

## II-146 - CILIATOFAUNA, CISTOS DE *Giardia* spp. E OOCISTOS DE *Cryptosporidium* spp DO LODO ATIVADO DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO

**Isabel Cristina Vidal Siqueira-Castro<sup>(1)</sup>**

Bióloga pela UFJF. Mestre em Comportamento e Ecologia Animal (UFJF). Doutora em Zoologia (UFRJ). Pós-doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal (UNICAMP).

**Juliane Araújo Greinert-Goulart<sup>(2)</sup>**

Farmacêutica e Bioquímica pela UFSC. Mestre em Biotecnologia (UFSC). Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia (UNICAMP). Professora do Depto. de Ciências Naturais – FURB.

**Audrey dos Santos<sup>(3)</sup>**

Graduanda em Ciências Biológicas pela PUC-Campinas.

**Regina Maura Bueno Franco<sup>(4)</sup>**

Bióloga pela UNICAMP. Mestre em Parasitologia (UFMG). Doutora em Parasitologia (UNICAMP). Professora do Depto. de Biologia Animal – UNICAMP

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Monteiro Lobato, 255. CEP: 13.083-862 – Barão Geraldo – Campinas-SP, Tel: (19) 3521-6285 - e-mail: [siqueiraicv@gmail.com](mailto:siqueiraicv@gmail.com)

### RESUMO

A caracterização da microfauna e a avaliação quanto à remoção de formas resistentes de organismos patogênicos devem ser consideradas como mais um parâmetro na avaliação do desempenho de sistemas de tratamento de esgoto por lodos ativados. O presente estudo teve como objetivo caracterizar e quantificar os protozoários ciliados presentes no sistema de lodos ativados e avaliar remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp ao longo de um sistema de tratamento combinado anaeróbio/aeróbio de esgoto. A ETE em estudo se destaca pelo diferenciado sistema de tratamento de esgoto, que envolve inicialmente o tratamento anaeróbio seguido pelo por lodos ativados. A pesquisa dos cistos e oocistos foi realizada por meio da reação de imunofluorescência direta e para as análises dos protozoários ciliados foram efetuadas observações sob microscópio estereoscópico e de contraste interferencial diferencial (DIC), possibilitando identificação dos organismos *in vivo* e após impregnação pela prata. A ciliatofauna do lodo ativado esteve representada pelos protozoários ciliados sésseis, pelos predadores de flocos e pelos livre natantes. Os dois primeiros apareceram em todas as coletas, enquanto o último grupo apresentou uma frequência de 95,8%. Os ciliados sésseis foram os mais abundantes durante as coletas, correspondendo a 36,8 % dos organismos observados em relação à comunidade, seguido pelos ciliados predadores de flocos (19,3 %), tecamebas (15,7 %), zooflagelados (11,3 %), ciliados livre natantes (9,0 %), amebas nuas (4,4 %) e micrometazoários (3,4 %). Dentre os ciliados sésseis registrados, espécies de *Vorticella* e *Epistylis* sp. foram as mais abundantes, seguidas pelos ciliados suctorais *Podophrya fixa* e *Tokophrya* sp. Os ciliados predadores de flocos mais frequentes e abundantes no lodo ativado foram *Aspidisca* spp e *Gastronauta membranaceus*. Durante o estudo foram detectados apenas oocistos de *Cryptosporidium* spp em apenas três amostras. O sistema apresentou eficiências de remoção de cistos que variaram de 99,8 a 100 %. O estudo da remoção destes parasitos patogênicos ressalta a importância do tratamento de esgotos sanitários para redução do impacto dos efluentes gerados no meio ambiente e na saúde pública e a necessidade de maior controle quanto ao tratamento de lodo condicionado gerado em ETE.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microfauna, ciliados, protozoários patogênicos, lodos ativados.

### INTRODUÇÃO

Os sistemas de lodos ativados abrigam uma comunidade microbiológica bastante dinâmica e fundamental ao tratamento do esgoto, tendo cada espécie sua importância para o bom funcionamento do sistema. A estrutura dessa comunidade está diretamente ligada às condições operacionais e com a qualidade e quantidade de efluente



que alimenta o processo, de modo que, a avaliação microbiológica do lodo é capaz de fornecer informações sobre o desempenho de uma planta de tratamento de esgoto.

