REMOÇÃO DE *KLEBSIELLA PNEUMONIE*, *ESCHERICHIA COLI* E COLIFORMES TOTAIS POR HRAPs NO PÓS-TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO EM SISTEMA CONTÍNUO DE OPERAÇÃO.

Caroline Moço Erba Pompei [(1)]
Pós-doutoranda/Pesquisadora pela UFSCar, Dra. Em Ciências da Engenharia Ambiental (USP/EESC), Mestre em Engenharia Civil (UNESP/FEIS), Bióloga pela UFMS/CPTL.
Pedro Henrique Leocadio [(2)]
Graduando em Engenharia Civil pela UNESP/FEB.
Gustavo Henrique Ribeiro da Silva [(2)]
Professor Livre docente no Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UNESP/FEB.
Ana Teresa Lombardi [(1)]
Professora Titular no Departamento de Botânica, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

Endereço [(1)]**:** Rodovia Washington Luis, 235 - caixa postal 676, Monjolinho - Sao Carlos, SP – Brasil. Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFSCAR, Departamento de Botânica do CCBS - Tel: +55 (16) 4444-3333 - e-mail: caroline.erba-pompei@unesp.br
[(2)]**:** Av. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01 Vargem Limpa - Bauru, SP – Brasil. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Engenharia de Bauru, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental.

RESUMO

A deficiência na infraestrutura sanitária está diretamente relacionada à saúde pública, especialmente em países em desenvolvimento, onde doenças infecciosas ainda representam importantes causas de morbidade e mortalidade. Nesse contexto, sistemas de tratamento de esgoto baseados em microalgas destacam-se como soluções sustentáveis. A precariedade da infraestrutura sanitária em países em desenvolvimento impacta diretamente a saúde pública, mantendo altas as taxas de morbidade por doenças infecciosas. Diante deste cenário, os sistemas de tratamento baseados em microalgas surgem como Soluções Baseadas na Natureza (SBN) sustentáveis e de baixo custo operacional. Este estudo avaliou o desempenho de duas lagoas de alta taxa (HRAPs), em escala piloto, operadas em regime contínuo com tempo de detenção hidráulica (TDH) de cinco dias, no pós-tratamento de esgoto doméstico pré-tratado anaerobiamente (reator UASB). O diferencial da pesquisa reside na investigação inédita da remoção de *Klebsiella pneumonie*, uma bactéria de importância clínica e frequente resistência a antibióticos, além dos indicadores convencionais (Escherichia coli e coliformes totais). Os resultados demonstraram eficiências de remoção de 1,6 log para coliformes totais, 1,7 log para *E. coli* e uma expressiva redução de 2,5 log para *K. pneumonie*. Embora a remoção de nutrientes (N e P) tenha sido limitada pela sazonalidade e amplitudes térmicas (34-38%), o sistema provou-se altamente eficaz na desinfecção biológica via estresse oxidativo e elevando o pH. Conclui-se que as HRAPs são alternativas viáveis para a produção de efluentes sanitariamente seguros, permitindo ainda a valorização da biomassa como subproduto para a bioeconomia.

PALAVRAS-CHAVE: Microalgas nativas, *Klebsiella pneumonie*, pós-tratamento anaeróbio, lagoas de alta taxa.

INTRODUÇÃO

A infraestrutura sanitária deficiente apresenta uma nítida interface com a situação de saúde e com as condições de vida das populações dos países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, onde as doenças infecciosas permanecem como causas críticas de morbidade e mortalidade. Estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) indicam que aproximadamente 829.000 mortes por diarreia ocorrem anualmente em decorrência do consumo de água insegura, do saneamento inadequado e de condições deficientes de higiene (WHO, 2022). No Brasil, os desafios relacionados ao saneamento básico permanecem significativos. Dados do Sistema Nacional de Informações em Saneamento Básico (SINISA) indicam que apenas 59,7% da população brasileira é atendida por rede coletora de esgoto. Além disso, embora 78,7% do esgoto coletado receba tratamento, apenas cerca de 49,0% do esgoto efetivamente gerado no país é tratado antes de seu lançamento no ambiente (SINISA 2024). Paralelamente, estudos têm demonstrado que estações convencionais de tratamento de esgoto podem atuar como reservatórios e potenciais

disseminadoras de bactérias resistentes a antibióticos e genes de resistência, reforçando a necessidade de modernização dos sistemas de saneamento para minimizar riscos ambientais e à saúde pública (MANAIA et al. 2016).

