, 2007; DI BERNARDO; PADUA, 2011; VOLTAN, 2014).

Com o passar do tempo e a necessidade por uma melhor eficiência nos tratamentos de água para consumo humano, novas tecnologias foram incorporadas ou adaptadas, por exemplo a flotação que inclui a combinação dos processos físicos e químicos, promovendo a aglutinação dos sólidos totais presentes nas águas realizando a insuflação de ar na forma de micro-bolhas levando as impurezas até a superfície da água (PALMEIRA *et al.*, 2009).

Na filtração ocorre à remoção das partículas suspensas e coloidais presentes na água que escoam através de um meio poroso, esta etapa visa um processo final de remoção de impurezas, sendo partículas em suspensão e também microrganismos como helmintos, protozoários e algumas bactérias (RICHTER, 1991; MACEDO, 2007). Essa etapa é crucial para a remoção do *Cryptosporidium* spp. Os filtros são formados normalmente por uma ou várias camadas de areia de diferentes granulometrias, carvão (antracito) ou camadas alternadas de areia e carvão (DI BERNARDO, 2005). Durante os processos de filtração ocorre a remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. (4-6 µm), porém, a compressibilidade dos oocistos durante esta etapa faz com que esses se comportem como uma partícula de tamanho de 2 a 4 micrometros, e desta forma o processo de filtração se torna ineficiente para a remoção dos mesmos (FRANCO, 2007).

Outra importante tecnologia que passou a ser usada é a filtração direta (FD) nesta são utilizados mecanismos de coagulação e adsorção/neutralização que permitem que os filtros sejam mais eficientes na retenção do material suspenso. Esta tecnologia é dividida em diferentes formas de acordo com o sentido que a água percorre durante o tratamento, podendo ser Filtração Direta Ascendente (FDA), Filtração Direta Descendente (FDD), Dupla Filtração (DF) e Filtração Lenta (FL). Geralmente este método é utilizado em águas brutas com melhores índices de qualidade (DI BERNARDO; PADUA, 2011). Em processos de FD a etapa de coagulação é química e não possui uma estrutura específica para sedimentação. Possui também o mecanismo de mistura rápida, que pode ou não contemplar uma unidade

específica de floculação e dependendo da qualidade da água bruta, pode-se utilizar a dupla filtração (DI BERNARDO, 2003).

A filtração direta apresenta várias vantagens quando comparada ao sistema de tratamento completo, os processos de operação e manutenção são mais simples, a quantidade de produtos químicos utilizados é menor e conseqüentemente a geração de lodo também diminui e a infraestrutura do sistema é menor, ocupando menos espaço físico. Existem também desvantagens deste processo como a impossibilidade de tratar águas com turbidez e/ou cor elevada e o tempo em que ocorre a detenção da água na ETA é menor de forma que medidas corretivas que possam ser tomadas para sanar falhas durante o processo, não serão possíveis. O Quadro 2 descrito por Di Bernardo (2003) nos mostra as vantagens e desvantagens da filtração direta comparada com os tratamentos de água de ciclo completo,

Quadro 2: Vantagens e desvantagens das tecnologias de filtração direta em relação ao Tratamento de ciclo completo

Vantagens	Desvantagens
Redução da área em planta devido ao menor número de unidade envolvidas	Diminuição da eficiência no tratamento de água com valores elevados de alguns parâmetros de qualidade
Menor consumo de produtos químicos devido à redução nas dosagens de coagulantes	Não é indicada para o tratamento de água bruta que apresente variações bruscas de qualidade
Diminuição dos resíduos gerados	Curto tempo de detenção da água na ETA, fato que dificulta a realização oportuna de medidas corretivas quando necessárias.
Menores investimentos iniciais (redução de até 70% conforme a tecnologia)	

Fonte: DI BERNARDO *et al.*, (2003); REALI *et al.*, (2013); United States Environmental Protection Agency – USEPA.

As técnicas de filtração direta para tratamento de água para consumo humano apresentam uma menor eficiência para remoção de microrganismos patogênicos, neste tipo de tratamento os filtros são a única barreira de retenção dos patógenos, desta forma as etapas que

a antecedem como, por exemplo, a coagulação, devem ser executadas de maneira adequada para garantir que a filtração seja adequada (FERNANDES *et al.*, 2010).

No Brasil, a filtração direta vem sendo utilizada como uma das principais tecnologias de tratamento de água para abastecimento público. Variantes como a filtração direta ascendente e a filtração direta descendente possuem limitações relativas à qualidade microbiológica e físico-química da água bruta, especificamente para valores de turbidez, cor verdadeira ou concentração de algas. A dupla filtração, que consiste na filtração rápida descendente precedida da filtração direta ascendente em pedregulho ou em areia grossa, permite o tratamento de água de pior qualidade, possibilita o uso de taxas de filtração mais elevadas, oferece maior segurança com relação às variações bruscas de qualidade da água bruta, apresenta maior remoção global de microrganismos e pode dispensar o descarte de água pré-filtrada no início da carreira de filtração (BASTOS *et al.*, 2009; DANTAS, 2005;).

Segundo REGLI e colaboradores (1999), estudos demonstram uma faixa de 2 a 6 log de remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. com utilização de filtros rápidos em escala real e piloto, entretanto, LE CHEVALLIER *et al.*, (2004), alertam para as dificuldades de obtenção de dados em escala real devido às baixas concentrações desses organismos e às dificuldades analíticas de sua determinação. Os oocistos de *Cryptosporidium* spp. são partículas orgânicas, porém, podem se comportar de forma semelhante as partículas inorgânicas, o que dificulta a sua remoção durante o processo de filtração, variáveis como processos de mecanismos de transportes, aderência e desprendimento influenciam na remoção de oocistos durante a filtração (FERNANDES, *et al.* 2010).

Algumas condições de pré - tratamento químicos que são realizados antes de processos como o de coagulação ou de decantação são essenciais para estabelecer uma melhor eficiência nas unidades de filtração. Fernandes *et al.* (2010) avaliaram a influência do valor de pH durante a etapa de coagulação na remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. onde o valor mais baixo (pH em torno de 5) apresentou uma melhor eficiência de remoção.

Segundo DUGAN *et al.* (2001), a decantação, processo que antecede a etapa de filtração, pode ser considerada um mecanismo eficiente no processo de tratamento de água na remoção de oocistos de protozoários, podendo chegar à remoção de 1,3 unidades logarítmicas de oocistos de *Cryptosporidium* spp.

O desafio da remoção de substâncias químicas, e, mais recentemente, de microcontaminantes, impôs o uso e desenvolvimento de outras técnicas de tratamento de água para consumo como por exemplo a adsorção em carvão ativado, oxidação, a precipitação química e a volatilização. Os processos de separação por membranas como microfiltração,

ultra filtração, nano filtração e osmose reversa, são novas tecnologias que vem apresentando uma eficiência satisfatória no processo de remoção de contaminantes. A diferenciação destes processos ocorre de acordo com a porosidade das membranas utilizadas, que vai definir a capacidade de retenção dos sólidos conforme o seu tamanho. Nestes processos temos a utilização de membranas porosas na microfiltração e ultra filtração, e as membranas mais densas que são utilizadas nos processos de nano filtração e osmose reversa (BASTOS *et al.*, 2009; PALMEIRA *et al.*, 2009; DI BERNARDO; PADUA, 2011).

Outra importante etapa no ciclo de tratamento de água para consumo humano é a desinfecção, tal processo pode utilizar um agente físico ou químico (desinfetante), cuja finalidade é a destruição de microrganismos. Nesse processo podem ser utilizados agentes desinfetantes físicos como luz solar, calor e radiação ultravioleta ou agentes químicos como íons de prata, cloro, ozônio, peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio, dióxido de cloro, derivados clorados (orgânicos e inorgânicos), bromo e outros (HELLER; PÁDUA, 2006; MACEDO, 2007).

A radiação ultravioleta (UV) é um processo físico utilizado para desinfecção de água contaminada por microrganismos patogênicos, tal processo ocorre quando se aplica uma voltagem em uma mistura de gases resultando em uma descarga de fótons, podendo ser utilizado mercúrio (Hg), mais comum, Xenônio (Xe), Cloreto de Xenônio (XeCl) (METCALF; EDIE, 2003; USEPA, 2006 *apud* MEDEIROS, 2010).

A ação da radiação ultravioleta atua nos microrganismos alterando as moléculas de RNA e DNA. Durante a absorção da energia pela molécula de DNA ocorre o rompimento das ligações saturadas destes provocando a dimerização das bases nitrogenadas pirimídicas adjacentes a citosina e timina e no RNA ocorre o mesmo processo porem a dimerização nas bases pirimídicas da uracila e citosina (CARON, 2006 *apud* MEDEIROS, 2010). Após o rompimento destas bases a replicação de ácidos nucleicos fica mais difícil e mesmo assim se ocorrer tal processo pode vir a surgir células anormais incapazes de se replicar (GONÇALVES, *et al.*, 2003).

Uma importante característica da radiação ultravioleta é que sua eficiência de desinfecção contra patógenos não depende de fatores como índice de pH e temperatura da agua submetida a este processo (MEDEIROS, 2010). Alguns fatores intrínsecos ao processo de aplicação de UV como tempo de exposição e intensidade de aplicação podem influenciar na eficácia do processo de eliminação de patógenos (USEPA, 1999). Também podemos descrever algumas características referentes à água a ser submetida a esta tecnologia que podem diminuir a eficiência da desinfecção por UV, como por exemplo, a dureza da água, a

quantidade de sólidos totais, alcalinidade e a concentração de ferro, manganês e materiais húmicos (CARON, 2006; METCALF; EDDY, 2003 *apud* MEDEIROS, 2010).

Estudos têm sido relatados na literatura utilizando a UV para remoção do *Cryptosporidium* spp. em água. Belosevic *et al.* (2001) demonstraram uma melhor taxa de inativação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. quando comparado a cistos de *Giardia* spp. em média pressão. Bukhari *et al.* (2004) relataram uma inativação de 4 log na concentração de oocistos de *Cryptosporidium* submetidos a 4 mJcm⁻² de UV. No Quadro 3 são listados as vantagens e desvantagens da utilização da Radiação Ultravioleta em tratamentos de água para consumo humano.

Quadro 3: Vantagens e desvantagens do uso da Radiação UV em tratamentos de água para consumo humano.

Vantagens	Desvantagens
1. Cloro residual pode ser monitorado	1. Produção de trihalometanos e outros subprodutos
2. Relativamente barato, visto que o custo tem aumentado com regulamentações implementadas	2. É necessário um longo tempo de contato quando comparado a outros desinfetantes químicos
3. Tecnologia bem estruturada e de fácil implantação.	3. A baixa doses, é menos efetivo na inativação de vírus, cistos e coliformes totais.
4. Auxilia no controle de odor, cor e sabor	4. Óxidos de ferro, magnésio e outros componentes inorgânicos consome o desinfetante
	5. Oxida vários componentes orgânicos que também consome o desinfetante
	6. Pode reduzir o pH se a alcalinidade da água desta for insuficiente

Fonte: MEDCALF; EDDY, 2004.

3.5 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS

Os processos Oxidativos Avançados são um conjunto de novas tecnologias que vem sendo empregadas para remoção e degradação de agentes contaminantes em efluentes e águas

residuais através da reação de radicais livres. Dentre eles o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) tem sido um dos principais, apresentando alto poder de reatividade podendo degradar agentes poluentes em pequeno intervalo de tempo (CANELA; JARDIM, 1998; HIRVONEN *et al.*, 1996; NOGUEIRA; SILVA, 2007). Na Tabela 3 são citados por Teixeira e Jardim (2004) algumas das principais vantagens da utilização dos POAs.

Tabela 2: Principais vantagens dos Processos Oxidativos Avançados para remoção e degradação de agentes contaminantes em efluentes e águas residuais

Principais Vantagens da Utilização de POA(s) em Efluentes e Águas Residuais
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mineralizam o poluente e não somente se transferem de fase; ➤ São muitos usados para compostos orgânicos recalcitrantes; ➤ Transformam produtos refratários em compostos biodegradáveis; ➤ Podem ser usados com outros processos (pré e pós-tratamentos); ➤ Apresentam forte poder de oxidação, com cinética de reação elevada; ➤ Mineralização do agente contaminante e não formação de subprodutos, desde que utilizem a quantidade de oxidante correta; ➤ Possibilidade de tratamento <i>in-situ</i>.

Autor: Adaptado de Abdala – Neto *et al.*, 2014.

O radical hidroxila apresenta algumas características importantes, possui caráter altamente reativo, não é seletivo, possui a capacidade de decomposição de compostos inorgânicos e orgânicos (CANELA; JARDIM, 1998; NOGUEIRA; SILVA, 2007). A reação entre estes radicais e compostos orgânicos ocorre de forma diferente e rápida, uma delas é através da adição à dupla ligação ou interação com o átomo de hidrogênio. Em moléculas orgânicas de cadeia aberta o radical hidroxila leva a formação de radicais orgânicos que reagem com oxigênio, isso leva a uma série de reações de degradação formando moléculas como CO_2 e H_2O (SOUZA *et al.*, 2010; PERALTA-ZAMORA; TIBURTIUS, 2004).

Na Tabela 4 tem se o potencial de redução de agentes oxidantes que podem ser gerados e/ou utilizados em Processos Oxidativos Avançados.

Tabela 3: Valores de potenciais de redução dos principais agentes oxidantes empregados nos POAs

Espécie	Potencial de redução (V)
Fluor (F ₂)	3,03
Radical hidroxila (•OH)	2,80
Oxigênio radicalar (•O)	2,42
Ozônio (O ₃)	2,07
Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	1,78
Radical hidroperoxila (•O ₂ H)	1,70
Permanganato de potássio (KMnO ₄)	1,68
Ácido hipobromoso (HBrO)	1,59
Dióxido de cloro (ClO ₂)	1,57
Ácido hipocloroso (HClO)	1,49
Ácido hipoiodoso (HIO)	1,45
Cloro (Cl ₂)	1,36
Bromo (Br ₂)	1,09

Fonte: Machado, 2018.

