

AVALIAÇÃO PARCIAL DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO TEMPO SOBRE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS PRESENTES NO LODO DE ESGOTO COMPOSTADO

Marianne Fidalgo de Faria¹ (marianneffaria@hotmail.com), Iraê Amaral Guerrini¹ (iguerrini@fca.unesp.br), Roberto Lyra Villas Boas¹ (rlvboas@fca.unesp.br), Reinaldo José da Silva² (reinaldo.unesp@gmail.com), Vera Lúcia Mores Rall³ (vlmores@ibb.unesp.br), Caroline de Moura D'Andréa Mateus¹ (caroline_mateus@hotmail.com), Robert Boyd Harrison⁴ (robh@uw.edu),

1 Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/Botucatu, Departamento de Solos e Recursos Ambientais

2 Instituto de Biociências – IBB da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/Botucatu, Departamento de Parasitologia

3 Instituto de Biociências – IBB da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/Botucatu, Departamento de Microbiologia e Imunologia

4 School of Environmental and Forest Sciences, College of the Environment, University of Washington

RESUMO

O lodo de esgoto gerado em grandes quantidades pelas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) é um resíduo que tem sua destinação final ainda bastante debatida e questionada pelo setor técnico e pelas autoridades. Um dos principais empecilhos para a livre aplicação do lodo de esgoto em campo como um adubo orgânico e condicionador do solo está na presença de microrganismos patogênicos. A compostagem é uma alternativa para inativação destes patógenos, permitindo o uso agrícola do lodo de esgoto sanitário. Este estudo avaliou o decaimento de coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp. e ovos viáveis de *Ascaris* spp. durante 20 dias de compostagem em temperaturas crescentes, que ultrapassaram 65°C, e índices de umidade diminuindo ao longo do tempo. Para *Salmonella* spp. pôde-se concluir ausência na maior parte do processo de compostagem avaliado. O grupo de coliformes tolerantes apresentou considerável queda nos valores observados ao final dos 20 dias de estudo. Ao final do período analisado, ainda foram encontrados ovos viáveis de *Ascaris* spp.

Palavras-chave: Composto orgânico; patogenicidade; tratamento de esgoto.

PARTIAL EVALUATION OF THE INFLUENCE OF TEMPERATURE AND TIME ON PATHOGENS PRESENT IN BIOSOLIDS COMPOST

ABSTRACT

The biosolids produced in large quantities by Wastewater Treatment Plants (WWTPs) are a residue which has its final destination still debated and questioned by the technical sector and also by the authorities. One of the main obstacles to the free land application of biosolids as an organic fertilizer and soil conditioner is in the presence of pathogens. Composting is an alternative for inactivation of these pathogens, allowing the agricultural use of biosolids. This study aimed to evaluate the decay of thermotolerant coliforms, *Salmonella* spp. and viable *Ascaris* spp. ova during 20 days of composting under increasing temperatures, which exceeded 65°C, and decreasing moistures indexes over time. For *Salmonella* spp. it is possible to be concluded the absence on the most of the time of the evaluated composting process. The group of tolerant coliforms presented a considerable drop in the values observed at the end of the 20 days of study. At the end of the analyzed period, viable *Ascaris* spp. ova could still be found.

Keywords: Organic compost; pathogenicity; wastewater treatment.

1. INTRODUÇÃO

A destinação final do lodo de esgoto gerado diariamente pelas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) é um problema bastante sério que técnicos e autoridades envolvidas com o setor ambiental vêm enfrentando, principalmente em regiões metropolitanas e nas cidades de médio e grande porte. A principal dificuldade está em se encontrar soluções viáveis adequadas ao meio ambiente, enquanto a geração de lodo aumenta progressivamente (PEDROZA et al., 2010; BETTIOL; CAMARGO, 2006; SOBRINHO, 2001).

No Brasil, a maior parte do lodo de esgoto gerado por ETEs tem como destino final aterros sanitários, o que é, comprovadamente, uma das práticas menos recomendadas para destinação final deste resíduo (BETTIOL; CAMARGO, 2006).

