

10

CAPÍTULO

COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM ÁGUAS PLUVIAIS RECEBIDAS PELO RIBEIRÃO PIRAPITINGA NO MUNICÍPIO DE CATALÃO-GO

Anderson Penna Oliveira¹

Daiane Evelin dos Santos Assunção²

Marcus Vinícius de Oliveira Fernandes³

Jupyracyara J. C. Barros¹

1 Unidade Acadêmica Especial Biotecnologia, Universidade Federal de Goiás – Regional Catalão, Catalão, Brasil.

2 Instituto Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Brasil.

3 Secretaria Municipal do Meio Ambiente – SEMMAC, Catalão, Brasil.

E-mail de contato: a.penna.oliveira@gmail.com

Agradecimentos: Ao Laboratório de Bioquímica e Microbiologia do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Goiás, Regional Catalão (LABIM/IBIOTEC/UFG-RC), e à Secretaria Municipal do Meio Ambiente de Catalão (SEMMAC).

Resumo: O objetivo deste trabalho foi determinar a densidade populacional de coliformes termotolerantes em águas pluviais direcionadas ao Ribeirão Pirapitinga na área central de Catalão-GO. Foram demarcados, propositalmente, 5 pontos com suspeitas de ligações clandestinas com esgoto da cidade. De cada ponto, foram recolhidas 4 amostras, perfazendo um total de 20 amostras. Para os ensaios laboratoriais, adotou-se a técnica do Número Mais Provável (NMP) constituída das etapas presuntiva e confirmativa. Posterior ao teste confirmativo, o resultado foi anotado e expresso em NMP de coliformes termotolerantes por 100 mililitro da amostra ($\text{NMP} \cdot 100\text{mL}^{-1}$). A comparação dos dados médios obtidos nessa pesquisa àqueles preconizados pela Resolução 357 do CONAMA demonstrou que 100% (20/20) das amostras apresentaram desacordo quanto às Classes 1, 2 e 3. Em contrapartida, quando as amostras foram avaliadas individualmente quanto ao mesmo padrão microbiológico, foi evidenciada a conformidade de 20% à Classe 2 e 25% para a Classe 3. O elevado número de coliformes termotolerantes nas águas pluviais, provavelmente, está associado às ligações clandestinas com efluentes da cidade. Assim, é essencial a melhoria do programa de manejo de águas pluviais urbanas no município de Catalão-GO.

Palavras-chave: Águas pluviais. Coliformes termotolerantes. Monitoramento ambiental. Qualidade microbiológica.

Abstract: The objective was to evaluate the population density of thermotolerant coliforms in rainwater directed to Ribeirão Pirapitinga in downtown of Catalão-GO. Five points (P1, P2, P3, P4, P5) were marked purposely with suspected illegal connections with city sewage. Four samples were collected of each point, for a total of 20. For the laboratory tests, we adopted the Most Probable Number technique (MPN) composed of presumptive and confirmative stages. After the confirmatory test the result was noted and expressed in MPN of thermotolerant coliforms per 100 ml of the sample ($\text{NMP} \cdot 100\text{mL}^{-1}$). The comparison of average data obtained in this research to those recommended by Resolution 357 of CONAMA showed that 100% (20/20) of the samples were in disagreement as Class 1, 2 and 3. However, when samples were evaluated individually at the same microbiological standard, it was possible to demonstrate conformance of 20% (4/20) for Class 2 and 25% (5/20) for Class 3. The elevated number of thermotolerant coliforms in rainwater probably been associated to illegal connections with city wastewater. Thus it is essential to improve the urban stormwater management program in Catalão-GO.

Keywords: Pluvial water. Fecal coliforms. Environmental monitoring. Microbiological quality.

1 INTRODUÇÃO

O interesse mundial na qualidade da água provém da associação documentada entre água contaminada e doenças diarréicas. A contaminação da água está associada a fatores como economia e localização geográfica (REIFF et al., 1996; RAUCHER, 1996). Esta água pode servir como um meio para disseminar doenças causadas por micro-organismos tais como o *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* e *Cryptosporidium* sp.. A contaminação fecal combinada com a falta de tratamento hídrico adequado têm sido culpadas por muitas epidemias (BRIDGMAN et al., 1995).