A aplicação de sistemas baseados em consórcios microalgas-bactérias no tratamento de esgoto sanitário é uma via oportuna e acessível para atender aos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), especialmente o ODS 6, que assegura o direito de todo ser humano à água potável, limpa e segura e ao saneamento (WHO, UNICEF, 2021).

Além da eficiência na assimilação de macro e micronutrientes, esta tecnologia se destaca pelo potencial de recuperação de recursos e bioeconomia, permitindo a produção de biomassa para bioenergia, biofertilizantes, bioplásticos e produtos farmacêuticos. Segundo Fernandes et al. (2017), o uso de sistemas baseados em consórcios microalgas-bactérias no tratamento de esgoto sanitário é promissor devido sua alta eficiência na assimilação de macro e micronutrientes em sua biomassa, que se destaca pelo potencial de recursos e bioeconomia, permitindo a produção de biomassa para bioenergia, biofertilizantes, bioplásticos e produtos farmacêuticos (CUELLAR BERMUDEZ et al., 2016; GAO et al., 2016; METCALF & EDDY, 2015).

Embora a desinfecção não seja sua função principal, os sistemas de tratamento de esgoto sanitário utilizando microalgas são sabidamente eficientes na remoção de patógenos, (DELANKA-PEDIGE et al., 2019; XINJIE et al., 2019; LIU et al., 2020; SLOMPO et al., 2020; ASSEMANY et al., 2014; 2015; VASSALE et al., 2020; POMPEI et al., 2023, 2024). O processo ocorre de forma natural e biológica, impulsionado pela atividade fotossintética que eleva o pH e os níveis de oxigênio dissolvido, gerando um ambiente inóspito (estresse oxidativo e foto-oxidação) para microrganismos patogênicos. Estudos recentes confirmaram a eficácia desses sistemas na inativação de uma vasta gama de microrganismos, incluindo *Escherichia coli*, coliformes totais, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e o resistente *Clostridium perfringens* (POMPEI et al. 2023, 2024, 2025; RUAS et al. 2022, 2023).

Apesar de avanços observados em alguns estudos com consórcios de espécies como *Tetradesmus obliquus*, *Scenedesmus* e *Chlorella*, existe uma lacuna crítica no entendimento da remoção de outros patógenos de importância clínica. Ineditamente, este estudo busca investigar a remoção de *Klebsiella pneumonie*, uma espécie bacteriana frequentemente associada a infecções graves e resistência a antibióticos, que nunca foi antes explorado no contexto do tratamento de esgoto por microalgas-bactérias. Compreender o comportamento de *Klebsiella pneumonie* nestes sistemas é fundamental para garantir a segurança sanitária de efluentes destinados ao reuso e para consolidar as tecnologias baseadas em microalgas-bactérias como soluções completas de saneamento sustentável.

OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a eficiência de duas lagoas de alta taxa – *High Hate Algae Ponds* (HRAPs) em remover bactérias patogênicas do esgoto sanitário pré-tratado anaerobiamente. A proposta contemplou os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar a eficiência das HRAPs em remover coliformes totais e *Escherichia coli;*
- Avaliar a eficiência das HRAPs em remover *Klebsiella pneumonie;*
- Avaliar a eficiência das HRAPs no tratamento do esgoto, como uma alternativa após o tratamento anaeróbio.

METODOLOGIA UTILIZADA

Inicialmente, um consórcio nativo de microalgas e bactérias foi enriquecido a partir do efluente doméstico pós-tratamento anaeróbio utilizado neste estudo. O consórcio foi cultivado sob condições laboratoriais controladas, com temperatura de 25 °C, fotoperíodo de 12 h claro:12 h escuro e irradiância de 300–400 µmol fótons m^{-2} s^{-1}, até atingir uma concentração de aproximadamente 10^8 células mL^{-1} de microalgas. Em seguida, o consórcio enriquecido foi inoculado em duas lagoas de alta taxa (HRAPs) idênticas, correspondendo a 10% do volume operacional de cada unidade. Cada HRAP possuía volume útil de 165 L e foi operada em ambiente externo (outdoor), sob condições ambientais naturais (Figura 1). Os sistemas foram alimentados continuamente com efluente doméstico pós-tratamento anaeróbio, utilizando vazão de 20,5 mL min^{-1} controlada por bombas dosadoras peristálticas (ProMinent ConceptPlus), resultando em um tempo de detenção hidráulica de aproximadamente 5,6 dias.



Figura 1: Local de instalação das HRAPs.