Dentre os organismos que compõem a microfauna do lodo ativado, os protozoários são comumente encontrados nesse sistema aeróbio. Os protozoários ciliados, dada sua natureza heterotrófica, são responsáveis pelo consumo de matéria orgânica, de bactérias livres e participam na formação de flocos de lodo ativado. Estes organismos constituem um grupo amplamente diversificado morfológicamente, contendo mais de 8.000 espécies nominais, em sua maioria de vida livre. Apresentam facilidade de cultivo em laboratório, alta capacidade de multiplicação, ciclo de vida relativamente curto e, consequentemente, rápida manifestação de resposta em face das alterações nas características do meio. Os principais grupos de protozoários do lodo ativado são os ciliados bacterívoros, classificados de acordo com seu comportamento em três grupos funcionais: livre-natantes, rastejantes e sésseis. Utilizando-se da corrente de água gerada pela ciliatura oral, estes ciliados capturam bactérias e conduzi-las para a região oral. Enquanto os ciliados livre-natantes e sésseis competem entre si pelas bactérias em suspensão no líquido sob aeração, os rastejantes, comumente associados à superfície do floco, removem e ingerem partículas orgânicas aderidas ao floco.

No processo de clarificação do esgoto, os protozoários ciliados são considerados importantes e o papel que eles desempenham tem sido ao longo dos anos, objeto de estudo de muitos pesquisadores de diversas partes do mundo, que ressaltam o potencial indicador das espécies de ciliados na eficiência do processo de tratamento de esgoto (MADONI & GHETTI, 1981; AL – SHAHWANI & HORAN, 1991; MADONI, 1994; MARTÍN-CERECEDA et al., 1996; ETTI et al., 2000; NICOLAU et al., 2001; LEE et al., 2004; MADONI, 2011). Logo, dada a essa crescente utilização da microbiota do lodo ativado como ferramenta auxiliar na diagnose das condições operacionais de sistemas de tratamento de esgoto, estudos taxonômicos e de caracterização dos protozoários ciliados presentes em ETE também vêm sendo desenvolvidos (AESCHT & FOISSNER, 1992; ETTI et al., 2000, SILVA & SILVA-NETO, 2001; PAIVA & SILVA-NETO, 2004; BENTO et al., 2005; SIQUEIRA-CASTRO et al. 2009; SIQUEIRA-CASTRO & SILVA-NETO, 2009).

A avaliação quanto à remoção de formas resistentes de organismos patogênicos deve ser considerada como mais um parâmetro na avaliação do desempenho de sistemas de tratamento de esgoto por lodos ativados. No entanto, a avaliação de índices parasitológicos muitas vezes não faz parte dos parâmetros que caracterizam o resíduo gerado no processo. O tratamento adequado do esgoto doméstico minimiza a contaminação por organismos patogênicos nos recursos hídricos, principalmente daqueles que servem de mananciais fornecedores de água para Estações de Tratamento de Água, evitando o surgimento de vários surtos de doença de veiculação hídrica (MACPHERSON, 2005).

Os cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. são liberados por meio das fezes dos hospedeiros infectados, fazendo com que o esgoto doméstico seja uma das mais importantes fontes de contaminação ambiental (MACPHERSON, 2005; MONTEMAYOR et al., 2005), causando um grande impacto na saúde pública e ambiental. Estas formas infectantes são amplamente encontradas como contaminantes de águas doces (BUKHARI et al., 1997; KARANIS et al., 1998; FRANCO et al., 2001; ONO et al., 2001; GREINERT et al., 2004). As formas infectantes destes protozoários patogênicos são frequentemente detectadas, em concentrações variáveis, em amostras de esgoto bruto ou tratado: de 100 a 10.000 oocistos / L e 1000 a 100.000 cistos / L, respectivamente (MADORE, et al., 1987; CARRARO, et al., 2000).