Os POAs são divididos em homogêneos e heterogêneos, os homogêneos utilizam somente uma fase, podendo adicionar produtos químicos como H₂O₂, O₃ e/ou UV e os heterogêneos utilizam um sistema polifásico com adição de catalisadores sólidos como óxidos ou metais fotoativos para aumentarem a velocidade para atingir o equilíbrio sem alterar a sua constituição (CIOLA, 1981; DANTAS, 2005).

No quadro 4 observa-se a classificação de processos oxidativos avançados homogêneos e heterogêneos segundo Higarashi (1999).

Quadro 4: Classificação dos POAs em homogêneos e heterogêneos

Homogêneo		Heterogêneo	
Com radiação	Sem radiação	Com radiação	Sem radiação
O ₃ /UV	O ₃ / H ₂ O ₂	TiO ₂ /UV	Eletro-Fenton
H ₂ O ₂ /UV	O ₃ / OH ⁻	TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV	-
O ₃ /H ₂ O ₂ /UV	H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ - Reagente de Fenton	-	-
Foto-Fenton	S ₂ O ₈ ²⁻	-	-
-	ClO ₂	-	-
-	KMnO ₄	-	-

Fonte: Higarashi, 1999.

Dentre as inúmeras aplicabilidades dos POA (s) podemos citar a sua ação em agentes contaminantes com concentrações muito baixas, em determinadas amostras, podendo atuar em concentrações de partículas por bilhão (ppb) (DOMÈNECH *et al.*, 2001; GOGATE; PANDIT, 2004). Outras importantes características destes processos é não gerar resíduos, se demonstrando como uma alternativa limpa, e a capacidade de alterar a composição de alguns compostos levando a degradação dos mesmos ou até mesmo a mineralização completa desses (SARRIA *et al.*, 2002; TABRIZI; MEHRVAR, 2004).

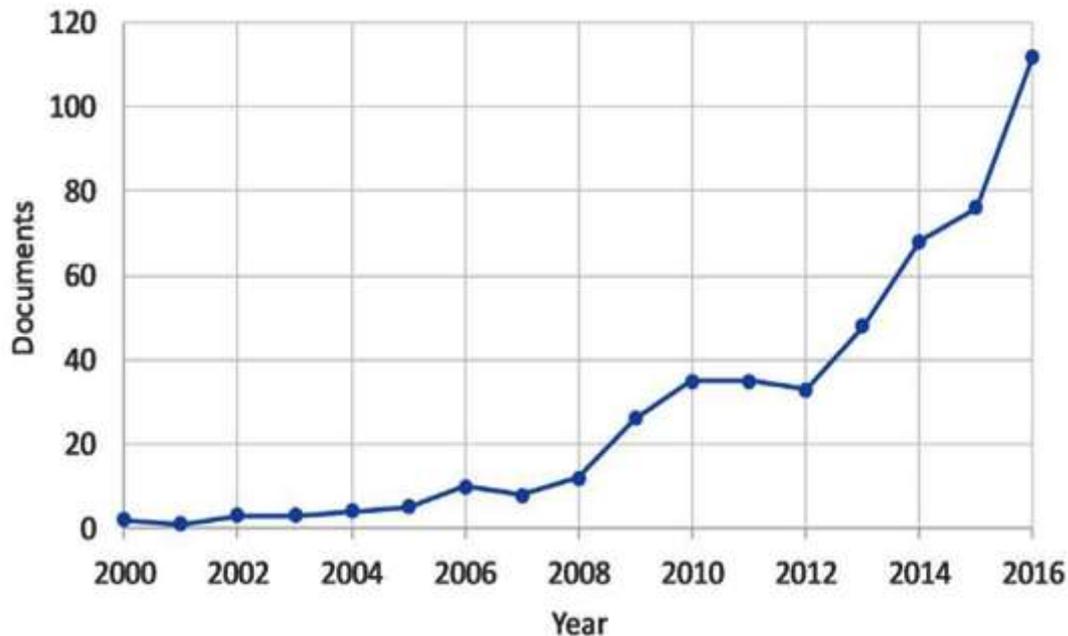
3.6 TIPOS DE PROCESSOS DE CAVITAÇÃO

A formação do radical hidroxila (•OH) que é uma das principais características dos processos oxidativos avançados, também é obtido pelo processo de cavitação. A cavitação é um processo que ocorre somente em líquidos sobre escoamento levando a formação de “cavidades” no interior da massa líquida, tal processo ocorre devido à alteração do circuito por onde este líquido escoar (CASSIOLATO; ALVES, 1998; GOGATE, 2006; MACHADO, 2018; SANTOS, 2009).

O estudo dos processos de cavitação inicialmente foi realizado para elucidar o efeito deste fenômeno na durabilidade de determinadas máquinas ou partes destas que se encontravam em rotação imersas em um líquido, como por exemplo, hélices de navios, bombas centrífugas e outras. Com o aumento da velocidade das rotações destas estruturas quando imersas em um fluido pode ocorrer a criação de uma fase de vapor imersa no líquido levando a alteração das características dinâmicas do escoamento ocorrendo alterações de temperatura, pressão e liberação de energia e conseqüentemente danificação das estruturas de funcionamento (MICHEL, 2005; FUZIER *et al.*, 2013 *apud* MACHADO, 2018).

A utilização de POA vem se estabelecendo cada vez mais no meio acadêmico como uma nova alternativa de tecnologias extremamente promissoras, vários estudos vêm sendo desenvolvidos demonstrando os diferentes usos da cavitação com excelentes resultados, e dentre eles, a utilização desta em tratamentos de água tem apresentados resultados promissores e tal fato impulsionou substancialmente nos últimos anos a publicação de artigos conforme foi relatado por Gagol e colaboradores (2018), Figura 5.

Figura 2: Crescimento de estudos utilizando cavitação segundo plataforma Scopus, 2018.



Fonte: Gagol *et al.*, 2018.

Atualmente na literatura são descritos diferentes tipos de cavitação, sendo a cavitação acústica, cavitação hidrodinâmica, cavitação óptica e cavitação de partículas (GOGATE *et al.*, 2001 *apud* MACHADO, 2018).

A Cavitação acústica é definida pelo efeito de alterações de variações de pressão de um líquido sendo ocasionadas pela passagem por ondas sonoras ultrassônicas variando entre as frequências de 16 kHz a 100 MHz e quando estas alterações são ocasionadas por ondas de som são chamadas de química sônica (GOGATE, 2006). Já a cavitação óptica é definida quando as ações de fótons de alta intensidade aplicados em um líquido levam ao rompimento das ligações moleculares deste, formando bolhas de cavitação (GOGATE, 2006; SANTOS, 2009). O outro processo de cavitação é o de partículas, onde o rompimento do líquido ocorre devido à ação de um feixe de partículas elementares, levando também a formação de bolhas. E por último a cavitação hidrodinâmica que é ocasionada pela alteração do sistema por onde o fluido escoar e com isso alterando a velocidade de escoamento e a pressão estática do líquido levando a formação de microbolhas (cavidades) que implodem ocasionando aumento de temperatura, alterações de pressão do líquido e liberação de energia (GOGATE, 2006; MACHADO, 2018; SANTOS, 2009).

A cavitação pode produzir diferentes efeitos, dentre eles químicos através da geração de radicais livres, mecânicos através de tensões tangenciais e micro turbulências, térmicos podendo alterar condições de pressão e temperatura drasticamente e combinados quando o processo de cavitação é realizado juntamente com outros agentes como, por exemplo, tratamentos químicos (GOGATE; KABADI, 2009). Dentre os tipos de cavitação descritos, a cavitação hidrodinâmica e a acústica têm sido constantemente utilizadas em estudos acadêmicos e em aplicações em processos industriais, tais usos são explicados devido a fácil aplicação de tais técnicas e a possibilidade de diferentes resultados de transformações físico-químicas que tais processos podem resultar (SANTOS 2009).

A cavitação hidrodinâmica ocorre quando se modifica a geometria de um sistema de fluxo de um determinado líquido alterando o seu regime de escoamento, tal alteração em sistemas de cavitação montados para experimentos podem ser pelo uso de venturis, placa de orifício ou válvula de estrangulamento. Tal alteração da geometria do sistema modifica a velocidade de escoamento de forma que quando o líquido passa por uma restrição parcial ou completa no sistema e ocorre um aumento da velocidade do fluido, da energia e diminuição da pressão abaixo da pressão de vapor líquido no local da restrição onde ocorre uma grande produção de energia resultando na formação de radicais livres (CAUPIN; HERBERT, 2006; DELMÉE, 2003; GOGATE, 2007 *apud* MACHADO, 2018). Desta forma, ocorre a formação de bolhas de cavitação que possuem uma densidade energética elevada, em torno de 10^{18} kW/m⁻³, com um índice pressão podendo chegar a 240 Mpa, velocidade até 1700 m.s⁻¹ e um aumento na temperatura superior a 1000 K no centro da bolha. Isso promove alterações na

composição química, acelerando as reações químicas e de transferência de massa (ARROJO; BENITO, 2008; OZONEK, 2012).

Os processos de cavitação podem também ser classificados de acordo com o grau de intensidade, podendo ser transiente e estável. Na cavitação transiente ao gerar a bolha de cavitação esta pode entrar em colapso a uma fração mínima de seu tamanho, liberando uma quantidade significativa de energia através de uma onda de choque e aumentar intensamente a temperatura e pressão. Tal processo ocorre devido ao vapor d'água gerado se dissipar até o líquido circundante da bolha. Já as cavitações estáveis são formadas pequenas bolhas que oscilam em tamanho e forma devido a variação de entrada de energia, podendo ser insuficiente para causar o colapso total da bolha de cavitação e gerando efeitos cavitacionais mais moderados quando comparados aos da cavitação transiente (GOGATE; KABADI, 2019). Desta forma Moholkar & Pandit (1997) relatam que a eficiência de remoção de microorganismos em água é maior quando a cavitação é de caráter transiente.

3.7 LEGISLAÇÃO SOBRE POTABILIDADE DE ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO

No Brasil, a regulamentação sobre potabilidade, controle (responsabilidade dos prestadores de serviço em abastecimento de água) e vigilância da qualidade da água para consumo humano (responsabilidade do setor saúde) é uma atribuição do Ministério da Saúde. Institucionalmente, a definição de diretrizes e a implantação de políticas relacionadas à qualidade da água estão localizadas na Coordenação Geral de Vigilância em Saúde Ambiental/Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde - CGVAM/SVS/MS (ANDREOLI, 2016).

A Portaria 2914 de 2011 (BRASIL, 2011) estabelece normas para os sistemas de abastecimento de água no monitoramento de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. considerando o monitoramento mensal de *Escherichia coli* no (s) ponto (s) de captação de água como ponto de partida. Segundo esta portaria quando identificado uma média geométrica anual maior ou igual a 1.000 *Escherichia coli*/100 mL de água bruta, deve ser realizado o monitoramento de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. no (s) ponto (s) de captação de água. Se a média aritmética da concentração de oocistos de *Cryptosporidium* spp. for maior ou igual a 3,0 oocistos L⁻¹ no (s) ponto (s) de captação de água, recomenda-se a obtenção de efluente em filtração rápida com valor de turbidez menor ou igual a 0,3 UNT em 95% das amostras mensais ou uso de processo de desinfecção que comprovadamente alcance a mesma eficiência de remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. (FARIAS 2014; FREGONESI, 2012; HESPANHOL, 2015).

4 METODOLOGIA

4.1 AMOSTRAS DE OOCISTOS DE *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM*

Os oocistos utilizados para infectar as amostras de água utilizadas nesse trabalho pertencem ao laboratório de Coccídios da Disciplina de Parasitologia da UFTM e foram obtidos de fezes de bezerro infectado experimentalmente para o projeto de doutorado intitulado “Produção de Igy anti-*Cryptosporidium parvum* e estudo do comportamento da resposta humoral de bezerros com criptosporidiose induzida” realizado pela aluna Julia Gomes de Carvalho Jorge, da Escola de Veterinária da UFMG, sob a co-orientação da Professora Dra. Márcia Benedita de Oliveira Silva. O referido projeto de doutorado foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA/UFMG) sob protocolo nº 151/2015.

4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA CONTAMINADA COM OOCISTOS DE *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM*

Os oocistos de *C. parvum* previamente purificados, de acordo com metodologia descrita por Oliveira-Silva *et al.* (2007), foram submetidos a contagem na Câmara de Neubauer. Para contaminação da água foram utilizadas 3 alíquotas de 1 mL na concentração $1,0 \times 10^6$ oocistos L^{-1} . As amostras de oocistos foram mantidas em solução salina estéril (0,9% m/m) sob refrigeração a 8°C até o momento de contaminação da água.

Para a passagem no processo de cavitação hidrodinâmica foram utilizados 6,0 litros de água ultrapura divididos em 3 galões plásticos (capacidade de 5,0 litros) que foram previamente desinfetados com hipoclorito de sódio a 1%. Em cada galão foi colocado 2 litros da água ultrapura e adicionado 1,0 mL de uma alíquota de oocistos de *C. parvum* contendo 1×10^6 oocistos (0,34 mL de oocistos de *Cryptosporidium parvum* e 0,66 mL de solução salina).

A Figura 6 apresenta o galão utilizado para a infecção da água ultrapura e uma alíquota de 1 mL contendo oocistos de *C. parvum* em solução salina.