O efluente utilizado neste estudo foi coletado semanalmente em uma Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) operada por uma autarquia municipal localizada no interior do estado de São Paulo (22°16'00.7"S; 49°05'12.5"W), após tratamento em reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB). Aproximadamente 1.000 L de efluente eram coletados semanalmente e armazenados em um reservatório refrigerado equipado com sistema de recirculação interna, a partir do qual o efluente era continuamente fornecido às lagoas de alta taxa (HRAPs).

Foram utilizadas duas HRAPs construídas em fibra de vidro, com dimensões de 1,25 m de comprimento, 0,60 m de largura e 0,20 m de profundidade operacional, resultando em área superficial iluminada de aproximadamente 0,72 m². A mistura da cultura foi promovida continuamente por uma bomba submersível de recirculação (Sunsun XDP-7500 DC 24V, China), proporcionando velocidade média horizontal de escoamento de aproximadamente 20 cm s^{-1} e garantindo condições de mistura completa.

As amostras foram coletadas duas vezes por semana, simultaneamente no afluente (efluente pós UASB) e nos efluentes das duas HRAPs. Em cada evento de amostragem foram coletados 200 mL de amostra, posteriormente analisados em duplicata para todos os parâmetros avaliados, totalizando cinco campanhas de monitoramento. Todas as análises seguiram os procedimentos descritos no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2023).

Foram determinadas as concentrações de demanda química de oxigênio solúvel (DQO), fósforo total (PT), ortofosfato ($P\text{-}PO_4^{3-}$), nitrito ($N\text{-}NO_2^-$), nitrato ($N\text{-}NO_3^-$), nitrogênio Kjeldahl total (NTK) e nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$). Amostras não filtradas foram utilizadas para determinação da alcalinidade, ácidos orgânicos voláteis (AOV), densidade celular, pigmentos fotossintéticos e microrganismos indicadores. Os parâmetros pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade elétrica foram monitorados utilizando uma sonda multiparâmetros (HANNA Instruments, modelo HI9829). A turbidez foi determinada em espectrofotômetro NANOCOLOR UV/VIS (Macherey-Nagel, Alemanha). As concentrações de clorofila-a, clorofila-b e carotenoides foram determinadas conforme os métodos descritos por Shoaf e Lium (1976) e Wellburn (1994). A densidade celular foi quantificada em microscópio óptico (Leica DM1000) utilizando câmara de contagem Fuchs-Rosenthal, de acordo com Komárek e Fott (1983).

A quantificação microbiológica foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade (pour plate). Para a determinação de coliformes totais e Escherichia coli foi utilizado o meio cromogênico HiCrome® Chromogenic Coliform Agar (M1991I), enquanto para a quantificação de Klebsiella pneumoniae foi empregado o meio seletivo HiCrome® Klebsiella Selective Agar Base (M1573), ambos utilizados de acordo com as recomendações do fabricante.

Os resultados dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos obtidos para o afluente e os efluentes das HRAPs foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn, considerando nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Real Statistics Resource Pack (versão 7.6) acoplado ao Microsoft Excel 2021.

RESULTADOS OBTIDOS E ANÁLISES

Os médios dos parâmetros monitorados e desvio padrão (±), no esgoto pós-UASB e saída das HRAPs durante o período de estudo estão apresentados na Tabela 1. Durante o período avaliado foram coletados e processados dados físico-químicos e biológicos, tanto do esgoto pós-UAB a ser tratado, como após o tratamento pelas HRAPs. A Tabela 1 contém os valores médios e os respectivos desvios padrões dos parâmetros processados.

Tabela 1: Valores médios dos parâmetros monitorados e desvio padrão (±), no esgoto pós-UASB e saída das HRAPs durante o período de estudo.