A caracterização e a avaliação da microfauna do sistema de lodo ativado de uma estação de tratamento de esgoto é uma ferramenta adicional que contribui na rápida diagnose para tomada de decisões e identificação de problemas operacionais, além de agregar informações para o monitoramento e melhoria no tratamento dos efluentes. O presente estudo teve como objetivo caracterizar e quantificar os protozoários ciliados presentes no sistema de lodos ativados e avaliar remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. ao longo de um sistema de tratamento combinado anaeróbio/aeróbio de esgoto.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A análise quantitativa da microfauna do lodo ativado foi realizada em câmara de Sedgwick-Rafter utilizando microscópio óptico no aumento de 100 X e 200 X. Aliquotas de lodo ativado foram analisadas, sendo os

organismos observados *in vivo* em microscopia de contraste de fase e contraste interferencial diferencial de Nomarski (DIC), possibilitando identificação preliminar. Culturas obtidas de alíquotas de lodo ativado foram mantidas em placas de Petri e os protozoários ciliados foram triados e fixados para a realização de técnica de impregnação pela prata que é indispensável no estudo taxonômico e morfológico destes organismos.

Para a avaliação da eficiência de remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. na ETE em estudo foram colhidas amostras de esgoto bruto (P1), do efluente do Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente – RAFA (P2a), lodo do RAFA (P2b), lodo do tanque de aeração (P3), efluente tratado (P4) e lodo condicionado (P5). As amostras foram colhidas conforme o tempo de detenção hidráulica da ETE de 22 horas, sendo P1 obtida ao meio dia, P2a a 1 hora da manhã ao mesmo tempo que foi realizada a coleta de P2b. A terceira amostra, o lodo recirculado do tanque de aeração (P3) foi colhida às 10 horas da manhã e em seguida realizada a tomada do efluente tratado (P4). O lodo condicionado (P5) é uma mistura do lodo excedente do tratamento anaeróbio somado ao lodo excedente do tratamento aeróbio digerido. Assim, o lodo condicionado analisado é resultado de vários descartes de lodo excedente do sistema não correspondendo ao esgoto de um único dia.

A investigação da presença de cistos e oocistos nas amostras foi realizada de acordo com protocolo para concentração modificado de Robertson et al. (2000) e adaptado por Cantusio Neto et al. (2006). A pesquisa dos cistos e oocistos nas amostras concentradas foi realizada por meio da reação de imunofluorescência direta (RID) conforme as instruções do fabricante do Kit diagnóstico (Merifluor®). A visualização da RID foi feita em microscópio de epifluorescência equipado com um filtro de excitação na faixa 450 a 490 nm e filtro de barreira de 520 nm (verde). Após a enumeração dos cistos e oocistos presentes nas amostras, o cálculo da estimativa do número de cistos e oocistos/L para cada amostra foi realizado com base na fórmula:  $X=(n/K).(S/A)$ , sendo: X= concentração de oocistos ou cistos/L; n=número de oocistos ou cistos visualizados na lâmina; K= volume de sedimento analisado ( $\mu$ L); S = volume do sedimento obtido ( $\mu$ L) e A = volume filtrado da amostra (L).

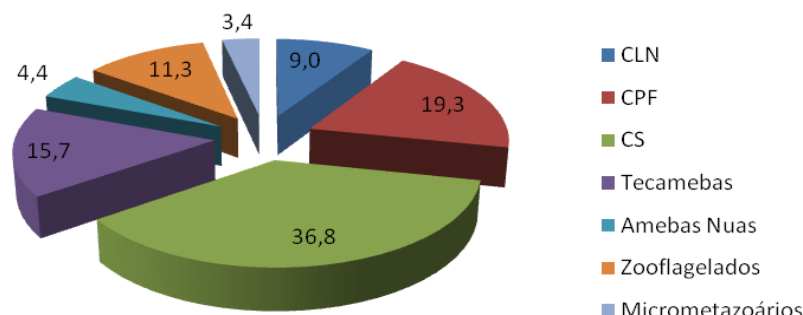
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A microfauna do lodo ativado da ETE em estudo foi classificada em (i) Ciliados Sésseis; (ii) Ciliados Predadores de Flocos; (iii) Ciliados Livres Natantes; (iv) Tecamebas; (v) Amebas Nuas; (vi) Zooflagelados e (vii) Micrometazoários. Os ciliados sésseis, os ciliados predadores de flocos, e as tecamebas apareceram em todas as coletas. Os ciliados livre natantes apresentaram uma frequência de 95,8%, seguido dos zooflagelados (87,5%), dos micrometazoários (83,3%) e das amebas nuas (62,5%) nas análises realizadas até o momento (Tabela 1).

