

# **AVALIAÇÃO DO GRAU DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO ESTUÁRIO DO RIO PACIÊNCIA, ESTADO DO MARANHÃO**

Evaluation of the microbiological contamination degree of the Paciência River estuary, Maranhão State

Dulce Raquel Pereira Oliveira<sup>1</sup>, Antonio Carlos Leal de Castro<sup>2</sup>, Adenilde Ribeiro Nascimento<sup>3</sup>, Leonardo Silva Soares<sup>2</sup>, Heliene Leite Ribeiro Porto<sup>4</sup>

## **RESUMO**

*A descarga de esgotos em águas marinhas costeiras e a sobrevivência de patógenos no ambiente aquático trazem sérias implicações para a saúde pública das populações ribeirinhas residentes em regiões litorâneas. O Rio Paciência constitui um dos principais mananciais da Ilha de São Luís, tendo importante contribuição no sistema de abastecimento da capital. Atualmente, recebe cargas acentuadas de efluentes domésticos ao longo do seu curso, comprometendo a qualidade de suas águas. O presente trabalho objetiva avaliar o grau de contaminação microbiológica da água do estuário do rio Paciência, através da quantificação dos coliformes totais e termotolerantes, bem como da contagem de bactérias heterotróficas. Foram coletadas bimestralmente no período de fevereiro/2006 a fevereiro/2007, alíquotas de água em quatro pontos do estuário do rio Paciência, definidos pelo gradiente de salinidade e pela contribuição do caudal fluvial. Paralelamente, foram registrados para cada ponto de coleta os dados de temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido, com o auxílio de um medidor multiparâmetro, modelo HQ40d. Observou-se que as concentrações de coliformes totais e termotolerantes estiveram associadas à heterogeneidade espacial dos pontos amostrados e a influência de áreas urbanizadas. Assim, os igarapés Iguaíba, Grande e Cristóvão submetidos mais intensamente à hidrodinâmica do ambiente estuarino, apresentaram valores dentro dos padrões microbiológicos recomendados pela legislação vigente, enquanto o Igarapé Pindoba sob menor influência de marés, revelou as maiores concentrações de coliformes, sendo considerado impróprio para a balneabilidade.*

**Palavras-chaves:** contaminação, coliformes totais e termotolerantes, estuário, Rio Paciência.

## **ABSTRACT**

*The discharge of sewage into coastal marine waters and survival of pathogens in aquatic environment bring serious implications for public health of riparian populations residing in coastal regions. The Paciência River is one of the main water courses of the São Luís Island, having important contribution in the city water supply system. Currently, receives increased loads of domestic effluents along its course, compromising the quality of its waters. This work aims to assess the degree of microbiological contamination of water from the Paciência river estuary through quantification of total and thermotolerant coliform bacteria as well as count heterotrophic bacterial population. Bimonthly sampling was carried out from February, 2006 to February, 2007, collected in four sampling station chosen to represent a seaward gradient in land drainages and other effluents. Surface water temperatures, salinity, pH and dissolved oxygen were measured by multiparameter (Model HQ40d). It was noted that concentrations of total and fecal coliform bacteria were associated with the spatial heterogeneity of points sampled and the influence of vicinity of the sewage outfall. As such, the creeks Iguaíba, Grande and Christóvão subjected more intensely to the hydrodynamics of the estuarine environment showed values inside of microbiological standards recommended by current legislation, while the Igarapé Pindoba under lower tidal influence, showed greater coliform concentrations being considered no safe for recreational purposes.*

**Keywords:** contamination, total and thermotolerant coliforms, estuary, Paciência River.

<sup>1</sup> Mestre em Oceanografia – UERJ.

<sup>2</sup> Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Maranhão.

<sup>3</sup> Departamento de Tecnologia Química, Universidade Federal do Maranhão.

<sup>4</sup> Professora Adjunta do Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses, s/n, São Luís, MA 65080-040. E-mail: heliene.porto@ufma.br

## INTRODUÇÃO

O processo de urbanização estabeleceu nas áreas das bacias hidrográficas uma alta demanda por espaço a qual vem sendo realizada de forma desordenada, sem obedecer a um plano diretor de ocupação, agravando-se pela proliferação de invasões, principalmente em terrenos baixos e insulares dos manguezais.