4.2.1 Teste “Piloto”

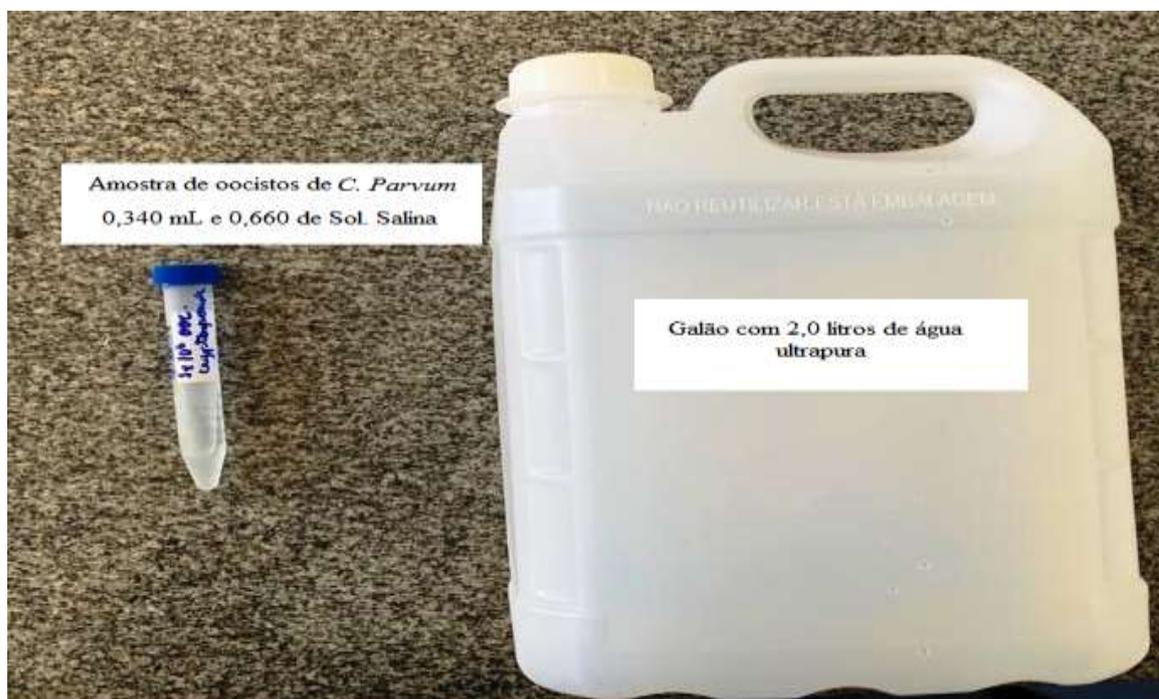
Primeiramente foi realizado um ensaio “piloto” de submissão da água contaminada com oocistos de *C. parvum* ao Sistema de Cavitação Hidrodinâmica a uma pressão de 7,0 bar para avaliar o comportamento do sistema (pressão e variação de temperatura) e os parâmetros de recuperação e contagem dos oocistos em citometria de fluxo. Dois litros de água foram

contaminados com 1×10^6 oocistos de *C. parvum*/L e foram submetidos ao sistema de cavitação por um período de 60 minutos. Amostras de 10 mL foram coletadas logo após a infecção da água, sem passar pelo sistema (T0), após passagem pelo sistema, mas sem ligar a cavitação (T1) e a cada 10 minutos de passagem no sistema (T2 com 10 minutos a T7 com 60 minutos). Após concentração do material por centrifugação a 4000 rpm por 10 minutos a 4°C em uma centrífuga Eppendorf marca 5804R, o sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspenso em 1mL de solução salina para quantificação. A quantificação do número de oocistos nas amostras da água antes e após a passagem no sistema de cavitação foi realizada por meio de citometria de fluxo e microscopia de luz (15µL em lâmina) para efeito de comparação.

4.2.2 Amostras submetidas ao sistema de cavitação em 3 pressões diferentes

Na Figura 6 podemos ver o galão utilizado para a contaminação da água com oocistos de *cryptosporidium parvum*.

Figura 3: Foto do galão utilizado para infecção da água ultrapura e amostra de oocistos de *C. parvum* em solução salina.



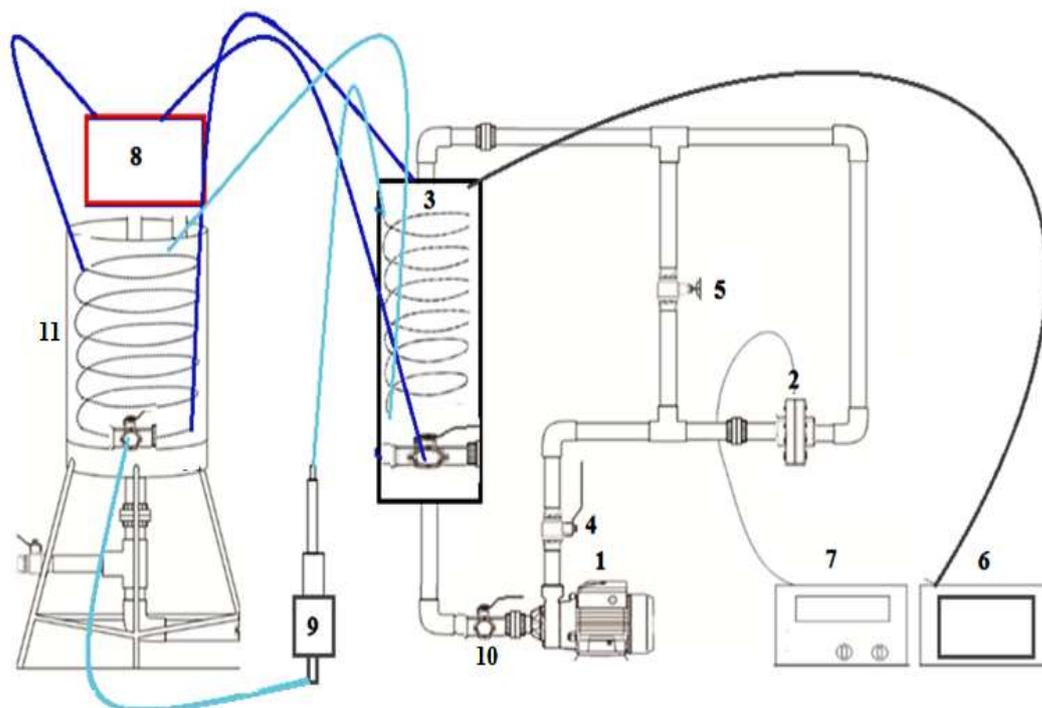
Fonte: Oliveira, 2019.

Após a contaminação da água com os oocistos de *C. parvum* e a realização da homogeneização foi retirada uma alíquota de 10 mL de amostra de cada galão, colocada em três tubos falcon de 15 mL e identificadas como P1A0 (Galão P1), P2A0 (Galão P2) e P3A0 (Galão P3) para ser utilizado como controle do tempo “zero”, ou seja, sem passar pelo sistema de cavitação hidrodinâmica.

4.3 COMPOSIÇÃO DO SISTEMA DE CAVITAÇÃO HIDRODINÂMICA

O sistema de cavitação foi construído e instalado junto ao laboratório no Instituto de Ciência e Tecnologia Ambiental (ICTE) no Laboratório de Processos Ambientais, o sistema foi montado com capacidade para 2,0 litros sendo utilizando uma bomba periférica de marca KSB de 1 cv bifásica que foi acoplada a um sistema com tubulação de cano PVC (marcas Tigre e Amanco) com medida de $\frac{3}{4}$ ou 19,05 mm, contendo 1 registro com regulagem de pressão, 1 registro para ser utilizado como by-pass, 1 registro para coleta de líquido do sistema, um reservatório para o líquido com capacidade para 2,0 litros (tubulação de 100 mm), um câmara com placa de orifício circular com furo central de 1,2 mm confeccionada em nylon e um trocador de calor composto por 2 bombas periféricas menores sendo a Bomba₁ marca ProMinent® utilizada para bombear a amostra de água com oocistos do reservatório do sistema até o reservatório do trocador de calor, Bomba₂ utilizada para bombear a água resfriada para o segundo trocador de calor visando manter a temperatura do sistema de cavitação em torno de 35°C, um reservatório de PVC com capacidade de 50 litros contendo água e gelo sendo este utilizado para a circulação da amostra (água com oocistos vindos do sistema de cavitação) dentro de serpentinas contida neste. Também foi instalado uma sonda LabQuest da marca Vernier® com sensor para aferição de temperatura e um medidor de pressão digital Full Cage modelo PTC 400 RI PLUS. Na Figura 7 há uma ilustração do sistema de cavitação hidrodinâmica com placa de orifício adaptado do trabalho de Machado (2018).

Figura 4: Modelo do Sistema de Cavitação Hidrodinâmica montado



1 – Bomba do Sistema de Cavitação Hidrodinâmica, 2 – Placa de Orifício, 3 – Reservatório do Sistema de Cavitação Hidrodinâmica, 4 – Registro de regulagem de Pressão, 5 – Registro de By Pass, 6 – Sonda de Monitoramento de Temperatura, 7 – Contador Digital de Pressão, 8 – Bomba ₁ do Sistema de Trocador de Calor, 9 – Bomba ₂ do Sistema de Trocador de Calor, 10 - Registro para coleta das Amostras e 11 – Reservatório de Água e Gelo do Trocador de calor.

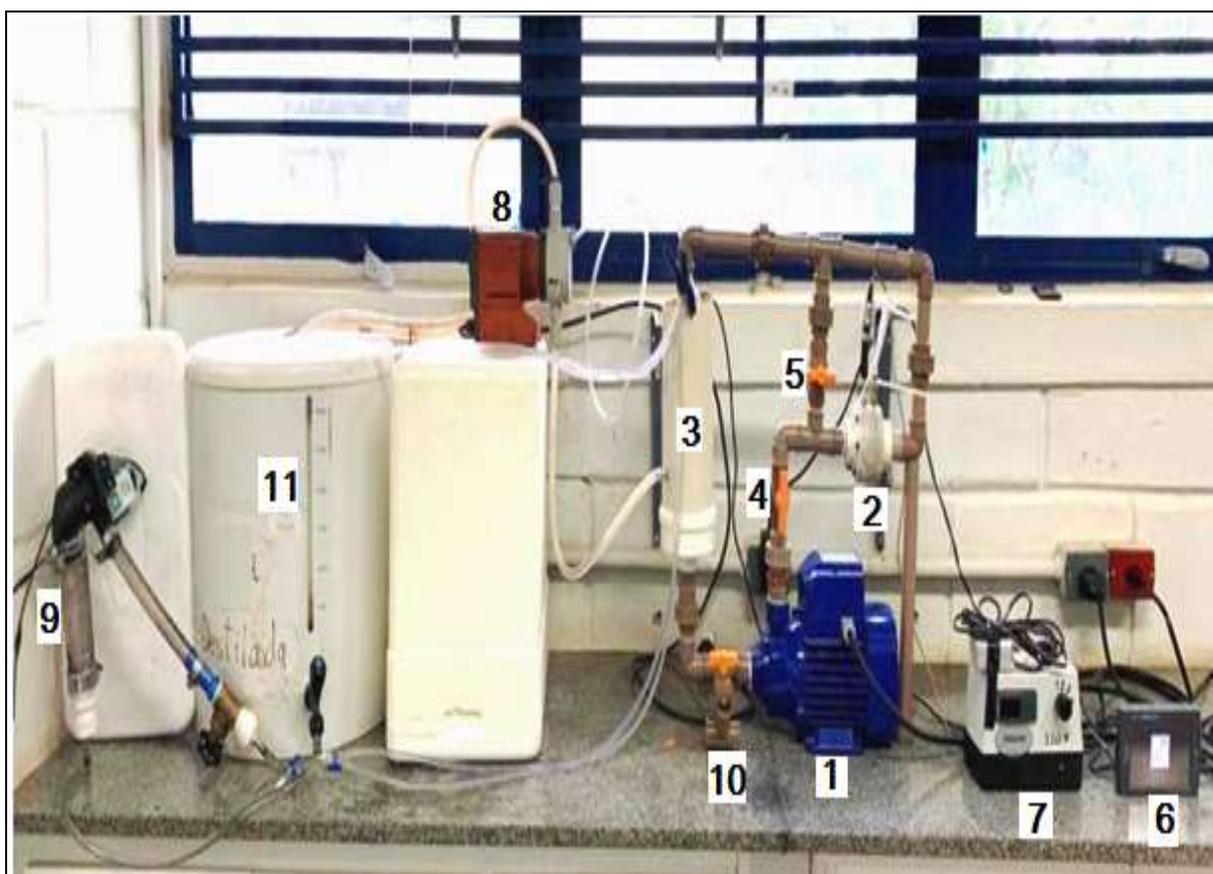
Fonte: Adaptado de Machado pelo autor (2018).

O sistema de cavitação hidrodinâmica utilizado foi dimensionado de forma reduzida quando comparado aos já utilizados em outros experimentos, este apresenta uma capacidade de volume da amostra menor (2,0 a 2,2 litros), desta forma pode-se utilizar uma amostra de 2,0 litros de água com oocistos de *C. parvum* na concentração de $0,5 \times 10^6$ oocistos/L (5×10^2 oocistos/mL) esta concentração utilizada é a adequada para que possam ser realizadas as análises da efetividade do processo de cavitação e também se assemelha as concentrações encontradas de amostras ambientais de águas contaminadas

Na Figura 8 observa-se o sistema de cavitação utilizado no experimento sendo composto por uma Bomba do Sistema de Cavitação Hidrodinâmica (1), Placa de Orifício (2), Reservatório do Sistema de Cavitação Hidrodinâmica (3), Registro de Regulagem de Pressão (4), Registro do By Pass (5), Sonda de Monitoramento de Temperatura (6), Contador Digital

de Pressão (7), Bomba - 1 do Sistema de Trocador de Calor (8), Bomba - 2 do Sistema de Trocador de Calor (9), Registro para coleta das Amostras (10) e Reservatório de Água e gelo do Trocador de Calor (11).