**Tabela 1. Frequência relativa e abundância dos grupos componentes da microfauna presente no tanque de aeração da ETE no período de fevereiro de 2010 a abril de 2011.**

Grupo	Frequência Relativa (%)	Abundância (indivíduos/ml)		
		Mínima	Média	Máxima
Ciliados sésseis - CS	100	480	949,8	7000
Ciliados predadores de flocos - CPF	100	400	719,2	4560
Ciliados livres natantes – CLN	95,8	90	247,0	2240
Tecamebas	100	120	620,7	5200
Amebas nuas	62,5	40	349,3	2960
Zooflagelados – ZFL	87,5	120	340,2	4000
Micrometazoários	83,3	40	107,7	1000

Os ciliados sésseis foram os mais abundantes durante as coletas (Figura 2) correspondendo a 36,8 % dos organismos observados em relação à comunidade, seguido pelos ciliados predadores de flocos (19,3 %), tecamebas (15,7 %), zooflagelados (11,3 %), ciliados livre natantes (9,0 %), amebas nuas (4,4 %) e micrometazoários (3,4 %).



**Figura 1. Abundância relativa dos grupos da microfauna observado no lodo ativado da ETE.**

Dentre os ciliados sésseis ocorrentes no lodo ativado, espécies de *Vorticella* e *Epistylis* sp. foram as mais abundantes, seguidas pelos ciliados suctoriais *Podophrya fixa* e *Tokophrya* sp. (Tabela 2). Os ciliados predadores de flocos (CPF) mais frequentes e abundantes no lodo ativado foram *Aspidisca* spp e *Gastronauta membranaceus* (Tabela 2).

**Tabela 2. Frequência e abundância dos organismos/mL detectados no tanque de aeração durante os meses de novembro de 2010 a novembro de 2011.**

Mês de Novembro de 2010 a Novembro de 2011					
Classificação	Táxon	Frequência (%)	Abundância (no./mL)		
			Mínima	Média	Máxima
<b>Ciliado Livre Natante</b>					
	<i>Metopus</i> sp.	4,2	0	1,7	40
	Litostomatea	95,8	90	708,4	2240
<b>Ciliado Predador de Floco</b>					
	<i>Gastronauta membranaceus</i>	91,7	40	336,8	2480
	<i>Chilodonella</i> sp.	6,7	40	6,7	120
	<i>Drepanomonas revoluta</i>	13,3	0	13,3	160
	<i>Euplotes aediculatus</i>		40	8,3	120
	<i>Aspidisca</i> spp.	100	200	1159,0	3400
<b>Ciliado Sésil</b>					
	<i>Vorticella</i> spp.	95,8	200	1979,6	5400
	<i>Epistylis</i> sp.	91,7	150	771,3	2400
	<i>Carchesium</i> sp.	4,2	0	3,3	80
	<i>Opercularia</i> sp.	16,4	40	33,9	360
	<i>Podophrya</i> sp.	37,5	40	49,5	400
	<i>Discophrya</i> sp.	20,8	30	13,3	120
	<i>Tokophrya</i> sp.	50,0	40	44,8	200
	<i>Acineta</i> sp.	4,2	0	3,3	80
	<i>Sphaerophrya</i> sp.	4,2	0	3,3	80
<b>Amebas Nua</b>					
	sp.não identificada	62,5	40	349,3	2960
<b>Tecameba</b>					
	<i>Arcella</i> sp.	100	120	1120,9	4400
	<i>Euglypha</i> sp.	37,5	30	120,3	1333
<b>Flagelado</b>					
	<i>Peranema</i> sp.	70,8	80	213,5	560
	<i>Chilomonas</i> sp.	37,5	40	537,8	4000
	Flagelado NI	29,2	40	141,7	1120
<b>Rotífera</b>					
		83,3	40	262,5	1000
<b>Nematoda</b>					
	<i>Rabditis</i> sp.	8,3	0	3,3	40
<b>Anelídea</b>					
		8,3	0	3,3	40