O potencial fertilizante e condicionador do lodo de esgoto é uma característica promissora para o emprego deste resíduo no setor agroflorestal. Além de ser uma fonte rica em matéria orgânica, que confere ao solo maior resistência à erosão, o lodo possui macro e micronutrientes que auxiliam na manutenção da fertilidade do solo (NAFEZ et al., 2015; BETTIOL; GHINI, 2011; TSUTIYA, 2001).

Porém, antes de se adotar a aplicação agrícola do lodo de esgoto sanitário, deve-se levar em consideração os diversos parâmetros microbiológicos, tais como bactérias, parasitas e vírus, que delimitam os riscos à saúde pública decorrentes da aplicação do lodo no solo (BRISOLARA; SANDBERG, 2014; THOMAZ-SOCCOL et al., 2010; PEPPER et al., 2006; HESPANHOL, 2003). Tais parâmetros são estabelecidos pela Resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) nº 375/2006, que regulamenta o uso agrícola do lodo de esgoto no país (BRASIL, 2006a).

Com a inviabilização do uso direto do lodo de esgoto na agricultura no Brasil (BRASIL, 2006a), outras alternativas passaram a ser amplamente estudadas, como a mistura do lodo com uma fonte de carbono em processo de compostagem, podendo-se enquadrar o produto final como Produto Fertilizante Orgânico Composto Classe D pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA), pelo Decreto Federal 4.954/2004 (BRASIL, 2004) e pelas Instruções Normativas nº 23/2005 (BRASIL, 2005) e nº 27/2006 (BRASIL, 2006b).

A compostagem é um processo de bio-oxidação de um substrato orgânico sólido realizado por uma grande variedade de microrganismos mesófilos e termófilos, onde há decomposição e liberação de matéria orgânica após maturação. Na compostagem, a elevação da temperatura durante o processo de fermentação higieniza o substrato, com a inativação de microrganismos e parasitas patogênicos, sendo este um dos processos mais eficientes para estabilização de lodos sanitários (PEPPER et al., 2006).

A fonte de carbono incorporada ao lodo é denominada agente estruturante e é fundamental na eficiência do processo de compostagem. Diversos resíduos industriais e agroflorestais podem ser utilizados como agentes estruturantes, tais como cascas e galhadas de árvores, bagaço de cana-de-açúcar, serragem, palhas ou capins. Porém, no momento de escolha do resíduo a ser incorporado na compostagem deve-se levar em consideração a capacidade do mesmo em melhorar as características físicas do composto, além de sua disponibilidade e custos (CARVALHO, 2001).

Dentre as possibilidades de agentes estruturantes disponíveis no interior de São Paulo, uma que se destaca é a casca de eucalipto, uma vez que diversas empresas florestais estão instaladas no interior do estado e este tipo de resíduo possui características físicas que promovem boa aeração no processo de compostagem, além do baixo custo.

Sendo assim, este estudo foi realizado, justificando-se pela necessidade de se verificar o tempo de sobrevivência e comprovar a inativação de microrganismos patogênicos presentes no lodo de esgoto e abordados pela Resolução CONAMA nº 375/2006 (BRASIL, 2006a) em processo de compostagem com casca de eucalipto, uma vez que a ausência destes microrganismos ao final do processo de compostagem é de fundamental importância para se validar a eficiência e a qualidade do mesmo, podendo-se, assim, viabilizar a utilização do produto pelo setor agroflorestal, respeitando-se os padrões exigidos pela legislação brasileira.

2. OBJETIVO

O objetivo do estudo foi avaliar a densidade de coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp. e ovos viáveis de *Ascaris* spp. durante os primeiros 20 dias de compostagem, em mistura de lodo de esgoto com casca de eucalipto, levando-se em consideração a temperatura do processo e, conseqüentemente, verificar se o processo é efetivo na eliminação dos microrganismos patogênicos nos 20 primeiros dias ou se é necessário um maior tempo para tal.

