



Resumo Expandido

Título da Pesquisa (Português): Análises microbiológicas da água de um trecho urbano do Rio Betim		
Título da Pesquisa (Inglês): Microbiological analyses of the water of a urban point of the Betim River		
Palavras-chave: Microbiologia, Coliformes, Rio Betim		
Keywords: Microbiology, Coliforms, Betim River		
Campus: Betim	Tipo de Bolsa: PIBIC-Jr	Financiador: CNPq/IFMG
Bolsista(s): Isabela Teixeira Rodrigues		
Professor Orientador: Flávia de Faria Siqueira		
Área de Conhecimento: Microbiologia		Editais: 129/2014

Resumo: Os recursos hídricos são de grande importância para a vida em nosso planeta, por isso eles precisam receber maiores cuidados. Diante da relevância do rio Betim para a região, o presente trabalho buscou analisar a qualidade da água desse rio em um ponto localizado próximo ao Parque Ecológico Felisberto Neves. Análises microbiológicas presumptiva e confirmativa foram feitas a fim de identificar a presença de coliformes na amostra. Foram encontrados coliformes nas amostras analisadas, inclusive de origem fecal, comprovando uma possível contaminação de esgoto no ponto coletado. Embora sejam resultados parciais, esse trabalho contribuiu para a formação do grupo de pesquisa e na escolha do melhor método a ser utilizado no projeto. Novas coletas serão realizadas em outros pontos da bacia hidrográfica do rio Betim ao final das estações seca e chuvosa, bem como serão incluídos parâmetros físico-químicos na investigação. Ao final desse projeto, espera-se ter uma avaliação da qualidade dos recursos hídricos dessa importante bacia a fim de propor a implementação de ações de melhoria da qualidade das águas e de gestão dessa bacia.

Abstract: Water resources are of great importance for life on our planet, hence these resources need to be given more care. Considering the relevance the river Betim has in the region, this study aimed at analyzing the quality of the river water at a point located near Felisberto Neves Ecological Park. Microbiological analyses (presumptive analysis and confirmative analysis) were made in order to identify the presence of coliforms in the water. Coliforms were found in the samples. Some were fecal, which proved the possibility of contamination of the sewage at that point. Although not yet completed, this work contributed to the formation of the research group and to the choice of the best method to use in the project. New data collecting will be carried out elsewhere in the Betim river basin in the dry and wet seasons. Moreover, physical and chemical parameters will be included in the investigation. At the end of this project, we hope to have an assessment of the quality of this important basin's water resources, so that we are able to propose the implementation of actions designed to improve the quality of the water and the management of the basin.

INTRODUÇÃO

O surgimento de novas cidades e o crescimento das mesmas, sem dúvidas é prejudicial para o meio ambiente considerando o desmatamento de áreas florestadas, poluição do ar, perda das funções do solo até a poluição de recursos hídricos. O crescimento urbano em Betim não poderia ser diferente. O crescimento da malha urbana ocasionou como

consequência a poluição e a alteração do regime hídrico da drenagem urbana, decorrente do processo de impermeabilização do solo e outros motivos. Sendo assim, importantes rios que outrora foram usados para abastecimento e equilíbrio ambiental da cidade, hoje se encontram visivelmente poluídos como, por exemplo, o rio Betim e alguns de seus afluentes. Esse uso mal planejado do espaço provindo de um crescimento desordenado pode trazer para a população prejuízos à qualidade de vida e ao desenvolvimento sustentável (CETEC-AMA, 199-).

Dados do Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM, 2015), indicam que os principais responsáveis pela degradação da bacia são o lançamento de esgoto sanitário e efluente industriais nos cursos de água sem o tratamento adequado, além do uso e ocupação irregulares do solo nas áreas urbana e rural. Esta é a situação atual da bacia hidrográfica do rio Betim, em termos de qualidade e de quantidade das águas, apontando para a necessidade de ações e investimentos. A falta de tratamento adequado ao esgoto residencial e industrial e seu descarte juntamente à rede de drenagem urbana, moradias às margens dos rios sujeitas a enchentes e outros prejuízos podem ser considerados também consequências desse crescimento com falhas principalmente nas áreas da infraestrutura local (Silva, 2010).

Para avaliar a real qualidade das águas, é necessário que se realize testes dentre várias categorias. Os procedimentos comumente utilizados para qualificar água podem ser classificados em parâmetros físicos (temperatura, odor, cor, turbidez), químicos (pH, oxigênio dissolvido, cloretos, dureza, condutividade elétrica, sólidos totais, nitrogênio total, fósforo total, dentre outros) e fatores biológicos (organismos indicadores, algas e microrganismos). São esses procedimentos que caracterizam com maior riqueza a real qualidade da água, além de serem estes que fornecem parâmetros que servem como base para classificar o risco da água quando em contato com o ser humano (Pedrozo e Kapusta, 2010).