Figura 5: Foto do Sistema do Sistema de Cavitação utilizado e seus componentes

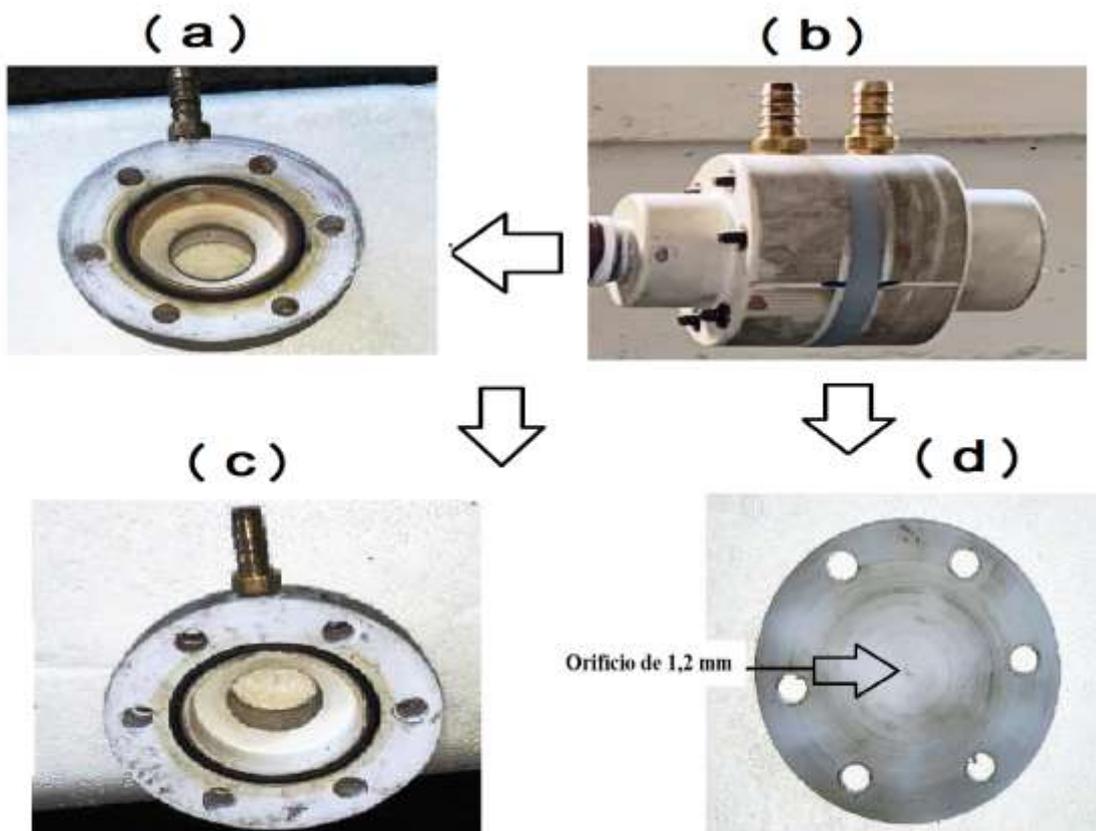


Fonte: Oliveira, 2019.

Na figura 6 podemos ver a placa de Orifício e a câmara que foi utilizada no Sistema de Cavitação, tal mecanismo é responsável pela alteração do circuito por onde a amostra escoar sob pressão e tal alteração é responsável pela geração do fenômeno cavitacional a cavitação (GOGATE, 2006).

A placa de orifício foi confeccionada em material de nylon e foi perfurada por uma microretífica de marca Dremel 110 V e com uma broca de 1,2 mm sendo feito o orifício no centro da mesma.

Figura 6 : Câmaras e a Placa de Orifício utilizadas no Sistema de Cavitação Hidrodinâmica, em que (a) câmara 1, (b) placa de orifício montada, (c) câmara 2 e (d) orifício de 1,2 mm;



Fonte: Oliveira, 2019.

4.4 SUBMISSÃO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA COM OOCISTO DE *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* AO SISTEMA DE CAVITAÇÃO HIDRODINÂMICA

Primeiramente o sistema foi submetido a um teste para a correção de vazamentos, cálculo de vazão do sistema e medida das pressões que foram utilizadas, sendo 1,0, 3,0 e 5,0 bar, e posteriormente foi realizado um teste durante 60 minutos monitorando a temperatura do sistema utilizando somente água natural. Após o teste de temperatura deu início ao experimentos com as amostras de água ultrapura contaminadas com oocistos de *C. parvum* iniciando o teste com a Pressão de 5,0 bar.

Primeiramente foi colocada a amostra de água contendo 2,0 litros no reservatório do sistema que foi ligado com os Registros de Regulagem de Pressão (4) e de *By-Pass* (5) totalmente abertos para que a amostra percorresse o sistema, porém sem se submeter ao processo cavitação durante 1 minuto, onde então foi desligado o sistema e coletado 3 tubos

falcon de 10 mL da amostra e devolvidos ao reservatório e então foi coletado uma amostra de 10 mL identificada como P1A1 (P1 devido ser a primeira pressão e A1 por ser a primeira amostra coletada no sistema) e mantida sob refrigeração. Posteriormente o sistema foi ligado e foram coletadas amostras de 10 em 10 minutos até o tempo de 60 minutos na pressão de 5,0 bar (P1) totalizando 7 amostras (P1A1, P1A7).

Após o primeiro ensaio com a Pressão P1 o sistema foi regulado para a pressão de 3,0 bar (P2), todo o procedimento experimental realizado foi idêntico ao anterior sendo identificadas as amostras (P2A1,....P2A7), o mesmo foi feito para a Pressão de 1,0 bar (P3) sendo identificadas as amostras (P3A1,.....P3A7) e acondicionadas sob refrigeração.

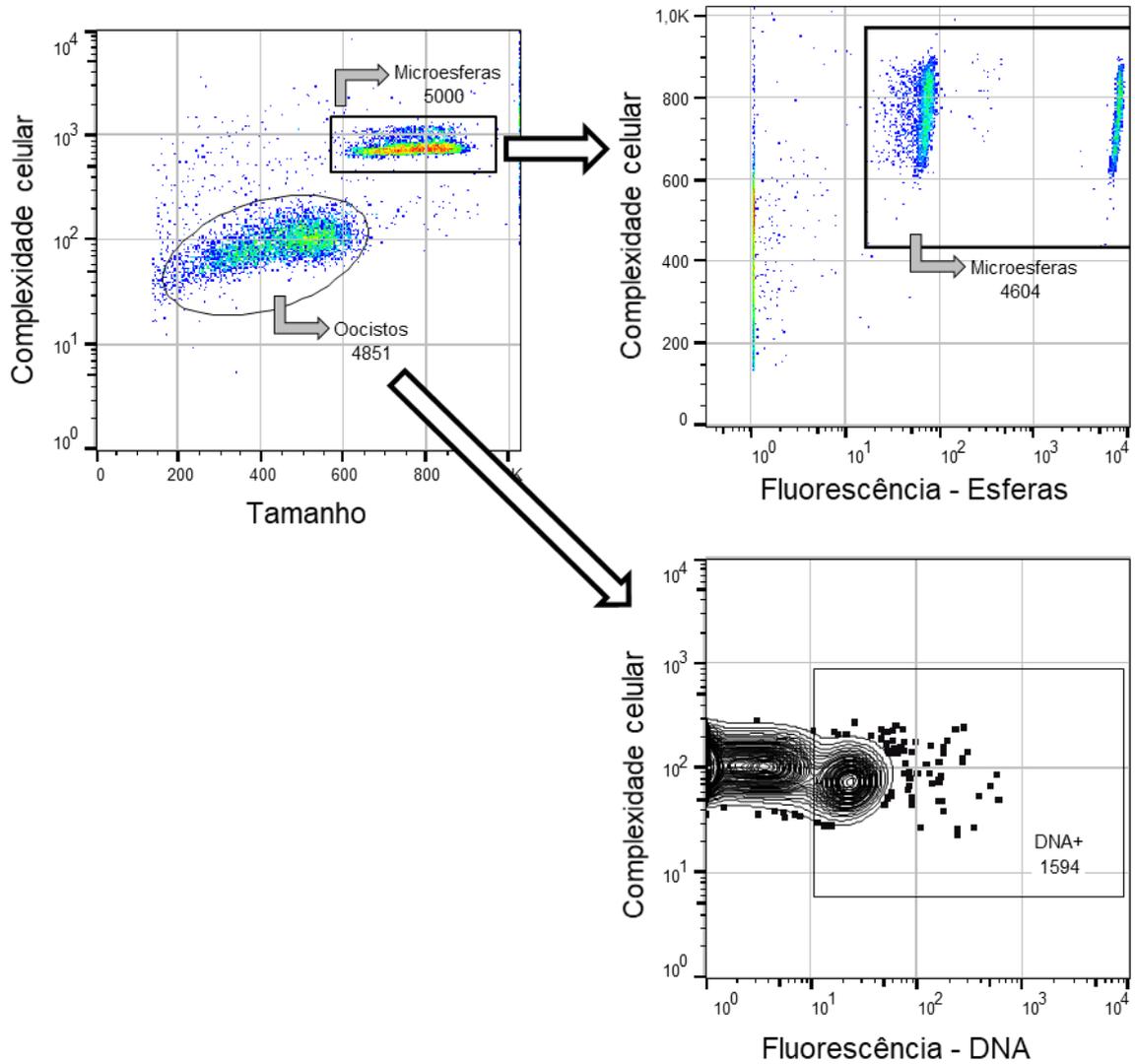
As amostras colhidas foram levadas ao laboratório de Coccídios da Disciplina de Parasitologia da UFTM sob refrigeração e foram armazenadas a 8°C. Dos 10 mL de amostra colhidas no tempo “zero” e A1 (sem ação da cavitação) e as demais (A2 a A7) submetidas aos 6 diferentes tempos de exposição e cavitação em 3 pressões diferentes, foi retirado uma alíquota de 1mL para ser contado o número de oocistos de forma direta, sem concentração, no Citômetro de Fluxo. Os 9 mL restantes foram concentrados por centrifugação a 4000 rpm por 10 minutos a 4°C em uma centrífuga Eppendorf marca 5804R. Após centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi ressuspensionado em 1 mL de solução salina e armazenado em tubos Eppendorf, sob refrigeração a 8°C até o momento da contagem dos oocistos no Citômetro de Fluxo.

4.5 LEITURA DAS AMOSTRAS NO CITÔMETRO DE FLUXO

Os oocistos foram quantificados pela técnica de citometria de fluxo, utilizando microesferas fluorescentes (BD Biosciences, San Diego, CA, EUA), de concentração conhecida (1000 esferas / μl), conforme protocolo adaptado de Sonzogni-Desaltes *et al.* (2019). Inicialmente, foram adicionados 20 μL de microesferas (20.000 esferas, concentração na amostra de 100 microesferas / μL), 180 μL de cada amostra submetida ao processo de cavitação e 1 μl de Iodeto de Propídeo (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Foram administradas aproximadamente 5000 microesferas em cada amostra, em citômetro FacsCalibur e analisados no software FlowJo 10.1 (BD Biosciences, San Diego, CA, EUA). Microesferas e oocistos foram separados baseando-se em sua diferença de tamanho, complexidade celular e fluorescência natural. Especificamente, os oocistos foram ainda caracterizados pela presença de DNA, marcado com Iodeto de Propídeo. Assim como em uma amostra hipotética, a aquisição de 4851 esferas, numa concentração de 100 esferas / μl = 46,04 μl de volume adquirido. Na mesma amostra, 1594 oocistos / 46,04 μl de volume = 34,62 oocistos / μL = $3,46 \times 10^7$

oocistos / litro. Uma sinopse desta metodologia é mostrada na Figura 7. A concentração dos oocistos foi calculada a partir da quantidade de microesferas adquiridas.

Figura 7: Estratégia de quantificação de oocistos por citometria de fluxo



Protocolo adaptado de Sonzogni-Desalteis *et al.*, 2019.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ENSAIO “PILOTO” DE ÁGUA CONTAMINADA COM OOCISTOS DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* EM UM SISTEMA DE CAVITAÇÃO HIDRODINÂMICA.

Os resultados obtidos na contagem de oocistos nos diferentes intervalos de tempo após passagem da água no sistema de cavitação hidrodinâmica na pressão de 7,0 bar demonstraram uma redução de sua concentração quando comparados ao controle (T0), tanto na citometria de fluxo quanto na contagem em lâmina na microscopia ótica, Tabela 4.

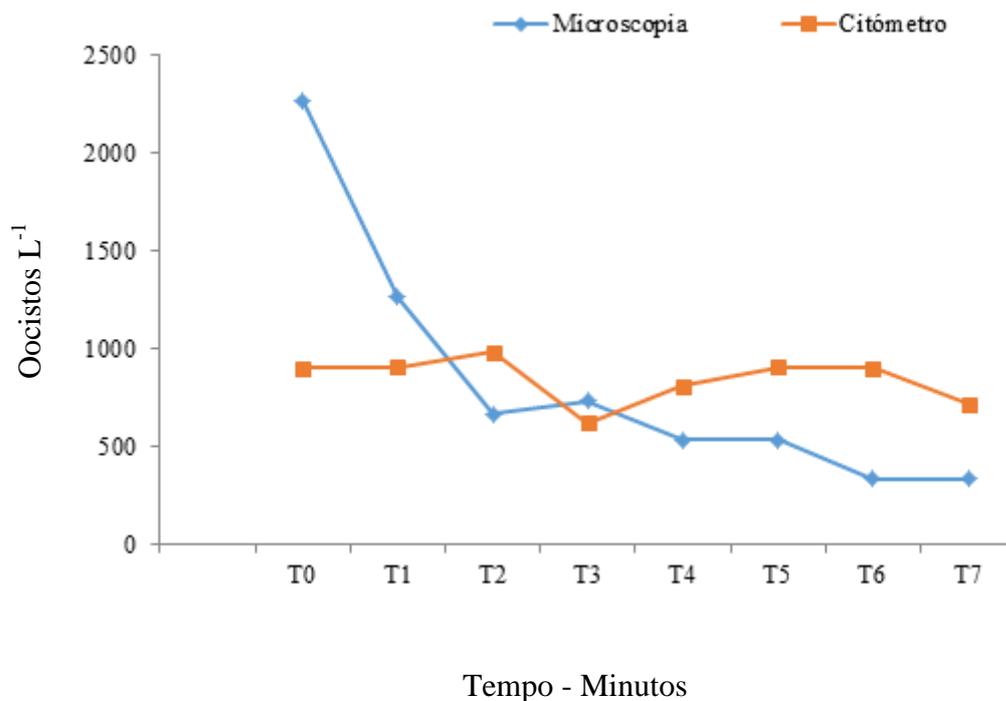
Tabela 4: Resultados da contagem do N° de Oocistos de *C. parvum* no citômetro de fluxo e microscopia ótica antes e após a passagem pelo Sistema de Cavitação Hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo sob uma pressão de 7,0 bar.