Os impactos negativos resultantes do somatório das atividades econômicas, industriais e agropecuárias, têm provocado uma deterioração dos seus principais cursos d'água, que acabam se constituindo em receptáculos finais da poluição que ocorre no entorno de suas bacias hidrográficas, cujos efeitos sociais não foram ainda bem dimensionados.

Como reflexo desses impactos, verifica-se um acentuado comprometimento dos recursos hídricos pelo lançamento de efluentes industriais, domésticos e hospitalares, pelo assoreamento dos seus leitos e pela contaminação de suas águas.

O Rio Paciência constitui um dos principais mananciais da Ilha de São Luís, tendo importante contribuição no sistema de abastecimento da capital. Atualmente, recebe cargas acentuadas de efluentes domésticos ao longo do seu curso, comprometendo a qualidade de suas águas e inviabilizando o potencial de usos múltiplos (Castro, 2001).

O grande problema do lançamento de dejetos sem tratamento num fluxo de água está representado pela veiculação hídrica de microorganismos aos usuários humanos e animais. Frequentemente, inúmeras bactérias patogênicas ou não são favorecidas em seu crescimento pela presença de concentrações mais elevadas de matéria orgânica no meio aquoso, criando sério problema na esfera sanitária e econômica (Vieira *et al.*, 2007).

A descarga de esgotos em águas marinhas costeiras e a sobrevivência de patógenos neste ambiente aquático trazem sérias implicações para a saúde pública das populações ribeirinhas residentes na região litorânea. Por esta razão é uma prática comum monitorar bactérias, normalmente não patogênicas, presentes em altas densidades nas fezes humanas e de animais. A presença de altas concentrações dessas bactérias no meio aquático indica a existência de contaminação fecal e a possível presença de patógenos entéricos.

O presente trabalho objetiva avaliar o grau de contaminação microbiológica da água do estuário do rio Paciência, através da quantificação dos coliformes totais e termotolerantes, bem como da contagem de bactérias heterotróficas.

## ÁREA DE ESTUDO

A bacia do Rio Paciência localiza-se na porção nordeste da Ilha de São Luís, entre as posições geográficas 2°23'05" - 2°36'42"S e 44°02'49" - 44°15'49"W, drenando uma área de 171,74 km<sup>2</sup>. A rede hidrográfica tem predominância do padrão dendrítico e da cabeceira à foz, o rio percorre cerca de 32 km. As maiores cotas altimétricas, que atingem 65 m, estão localizadas na chapada do Tirirical e a direção do curso varia entre norte, nordeste e leste. O curso fluvial de seus tributários distribui-se em todas as direções da superfície do terreno, sendo extremamente dependente das precipitações sazonais (Castro *et al.*, 2008).

O Rio Paciência nasce na parte central da ilha do Maranhão, entre os bairros de São Cristóvão e Santa Bárbara, no município de São Luís. A partir da nascente desloca-se em direção nordeste, ocasião em que passa por parte do meio rural dos municípios de São José de Ribamar e Paço do Lumiar, desembocando, na baía de São José, em frente à ponta do Curupu, através de um pequeno estuário numa área intensamente recortada, daí a sua morfologia apresentar uma série de braços e canais, resultado da influência da penetração das marés (Castro, 2001). Esse curso d'água desempenha importante papel na economia local, através da irrigação das áreas de olericultura e de floricultura.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas no período de fevereiro de 2006 a fevereiro de 2007, amostras de água em quatro pontos do estuário do rio Paciência (Figura 1), recolhidas aproximadamente a 50cm de profundidade da superfície, utilizando-se frascos esterilizados com capacidade para 250mL. Paralelamente, foram registrados para cada ponto de coleta os dados de temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido, com o auxílio de um medidor multiparâmetro HQ40d.