Dentre os ciliados livre natantes, as espécies pertencentes a classe Litostomatea foram as mais abundantes (Tabela 2), seguido por *Metopus* sp. Os Litostomatea são protozoários livre-natantes predadores de outros ciliados, sendo também citados na literatura, como componentes da biota encontrada em plantas de lodo ativado, apesar de não estarem diretamente relacionados com o processo de clarificação do esgoto.

Dentre os outros grupos de protozoários, foram frequentes as tecamebas do gênero *Arcella* sp., seguidas por amebas desprovidas de carapaça, as amebas nuas, que ainda não foram identificadas. Os zooflagelados observados com maior frequência foram *Peranema* sp. e *Chilomonas* sp. Dentre os micrometazoários registrados, os rotíferos estiveram presentes no lodo ativado em 83,3 % das amostras. Nematóides e anelídeos foram quantificados em apenas uma única coleta, mas nas culturas são encontrados em maior número.

As análises realizadas até o momento (Tabela 3) indicaram altas concentrações de cistos de *Giardia* spp. no afluente com uma média de 116.923 cistos / L. Observa-se uma grande remoção de cistos pelo RAFA, sendo que o efluente (P2a) apresentou uma média de 167 cistos / L. Nota-se um acúmulo de cistos no lodo do RAFA (P2b), pois foram encontradas concentrações mais elevadas de cistos neste ponto, com média de 347.692 cistos / L, se comparado ao afluente. O efluente do RAFA abastece o tanque de aeração, porém observou-se uma concentração média de 145.231 cistos / L no lodo recirculado do tratamento aeróbio, demonstrando que também ocorre um acúmulo de cistos neste ponto. Já o efluente apresentou baixa concentração de cistos (77 cistos / L). O sistema apresentou eficiências de remoção de cistos que variaram de 99,8 a 100 %.

No mês de janeiro de 2011 iniciou-se a análise do lodo condicionado de esgoto. As maiores concentrações médias de cistos foram observadas neste ponto (720.000 cistos/L) demonstrando que os cistos ficam retidos no lodo tanto do tratamento anaeróbio quanto do tratamento aeróbio e, após a centrifugação dos lodos excedentes e digeridos, os mesmos ficam concentrados no lodo condicionado.

Durante o estudo foram detectados apenas oocistos de *Cryptosporidium* spp nos meses de março de 2011, agosto de 2011 e setembro de 2011. No mês de março, foram observados 100 oocistos/L no ponto P2a e 80.000 no ponto P2b; no mês de agosto foram observados 40.000/L no ponto P5 e no mês de setembro foram observados 80.000/L no ponto P2b.

Oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. são frequentemente detectados, em amostras de esgoto bruto ou tratado com concentrações variáveis de  $10^2$  a  $10^4$  oocistos / L e  $10^3$  a  $10^5$  cistos / L. Alguns estudos detectaram em efluentes de esgoto tratados em nível terciário a presença das formas infectantes destes protozoários (MONTEMAYOR et al., 2005; CANTUSIO NETO, 2006). No caso da ETE em estudo, o efluente apresentou baixas concentrações de cistos se comparado a outros estudos. A maior parte dos cistos é removida através do lodo produzido pela ETE.