Os efluentes domésticos, no que se refere à legitimidade, devem ser drenados pelo sistema coletor de esgotos. Todavia, é frequente o descaso na manutenção dessas estruturas, que muitas vezes se encontram, de modo clandestino, conectadas às galerias pluviais. Cardonha et al. (2004) explicam que o uso indevido das galerias pluviais leva ao acréscimo de contaminantes a serem descartados no ambiente. Tal fato pode levar ao comprometimento sanitário dos recursos hídricos, desencadeando uma série de problemas de ordem pública (SCHAZMANN, 2008).

De fato, as galerias pluviais podem ser consideradas importantes veiculadores de resíduos orgânicos, com destaque para bactérias do grupo coliformes termotolerantes (CT). Estes são capazes de fermentar a lactose a 44 – 45 °C. A definição inclui algumas enterobactérias presentes nos gêneros *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Escherichia* (SILVA; JUNQUEIRA, 1995). A ocorrência desses CT em amostras de água não confirma patologias, entretanto pode ser um indício de contaminação fecal (GRANZIERA, 2001). Um dos métodos convencionais para a detecção de contaminação microbiana de água se baseia em diagnóstico de β -galactosidase (utilizando orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo), que é complicado, caro e muitas vezes com o erro pessoal em rotina (THARANNUM et al., 2009). Outro método de monitorar as condições sanitárias hídricas é através da análise presencial de micro-organismos do grupo CT, por meio de testes microbiológicos com ênfase em enumeração de bactérias. Esse último apresenta baixo custo.

Para o descarte de águas pluviais, é importante que a amostra apresente contaminantes inferiores àqueles registrados no corpo hídrico receptor. Sob o ponto de vista microbiológico, por exemplo, o Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA – em sua Resolução nº 357/2005 estabelece que a incidência de CT em níveis iguais ou menores a $2,0 \times 10^2$, $1,0 \times 10^3$, e $2,5 \times 10^3$ permite classificar o corpo receptor em Classe 1, 2 e 3, nessa ordem (BRASIL, 2015). A Classe 1 é destinada ao consumo humano, proteção de organismos aquáticos, natação/mergulho e irrigação de alimentos, geralmente, ingeridos *in natura*. A Classe 2 envolve os critérios estabelecidos para a Classe 1 acrescidos da aquicultura e atividade de pesca. Também destinada para consumo após devido tratamento, a Classe 3 é

comumente utilizada para irrigações arbóreas, cerealíferas e forrageiras, navegação e dessedentação de animais.

O funcionamento adequado do sistema de drenagem exige uma série de ações de manutenção periódicas no corpo receptor. Elas envolvem a retirada de material sólido mediante dragagem, a conservação de áreas verdes, a manutenção dos dispositivos de infiltração, a troca de elementos filtrantes etc.; constitui um cronograma de ações de manutenção preventiva e de reparo das estruturas. A manutenção do sistema de macrodrenagem (canais e cursos d'água naturais) inclui a identificação periódica de potenciais fontes de poluição pontual e difusa, bem como de lançamentos ilegais, com a limpeza e remoção de resíduos sólidos na calha fluvial. Com relação aos canais de drenagem, uma manutenção eficiente deve incluir possíveis modificações do projeto original, com o objetivo de melhor atender às especificidades locais e a sua incorporação na paisagem urbana (RIGHETTO et al., 2009).

Portanto, a ausência de fiscalização adequada, principalmente, nas cidades interioranas, como Catalão-GO, favorece a inadimplência por parte de algumas indústrias e de alguns moradores quanto ao descarte impróprio de esgoto sanitário. Nessas cidades, é possível registrar algumas ligações clandestinas fazendo comunicação do efluente industrial e/ou doméstico à água pluvial.

O descarte indevido do efluente em galerias destinadas aos volumes pluviais afeta o próprio tratamento de esgoto e implica em gastos desnecessários para tratar a água que apresenta grau de contaminação bem inferior ao efluente. Além disso, estudo para qualificar a água despejada no corpo hídrico na área urbana, a fim de fiscalizar suas condições sanitárias e quantificar possíveis contaminações é de extrema importância, pois quaisquer alterações nesta podem gerar prejuízos tanto ambientais quanto à saúde humana. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi verificar a conformidade/não conformidade à Resolução n° 357/2005 do CONAMA de amostras de águas pluviais recebidas pelo Ribeirão Pirapitinga, em Catalão, quanto à densidade populacional de coliformes termotolerantes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O município de Catalão localiza-se no sudeste goiano, nas coordenadas 18° 9' 57" S e 47° 56' 47" W e à altitude de 835 metros (Figura 1). Compreende uma área de, aproximadamente, 3821 km² e possui uma população total de 98.737 habitantes (IBGE, 2015). A cidade possui um sistema de saneamento básico regular. Atualmente, cerca de 60% de seus domicílios são servidos por rede coletora de esgoto, de modo que o restante do efluente doméstico é lançado em valas negras, fossas sépticas ou sumidouros.