Após a coleta as amostras foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Maranhão, onde foram analisadas utilizando-se a metodologia preconizada pela American Public Health Association - APHA (2005). As amostras foram analisadas em três etapas principais:

### Contagem total de bactérias/ml

Para a contagem total de bactérias, alíquotas de 1mL foram tomadas integrais (10<sup>0</sup>) e diluídas (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> e 10<sup>-4</sup>) e em seguida semeadas em Agar Padrão de Contagem (PCA), com incubação a 37°C

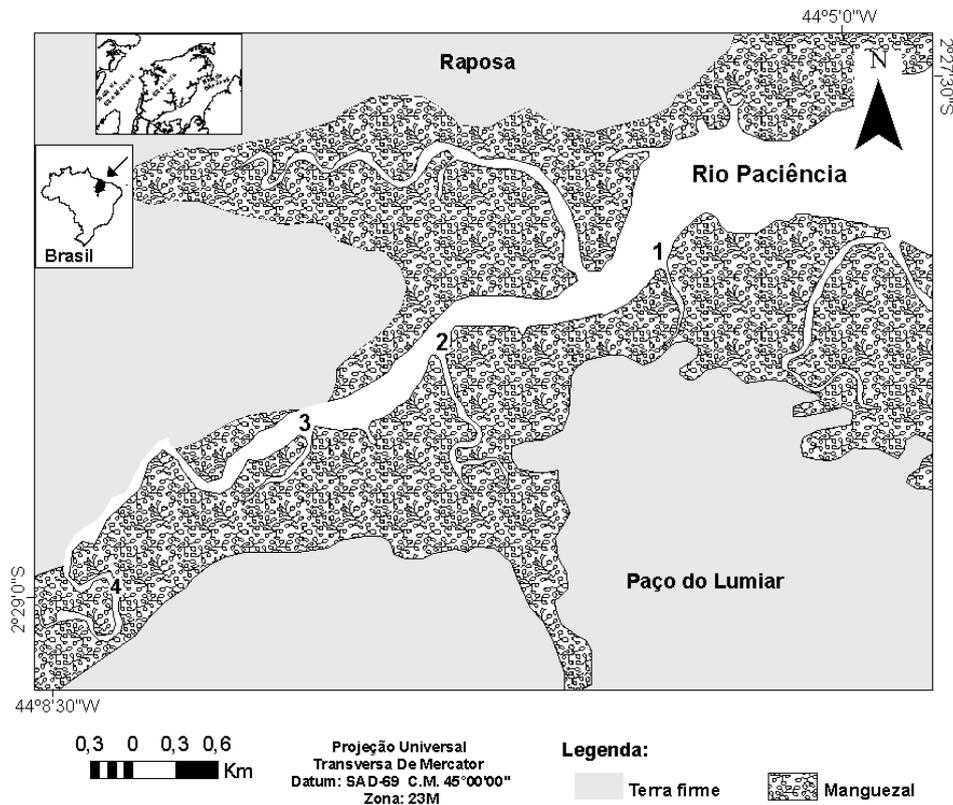


Figura 1 - Mapa de localização dos pontos de coleta no estuário do Rio Paciência: (1 - Igarapé Iguaíba; 2 - Igarapé Grande; 3 - Igarapé Cristóvão; 4 - Igarapé Pindoba).

por um intervalo de 24 a 48 horas. Após o período de incubação, as placas com colônias entre 30 a 300 foram selecionadas para a contagem. A contagem de colônias foi realizada em contador de colônia eletrônico-Phoenix CP 600, relacionando-se o número de colônias ao número de bactérias por volume semeado.

#### Determinação do NMP de coliformes totais

Para a determinação de coliformes totais, pela técnica de tubos múltiplos foram inoculadas 1 ml das diluições  $10^0$ ,  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$  utilizando-se três séries de cinco tubos contendo Caldo Lactose simples e tubos de Durham invertidos. Após a incubação por 24-48 horas a  $35^{\circ}\text{C}$ , os tubos que apresentaram turvação e gás nos tubos de Durham foram considerados como positivos para a prova presuntiva para coliformes totais. Para o teste confirmativo para os coliformes totais, transferiram-se alíquotas dos tubos positivos no Caldo Lactose, com auxílio de uma alça de níquel-cromo para tubos contendo Caldo Bile Verde Brilhante a 2% (Caldo VB). A turvação do meio e a produção de gás após 24 a 48 horas de incubação classificaram os tubos como sendo positivos. Após a

leitura dos resultados obtidos no Caldo VB, determinou-se o número mais provável de coliformes totais por 100ml, utilizando-se a tabela de Hoskins.