**Tabela 3. Estimativa do número de cistos / L de *Giardia* spp. detectados nas diferentes etapas de tratamento da ETE.**

Pontos de coleta							% de remoção
Meses	P1	P2a	P2b	P3	P4	P5	
nov/10	160000	200	400000	240000	200	nr	99,9
dez/10	200000	200	440000	200000	200	nr	99,9
jan/11	200000	300	960000	320000	0	720000	100
fev/11	120000	300	880000	400000	0	320000	100
mar/11	80000	100	320000	160000	100	320000	99,8
abr/11	80000	100	200000	40000	0	200000	100
mai/11	160000	100	400000	40000	0	120000	100
jun/11	120000	200	200000	120000	0	160000	100
jul/11	40000	100	80000	160000	100	160000	99,8
ago/11	80000	500*	120000	80000	200	80000	99,8
set/11	80000	100	120000	80000	100	120000	99,9
out/11	80000	100	160000	40000	0	40000	100,0
nov/11	120000	200	240000	8000	100	200000	99,9
<b>média</b>	<b>116.923</b>	<b>167</b>	<b>347.692</b>	<b>145.231</b>	<b>77</b>	<b>221.818</b>	<b>100</b>
<b>DP</b>	<b>50230,2</b>	<b>77,8</b>	<b>279706,8</b>	<b>118697,2</b>	<b>83,2</b>	<b>187073,2</b>	

nr = não realizado

\* neste mês a amostra de efluente do RAFA (P2a) estava mais turva se comparada as amostras anteriores devido a problemas que ocorreram no filtro.

## CONCLUSÕES

A presença, em grande número e diversidade de protozoários no floco, especialmente ciliados, como *Vorticella* spp. e *Aspidisca* spp., constitui um importante indício de boas condições do lodo ativado.

O sistema apresentou eficiências de remoção de cistos que variaram de 99,8 a 100%. O estudo da remoção destes parasitos patogênicos ressalta a importância do tratamento de esgotos sanitários para redução do impacto dos efluentes gerados no meio ambiente e na saúde pública e a necessidade de maior controle quanto ao tratamento de lodo condicionado gerado em ETE.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AL-SHAHWANI, S.M. & HORAN, N.J. The use of protozoa to indicate changes in the performance of activated sludge plants. *Water Res.*, v.25, p.633–638, 1991.
2. AESCHT, E. & FOISSNER, W. Biology of a high-rate activated sludge plant of a pharmaceutical company. *Archiv für Hydrobiologie*, v. 90, n.2, p. 207-251, 1992.
3. BENTO, A.P.; SEZERINO, P.H.; PHILIPPI, L.S.; REGINATTO, V.; LAPOLLI, F.R. Caracterização da microfauna em Estação de Tratamento de Esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. *Eng. Sanit. Ambient.* v.10, n.4, p. 329-338, 2005.
4. BUKHARI, Z.; SMITH, H. V.; SYKES, N.; HUMPHREYS, S. W., PATON, C. A.; GIRDWOOD, R. W. A.; FRICKER, C. R. Occurrence of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts in sewage influents and effluents from treatment plants in England. *Wat. Sci. & Technol.*, v.35, n.11, p.385-390, 1997.
5. CANTUSIO NETO, R.; SANTOS, L.U.; FRANCO, R.M.B. Evaluation of activated sludge treatment and the efficiency of the disinfection of *Giardia* species cysts and *Cryptosporidium* oocysts by UV at a sludge treatment plant in Campinas, south-east Brazil. *Wat. Sci. & Tech.* v.54, n.3, p.89-94, 2006.
6. CARRARO, E.; FEA, E.; SALVA, S.; GILLI, G. Impact of wastewater treatment plant on *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts occurring in surface water. *Wat. Sci. Tech.* V.47, n.7, p. 31-37, 2000.