3. METODOLOGIA

O experimento foi instalado em janeiro de 2017 e conduzido na Estação de Tratamento de Esgotos da SABESP localizada no município de Botucatu/SP, em área adjacente à Fazenda Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas – FCA/UNESP. A ETE SABESP/Botucatu atualmente gera, através de Sistema de Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (RAFA) seguido por lodo ativado convencional, cerca de 10 m³ dia⁻¹ de lodo de esgoto com 85% de umidade.

Esta ETE possui área anexa onde o processo de compostagem é estudado, envolvendo manejo em pátio de compostagem, com equipamentos e máquinas que procedem o manejo em grande volume.

3.1 Infraestrutura e equipamentos

O pátio de compostagem onde as pilhas foram instaladas trata-se de uma estrutura metálica (do tipo usada em cultivo protegido de hortaliças) recoberta com plástico de 150 micra, de dimensões 12,8 x 80 m.

Para reviramento da pilha de compostagem foi utilizada uma máquina compostadora acoplada a um trator adaptado, que passava por cima da pilha, homogeneizando-a de duas a três vezes por semana, inserindo, também, oxigênio no processo, ao revirar o material compostado, além de auxiliar no controle da temperatura.

3.2 Instalação do experimento

No final de janeiro de 2017 foi montada uma pilha de dimensões 1,5 x 3,0 x 16,0 m, na proporção 1 parte de casca de eucalipto : 1 parte de lodo de esgoto sanitário.

Foram utilizadas três repetições (R1, R2 e R3) com áreas delimitadas (4m de extensão por repetição) em uma única pilha, sendo os 16m totais de extensão da pilha de compostagem divididos em 3 partes iguais de 4m para cada repetição, mais 2m de bordadura em cada extremidade da pilha.

Para montagem da pilha foi utilizada uma pá carregadeira, que media a proporção casca de eucalipto/lodo de esgoto 1:1 e ia colocando em caçamba de um caminhão basculante. Quando a caçamba estava cheia, o caminhão despejava o conteúdo na área previamente delimitada onde a pilha deveria ficar localizada.

3.3 Monitoramento da temperatura e umidade

A temperatura na pilha de compostagem foi monitorada por sensores de temperatura Decagon 5TM e Decagon RT1 acoplados a dois data loggers Decagon Em 50. Os sensores foram instalados em duas profundidades, no topo e no meio, e a temperatura foi verificada de hora em hora, sendo apresentada em forma de média diária.

As amostragens para análise de umidade foram realizadas concomitantemente com as amostragens para determinação de patógenos. Foram retiradas amostras em cinco pontos distintos em diferentes profundidades, formando uma amostra composta para cada repetição.

Após coletadas as amostras foram levadas a laboratório e, com o auxílio de uma balança determinadora de umidade, a % de umidade foi determinada.

3.4 Determinação de agentes patogênicos

A distribuição de coletas de amostras para análise de *Salmonella* spp., coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp. foi realizada de acordo com o apresentado na Tabela 1. Conforme descrito no item anterior, foram coletadas amostras compostas, em diferentes profundidades, para cada uma das três repetições.

Tabela 1: Frequência de coleta de amostras para análise da concentração de *Salmonella* spp., coliformes termotolerantes e ovos viáveis de *Ascaris* spp. durante o processo de compostagem

Coleta	Momento de execução
Caracterização Lodo	Antes da instalação da pilha de compostagem.
1ª	Instalação da pilha de compostagem (Tempo 0)
2ª	Temperatura na faixa 35 – 45°C
3ª	Temperatura na faixa 46 – 55°C
4ª	Temperatura na faixa 56 – 65°C
5ª	20 dias após a instalação da pilha de compostagem.