#### Determinação do NMP de coliformes termotolerantes

Para a determinação do NMP de coliformes termotolerantes, os tubos considerados positivos no Caldo Bile Verde Brilhante foram semeados em Caldo de *Escherichia coli* (EC), também contendo tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados em banho-maria a  $45^{\circ}\text{C}$ , por um intervalo de 24 a 48 horas. Após a incubação, foram considerados positivos para a presença de coliformes termotolerantes, os tubos que apresentaram turvação e gás nos tubos de Durham. O número mais provável de coliformes termotolerantes/100ml, foi determinado pela tabela de Hoskins.

#### Identificação de *Escherichia coli*

Na identificação de *E. coli*, realizou-se o plaqueamento seletivo, a partir dos tubos positivos no Caldo E.C, em Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) utilizando-se a técnica de estrias por esgotamento. As placas inoculadas foram invertidas e incubadas a

35° C por 24 horas em estufa. Decorrido o período de incubação as colônias características de *E. coli* foram submetidas a testes bioquímicos para confirmação. Realizaram-se os testes de IMVC (Indol, Vermelho de Metila e Citrato), motilidade, descarboxilação de aminoácido (lisina), malonato, produção de H<sub>2</sub>S e utilização de carboidratos (Arabinose, sacarose, xilose e rafinose), segundo metodologia descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA, 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para se avaliar a qualidade sanitária das águas, mais especificamente a qualidade microbiológica, muitos pesquisadores têm utilizado a colimetria – avaliação da contaminação da água por bactérias do grupo coliformes (Faria *et al.*, 2001). Apesar de não determinar o risco da presença de vírus e, portanto, não garantir totalmente a qualidade da água, a avaliação da contaminação por coliformes ainda é bastante realizada em estudos de monitoramento ambiental.

A presença de coliformes termotolerantes poderá indicar uma contaminação de origem fecal indicando a possibilidade de detecção de micro-

-organismos enteropatogênicos (Sutiknowati, 2006). Assim, os agentes das infecções intestinais ou entéricas são, em geral, transmitidos ao homem através da veiculação por alimentos ou pela água contaminada. De acordo com o referido autor, a dinâmica do crescimento de bactérias heterotróficas dentro do ecossistema marinho e em mutualismo com a comunidade fitoplanctônica é um fator importante na transferência de energia na cadeia alimentar marinha.

Vários fatores têm sido comentados como capazes de reduzir as taxas de sobrevivência das bactérias fecais no meio aquático, com destaque para temperatura da água, radiação ultravioleta, baixa concentração de nutrientes e salinidade (Regan *et al.*, 1993).

No estuário do rio Paciência, observou-se que as concentrações de coliformes totais e termotolerantes estiveram associadas à heterogeneidade espacial dos pontos amostrados e a influência de áreas urbanizadas. Assim, os pontos 1, 2 e 3 submetidos mais intensamente à hidrodinâmica do ambiente estuarino, apresentaram valores dentro dos padrões microbiológicos recomendados pela legislação vigente, enquanto o ponto 4 (Igarapé Pindoba) sob menor influência de marés, revelou as maiores concentrações de coliformes durante o período investigado (Tabela I).

Tabela I – Resultados referentes à determinação do NMP para coliformes totais e coliformes termotolerantes, contagem de bactérias heterotróficas e identificação das espécies em diferentes pontos do estuário do Rio Paciência, Ilha de São Luís/MA.