	Esgoto pós-UASB	**HRAP 1**	**HRAP 2**
pH	6,9±0,3	8,6±0,7	7,8±0,6
Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})	1,3±1,5	10,9±2,6	11,2±2,6
Temperatura do líquido (°C)	14,9±10,6	19,9±2,5	19,0±2,5
Temperatura ar (°C)	-	22,4±0,4	
Luminosidade média (µmol fótons m^{-2} s^{-1})	-	896,7±40,4	
Turbidez (NTU)	49,59±2,67	20,12±3,89	13,01±1,48
Clorofila a (mg L^{-1})	-	3,30±0,35	2,18±0,34
Clorofila b (mg L^{-1})	-	2,07±0,21	1,66±0,62
Carotenoides (mg L^{-1})	-	0,76±0,10	0,42±0,18
Contagem de células (cel ml^{-1})	-	$5,26x10^6$	$3,32x10^6$
DQO (mg L^{-1})	60,66±19,83	58,63±17,21	62,23±18,33
Fósforo total (mg L^{-1})	3,26±0,74	1,99±0,20	2,12±0,36
Ortofosfato (mg L^{-1})	10,15±0,63	7,90±0,91	7,87±1,03
TKN (mg L^{-1})	75,53±5,96	45,17±3,94	46,32±2,61
Nitrito (mg L^{-1})	0,01±0,01	2,65±0,11	2,64±0,25
Nitrato (mg L^{-1})	3,58±1,35	8,06±2,18	8,06±1,42
Amônia (mg L^{-1})	61,47±0,72	29,55±1,80	31,08±1,53
Nitrogênio total (mg L^{-1})	76,88±5,76	48,95±6,04	49,52±3,84
AOV (mg L^{-1})	45,3±7,0	36,5±9,4	36,0±10,6
Alcalinidade (mg L^{-1})	294,2±4,7	50,8±10,6	45,7±19,8
Coliformes totais (CFU $100ml^{-1}$)	$1,11x10^7$	$3,11x10^5$	$4,61x10^5$
Escherichia coli (CFU $100ml^{-1}$)	$2,43x10^6$	$1,38x10^5$	$7,59x10^4$
Klebsiella pneumonie (CFU $100ml^{-1}$)	$1,79x10^6$	$3,63x10^4$	$4,79x10^4$

Fonte: Os autores.