Amostras	Tempo (Minutos)	Citômetro de Fluxo Oocistos L⁻¹	Microscopia Oocistos L⁻¹
T0	0	904400	2266600
T1	0	603100	844400
T2	10	656700	444400
T3	20	414800	488800
T4	30	541400	355500
T5	40	603000	355500
T6	50	602400	222200
T7	60	479100	222200

Fonte: Oliveira, 2019.

A Figura 8 demonstra a cinética de redução do número de oocistos antes e depois da passagem da água pelo sistema de cavitação na pressão de 7,0 bar e em diferentes períodos de tempo. Os resultados de contagem em lâmina na microscopia ótica nos mostram uma redução mais linear que a citometria de fluxo. Entretanto, nas duas metodologias de contagem, houve uma redução do número de oocistos, sendo essa de 32% observada na citometria e 73% na microscopia.

Figura 8: Gráfico com valores de número de oocistos de *C. parvum* antes e após a passagem da água no processo de Cavitação Hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo a uma pressão de 7,0 bar



Fonte: Oliveira, 2019.

A citometria de fluxo tem sido utilizada como uma ótima ferramenta de detecção e quantificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. tanto em amostras fecais como ambientais. Tal tecnologia apresenta a possibilidade de realizar várias análises simultâneas das amostras como estudos quantitativos, qualitativos, análises morfológicas fenotípicas e funcional das células suspensas em um fluído líquido. Desta forma tal técnica é considerada como uma excelente ferramenta para quantificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. demonstrando ser um método bastante sensível para detecção de oocistos mesmo em concentrações baixas, como tem se apresentado amostras ambientais de água contaminada (CODICES, 2013).

Atualmente ainda não foi definida uma metodologia específica de diagnóstico e contagem de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostras ambientais de água, contudo, tem se realizado adaptações de técnicas de análises clínicas para identificação desses. Tais técnicas geralmente combinam um processo de concentração dos oocistos no material examinado e uma técnica de visualização empregando microscopia com visualização direta, imunofluorescência direta e/ou métodos moleculares (FERNANDES, 2012).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 5 e o Gráfico na Figura 8, constatamos que tanto a citometria de fluxo, quanto a contagem em lâmina na microscopia ótica demonstraram redução na quantidade de oocistos de *C. parvum* ao longo do tempo de cavitação, quando comparados como tempo zero (T0). Entretanto, levando em consideração os dados da literatura apresentados acima, sobre a contagem de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em citometria de fluxo, a inexistência de uma técnica padrão para a contagem desses e as limitações encontradas na contagem em microscopia ótica (tamanho reduzido do oocisto, dependência de um técnico especializado e dificuldade de visualização de amostras com número pequeno de oocistos), que escolhemos a citometria de fluxo para as contagens nos experimentos subsequentes.

5.2 VARIAÇÃO DE TEMPERATURA NO SISTEMA DE CAVITAÇÃO DURANTE OS

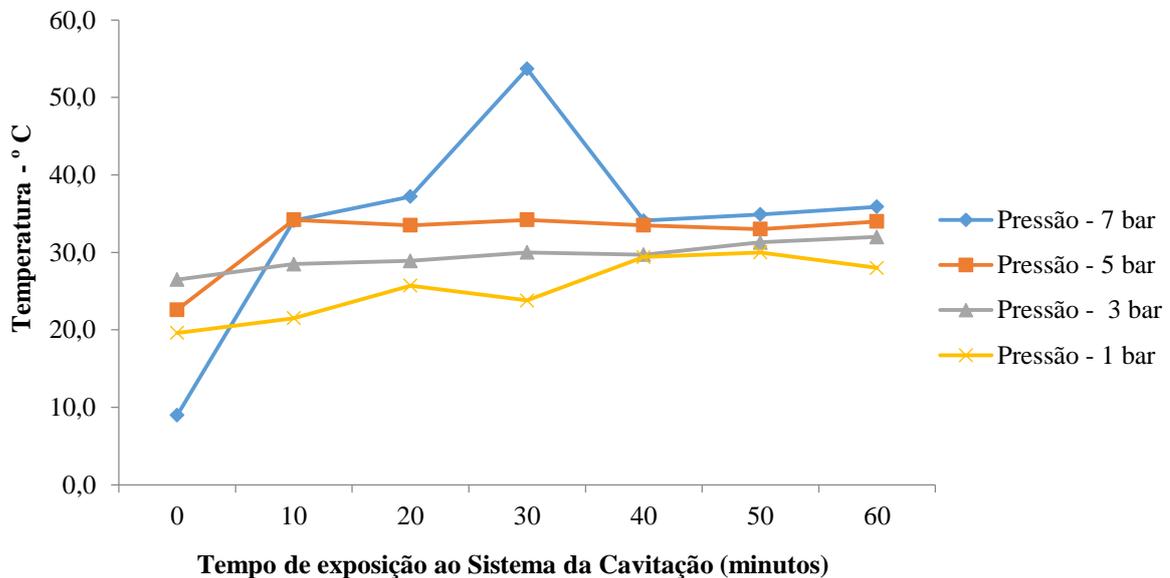
EXPERIMENTOS

Durante todos os experimentos foi realizado o acompanhamento da temperatura no reservatório do sistema de cavitação hidrodinâmica.

No ensaio piloto com a pressão de 7,0 bar durante os primeiros 10 minutos de funcionamento do sistema (T1 a T2) a temperatura da amostra com oocistos se manteve baixa (8°C), fato esse explicado pela temperatura da água com gelo utilizada no trocador de calor e o estágio inicial de funcionamento da bomba hidráulica (temperatura inicial amena). Esta constante se manteve baixa e foi alterando gradativamente e apresentou um aumento de temperatura no intervalo T4, chegando a 53,7 °C e foi verificado que a Bomba - 2 do trocador de calor do sistema havia sido interrompida, posteriormente seu funcionamento foi reestabelecido normalizando a temperatura do sistema girando em torno de 34,1 °C.

A Figura 13 apresenta os resultados de variação de temperatura da amostra de água nas diferentes pressões de entrada do sistema de cavitação ao longo de 60 minutos. No ensaio de cavitação com pressões de 3,0 e 5,0 bar, as temperaturas médias apresentadas foram de 33,7 °C e 30,1 °C respectivamente. Na pressão de 1,0 bar a temperatura média apresentada ficou em torno de 26,4 °C. De acordo com esses resultados foi possível observar que quanto menor foi a pressão empregada no sistema de cavitação em condições normais de funcionamento com trocador de calor, menor foi a temperatura média da água com oocistos de *C. parvum*.

Figura 9: Gráfico com a variação de temperatura da amostra de água com oocistos de *C. parvum* ao longo de 60 minutos, em diferentes pressões de entrada do sistema de cavitação utilizado.



Fonte: Oliveira, 2019.

Segundo Gogate *et al.* (2006) a pressão de entrada que um sistema de cavitação hidrodinâmica é submetido influencia nos fenômenos cavitacionais que o líquido escoado no sistema pode sofrer. Tal influência pode atuar na quantidade e intensidade de formação de cavidades e consequentemente nos processos físicos e térmicos que o líquido em escoamento sofre. Assim os fenômenos de aumento de temperatura e liberação de energia no local onde ocorre a cavitação podem ocorrer ou não devido à intensidade da pressão de entrada em que o sistema de cavitação é submetido (GOGATE & KABADI 2008, MACHADO, 2018).

Contudo o comportamento das variações de temperatura ocorridos apresentaram uma relação com a intensidade da pressão de entrada no sistema de cavitação, de forma que com as pressões empregadas de 7,0, 5,0, 3,0 e 1,0 bar as temperaturas médias foram de 34,1, 33,7, 30,1 e 26,4°C respectivamente, ou seja, quanto maior a pressão empregada no sistema de cavitação maior foi a temperatura média em condições normais de funcionamento do sistema de cavitação e trocadores de calor.

5.3 AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE OOCISTOS DE *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* APÓS PASSAGEM DA ÁGUA CONTAMINADA NO SISTEMA DE CAVITAÇÃO HIDRODINÂMICA SOB DIFERENTES PRESSÕES.

5.3.1 Sistema de cavitação hidrodinâmica na pressão de 5,0 bar

A Tabela 6 apresenta os resultados da leitura das amostras de água contaminada com oocistos de *C. parvum* antes e após passagem no Sistema de Cavitação Hidrodinâmica com pressão de 5,0 bar, quantificados através do citometro de fluxo. Os resultados encontrados demonstram uma redução de 73% na concentração de oocistos de *C. parvum* na amostra de água contaminada após a passagem pelo processo de cavitação sendo o índice de redução semelhante ao encontrado no teste piloto (pressão 7,0 bar) mesmo com a sua pressão de entrada no sistema sendo menor.

A redução da concentração de oocistos pode ocorrer devido a vários fatores resultantes do processo de cavitação, como por exemplo, os efeitos mecânicos gerando turbulência local, correntes de circulação, tensões de cisalhamento e efeitos de calor que podem proporcionar aumentos drásticos de temperaturas no local onde ocorre o processo cavitacional no circuito podendo danificar e até mesmo alterar a morfologia dos microrganismos (GOGATE, 2006; MACHADO, 2018; SANTOS, 2009).

Tabela 5: Resultados da quantificação de oocistos de *C. parvum* realizada por citômetro de fluxo após a passagem pelo sistema de cavitação hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo a uma pressão de 5,0 bar

Amostras	Tempo (Minutos)	Citômetro de Fluxo (Oocistos/L)	Redução do nº de Oocistos (%)
T0	0	1035400	-
T1	0	977848	-
T2	10	825780	15,5
T3	20	821149	16,0
T4	30	821983	46,6
T5	40	540540	44,7
T6	50	380000	73,5
T7	60	479100	61,1

Fonte: Oliveira, 2019.

Mezule *et al.* (2009) também citam o efeito cavitacional de formação de radicais OH^\cdot (alto poder de redução - 2,7V) e sua ação na remoção de *E. coli* em água contaminada, através da ação de danificando suas células podendo levar a sua destruição completa ou parcial.

Couto (2017) conseguiu alcançar o índice superior a 90% de remoção de *Paramecium* spp. em águas contaminadas experimentalmente e indicou destruição e inativação dos oocistos de *Cryptosporidium parvum*, porem neste último citado não foi possível realizar a quantificação de remoção.

5.3.2 Sistema de cavitação hidrodinâmica na pressão de 3,0 bar

A Tabela 6 apresenta os resultados das amostras de água infectada com oocistos de *C. parvum* no Sistema de Cavitação Hidrodinâmica com uma pressão de entrada de 3,0 bar ao longo de 60 minutos.

Tabela 6: Resultados da quantificação de oocistos de *C. parvum* realizada por citômetro de fluxo após a passagem pelo sistema de cavitação hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo a uma pressão de 3,0 bar.

Amostras	Tempo (Minutos)	Citômetro de Fluxo Oocistos/L	Redução no número de oocistos (%)
T0	0	1012105	-
T1	0	1016453	-
T2	10	861378	15,3
T3	20	698463	31,3
T4	30	618268	39,2
T5	40	538814	47,0
T6	50	448833	55,8
T7	60	359066	64,7

Fonte: Oliveira, 2019.

Os dados da Tabela 6 também demonstram uma queda na concentração de oocistos de *C. parvum* quando comparadas ao controle, tempo zero (T0). Neste ensaio experimental, assim como nos anteriores, o tempo de exposição dos oocistos a cavitação influenciou diretamente na diminuição da concentração desses na água, ou seja, quanto maior foi o tempo de exposição da amostra a cavitação hidrodinâmica maior foi o índice de remoção de oocistos

de *C. parvum* na água. Nesse ensaio experimental, foi possível observar após 60 minutos, um percentual de redução de 64,7% no número de oocistos.

A quantidade adequada de pressão de entrada que um sistema de cavitação hidrodinâmica é submetido influencia diretamente nos resultados esperados. A eficácia do fenômeno cavitacional está relacionado às características como, número de bolhas de cavitação geradas, o tamanho destas e principalmente as suas condições de implosão que vão influenciar nos efeitos físico-mecânicos, químicos e de calor gerados pela cavitação. Quando um determinado sistema está submetido a uma pressão de entrada muito alta pode ocorrer uma formação intensa de bolhas de cavitação e com isso reduzir a intensidade de colapso destas, a quantidade de liberação de energia e a formação do radical hidroxila. Contudo a utilização de pressões de entrada inadequadas no sistema de cavitação pode diminuir a eliminação de microrganismos no local onde ocorre o fenômeno cavitacional através da formação desordenada de bolhas de cavitação (DOMÈNECH *et al.*, 2001; GOGATE; PANDIT, 2004; MACHADO, 2018).

5.3.3 Sistema de cavitação hidrodinâmica na pressão de entrada de 1,0 bar

A Tabela 7 apresenta as concentrações de oocistos de *C. parvum* na água antes e após a passagem no sistema de cavitação hidrodinâmica a pressão de entrada de 1,0 bar.