Após coletadas, as amostras foram colocadas em caixa térmica com gelo e imediatamente encaminhadas para o laboratório do Departamento de Microbiologia do Instituto de Biociências da UNESP/Botucatu para determinação da densidade de *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes (Número Mais Provável – NMP gST⁻¹), e para o laboratório do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônômicas, em conjunto com o Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências, para determinação do número de ovos viáveis de *Ascaris* spp. (nº de ovos gST⁻¹).

Os métodos utilizados para determinação de coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp. e ovos viáveis de *Ascaris* spp. foram, respectivamente, os propostos por Kornacki et al. (2015), Cox et al. (2015) e pela USEPA (2003).

As coletas foram realizadas em diferentes faixas de temperatura com a finalidade de melhor compreender o decaimento de cada grupo patogênico avaliado de acordo com o aumento de temperatura durante o processo, uma vez que cada grupo possui características fisiológicas diferentes e poderia reagir de diferentes maneiras ao aumento de temperatura.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das temperaturas médias diárias observadas no experimento, apenas no 20º dia após o início da compostagem constatou-se temperaturas elevadas o suficiente para inativação de ovos de *Ascaris* spp, conforme apresentado pela Figura 1.

Como pôde-se observar, o processo iniciou-se com temperaturas na faixa entre 30 e 40°C, temperaturas estas já acima da faixa de temperatura ideal para sobrevivência e reprodução de microrganismos patogênicos, de acordo com Thomaz-Soccol et al. (2010).

Ainda na primeira semana do processo de compostagem, as temperaturas médias começaram a aumentar, ultrapassando os 50°C.

Casco e Bernat (2011) afirmam que diversos fatores podem ocasionar a inativação de agentes patogênicos durante o processo de compostagem, dentre eles estão as altas temperaturas geradas durante a fase termófila do processo, a produção de compostos antimicrobianos tais como os compostos fenólicos e a atividade lítica das enzimas microbianas.

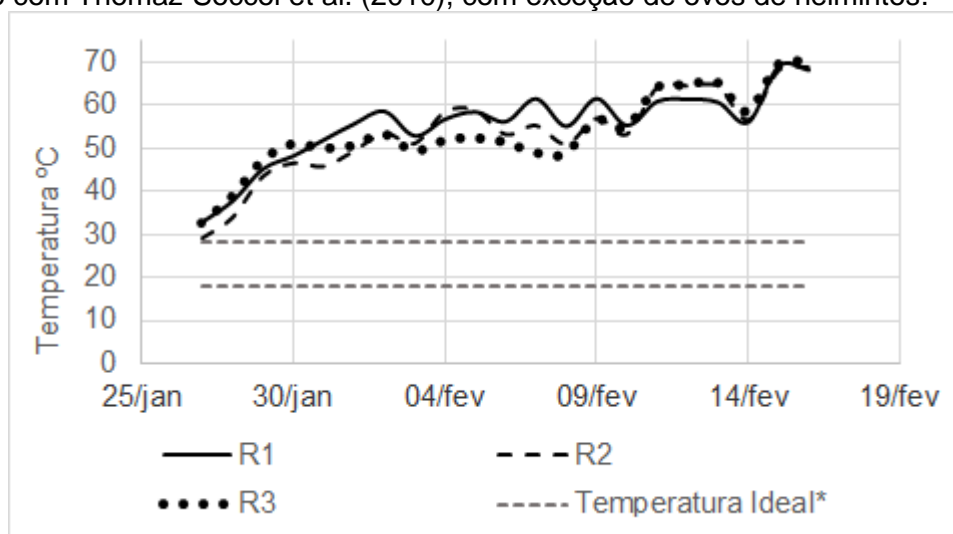
Porém, de acordo com Thomaz-Soccol et al. (2010), a temperatura é o fator ambiental mais limitante para a sobrevivência de organismos patogênicos presentes no lodo de esgoto, uma vez

que é determinante para a reprodução destes organismos e influencia na dissecação dos mesmos.