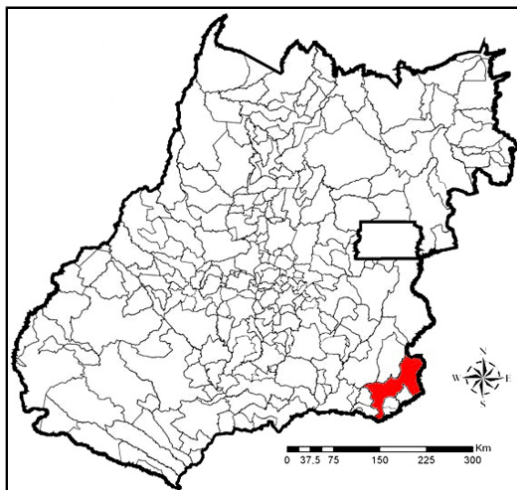


Figura 1. Localização geográfica de Catalão.

O estudo foi realizado ao longo do Ribeirão Pirapitinga, no perímetro urbano do município de Catalão, Goiás (Figura 2), em cinco pontos focais (A, B, C, D, E) (Figura 3) propositalmente demarcados. Os locais foram selecionados em virtude da suspeita de lançamentos clandestinos de esgoto doméstico na rede de galerias pluviais deste corpo hídrico. Este constitui um dos principais corpos receptores de volumes pluviais do município.



Figura 2. Porção urbana do Ribeirão Pirapitinga em Catalão. Fonte: adaptada de Google Maps, 2015.



Figura 3. Pontos de coleta (manilhas) da água pluvial ao longo do Ribeirão Pirapitinga, Catalão. Março/abril de 2015.

2.2 Coleta de amostras

As coletas manuais ocorreram nos dias 30 de março, 6, 9 e 13 de abril de 2015. As amostras foram obtidas com o auxílio de um fio de algodão amarrado ao recipiente coletor para facilitar o acesso às bocas das canalizações pluviais. Para maior confiabilidade dos resultados, em cada ponto foram realizadas quatro repetições, perfazendo um total de 20 amostras. Estas foram acondicionadas em frascos plásticos estéreis de 300 mL. Em seguida, os plásticos foram acomodados em caixas isotérmicas e transportados ao Laboratório de Bioquímica e Microbiologia (LABIM) do IBIOTEC/UFG-RC. As análises foram iniciadas poucas horas após a coleta.

2.3 Análise de coliformes termotolerantes

Nessa pesquisa, foi adotada a técnica de fermentação em tubos múltiplos para a determinação do Número Mais Provável (NMP) (MACEDO, 2005), constituída por duas etapas (Figuras 4 e 5), cada uma com três séries de cinco tubos. Levou-se em conta as precauções para manter a assepsia das amostras.

Na fase presuntiva para coliformes totais (Figura 4), as amostras foram submetidas a diluições decimais seriadas de 10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} em solução peptonada estéril 0,1% após homogeneização. Aliquotas de 1 mL das diluições foram inseridas em caldo lauril triptose simples concentração (CLS). O próximo passo foi a incubação dos tubos a 37°C por 48 horas. As amostras que continham bolhas nos tubos de Durham foram consideradas positivas. Estas tiveram alíquotas de 0,2 mL repicadas em caldo EC.