Tabela 7: Resultados da quantificação de oocistos de *C. parvum* realizada por citômetro de fluxo após a passagem pelo Sistema de Cavitação Hidrodinâmica em diferentes intervalos de tempo a uma pressão de 1,0 bar

Amostras	Tempo (Minutos)	Citômetro de Fluxo Oocistos/L	Redução no número de Oocistos %
T0	0	1161393	-
T1	0	982554	-
T2	10	440176	55,2
T3	20	618886	37,0
T4	30	698184	28,9
T5	40	605326	38,4
T6	50	438247	55,4
T7	60	298923	69,6

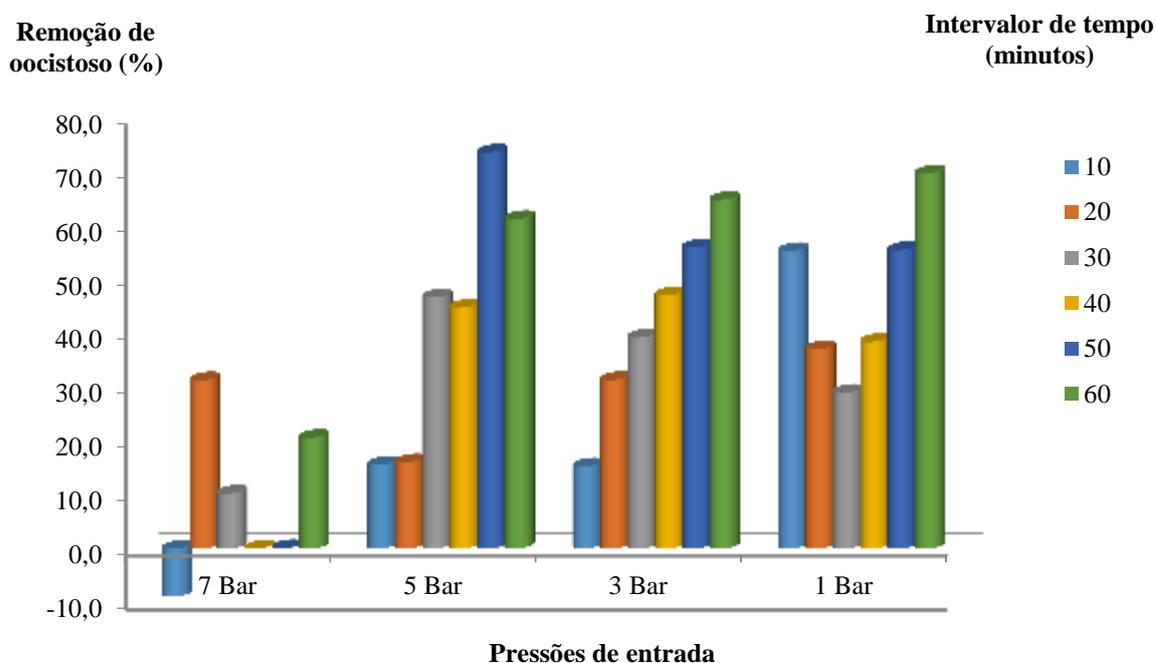
Fonte: Oliveira, 2019.

Mesmo com uma menor pressão de entrada no sistema de cavitação o índice de remoção de oocistos foi semelhante ao apresentado nas outras pressões utilizadas, chegando próximo de 70%. A quantidade de pressão de entrada utilizada nos sistemas de cavitação influencia na produção dos fenômenos cavitacionais, porém se esta for ajustada ao dimensionamento do sistema o número de bolhas de cavitação produzidas e o regime de implosão destas pode ser perfeitamente satisfatório (ARROJO; BENITO, 2008).

5.3.4 Comparativo da remoção de oocistos em função da pressão de entrada no sistema de cavitação hidrodinâmica

Em todas as pressões utilizadas no sistema de cavitação hidrodinâmica ocorreu queda no número de oocistos de *C. parvum*, quando comparado ao controle. Na Figura 10 observa-se a remoção de oocistos nas pressões 7,0, 5,0, 3,0 e 1,0 nos intervalos de tempo 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos.

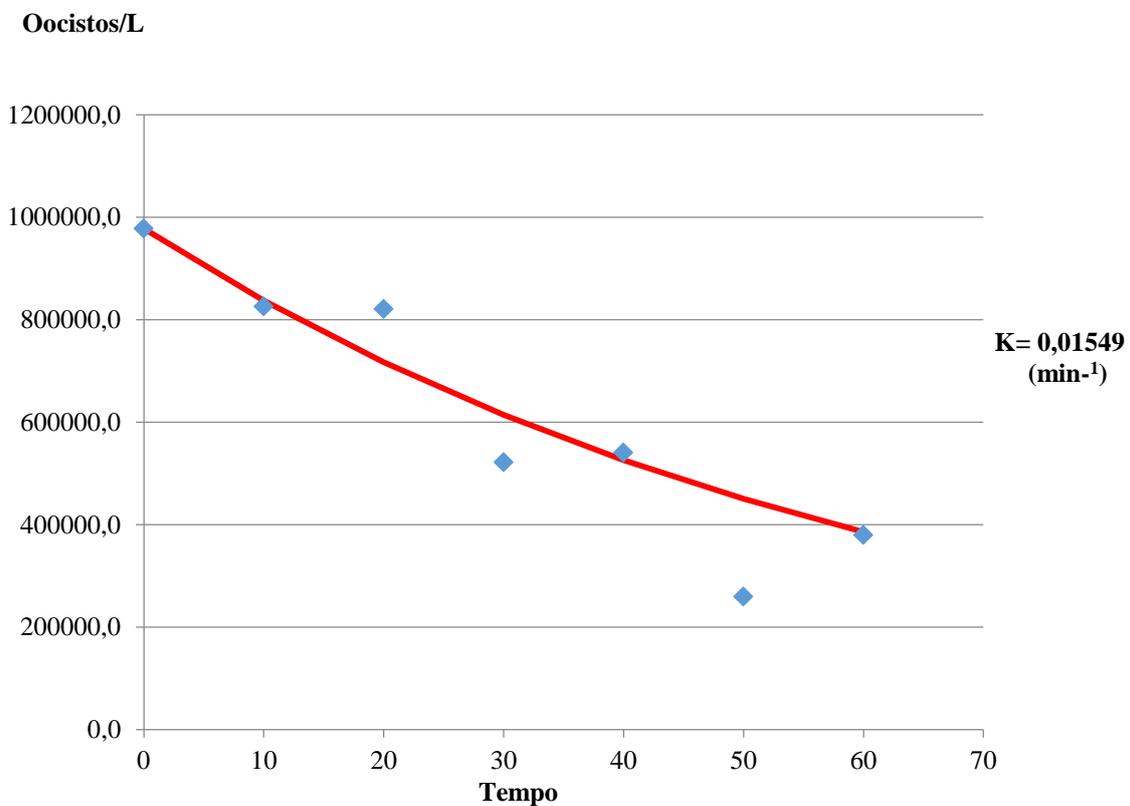
Figura 10: Gráfico com a queda percentual na concentração de oocistos de *C. parvum* observada na amostra de água submetida a diferentes pressões de entrada no sistema de cavitação hidrodinâmica ao longo do tempo



Fonte: Oliveira, 2019.

Ao analisar as reduções de oocistos de *C. parvum* podemos verificar que nas pressões 1,0 e 7,0 bar que não foi possível simular um modelo cinético que se adequasse aos resultados, isso devido às inconsistências dos resultados de acordo com o tempo. Já nas pressões 5,0 e 3,0 bar ocorreu uma redução contínua ao longo do tempo de forma que foi possível estabelecer um modelo de ajuste de cinética de primeira ordem através da comparação de valores encontrados do coeficiente k (constante cinética) conforme apresentado nas Figuras 11 e 12 respectivamente.

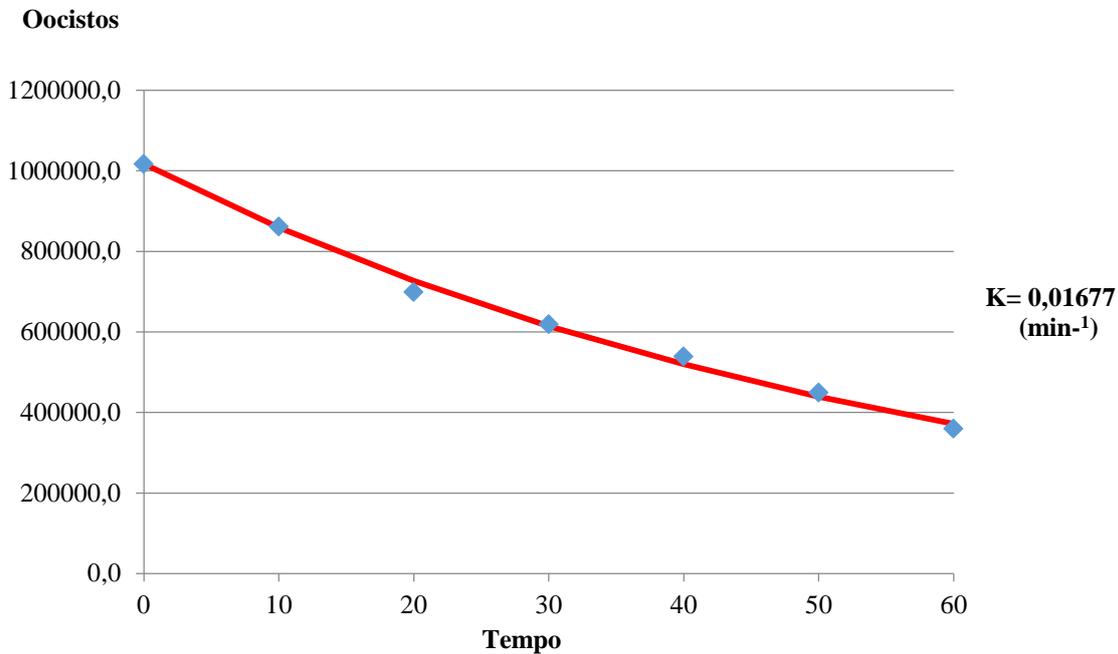
Figura 11: Variação da redução da concentração de oocistos submetidos à pressão de 5,0 bar através do ajuste ao modelo de cinética de primeira ordem.



Fonte: Oliveira, 2019.

Na pressão utilizada de 5,0 bar o percentual de redução de oocistos foi aumentando em relação ao tempo chegando no Tempo 6 a um percentual máximo 73,5 % e depois diminuído para o índice de 61,10% no Tempo 7. Mesmo com tal variação, os resultados se adequaram a um modelo de cinética de primeira ordem apresentando um coeficiente cinético de $K = 0,01549 \text{ (min}^{-1}\text{)}$, Figura 11.

Figura 12: Variação da redução da concentração de oocistos submetidos à pressão de 3,0 através do ajuste ao modelo de cinética de primeira ordem.



Fonte: Oliveira, 2019.

Na pressão utilizada de 3,0 bar a redução da concentração de oocistos foi aumentando de acordo com o tempo de exposição ao sistema de cavitação hidrodinâmica chegando a um percentual de 64,7 %, Figura 12. Tais dados também se adequaram a um modelo de cinética de primeira ordem de forma que apresentaram um coeficiente cinético de $K = 0,01677 \text{ (min}^{-1}\text{)}$ sendo maior que o encontrado na pressão 5,0 bar ($K = 0,01549 \text{ (min}^{-1}\text{)}$), contudo podemos afirmar que a pressão de 3,0 bar demonstrou um modelo de adequação de seus resultados melhor que todas as outras pressões utilizadas para a remoção de oocistos de *C. parvum*.

A maior eficiência de remoção de oocistos de *C. parvum* apresentada pela pressão de 3,0 bar utilizada no sistema pode ser explicado pela maior produção dos efeitos físico-mecânicos, químicos e térmicos do processo de cavitação. A eficiência de tais efeitos é dependente do número adequado de formação de microbolhas e o tamanho das mesmas (GOGATE; PANDIT, 2004). Quando ocorre uma formação elevada de microbolhas durante a cavitação pode ocorrer o fenômeno de coalescência, que é definido pela presença de várias microbolhas em uma região levando a uma interferência entre estas, principalmente no seu processo de colapso durante a implosão e todos os outros fenômenos gerados (DOMÈNECH *et al.*, 2001; GOGATE; PANDIT, 2004; GOMES, 2015; MACHADO, 2018).

A cavitação hidrodinâmica leva a formação de radicais hidroxila através da cisão hemolítica da molécula da água (Equação 1) formando os radicais $\bullet\text{OH}$ e $\bullet\text{H}$ (BAGAL; GOGATE, 2012).



Vários estudos utilizaram diferentes variações de pressões para avaliar o processo de cavitação hidrodinâmica na remoção de microorganismos ou poluentes de água. Segundo Raut-Jadhav e colaboradores (2013) utilizando variações de pressões de entrada no processo de cavitação hidrodinâmica constataram que, utilizando valores mais altos a eficiência de remoção do defensivo imidacloprid em água foi afetada pelo processo de coalescência. Machado (2018) também relatou a redução da efetividade da remoção do corante azul de bromotimol através do processo de cavitação utilizando a maior pressão de entrada quando comparada a valores menores e Abdala Neto (2014) conseguiu um percentual de remoção de coliformes totais e *Escherichia coli* em uma pressão intermediária levando a uma vazão de 60 L h⁻¹.

6 CONCLUSÃO

A utilização do sistema de cavitação hidrodinâmica se mostra eficiente na remoção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em água infectada experimentalmente e foram levantados os seguintes aspectos durante os experimentos:

- Quanto maior a pressão de entrada empregada no Sistema de Cavitação Hidrodinâmica maior foi a temperatura média encontrada em condições normais de funcionamento do sistema e trocadores de calor nas amostras de água com oocistos;
- Todas as pressões de entrada utilizadas no Sistema de Cavitação Hidrodinâmica levaram a redução da concentração de oocistos de *C. parvum* em água contaminada experimentalmente quando comparadas ao controle;
- A utilização da citometria de fluxo se mostrou um método eficaz para a quantificação da concentração de oocistos em água infectada experimentalmente;
- As pressões de 3,0 e 5,0 bar utilizadas no sistema de cavitação demonstraram um modelo de cinética de primeira ordem analisando redução da concentração de oocistos e tempo de exposição a cavitação;
- O modelo encontrado da pressão 3,0 bar utilizada apresentou uma constante k maior que a da pressão 5,0 bar, apresentando assim uma maior eficiência na redução da concentração de oocistos em relação ao tempo de exposição das amostras ao processo de cavitação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALA NETO, E., F *et al.* O uso da cavitação hidrodinâmica aplicado ao tratamento de água. **Engenharia Sanitária Ambiental**. [online]. 2014, vol.19, n.2 p.105-112.