Ainda de acordo com os autores (THOMAZ-SOCCOL et al., 2010), a temperatura ideal para a sobrevivência e reprodução de bactérias como coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp. está entre 18 e 28°C, faixa que foi superada desde o início do experimento. Devido a isto, pode-se inferir que as elevadas temperaturas durante o processo de compostagem tornaram o ambiente hostil para as referidas espécies, podendo interferir negativamente na sua sobrevivência. Já para ovos viáveis de *Ascaris* spp., os autores afirmam que apenas temperaturas acima de 65° C por um período maior que cinco minutos ocasionam sua inviabilização.

Figura 1: Temperatura média (°C) diária no interior da pilha de compostagem durante os 20 dias após a instalação do experimento, com representação da faixa de temperatura ideal* (entre 18°C e 28°C) para a sobrevivência dos agentes patogênicos avaliados.

* De acordo com Thomaz-Soccol et al. (2010), com exceção de ovos de helmintos.

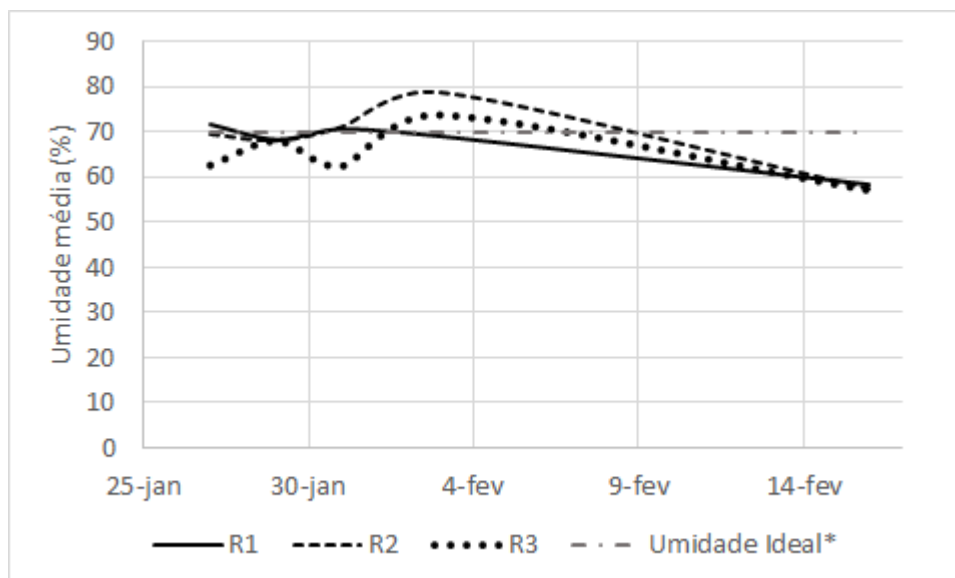


Conforme é possível observar na Figura 2, e considerando-se a umidade ideal para sobrevivência e reprodução destes organismos aquela com índice acima de 70% (THOMAZ-SOCCOL et al., 2010), pode-se dizer que, pelos valores observados, durante os 20 primeiros dias de compostagem a umidade manteve-se acima do valor ideal apenas por um curto período de tempo, caindo severamente após a segunda semana.

Por possuírem considerável sensibilidade à dessecação, a umidade também se torna um fator limitante para a sobrevivência de organismos patogênicos durante o processo de compostagem.

Figura 2: Umidade média (%) diária no interior da pilha de compostagem durante os 20 dias após a instalação do experimento, com representação da umidade ideal* (acima de 70%) para a sobrevivência dos agentes patogênicos avaliados.

* De acordo com Thomaz-Soccol et al. (2010).



Tais hipóteses se confirmaram através dos resultados de densidade dos agentes patogênicos analisados durante os 20 primeiros dias de compostagem, conforme apresentado pela Tabela 2.

Tabela 2: Concentração de agentes patogênicos presentes no composto de lodo de esgoto com casca de eucalipto de acordo com o aumento da temperatura ao longo dos 20 primeiros dias de compostagem.