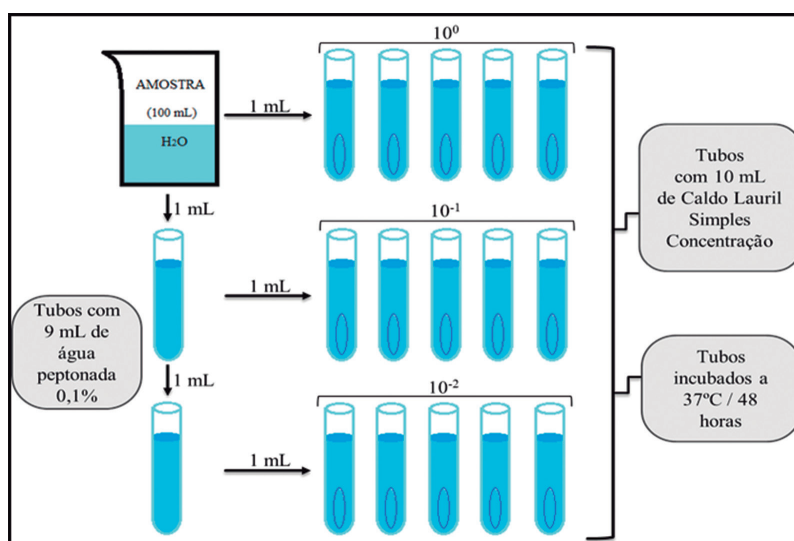


Figura 4. Esquema da etapa presuntiva da enumeração de coliformes termotolerantes das amostras de água pluvial coletadas no perímetro urbano de Catalão em março/abril de 2015. Fonte: adaptada de Macedo (2005).

Na fase confirmativa (Figura 5), os tubos foram incubados a 44,5 °C ao longo de 48 horas para a confirmação e a quantificação dos CT. Da mesma forma, os tubos de Durham que tinham presença de gases foram considerados como amostras positivas para estes micro-organismos. Os valores encontrados foram correlacionados com a tabela de NMP e os resultados foram apresentados na unidade NMP.100mL⁻¹ da amostra.

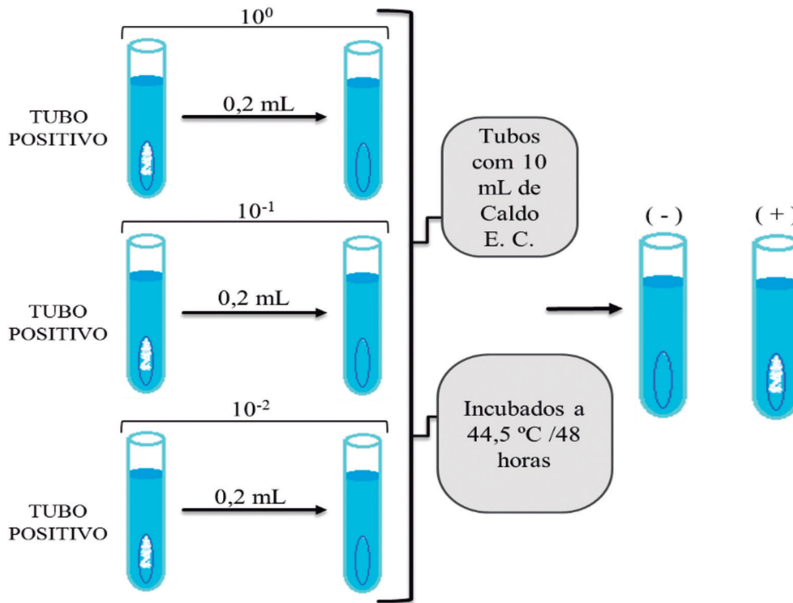


Figura 5. Esquema da etapa confirmativa da enumeração de coliformes termotolerantes das amostras de água pluvial coletadas no perímetro urbano de Catalão em março/abril de 2015. Fonte: adaptada de Macedo (2005).

3 RESULTADOS

Para a análise dos dados obtidos, foram adotados como parâmetros de comparação os padrões preconizados pela Resolução n° 357 do CONAMA.

Todas as amostras (100%) foram positivas (Figura 6) para as análises presenciais de CT, sendo que 70% delas continham 16000 NMP.100mL⁻¹ e em apenas 15% foram encontrados até 500 NMP.100mL⁻¹.

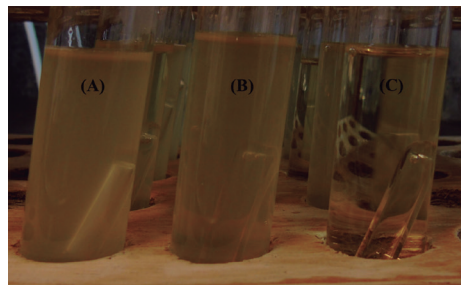


Figura 6. Padrões de resultados após a execução da técnica de fermentação em tubos múltiplos. (A) Resultado positivo, com clara formação de gases no tubo de Durham. (B) Resultado positivo fraco, com pequena formação de gases. (C) Resultado negativo, com ausência de gases.