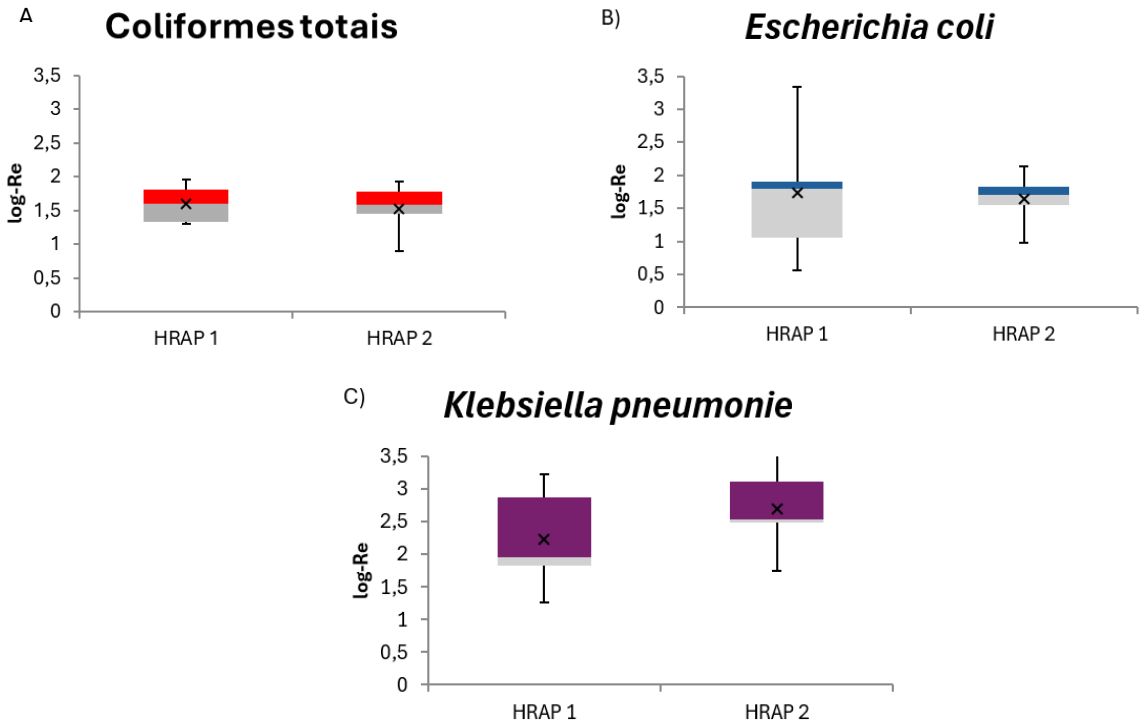


Figura 2: Representação em boxplot da remoção em Log_{10} (log-Re) nas duas HRAPs, sendo: A) Coliformes totais, B) *Escherichia coli*, e C) *Klebsiella pneumonie*.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Em termos de porcentagem de remoção de fósforo total (PT) e nitrogênio total (NT), as HRAPs obtiveram eficiência próximas, conforme o esperado, 38 e 34% de PT, e 36 e 35% de NT. Atribui-se a baixa eficiência na remoção dos mencionados nutrientes a época sazonal, que apesar de ter sido de estiagem durante o período avaliado, com amplitude de 12–15°C ao longo do dia, o que foi considerada pelo IPMET/BAURU-SP (Instituto de Pesquisas Meteorológicas de Bauru, SP) como moderada a alta, típica de dias secos de outono/inverno, com noites frias e aquecimento significativo durante a tarde. Pode ser observado na Tabela 1 diferença de em média 1 mg L^{-1} de clorofila-*a* a mais na HRAP 1, se comparada com a HRAP 2, o que pode explicar maior eficiência, ainda que sutil, da HRAP 1 na remoção de nutrientes.

Para coliformes totais, houve uma remoção média de 97% e 1,60 log para a HRAP 1 e 95% e 1,53 log para a HRAP 2. Para *Escherichia coli*, a remoção média durante o período avaliado foi de 92% e 1,73 log para a HRAP 1 e 96% e 1,64 log para a HRAP 2. Tanto para coliformes totais como para *E. coli*, os achados estão condizentes para HRAPs operadas outdoor em escala piloto, conforme em Pompei et al., (2023) os quais obtiveram remoção média de 1 a 1,2 log em HRAP, porém operada sob regime de batelada. Outros trabalhos que corroboram os achados deste, são Chambonniere et al. (2020) com 1,77 log de remoção de *E. coli*, Espinosa et al., (2021) com >1,7 log.

A *Klebsiella pneumonie* foi a bactéria que apresentou maior remoção pelas HRAPs, 97% e 2,07 e 2,70 para HRAP 1 e 2, respectivamente. Este resultado evidencia a importância do estudo e de que alternativas com sistemas baseados em microalgas são alternativas interessantes no processo de desinfecção, pois além do tratamento, gera valor agregado da geração de biomassa que pode servir como um insumo para diversos fins, como um biofertilizante.

Apesar de em alguns gráficos da Figura 2 não serem exatamente idênticos comparando-se HRAP 1 e 2, os testes estatísticos mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre as HRAPs, tanto para coliformes totais (p= 0,75), como para *Escherichia coli* (p= 0,91) e *Klebsiella pneumonie* (p= 0,46). A concentração média remanescente de cada patógeno avaliado encontra-se na Tabela 1.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, conclui-se que as Lagoas de Alta Taxa (HRAPs) representam uma Solução Baseada na Natureza (SBN) tecnicamente viável e eficiente para o pós-tratamento de efluentes domésticos pré-tratados em reatores UASB. O sistema demonstrou alta eficácia na desinfecção biológica por meio de processos naturais, como a elevação do pH e o estresse oxidativo, atingindo remoções de 1,6 log para coliformes totais e 1,7 log para *E. coli*. De forma inédita, a pesquisa revelou uma expressiva redução de 2,5 log para a bactéria de importância clínica *Klebsiella pneumoniae*, preenchendo uma lacuna crítica na literatura e consolidando o potencial dessa tecnologia na mitigação de patógenos resistentes no saneamento. Embora a remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) tenha sido moderada, variando entre 34% e 38%, tal desempenho foi condicionado pela alta amplitude térmica sazonal, que afetou a estabilidade da biota cultivada. Para otimizações futuras, recomenda-se o aumento do Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) e o uso de dispositivos de controle térmico em períodos críticos, visando potencializar a assimilação de nutrientes e a recuperação de recursos através da valorização da biomassa microalgal no âmbito da bioeconomia.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTOS

Agradecemos a Unesp/FEB pelas instalações concedidas e suporte, ao Departamento de Agua e Esgoto da cidade de Bauru (DAE), A FAPESP pelo financiamento a pesquisa, Processos números: 2024/09344-9 e 2025/05630-0.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA - American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation, 2023. Standard Methods for the Examination of Water and Sewage, 24th ed. LMC – Pharmabooks.

2. BRASIL. Ministério das Cidades. *Relatório SINISA 2024 – Esgotamento Sanitário (ano de referência 2023)*. Brasília: Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, 2025.