Faixa de temperatura	Agente patogênico	R1	R2	R3
< 35°C	Coliformes Termotolerantes†	1,5 10 ⁷	4,3 10 ⁵	1,5 10 ⁴
	<i>Salmonella</i> spp.‡	Ausência	Ausência	Ausência
	Ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp.‡‡	6,3	5,8	6,2
35,1 – 45°C	Coliformes Termotolerantes†	1,5 10 ⁵	1,1 10 ³	2,4 10 ²
	<i>Salmonella</i> spp.‡	Ausência	Ausência	Ausência
	Ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp.‡‡	3,6	2,1	6,0
45,1 – 55°C	Coliformes Termotolerantes†	9,1	3,6	3,6
	<i>Salmonella</i> spp.‡	Ausência	Ausência	Presença
	Ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp.‡‡	5,0	4,4	4,5
55,1 – 65°C	Coliformes Termotolerantes†	1,1 10 ⁸	2,4 10 ⁸	4,3 10 ⁹
	<i>Salmonella</i> spp.‡	Ausência	Ausência	Ausência
	Ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp.‡‡	6,9	6,0	6,0
> 65°C	Coliformes Termotolerantes†	9,1	< 3,0	< 3,0
	<i>Salmonella</i> spp.‡	Ausência	Ausência	Ausência
	Ovos viáveis de <i>Ascaris</i> spp.‡‡	1,6	0,9	0,2

† NMP mL⁻¹

‡ Ausência ou Presença em 25mL

‡‡ n° de ovos g ST⁻¹

Conforme pode-se observar, a concentração de coliformes termotolerantes decaiu ao longo do tempo, concomitantemente com o aumento de temperatura, com exceção de um pico na população dentro da faixa 55,1 – 65°C. Tal alteração pode ser explicada pela possibilidade de multiplicação deste grupo de microrganismos durante o processo de compostagem.

O grupo de *Salmonella* spp. manteve-se ausente em todas amostragens, com exceção da repetição 3 na faixa de temperatura 45,1 – 55°C. A presença de *Salmonella* em uma das amostras pode ser justificada pela multiplicação da mesma, assim como para coliformes termotolerantes.

Porém, também é importante ressaltar que a amostragem, por mais que seja homogênea, por vezes pode não representar adequadamente a totalidade do material em compostagem já que apenas uma pequena quantidade é retirada para análise. Em outras palavras, em algumas amostras onde foi apontada a ausência de *Salmonella* spp. não se deve descartar a possibilidade de presença deste patógeno uma vez que a quantidade de material retirado para análise (cerca de 500g) pode não ter abrangido a porção contaminada.

Já o grupo de ovos viáveis de *Ascaris* spp. não apresentou decaimento até que a temperatura ultrapassasse os 65°C. Mesmo assim, os ovos não chegaram a ser totalmente inviabilizados mesmo em temperaturas acima de 65°C ao final dos 20 dias de estudo, sendo necessário um tempo maior para a inviabilização total dos ovos.

Sendo assim, considerando-se que a dose de infecção por ovos de *Ascaris* é considerada a partir de 1 ovo (JIMÉNEZ et al., 2017), pode-se afirmar que, para o estudo realizado, até o 20º dia de compostagem o material não estava isento de infecção por ovos viáveis de *Ascaris* spp.

5. CONCLUSÃO

A concentração de coliformes termotolerantes diminuiu em até 20 dias, com temperaturas superiores a 65°C.

Para *Salmonella* spp. foi observada a presença apenas em uma das três repetições, na faixa de temperatura 45,1 – 55°C.

O grupo de ovos de *Ascaris* spp. não apresentou decaimento da viabilidade até que os valores de temperatura fossem superiores os 65°C. Mesmo acima de 65°C, ainda foram encontrados ovos viáveis ao final dos 20 dias de estudo.

Por este motivo, conclui-se que para inativação total de agentes patogênicos, o processo de compostagem deve ocorrer por um período superior a 20 dias.