Meses de Amostragem	NMP/100mL de coliformes totais	NMP/100mL de coliformes termotolerantes	Contagem de bactérias heterotróficas (UFC/mL)	Espécies identificadas
Fevereiro/2006				
1	5,0x10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>	7,8x10 <sup>6</sup>	-
2	2,0x10 <sup>1</sup>	2,0x10 <sup>1</sup>	8,8x10 <sup>6</sup>	-
3	2,1x10 <sup>2</sup>	1,4x10 <sup>2</sup>	<20	-
4	1,6x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>3</sup>	6,70x10 <sup>5</sup>	-
Março				
1	1,6x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>4</sup>	5,84x10 <sup>5</sup>	<i>Escherichia coli</i>
2	1,3x10 <sup>2</sup>	1,3x10 <sup>2</sup>	4,40x10 <sup>6</sup>	<i>Escherichia coli</i>
3	2,8x10 <sup>2</sup>	2,8x10 <sup>2</sup>	<20	<i>Escherichia coli</i>
4	1,6x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>4</sup>	1,0x10 <sup>7</sup>	<i>Enterobacter sp. Serratia rubidaea</i>
Maio				
1	2,3x10 <sup>2</sup>	2,3x10 <sup>2</sup>	<20	<i>Escherichia coli</i>
2	8,0x10 <sup>2</sup>	1,7x10 <sup>2</sup>	<20	<i>Escherichia fergusonii</i>
3	1,6x10 <sup>4</sup>	9x10 <sup>3</sup>	5,9x10 <sup>2</sup>	<i>Escherichia coli</i>
4	1,6x10 <sup>4</sup>	9x10 <sup>3</sup>	3,7x10 <sup>4</sup>	<i>Escherichia coli</i>
Julho				
1	4,0x10 <sup>1</sup>	<3	1,0 x10 <sup>5</sup>	<i>Enterobacter gergovial</i> <i>Escherichia coli</i>
2	9,0x10 <sup>1</sup>	<3	3,0x10 <sup>5</sup>	<i>Escherichia coli</i>
3	1,3x10 <sup>2</sup>	<3	1,2x10 <sup>5</sup>	<i>Citrobacter diversus</i> <i>Escherichia coli</i>
4	1,3x10 <sup>3</sup>	1,3x10 <sup>3</sup>	2,5x10 <sup>5</sup>	<i>Escherichia coli</i>

Setembro					
1	1,7x10 <sup>2</sup>	1,7x10 <sup>2</sup>	<20	<i>Enterobacter gergovial</i>	<i>Escherichia coli</i>
2	1,7x10 <sup>2</sup>	1,7x10 <sup>2</sup>	<20		<i>Escherichia coli</i>
3	1,1x10 <sup>2</sup>	1,1x10 <sup>2</sup>	<20	<i>Citrobacter diversus</i>	<i>Escherichia coli</i>
4	2,1x10 <sup>2</sup>	2,1x10 <sup>2</sup>	<20		<i>Escherichia coli</i>
Dezembro					
1	<3	<3	4,0x10 <sup>1</sup>	-	-
2	9,0x10 <sup>1</sup>	<3	3,8x10 <sup>1</sup>	-	-
3	1,3x10 <sup>2</sup>	<3	8,8x10 <sup>1</sup>	-	-
4	1,3x10 <sup>2</sup>	<3	1,7x10 <sup>2</sup>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter diversus</i>	<i>Edwardsiella tarda</i>
Fevereiro/2007					
1	<3	<3	9,0x10 <sup>1</sup>	-	-
2	<3	<3	4,0x10 <sup>1</sup>	-	-
3	7,0x10 <sup>1</sup>	7,0x10 <sup>1</sup>	5,0x10 <sup>1</sup>	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter diversus</i>	<i>Escherichia coli</i>
4	1,1x10 <sup>2</sup>	1,1x10 <sup>2</sup>	2,4x10 <sup>2</sup>		<i>Escherichia coli</i>

As variáveis abióticas analisadas mostraram um padrão de decaimento em função do gradiente espacial definido pelo regime de marés e pela contribuição da drenagem continental (Figura 2). Assim, observaram-se valores decrescentes a partir do Igarapé Iguaiá (Ponto 1) em direção ao Igarapé Pindoba (Ponto 4), demonstrando uma relação inversa com a densidade de coliformes totais e termotolerantes.

O elevado número de micro-organismos potencialmente patogênicos encontrados no Igarapé Pindoba (Ponto 4) é atribuído a grande quantidade de efluentes provenientes dos conjuntos residenciais à montante e a menor concentração de salinidade do local, diminuindo o poder de autodepuração neste trecho do estuário e facilitando o surgimento e proliferação destes microorganismos.