ALMEIDA, J. C. *et al.* Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em uma estação pública de tratamento de água, Paraná, Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. [online]. 2015, vol.24, n.3, pp.303-308. Epub Aug 14, 2015. ISSN 0103-846X. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015051>.

ANDREOLI, F.C. **Remoção de *Giardia* sp. e *Cryptosporidium parvum* em água de abastecimento utilizando flotação: Estudo em escala de bancada e desafios de detecção.** Dissertação de mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento. UFSCAR. São Carlos – SP.2016.

ARROJO, S. & BENITO, Y. A theoretical study of hydrodynamic cavitation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, n. 3, p. 203-211. 2008.

BAGAL, M. V., LELE, B. J., & GOGATE, P. R. Removal of 2,4- dinitrophenol using hybrid methods based on ultrasound at an operating capacity of 7 L. **Ultrasonics Sonochemistry**, 20(5), 1217–1225, 2013.

BALDURSSON S. & KARANIS P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2004-2010. **Water Research** .45:6603-14. 2011.

BARTA JR, THOMPSON RA. What is *Cryptosporidium*? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. **Trends in parasitology**. 2006; 22(10):463-8.

BASTOS, R.K.X. *et al.* *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts dynamics in Southeast Brazil-Occurance in surface water and removal in water treatment processes. **Water Science and Technology**. Vol. 14, n.2, p.15-22. 2004.

BATISTA, M. D., ANHÊ, A. C. B. M., GONÇALVES, J. C. S. I. Use of Hydrodynamic Cavitation for Algae Removal: Effect on the Inactivation of Microalgae Belonging to Genus *Scenedesmus*. **Water, Air, and Soil Pollution**, 228. 2017.

BELLI, S.I., SMITH, N.C., FERGUSON, DJ. The coccidian oocyst: a tough nut to crack! **Trends Parasitology**. 2006;22(9):416-23.

BELOSEVIC, M.; CRAIK, S.A.; STAFFORD, J.L.; NEUMANN, N.F.; KRUITHOF, J.; SMITH, D.W. (2001). Studies on the resistance/reactivation of *Giardia muris* cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts exposed to medium-pressure ultraviolet radiation. **FEMS. Microbiology Letters**. Vol.204, p. 197-203.

BRASIL, 2013. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador.** Análise de indicadores relacionados à água para consumo humano e doenças de veiculação hídrica no Brasil, ano 2013, utilizando a metodologia da matriz de indicadores da Organização Mundial da Saúde /

Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.37 p.

BOTERO, W. G. Caracterização de lodo gerado em estações de tratamento de água: perspectivas de aplicação agrícola. **Química Nova**, Vol. 32, No. 8, 2018-2022, 2009.

BRETERNITZ, B. S.. **Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em pontos de captação de água destinada ao abastecimento público.** Trabalho de Conclusão de Curso. (Bacharel em Ciências Biológicas). Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia, Campus São Paulo- SP. 2013.

BUKHARI, Z.; ABRAMS, F.; LECHEVALLIER, M. (2004). Using ultraviolet light for disinfection of finished water. **Water Science and Technology**. Vol.50, n.1, p.173-178.

CACCIO, S. M.; THOMPSON, A. C. R.; MCLAUCHLIN, J.; SMITH, V. H. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends in Parasitology**. v. 21, n. 9, p. 430-437, 2005.

CASSIOLATO, C; ALVES, E; **Medição de Vazão – Controle de Instrumentação.** São Paulo. Jun/2008.

CAVALIER-SMITH, T. (2014). Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarine higher classification, and the evolutionary diversification of *Sporozoa*. **European Journal of Protistology**, 50(5), 472–495.

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

CHALMERS R. **The importance of unusual *Cryptosporidium* species and genotypes in human cryptosporidiosis** [online]. Swansea: GIG/NHS; 2011 [cited 2014 Aug 10].

CHAURET, C.; CHEN, P.; SPRINGTHORPE, S.; SATTAR, S. Effect of environmental stressors on the survival of *Cryptosporidium* oocysts. Proc. AWWA **Water Quality Technology Conf.** nov.1995. p. 1567-85

CHO, M., YOON, J. Measurement of OH radical CT for inactivating *Cryptosporidium parvum* using photo/ferrioxalate and photo/TiO₂ systems. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, p. 759-766, 2008.

CIOLA, R. **Fundamentos da Catálise.** São Paulo.Edusp,1981,377p.

CODICES, V. A. R. **Infecção por *Cryptosporidium parvum*: resposta imunológica e tecnologia de anticorpos monoclonais para o diagnóstico.** Dissertação de Doutorado em Ciências Biomédicas, Especialidade de Parasitologia. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa. Portugal. 2013.

COSSA, H.F.H. **Frequência, fatores associados e caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em crianças atendidas na cidade e Maputo no âmbito da vigilância**

nacional de diarreias agudas. Dissertação de Mestrado para obtenção de Título de Mestre em Biologia Parasitária. Instituto Oswald Cruz. Ministério da Saúde. Maputo. 2017.

COUTO, G. R. de A. **Avaliação de sistema de cavitação hidrodinâmica para a desinfecção de águas contaminadas por protozoários.** Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia Ambiental). Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba-MG, 2017.

CURRENT, W.L. Techniques and laboratory maintenance of *Cryptosporidium*. In: DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; FAYER, R. (Eds). **Cryptosporidiosis of man and animals.** Boca Raton: CRS, 1990. p.31-49.

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

DANTAS, T.L.P. *et al.* Treatment of textile wastewater by heterogeneous Fenton process using a new composite Fe₂O₃/carbon. **Chemical Engineering Journal**, v. 118, n. 1-2, p. 77-82, 2006.

DI BERNARDO, L. (coord.) (2003). **Tratamento de água para abastecimento por filtração direta.** São Carlos. PROSAB 3, p. 19, 22, 113, 114, 138, 162, 182, 207, 251, 252, 366.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, ADB; **Métodos e Técnicas de Tratamento de Água.** 2 Ed., V.1, São Carlos: RIMA; 2015.

DI BERNARDO, L.; PADUA, L.V. Ensaio de bancada para estimar a perda de carga e a influência da floculação na filtração direta descendente. In: **XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre – RS, 2000.** Disponível em <<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/mexico26/i-034.pdf>> Acesso em 25/05/2011.

DOMÈNECH, X., JARDIM, W. F., LITTER, M. I. **Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes.** In: Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogênea. Cap. 1, Rede CYTED, La Plata, 2001.

DUGAN, N.R.; FOX, K.R.; OWENS, J.H.; MILTNER, R.J. (2001). Controlling *Cryptosporidium* oocysts using conventional treatment. **Journal of the American Water Works Association**, v. 93, n. 12, p. 64-76.

EISENBERG JNS, LEI X, HUBBARD AH. The Role of disease transmission and conferred immunity in outbreaks: Analysis of the 1993 *Cryptosporidium* outbreak in Milwaukee, Wisconsin. **Journal Epidemiology** 2005; 161: 62–72.

EMELKO, M.B.; HUCK, P. M.; COFFEY, B. M. A review of *Cryptosporidium* removal by granular media filtration. **Journal of the American Water Works Association**, v. 97, n. 12, p. 101-115, 2005.

FAGNANI, R. A. G. **Avaliação de dano morfológico em oocistos de *Cryptosporidium sp.* e cistos de *Giardia spp.* pela ação da peroxidação assistida por luz ultravioleta (H₂O₂/UV).**

Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração Saneamento e Ambiente.). Universidade Estadual de Campinas, 2010.

FARIAS, A.P. **Análise da conformidade de indicadores da qualidade da água que abastece um hospital público regional em Campina Grande - PB.** Trabalho de Conclusão de Curso para Engenharia Sanitária e Ambiental) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

FAYER R. AND B. L. P. UNGAR. *Cryptosporidium spp.* and cryptosporidiosis. **Microbiology Research** .50:458-483. 1986.

FERNANDES NETO, M. L. and SARCINELLI, P. N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição o processo de atualização da legislação brasileira. **Engenharia Sanitária Ambiental** [online]. 2009, vol.14, n.1 [cited 2019-11-04], pp.69-78.

FERNANDES, N. M. G, *et al.*; Influência do pH de coagulação e da dose de sulfato de alumínio na remoção de oocistos de *Cryptosporidium* por filtração direta descendente. **Engenharia Sanitária Ambiental** | v.15 n.4 | out/dez 2010 | 375-384.

FRANCO, R. M. B. Protozoários de veiculação hídrica: relevância em saúde pública. **Revista Panamericana de Infectologia**. 2007; 9 (4):36-43.

FREGONESI, B.M. *et al.* *Cryptosporidium* e *Giardia*: Desafios em águas de abastecimento público. **O Mundo da Saúde**, v.4, n.36, São Paulo, jun. 2012.p.602-609.

GĄGOL, M.; PRZYJAZNY, A.; BOCZKAJ, G. Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes based on cavitation – A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 338, p. 599–627, abr. 2018.

GAMBA, R. C.; CIAPINA, E. M. P.; ESPÍNDOLA, R. S.; PACHECO, A.; PELLIZARI, V. H. Detection of *Cryptosporidium* sp oocysts in groundwater for human consumption in Itaquacetuba city, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 31, p. 151-153, 2000.

GRECA, M. P. S. **Identificação molecular e filogenia de espécies de *Cryptosporidium* em cães e em gatos de Curitiba e região metropolitana.** Dissertação De Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, área de concentração Parasitologia. Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR. 2010.

GOGATE, P. R.; TAYAL, R. K.; PANDIT, A. B. Cavitation: A technology on the horizon. **Current Science**, v. 91, n. 1, p. 35-46, 2006.

GOGATE, P. R. e KABADI, A. M. A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. **Biochemical Engineering Journal**, Mumbai, v. 44, n.1, p. 60-72, 2008.

GOMES, M.S. **Cavitação hidrodinâmica para tratamento de águas.** FCTUC. Dissertação de Mestrado. Coimbra, Portugal. 2015.

GONÇAVES, R.F.; FILHO, B.C.; CHERNICHARO, C.A.L.; LAPOLLI, F.R.; AISSE, M.M.; PIVELI, R.P. (2003b). **Desinfecção por Radiação Ultravioleta**. In: **Desinfecção de Efluentes Sanitários**. PROSAB 3. Ricardo Franci Gonçalves (coord.), p. 209-275.

GUARIZ-HOMEM, C. **Identificação do gênero e espécies de *Cryptosporidium* em cães e gatos**. Tese de Doutorado para título de Doutora em Ciência Animal. Unesp. Araçatuba - SP.2016.

HACHICH, E. M. **Importância do controle de parasitas patogênicos *Giardia* e *Cryptosporidium* em águas captadas para consumo humano**. In: CONGRESSO INTERAMERICANO INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL, 27, 2000, Porto Alegre. Anais. Porto Alegre: ABES, 2000.

HASHIMOTO, A.; HIRATA, T.; KUNIKANE, S. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in a conventional water purification plant. **Water Science and Technology**, v. 43, n.12, p. 89-92, 2001.

HELLER, L.; PÁDUA, V. L. **Abastecimento de água para consumo humano**. 1º Ed. Minas Gerais: UFMG, 2006.

HELLER, L. *et al.* Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana. **Epidemiol. Serv. Saúde** [online]. 2004, vol.13, n.2, pp.79-92. ISSN 1679-4974. <http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742004000200002>

HESPANHOL, I., A inexorabilidade do reuso potável direto. **Revista DAE**, jan.-abr., no. 194, p 6-23 São Paulo.2015.

HIGARASHI, M. M. (1999). **Processos oxidativos avançados aplicados a remediação de solos brasileiros contaminados com pesticidas**. Tese Doutorado – Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química, Campinas.

HIRVONEN, A.; TUHKANEN, T.; KALLIOKOSKI, P. Treatment of TCE- and PCE contaminated groundwater using UV/H₂O₂ and O₃/H₂O₂ oxidation processes. **Water Science Technology**, v.33, p.67-73, 1996.

HOLUBOVÁ, N.; SAK, B.; HORČIČKOVÁ, M.; HLÁSKOVÁ, L.; KVĚTOŇOVÁ, D.; MENCHACA, S.; McEVOY, J.; KVÁČ, M. *Cryptosporidium avium* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in birds. **Parasitology Research**, v.115, p. 2243-2251, 2016

JARDIM, W.F.; CANELA, M.C. **Fundamentos da Oxidação Química no Tratamento de Efluentes e Remediação de Solos**. Campinas: Instituto de Química (IQ). Universidade de Campinas, 2004. Caderno Temático, v. 1.

JYOTI, K.K. & PANDIT, A.B (2004) Ozone and cavitation for water disinfection. **Biochemical Engineering Journal**, v. 18, p. 9-19.

KALIL, I.A. *et al.*, Morbidity, mortality, and long-term consequences associated with diarrhoea from *Cryptosporidium* infection in children younger than 5 years: a meta-analysis study. **The Lancet Global Health**. Volume 6, ISSUE 7, Pe758-e768, July 01, 2018.

KAUCNER C. & STINEAR T. Sensivite and rapid detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts in large-volume water samples with wound fiberglass cartridge filters and reverse transcription – PCR. *Applied and Environmental Microbiology*. 64 (5):1.743-1.749. 1998.

KEMP. J.S.; WRIGHT, S.E.; BUKHARI, Z. On farm detection of *Cryptosporidium parvum* in cattle, calves and environmental samples. In: BETTS, W.B.; CASEMORE, D.P.; FRICKER, C.R. *et al.* (Eds). **Protozoan parasites and water**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1995. p.154-157.