7. ETTI, M.; FOISSNER, W.; RICCI, N. & ERRA, F. The ciliate community (Protozoa: Ciliophora) of a municipal activated sludge plant: interactions between species and environmental factors. *Protozoological Monographs*, v.1, 1-62, 2000.
8. FRANCO, R. M. B.; ROCHA-EBERHARDT, R., CANTUSIO NETO, R. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.*, v.43, n.2, p.109-111, 2001.
9. GREINERT, J.A.; FURTADO, D.N.; SMITH, J.J., BARARDI, C.R.M. SIMÕES, C.M.O. Detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in Swimming Pool Filter Backwash Water Concentrates by Flocculation and Immunomagnetic Separation. *Intern. J. of Environ. Health Res.* v. 14, n.6, p.395-404, 2004.
10. KARANIS, P.; SCHOENEN, D.; SEITZ, H. M. Distribution and removal of *Giardia* and *Cryptosporidium* in water supplies in Germany. *Wat. Sci. Tech.*, v.37,n.2,p.9-18, 1998.
11. LEE, S.; BASU, S.; TYLER, C.W.; WEI, I.W. Ciliate populations as bio-indicators at Deer Island treatment plant. *Adv. Environ. Res.* v.8, n.3-4, p.371-378, 2004.
12. MACPHERSON, C.N.L. Human behavior and epidemiology of parasitic zoonoses. *Int. J. Parasitol.* v.35, p.1319-1331, 2005.
13. MADONI, P. A., Sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Water Res.*, v. 28, n. 1, p. 67-75, 1994.
14. MADONI, P. & GHETTI, P. F. The structure of ciliated protozoa communities in biological sewage-treatment plants. *Hydrobiologia*, v. 83, p. 207-215, 1981.
15. MADONI, P. Protozoa in wastewater treatment processes: A minireview. *Ital. J. Zool.*, v.78, n. 1, p. 3-11, 2011.
16. MADORE, M.S.; ROSE, J.B.; GERBA, C.P.; ARROWOOD, M.J. & STERLING, C.R. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and selected surface waters. *J. Parasit.*, v. 73, p. 702-705, 1987.
17. MARTÍN-CERECEDA, M.; SERRANO, S. & GUINEA, A. A comparative study of ciliated protozoa communities in activated-sludge plants. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 21, p. 267-276, 1996.
18. MONTEMAYOR, M.; VALERO, F.; JOFRE, J. LUCENA, F. Occurrence of *Cryptosporidium* sp. oocysts in raw and treated sewage and river water in north-eastern Spain. *J. Appl. Microbiol.* v.99, p. 1455-1462, 2005.
19. NICOLAU, A.; DIAS, N.; MOTA, M.; LIMA, N. Trends in the use of protozoa in the assessment of wastewater treatment. (Mini-review). *Res. Microbiol.* V.152, p. 621-630, 2001.
20. ONO, K.; TSUJI, H.; RAI, S. K.; YAMAMOTO, A.; MASUDA, K.; ENDO, T.; HOTTA, H.; KAWAMURA, T.; UGA, S. Contamination of river water by *Cryptosporidium parvum* oocysts in western Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 67, n.9, p.3832-3836, 2001.
21. ROBERTSON, L.J.; PATON, C.A.; CAMPBELL, A.T.; SMITH, P.G.; JACKSON, M.H.; GILMOUR, R.A.; BLACK, S.E.; STEVENSON, D.A.; SMITH, H.V. *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts at sewage treatment works in Scotland, UK. *Wat. Res.* v.34, n.8, p.2310-2322, 2000.
22. SILVA, S. B. A. & SILVA-NETO, I. D. Morfologia dos protozoários ciliados presentes em um reator experimental de tratamento de esgoto por processo de lodos ativados. *Rev. bras. Zoociências*, v.3, p. 203-229, 2001.
23. SIQUEIRA-CASTRO, I. C. V.; PAIVA, T. S. & SILVA-NETO, I. D. Morphology of *Parastrongylidium estevesi* com. nov. and *Deviata brasiliensis* sp. nov. (Ciliophora: Stichotrichia) from a sewage treatment plant in Rio de Janeiro, Brazil. *Zoologia*, v.26, n.4, p.774-786, 2009.
24. SIQUEIRA-CASTRO, I. C. V. & SILVA-NETO, I. D. Morfologia de ciliados haptorais (Protista: Litostomatea) encontrados em uma estação de tratamento de esgoto da cidade do Rio de Janeiro, RJ. *Rev. bras. Zoociências*, v. 11, p. 243.