Nas concentrações mensais de coliformes totais o Igarapé Pindoba (Ponto 4) é o que apresentou valores mais elevados, enquanto Iguaiá (Ponto 1) e Cristóvão (Ponto 3) mostraram pouca variabilidade. No que se refere aos coliformes termotolerantes, o Igarapé Pindoba também mostrou valor superior aos demais pontos amostrados (Figuras 3 e 4), especialmente no período de Fevereiro/2006 a Julho/2006, época de maior precipitação pluviométrica.

Em todos os pontos foi identificada a presença de *Escherichia coli*, cujo habitat primário é o trato gastrointestinal do homem e de animais, implicando que de alguma forma resíduos orgânicos tem atingido o ambiente. Este é o microrganismo predominante entre os de origem fecal, cujo habitat exclusivo é o trato intestinal de animais homeotérmicos; onde seus percentuais equivalem a 98% da flora intestinal (APHA; AWWA; WEF, 2005).

Além de *E. coli*, outras espécies pertencentes à família *Enterobacteraceae* foram identificadas, tais

como: *Enterobacter gergovial* no Iguaiá, *Escherichia fergusonii* e *Enterobacter gergovial* no Igarapé Grande e *Citrobacter diversus* e *Citrobacter freundii* no Igarapé Cristóvão. No Igarapé Pindoba verificou-se ainda a ocorrência de *Citrobacter diversus* e *Edwardsiella tarda*.

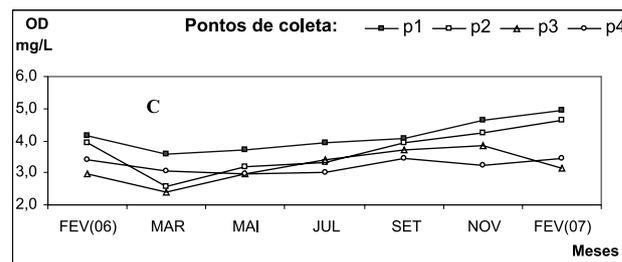
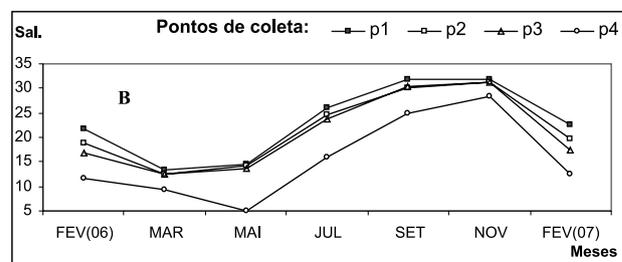
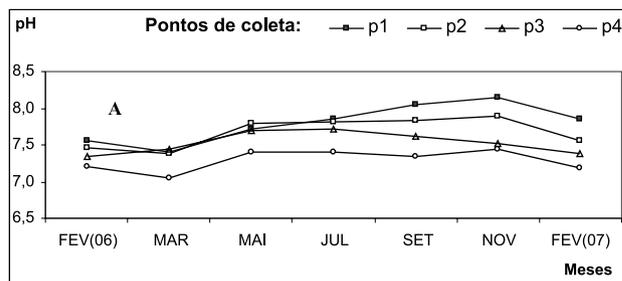


Figura 2 - Variação dos parâmetros físico-químicos na região estuarina do rio Paciência, Ilha de São Luís/MA. A=pH; B= salinidade; C = oxigênio dissolvido.

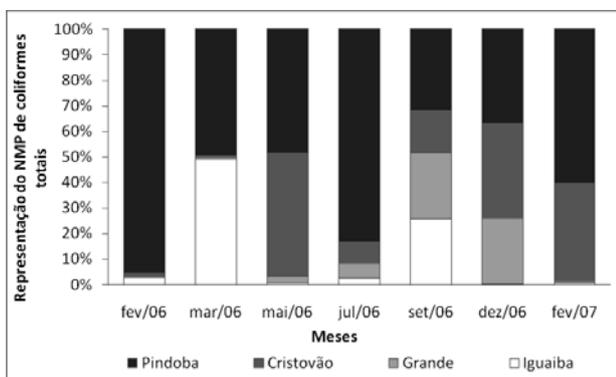


Figura 3 - Resultados para determinação do Número Mais Provável (NMP) para coliformes totais ao longo dos meses e dos pontos amostrados.