REFERÊNCIAS

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A Disposição de Lodo de Esgoto em Solo Agrícola. In BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed). Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2006. Cap. 2. p. 25-36.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Impacts of Sewage Sludge in Tropical Soil: A Case Study in Brazil. Applied And Environmental Soil Science, v. 2011, p.1-11, 2011.

BRASIL. Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n.167, p. 141-146, 30 ago. 2006a. Seção 1.

BRASIL. Instrução Normativa nº 27, de 05 de junho de 2006. Dispõe sobre a importação e comercialização, para produção, de fertilizantes, corretivos, inoculantes e fertilizantes. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, DF, 2006b.

BRASIL. Instrução Conjunta Normativa nº 23, de 14 de setembro de 2005. ANVISA e IBAMA, Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004. Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas destinados à agricultura. Diário Oficial da União. Brasília, DF.

BRISOLARA, K. F.; SANDBERG, M. A. Biosolids and Sludge Management. *Water Environment Research*, v. 86, n. 10, p.1274-1283, 1 out. 2014.

CARVALHO, P. de C. T. de. Compostagem. In: TSUTIYA, M. T. et al (Ed.). *Biossólidos na Agricultura*. São Paulo: Sabesp, 2001. Cap. 6. p. 181-208.

CASCO, J. M.; BERNAT, S. M. Microbiología y bioquímica del proceso de compostaje. In: CASCO, J. M.; HERRERO, R. M. *Compostaje*. Mundiprensa, 2011. Cap. 5. p. 112-140.

COX, N.A. et al. *Salmonella*. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M.L. (Eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 5th Ed. Washington: Apha, 2015. p. 445-463

HESPANHOL, I. Saúde pública e reúso agrícola de esgotos e biossólidos. In: MANCUSO, P. C. S.; SANTOS, H. F. *Reúso de Água*. Barueri: Editora Manole Ltda., 2003. Cap. 4. p. 97-124.

JIMÉNEZ, B. et al. Helminths and their Role in Environmental Engineering. *Human Helminthiasis*, [s.l.], p.39-62, 15 fev. 2017. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/64878>.

KORNACKI, J.L.; GURTLER, J.B.; STAWICK, A. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M.L. (Eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 5th Ed. Washington: Apha, 2015. p. 103-112.

NAFEZ, A. H. et al. Sewage sludge composting: quality assessment for agricultural application. *Environmental Monitoring And Assessment*, v. 187, n. 11, 27 out. 2015. Springer Science + Business Media.

PEDROZA, M. M. et al. Produção e tratamento de lodo de esgoto: Uma revisão. *Revista Liberato, Novo Hamburgo*, v. 11, n. 16, p.89-188, jul. 2010. Semestral.

PEPPER, I. L.; BROOKS, J. P.; GERBA, C. P. Pathogens in Biosolids. *Advances In Agronomy*, p.1-41, 2006. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0065-2113(06)90001-7.

SOBRINHO, P. A. Tratamento de esgoto e geração de lodo. In: TSUTIYA, M. T. et al (Ed.). *Biossólidos na Agricultura*. São Paulo: Sabesp, 2001. Cap. 2. p. 7-40.

THOMAZ-SOCCOL, V. et al. Organismos patogênicos presentes em lodo de esgoto a ser aplicado no solo e a Resolução nº 375 do CONAMA. In: COSCIONE, A. R.; NOGUEIRA, T. A. R.; PIRES, A. M. M. *Uso agrícola do lodo de esgoto: avaliação após a Resolução nº 375 do CONAMA*. Botucatu: FEPAF, 2010. p. 83-111.

TSUTIYA, M. T. Características de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: TSUTIYA, M. T. et al (Ed.). *Biossólidos na Agricultura*. São Paulo: Sabesp, 2001. Cap. 3. p. 89-132.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method for the recovery and assay of total culturable viruses from sludge. In: *Environmental Regulations and Technology. Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge*. EPA/625/R-092/013. Jul. 2003.