3. CHAMBONNIERE, Paul; BRONLUND, John; GUIEYSSE, Benoit. Escherichia coli removal during domestic wastewater treatment in outdoor high rate algae ponds: long-term performance and mechanistic implications. **Water Science and Technology**, v. 82, n. 6, p. 1166-1175, 2020.

4. Cuellar-Bermudez, S. P., Aleman-Nava, G. S., Chandra, R., Garcia-Perez, J. S., Contreras-Angulo, J. R., Markou, G., ... & Parra-Saldivar, R. (2017). Nutrients utilization and contaminants removal. A review of two approaches of algae and cyanobacteria in wastewater. *Algal Research*, *24*, 438-449.

5. Delanka-pedige, Himali MK et al. Pathogen reduction in an algal-based wastewater treatment system employing Galdieria sulphuraria. Algal research, v. 39, p. 101423, 2019.

6. ESPINOSA, Maria Fernanda et al. Reduction and partitioning of viral and bacterial indicators in a UASB reactor followed by high rate algal ponds treating domestic sewage. **Science of the Total Environment**, v. 760, p. 144309, 2021.

7. Fernandes, Tânia V. et al. Toward an ecologically optimized N: P recovery from wastewater by microalgae. Frontiers in microbiology, v. 8, p. 263965, 2017.

8. Gao, F., Li, C., Yang, Z. H., Zeng, G. M., Feng, L. J., Liu, J. Z., ... & Cai, H. W. (2016). Continuous microalgae cultivation in aquaculture wastewater by a membrane photobioreactor for biomass production and nutrients removal. *Ecological engineering*, *92*, 55-61.

9. KOMÁREK J, FOTT P (1983) Chlorophyceae: chlorococcales. Das Phytoplankton Des SUwassers. 7. Teil, 1. Halfte, Stuttgart.

10. Liu, Pengxiao et al. Removal of trace antibiotics from wastewater: A systematic study of nanofiltration combined with ozone-based advanced oxidation processes. Chemical Engineering Journal, v. 240, p. 211-220, 2014.

11. MANAIA, C. M.; MACEDO, G.; FATTA-KASSINOS, D.; NUNES, O. C. Antibiotic resistance in urban aquatic environments: can it be controlled? Applied Microbiology and Biotechnology, v. 100, p. 1543–1557, 2016.

12. Pompei, C. M. E., Ruas, G., Bolzani, H. R., & da Silva, G. H. R. (2023). Assessment of total coliforms and E. coli removal in algae-based pond under tropical temperature in addition of carbon dioxide (CO2) and shading. *Ecological Engineering*, *196*, 107102.

13. RUAS, G.; FARIAS, S. L.; REIS, B. A. B.; SEREJO, M. L.; SILVA, G. H. R.; BONCZ, M. Á. Removal of Clostridium perfringens and Staphylococcus spp. in Microalgal–Bacterial Systems: Influence of Microalgal Inoculum and CO2/O2 Addition. Water, v. 15, n. 1, p. 5, 2023.

14. RUAS, G.; LACERDA, S. F.; NANTES, M. A.; SEREJO, M. L.; SILVA, G. H. R.; BONCZ, M. Á. CO2 Addition and Semicontinuous Feed Regime in Shaded HRAP—Pathogen Removal Performance. Water, v. 14, n. 24, p. 4047, 2022.

15. SHOAF, W. T., & LIUM, B. W. (1976). Improved extraction of chlorophyll a and b from algae using dimethyl sulfoxide. Limnology and Oceanography, 21(6), 926–928. https://doi.org/10.4319/lo.1976.21.6.0926

16. Slompo, N. D. M., Quartaroli, L., Fernandes, T. V., da Silva, G. H. R., & Daniel, L. A. (2020). Nutrient and pathogen removal from anaerobically treated black water by microalgae. *Journal of Environmental Management*, *268*, 110693.

17. Vassalle, L., Díez-Montero, R., Machado, A. T. R., Moreira, C., Ferrer, I., Mota, C. R., & Passos, F. (2020). Upflow anaerobic sludge blanket in microalgae-based sewage treatment: co digestion for improving biogas production. *Bioresource Technology*, *300*, 122677.

18. WELLBURN, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology, 144(3), 307–313. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192–2

19. WHO. Water and sanitation. World Health Organization, 2022.

20. Xinjie, W., Xin, N., Qilu, C., Ligen, X., Yuhua, Z., & Qifa, Z. (2019). Vetiver and Dictyosphaerium sp. co-culture for the removal of nutrients and ecological inactivation of pathogens in swine wastewater. *Journal of Advanced Research*, *20*, 71-78.