KVÁČ, M.; KESTŘÁNOVÁ, M.; PINKOVÁ, M.; KVĚTOŇOVÁ, D.; KALINOVÁ, J.; WAGNEROVÁ, P.; KOTKOVÁ, M.; VÍTOVEC, J.; DITRICH, O.; McEVOY, J.; STENGER, B.; SAK, B. *Cryptosporidium scrofarum* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in domestic pigs (*Sus scrofa*). **Veterinary Parasitology**, v.191, p.218-227, 2013.

KVÁČ, M.; HOFMANNOVÁ, L.; HLASKOVÁ, L.; KVĚTONOVÁ, D.; VÍTOVEC, J.; McEVOY, J.; SAK, B. *Cryptosporidium erinacei* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in hedgehogs. **Veterinary Parasitology**, v.201, p.9-17, 2014.

KVÁČ, M.; HAVRDOVÁ, N.; HLÁSKOVÁ, L.; DAŇKOVÁ, T.; KANDĚRA, J.; JEŽKOVÁ, J.; VÍTOVEC, J.; SAK, B.; ORTEGA, Y.; XIAO, L.; MODRÝ, D.; CHELLADURAI, J.R.J.J.; PRANTLOVÁ, V.; McEVOY, J. *Cryptosporidium proliferans* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): Molecular and biological evidence of cryptic species within gastric *Cryptosporidium* of mammals. **PLoS One**, v.11, doi: 10.1371, 2016.

KEMP. J.S.; WRIGHT, S.E.; BUKHARI, Z. On farm detection of *Cryptosporidium parvum* in cattle, calves and environmental samples. In: BETTS, W.B.; CASEMORE, D.P.; RRICKER, C.R. *et al.* (Eds). *Protozoan parasites and water*. Cambridge: **Royal Society of Chemistry**, 1995. p.154-157.

LEAL, D. A. G. **Avaliação da contaminação de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) por espécies de *Cryptosporidium* e *Giardia* em um ambiente de estuário do litoral de São Paulo**. Dissertação de Mestrado. Instituto Estadual de Campinas – SP. 2008.

LEVINE, N.D. 1984. Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa). **Journal Protozoology**. 31:94-98.

LE-CHEVALLIER, M. W.; NORTON, W. D. *Giardia and Cryptosporidium* in raw and finished water. **Journal of American Water Works Association**. September, p.54-68. 1995.

LEE, H. S.; KIM, H. Y.; DO, H. J.; KIM, S. H. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in the Nakdong river and their removal during water. **Journal of Water and Health**, v. 5, n. 1, p. 163-169, 2007.

LI, W.; SONG, M.; LU, Y.; YANG, J.; TAO, W.; JIANG, Y., WAN, Q.; ZHANG, S.; XIAO, L. Prevalence and genetic characteristics of *Cryptosporidium*, *Enterocytozoon bieneusi* and *Giardia duodenalis* in cats and dogs in Heilongjiang province, China. **Veterinary Parasitology**, v.208, p.125–134, 2015.

LIMA, E.C. Avaliação de diferentes técnicas de coloração histoquímica na identificação de oocistos de *Cryptosporidium spp.* em amostras de água e leite. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 11, n. 1/2, p. 21-26, jan./ago. 2004.

LIMA, E.C & STAMFORD T.L.M. *Cryptosporidium spp.* in aquatic environment: the principal aspects of dissemination and diagnostic methods. **Ciência e Saúde Coletiva**. 2003; 8:791-800.

LUNA S. *et al.* Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium spp* em aguas superficiales en Costa Rica. **Parasitologia Latino-americana**. 57: 63-65. 2002.

MACEDO, J. A. B. **Águas & Águas**. 3º Ed. Minas Gerais: CRQ – MG, 2007.

MACHADO, P. M. R.; CERQUEIRA, D. A. **Ocorrência de (oo) cistos de *Cryptosporidium spp.* e *Giardia* na área de captação e sua remoção no sistema de tratamento de água do rio das Velhas COPASA – Nova Lima – MG**. In: 22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003, Joinville. Rio de Janeiro: ABES, 2003.

MACHADO, P. R. **Cavitação Hidrodinâmica: Degradação do corante azul de bromotimol na presença do peróxido de hidrogênio**. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba - MG. 2018.

MACKENZIE W R, HOXIE NJ, PROCTOR ME, GRADUS MS, BLAIR KA, PETERSON DE. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. **New England Journal Medical**, 1994.

MADRID, E.M.C. *et al.* Emergência da criptosporidiose e impactos na saúde humana e animal. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; p. 2015

MATTOS, I.L.; SHIRAIISHI, K.A.; BRAZ, A.D.; FERNANDES, J.R. **Peróxido de Hidrogênio: Importância e Determinação**. Química Nova, v. 26, n. 3, p. 373-380, 2003.

MEDEIROS, R.C. **Comparação da resistência de protozoários patogênicos - *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* – e de microrganismos indicadores à desinfecção sequencial Cloro-Radiação Ultravioleta e Ozônio-Radiação Ultravioleta**. Dissertação de Mestrado em Ciências (Engenharia Hidráulica e Saneamento). São Carlos.2010.

METCALF & EDDY. Inc. **Wastewater Engineering Treatment Disposal Reuse**. 4. ed. New York, McGraw - Hill Book, 1815p. 2003.

MEZULE, L. *et al.* **A simple technique for water disinfection with hydrodynamic cavitation: Effect on survival of *Escherichia coli***. Desalination, Riga, v. 248, n. 1-3, p. 152–159, 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE 2000. **Portaria 1.469 de 29 de dezembro de 2000, republicada no D. O.U. nº 38 E de 22/2/2001, Seção 1, p. 39**. Funasa. Brasília.2001.

MOHOLKAR, VIJAYANAND S, & PANDIT, ANIRUDDHA B. Bubble Behavior in Hydrodynamic Cavitation: Effect of Turbulence. **AIChE Journal**, 43(6), 1641–1648. 1997.

MOORE, M.N; DEPLEDGE, M.H; FLEMING, L; HESS, P; LEES, D; LEONARD, P; MADSEN, L; OWEN, R; PIRLET, H; SEYS, J; VASCONCELOS, V; VIARENGO, A. Oceans and Human Health (OHH): a European Perspective from the Marine Board of the European Science Foundation (Marine Board-ESF). **Microbiology Ecology**, 65:889–900, 2013.

MORRIS, R.D. *et al.*, Temporal variation in drinking water turbidity and physician diagnosed for gastrointestinal infections in Milwaukee. **AM J Public Health**. 1996.

NEWMAN, R.D., SEARS, C.L., MOORE, S.R., NATARO, J.P., WUHI, T., AGNEW, D.A., GUERRANT, R.L. & LIMA, A.A., 1999. Longitudinal study of *Cryptosporidium* spp. infection in children northeastern Brazil. **Journal Infectology Diseases**, 180:167-175

NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. Heterogeneous photocatalysis and its environmental. **Química Nova**, v.21, n.1, p.69-72, 1998.

NOURI, M.; MAHDAVI-RAD, S. Effect of nomadic shepherds and their sheep on the incidence of cryptosporidiosis in an adjacent town. **Journal Infectology**, v.26, p.105-106, 1993.

OIE. **Terrestrial Animal Health Code [online]**. 2016. Disponível em: < <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/> >. Acesso em: 14 mar. 2016.

OLIVEIRA-SILVA, M.B.; OLIVEIRA, L.R.; RESENDE, J.C.; PEGHINI, B.C.; RAMIREZ, L.E.; LAGES-SILVA, E.; CORREIA, D. Seasonal profile and level of cd4+ lymphocytes in the occurrence of cryptosporidiosis and cystoisosporidiosis in hiv/aids patients in the Triângulo Mineiro region, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.5, p.512 – 515, 2007.

OSAKI, SC. ***Cryptosporidium* spp.: Desenvolvimento de técnicas moleculares e imunológicas para a detecção de oocistos em água e avaliação da sua remoção pelos métodos convencionais de tratamento da água.** Tese de Doutorado. UFPR. Curitiba.2009.

OZONEK, JANUSZ. ***Application of Hydrodynamic Cavitation in Environmental Engineering.*** CRC Press.

PALMEIRA, V. A. *et al.* **Tratamento de efluentes da Indústria do coco utilizando os Processos de Coagulação e Flotação por ar Induzido.** In: VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, Uberlândia, Minas Gerais. 2009.

PIGNATELLO, J. J.; OLIVEROS, S. E.; MACKAY, A. Advanced oxidation processes of organic contaminant destruction based of the Fenton reaction and related chemistry. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 36, p. 1-84, 2006.

RICHTER, C. A.; AZEVEDO NETTO, J. M. **Tratamento d'água: tecnologia atualizada.** São Paulo: Blucher, 1991.

ROBINSON, G.; WRIGHT, S.; ELWIN, K.; HADFIELD, S.J.; KATZER, F.; BARTLEY, P.M.; HUNTER, P.R.; NATH, M.; INNES, E.A.; CHALMERS, R. M. Redescription of *Cryptosporidium cuniculus* Inman and Takeuchi, 1979 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): morphology, biology and phylogeny. **Internacional Journal for Parasitology**, v.40, p.1539–1548, 2010.

ROSE, J.B. Occurrence and significance of *Cryptosporidium* in water. **Journal Am. Water Works Assoc**, 80:53-58. 1998.

RYAN, U.; FAYER, R.; XIAO, L. *Cryptosporidium* spp. species in humans and animals: current understanding and research needs. **Parasitology**, v. 141, n. 13, p. 1667– 1685, 2014.

RYAN, U.; PAPARINI, A.; TONG, K.; YANG, R.; GIBSON-KUEH, S.; O'HARA, A.; LYMBERY, A.; XIAO, L. *Cryptosporidium huwi* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the guppy (*Poeciliareticulata*). **Experimental Parasitology**, v.150, p.31-35, 2015.

RYAN, U., PAPARINI, A., MONIS, P., & HIJJAWI, N. It's official - *Cryptosporidium* is a gregarine: What are the implications for the water industry? **Water Research**, 105, 305–313.2016.

SANTOS DE ARAÚJO, K. *et al.* Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações, no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais. **Ambiente & Água-An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 11, n. 2, 2016.

SARRIA, V.; PARRA, S.; ADLER, N.; PÉRINGER, P.; BENITEZ, N.; PULGARIN, C. Recent developments in the coupling of photoassisted and aerobic biological processes for the treatment of biorecalcitrant compounds. **Catalysis Today**. v.76, p.301–315, 2002.

SILVA, L. P. **Modificação e imobilização de TiO₂ visando a degradação de compostos orgânicos poluentes via o processo de fotocatalise heterogênea**. 2007. 115f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, USP, 200

ŠLAPETA J. Cryptosporidiosis and *Cryptosporidium* species in animals and humans: a thirty colour rainbow? **International journal for parasitology**. 2013;43(12):957-70.

SMITH, H.V.; ROBERTSON, L.J.; ONGERTH, J.E. Cryptosporidiosis and giardiasis: the impact of waterborne transmission. **Journal Water SRT - Aqua**, v.44, p.258-274, 1995.

SMITH, H.V.; NICHOLS R.A.B. *Cryptosporidium*: Detection in water and food. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 61-79, 2010.

SOLO-GABRIELE, H.; NEUMEISTER, S. US outbreaks of cryptosporidiosis. *J. Am. Wat.Wks Assoc.*, v. 88 p. 76-86, 1996 *apud* KARANIS, P.; KOURENTI, C.; SMITH, H. Waterborne transmission of protozoan parasites: A worldwide review of outbreaks and lessons learnt. **Journal of Water and Health IWA**, v. 5, n. 1, p. 1-38, 2007.

SONZOGNI-DESAUTELS, K. *et al.* A protocol to count *Cryptosporidium* oocysts by flow cytometry without antibody staining. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. March 20, 2019.

SOUZA, S. J. O.; LOBO, T. M.; SABINO, A. L. O.; OLIVEIRA, S. B.; COSTA, O. S. Decomposição dos antirretrovirais lamivudina e zidovudina pelo processo fotofenton assistido no efluente de indústria farmoquímica. **Revista Processos Químicos**, v.4, n.7, p.59-67, 2010.

TYZZER, E. E. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.), of the gastric glands of the common mouse. **Journal Medical Research**, 23: 487-511, 1910

TABRIZI, G. B.; MEHRVAR, M. Integration of advanced oxidation technologies and biological processes: recent developments, trends, and advances. **Journal of Environmental Science and Health**. Part A. v.39, (11-12), p.3029-3081, 2004

THOMPSON RA, PALMER CS, O'HANDLEY R. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. The **Veterinary Journal**, 2008;177(1):18-25.

TIBURTIUS, E. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P. P. Contaminação de águas por BTXS e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. **Química Nova**, v.27, n.3, p.441-446, 2004.

VIEIRA, P.M.S. **Caracterização genética de *Cryptosporidium* spp. em amostras biológicas de humanos e animais provenientes da Roménia: comparação com as características dos organismos obtidos das populações humana e animal portuguesa.** Dissertação de Mestrado em Ciências Biomédicas. Lisboa. Portugal. 2012.

VOLTAN, P.E.N. **Remoção de Diuron e Hexazinona por meio de Adsorção em Carvão Ativado, Oxidação e Tratamento em Ciclo Completo.** Tese de Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento. UFSCAR. São Carlos, 2014.

VESEY, G. *et al.* **Routine monitoring of *Cryptosporidium* oocysts in water using flow cytometry.** Journal of Applied G, Tchack L, Spano F & Tzipori S 1998. A study of *Cryptosporidium parvum* genotypes and population structure. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 93(5):685-686. 1993.b

USEPA –U.S. Environmental Protection Agency (2006). **Ultraviolet Disinfection Guidance Manual for the final long term 2 enhanced surface water treatment rule.** November. EPA 815-R-06-007.

USEPA. **Guidance manual: alternative disinfectants and oxidants.** Washington: USEPA, 1999.Report n.815-R-99-014