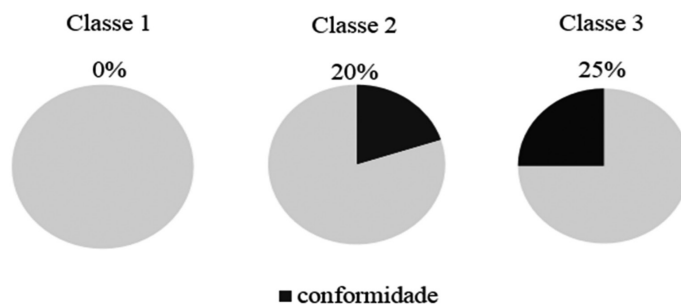


Figura 7. Percentual de amostras pluviais analisadas em conformidade à Resolução nº 357/2005 do CONAMA.

As 20 amostras manifestaram-se em divergência com a Classe 1 proposta pela RDC nº 357/2005. Apenas 20% e 25% das amostras estavam em conformidade com as Classes 2 e 3, respectivamente (Figura 7). Os resultados da análise microbiológica, bem como a qualificação de cada amostra, encontram-se dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. NMP para coliformes termotolerantes em 100 mL de água para cada ponto de coleta, e os padrões para a Resolução nº 357/2005 do CONAMA, Catalão. Março/abril de 2015

Dia da coleta	Amostra	Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)	CONAMA nº 357		
			Classe 1 ($< 2,0 \times 10^2$)	Classe 2 ($< 1,0 \times 10^3$)	Classe 3 ($< 2,5 \times 10^3$)
30/3	A	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	B	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	C	490	Desacordo	Acordo	Acordo
	D	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	E	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
6/4	A	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	B	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	C	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	D	930	Desacordo	Acordo	Acordo
	E	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
9/4	A	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	B	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	C	230	Desacordo	Acordo	Acordo
	D	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	E	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo

Dia da coleta	Amostra	Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)	CONAMA nº 357		
			Classe 1 ($< 2,0 \times 10^2$)	Classe 2 ($< 1,0 \times 10^3$)	Classe 3 ($< 2,5 \times 10^3$)
13/4	A	2100	Desacordo	Desacordo	Acordo
	B	5400	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	C	330	Desacordo	Acordo	Acordo
	D	3500	Desacordo	Desacordo	Desacordo
	E	16000	Desacordo	Desacordo	Desacordo

O último ponto analisado (E) teve a maior contaminação, com uma média de 16000 NMP.100mL⁻¹. Já o ponto menos contaminado foi o terceiro (C), com média de 4262,5 NMP.100mL⁻¹.

4 DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que o curso hídrico em questão esteve recebendo água bastante poluída em decorrência da entrada de contaminantes de origem fecal. Isso foi comprovado através de análises em laboratório que atestaram a contaminação por coliformes termotolerantes. O último ponto analisado (E) teve maior contaminação, provavelmente, devido ao fato de estar próximo a uma parte antiga da cidade e mais povoada. O ponto menos contaminado, por outro lado, encontra-se margeado por uma região menos povoada e com áreas verdes remanescentes.

Vasconcellos et al. (2006) consideraram as águas analisadas por eles como impróprias no que diz respeito à balneabilidade, uma vez que foram encontrados coliformes termotolerantes em 93% (13/15) das amostras testadas. Outros estudos similares, relacionados à análise de CT em cursos hídricos, tais como Cunha et al. (2010), que encontraram 44,44% (8/18) das amostras positivas, Moura et al. (2009), que demonstraram contagens superiores a $2,4 \times 10^2$ NMP.100 mL⁻¹ em 86% (41/48) das amostras para coliformes totais e 16% (7/48) para CT e Freitas et al. (2001) que, em uma das análises, obtiveram cerca de 55% (72/131) positivas para presença de CT, evidenciam que os corpos d'água estão recebendo dejetos de origem fecal sem tratamento em diversas regiões do país.

Para alcançar o objetivo do presente trabalho, a metodologia utilizada (NMP) foi eficiente. Entretanto, Tantawiwat et al. (2005) alegam que métodos baseados em cultura celular, como o utilizado nesta pesquisa, podem contaminar diante do processo de manipulação. Em contrapartida, o método de Reação em Cadeia da Polimerase (em inglês *Polymerase Chain Reaction* – PCR) tem sido proposto como um procedimento confiável e específico para o reconhecimento de coliformes totais e termotolerantes na água (CLIFFORD et al., 2012). Dehghan

Fatemeh et al. (2014) compararam, em seu estudo, os métodos NMP e PCR. Eles encontraram 0% (0/36) de amostras positivas para coliformes no NMP e 14% (5/36) positivas na PCR, em amostras provenientes da rede de abastecimento de água da cidade, ilustrando a maior sensibilidade deste procedimento. Contudo, a técnica de PCR resultaria em custos elevados para a rotina de laboratórios destinados ao controle sanitário de águas.