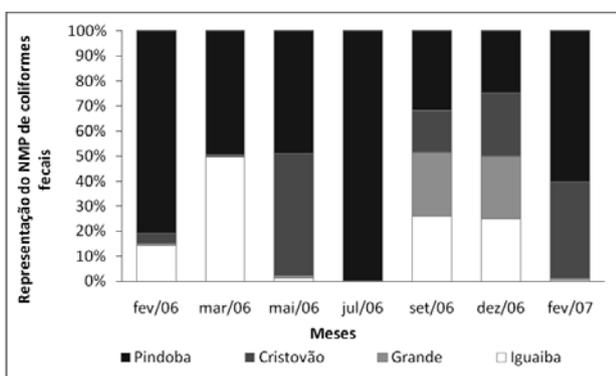


Figura 4 - Resultados para determinação do Número Mais Provável (NMP) para coliformes fecais a 45,5 °C, ao longo dos meses e dos pontos amostrados.

Com base na Resolução CONAMA n.º 357/2005 (BRASIL, 2005), que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e a Resolução CONAMA 274/2000 (BRASIL, 2000) que estabelece os níveis adequados de balneabilidade; o ambiente de estudo estaria enquadrado como classe 1: águas que podem ser destinadas: à recreação de contato primário; à proteção das comunidades aquáticas; à aquicultura e à atividade de pesca; ao abastecimento para consumo humano após tratamento convencional ou avançado; e à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, e à irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto. A referida Resolução estabelece como limites aceitáveis para balneabilidade, ou seja, água para recreação de contato primário, até 1000NMP/100mL para coliformes termotolerantes em 80% das amostras analisadas. De acordo com os achados nesta pesquisa, 21,42% (n= 6)

das amostras analisadas, estavam fora dos padrões de balneabilidade.

No presente estudo registrou-se a presença de coliformes em todas as estações de coleta, em densidade inversa à proximidade da linha de costa que apresenta elevados pulsos de marés. No entanto, sob o ponto de vista da qualidade ambiental da área estudada, os resultados obtidos indicam um grau de poluição por coliformes totais e coliformes termotolerantes, apenas para o Igarapé Pindoba, tornando aquele trecho estuarino inviável para os usos previstos na legislação vigente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association, 4<sup>th</sup> edition, Cap. 8, p. 69-824, Washington, 2001.
- APHA; AWWA; WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater* American Public Health Association, Washington, 2005.
- BRASIL. CONAMA, Resolução 274 de 29 de novembro de 2000. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 3 p., Brasília, 2000.
- BRASIL. CONAMA, Resolução 357 de 17 de março de 2005. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 23 p., Brasília, 2005.
- Castro, A.C.L. Diversidade da assembléia de peixes em igarapés do estuário do Rio Paciência (MA-BRASIL). *Atlântica*, Rio Grande, v.23, p.39-46, 2001.
- Castro, A.C.L.; Ferreira-Correia, M.M.; Nascimento, A.R.; Piedade-Junior, R.N.; Gama, L.R.M.; Sousa, M.M.; Sena, A.C.S. & Sousa, R.C.C. *Amazônia: Ci. & Desenv.*, Belém, v.3, n.6 p. 1-35, 2008.
- Faria, B.M.; Farjalla, V.F. \* Esteves, F.A. (eds). *Aquatic microbial ecology in Brazil. Serie Oecologia Brasiliensis*, PPG-UFRRJ, Rio de Janeiro, n.9, p.197-216, 2001.
- Regan, P.M.; Margolin, A.B. & Watkins, W.D. Evaluation of microbial indicators for the determination of the sanitary quality and safety of shellfish. *J. Shell. Res.*, v.12, n.1, p.95-100, 1993.
- Sutiknowati, L.I. Bacteriological study of the marine water in the coastal of the North Sulawesi province, Indonesia. *Makara Sains*, v.10, n.2, p.76-82, 2006.
- Vieira, R.H.S.F.; Castro, H.M.P.; Reis, C.M.F.; Reis, E.M.F.; Madrid, R.M. & Hofer, E. Aspectos microbiológicos de águas estuarinas nos estados de Rio Grande do Norte e Ceará. *Arq. Ciên. Mar.*, Fortaleza, v.40, n.1, p.89-95, 2007.