5 CONCLUSÃO

Nesse estudo, não foi possível legitimar a suspeita de que o Ribeirão Pirapitinga estaria recebendo efluentes sanitários, provavelmente domiciliares, provenientes de ligações irregulares da rede de esgoto com a pluvial. As análises laboratoriais evidenciaram a densidade populacional elevada de coliformes termotolerantes na maioria das amostras de água pluvial investigada, indicando a necessidade de evitar a entrada de esgotos sem tratamento nos corpos d'água, com a fiscalização e aplicação de penalidades aos responsáveis. Ainda é requerida a redução nos custos para a instalação da rede de esgoto. Tais condutas tendem a prevenir a poluição da água e prejuízos ambientais relacionados, assim como a transmissão de patologias para a população que possa vir a utilizar deste recurso.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelecidas condições e padrões de lançamento de efluentes. *Diário Oficial da União*, Brasília, 17 de março de 2005.
- BRIDGMAN, S. A. et al. Outbreak of cryptosporidiosis associated with a disinfected groundwater supply. *Epidemiology & Infection*, v. 115, n. 3, p. 555–566, 1995.
- CARDONHA, A. M. et al. Fecal pollution in water from storm sewers and adjacent seashores in Natal, Rio Grande do Norte, Brazil. *International Microbiology*, v. 7, n. 3, p. 213-218, 2004.
- CLIFFORD, R. J. et al. Detection of bacterial 16S rRNA and identification of four clinically important bacteria by real-time PCR. *Public Library of Science One*, v. 7, n. 11, 2012.
- CUNHA, A. H. et al. Microbiological analysis of the water of river Itanhém in Teixeira de Freitas, Bahia. *Revista Biociências*, v. 16, n. 2, 2010.
- DEGHAN FATEMEH, Z. M. R. et al. Rapid detection of coliforms in drinking water of Arak city using multiplex PCR method in comparison with the standard method of culture (Most Probably Number). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 4, n. 5, p. 404-409, 2014.

FREITAS, M. B.; BRILHANTE, O. M.; ALMEIDA, L. M.. The importance of water testing for public health in two regions in Rio de Janeiro: a focus on fecal coliforms, nitrates, and aluminum. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 3, p. 651-660, mai./jun. 2001.

GRANZIERA, M. L. M. **Direito das águas: disciplina jurídica das águas doces**. São Paulo: Atlas, 2001.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Resultados do censo 2015. DISPONÍVEL EM: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php.htm>>. Acesso em: 31 mai. 2015.

MACEDO, J. A. B. **Métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas**. Belo Horizonte: Conselho Regional de Química, 2005.

MOURA, A. C.; ASSUMPCÃO, R. A. B.; BISCHOFF, J. Monitoramento físico-químico e microbiológico da água do rio cascavel durante o período de 2003 a 2006. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n. 1, p.17-22, jan./mar. 2009.

RAUCHER, R. S. Public health and regulatory consideration of safe drinking water. **Acta Annual Review of Public Health**; v. 17, p. 179–202, 1996

REIFF, F. M. et al. Low-cost safe water for the world: a practical interim solution. **Journal of Public Health Policy**, v. 17, n. 4, p. 389–408, 1996.

RIGHETTO, A. M. et al. **Manejo de Águas Pluviais Urbanas**. Rio de Janeiro: ABES, 2009.

SCHAZMANN, R. D. et al. Evaluation of bacteriological quality of water consumed at campus III (botanic branch) of Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil. **Visão Acadêmica**, v. 9, n. 2, 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A. **Métodos de análises microbiológicas de alimentos**. Campinas: Ital, 1995.

TANTAWIWAT, S. et al. Development of multiplex PCR for the detection of total coliform bacteria for *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* in drinking water. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 36, n. 1, p. 162-169, 2005.

THARANNUM, S. et al. Molecular confirmation of the presence of coliforms in drinking water using polymerase chain reaction. **Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology**, v. 5 n. 2, p. 130-136, 2009.

VASCONCELLOS, F. S.; IGANCI, J. R. V.; RIBEIRO, G. A. Qualidade microbiológica da água do rio São Lourenço, São Lourenço do Sul, Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 2, p.177-181, abr./jun. 2006.