Pode-se dizer que em todos os ambientes aquáticos, existem microrganismos nativos daquele local, e outros que estão ali presentes, provenientes principalmente da ação humana, como através de descarte do esgoto não tratado, bem como de práticas domésticas, fontes industriais e agrícolas, que degradam aos poucos a qualidade da água. O termo "microrganismos indicadores" se refere à presença na água de um tipo de microrganismo que evidencie a poluição com material fecal de origem humana ou de outros animais (Pelczar et al., 1997). Assim, podem-se encontrar bactérias do grupo coliforme, como a *Escherichia coli*. A presença deste microrganismo na água pode indicar risco à saúde humana. O primeiro passo para a identificação do grupo coliforme é o teste presuntivo. Caso o resultado deste seja positivo, é necessário realizar o teste confirmativo que visa certificar a presença de coliformes do tipo fecal (Amaral, 2007).

O presente trabalho trata-se de um resultado preliminar do projeto intitulado "Avaliação da qualidade da água superficial da bacia hidrográfica do rio Betim (RMBH, MG) e subsídios para a elaboração de um plano de manejo e gestão da bacia". É necessário ressaltar que os resultados apresentados foram feitos em apenas um dos locais previstos no projeto original, além de incluir somente as análises microbiológicas. Parâmetros físico-químicos, como turbidez, presença de cloretos, dureza total, dentre outros, estão sendo padronizados para

posteriormente serem incluídos. Associado a este trabalho, o projeto de pesquisa "Mapeamento do uso da terra e dos recursos hídricos da bacia hidrográfica do rio Betim" que está sendo desenvolvido pelo professor Diego Alves de Oliveira e seu orientando Jonas Guilherme M. Teixeira irá auxiliar na escolha dos melhores pontos futuros de coleta que serão feitas ao final da estação seca (Setembro/2015) e ao final da estação chuvosa (Fevereiro/2015). Ao término desse projeto, espera-se ter uma avaliação preliminar da qualidade dos recursos hídricos da bacia do rio Betim afim de propor a implementação de ações de melhoria da qualidade das águas e de gestão desta bacia

METODOLOGIA

Preparo do material e meio de cultura

As técnicas utilizadas são as preconizadas no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater publicação da American Public Health Association (APHA), retirado do Manual Prático de Análise de Água (FUNASA, 2009). Os meios de cultura assim como os frascos para a coleta, pipetas, tubos de ensaio e tubos capilares foram esterilizados em autoclave. Materiais como: tubos de ensaio, tubos capilares, pipetas, pissetas, buretas, pipetadores, termômetro, luvas para procedimento e outros, foram devidamente separados e lavados quando necessário e deixados à disposição durante o processo para utilização. Para a preparação dos meios de cultura foram utilizados: Caldo Lactosado Duplo (CLD), Caldo Lactosado Simples (CLS), Caldo Lactosado Verde Brilhante, Caldo EC (FUNASA, 2009).

Amostragem e coleta do Material

As amostras foram coletadas no ponto 1, localizado nas margens do rio Betim, em área predominantemente urbana, com as coordenadas UTM WGS84 N 7.799.567; E 585.029 porém em 3 pontos distintos (Pontos A, B e C). O ponto A, coletado em triplicata, apresentava água corrente e os demais, localizados à margem da correnteza, água parada. A escolha do local de coleta do material foi tomada a partir do objetivo do projeto de pesquisa, que visa analisar a qualidade dos recursos hídricos em área urbana, sendo que o ponto 1 está localizado à jusante da represa Vargem das Flores, que é um importante manancial de abastecimento de água da Região Metropolitana de Belo Horizonte. O uso da terra a montante do ponto 1 é configurado pela ocupação residencial e de serviços, associada a grandes áreas não construídas, destinadas a especulação imobiliária e preservação ambiental.

Durante a coleta, registrou-se na ficha de coleta o endereço completo do local, incluindo as coordenadas (obtidas através do GPS), o pH e a temperatura da água local. Feitas estas aferições, com o uso de equipamentos de proteção individual, segurou-se o frasco pela base com uma das mãos mergulhando-o rapidamente com a boca para baixo abrindo a tampa do frasco contra corrente d'água após este estar submerso. O frasco foi fechado rapidamente,

deixando espaço suficiente apenas para a homogeneização da amostra. A mesma foi identificada e guardada na caixa de isopor, anotou-se ainda o número de identificação da amostra na ficha de coleta. Esse processo se repetiu para outras amostras coletadas.

Em seguida, as amostras foram levadas para a geladeira do IFMG - Campus Betim, para que no dia seguinte se iniciasse o processo de análise das amostras coletadas.

Exame Bacteriológico Presuntivo

Para a realização desse teste, utilizou-se do meio de cultura Caldo Lactosado simples e Caldo Lactosado de concentração dupla. Ambos os meios de cultura foram preparados de acordo com recomendações do fabricante. Inicialmente foram preparados de forma estéril tubos de ensaio contendo tubo capilar invertido e 10 ml de meio de cultura. Para a realização do teste pegou-se uma bateria de 15 desses tubos de ensaio, adicionou-se aos primeiros 5 tubos (contendo o caldo lactosado duplo) com pipeta esterilizada, 10 mL da amostra de água a ser analisada em cada em cada tubo, tendo assim uma diluição 1:1. Em 10 outros tubos (contendo o caldo lactosado simples), adicionou-se aos 5 primeiros 1 mL da água (diluição 1:10) e aos 5 tubos restantes adicionou-se 0,1 mL da água (diluição 1:100).

Como grupo controle, foram preparadas as mesmas diluições descritas, porém utilizando água destilada estéril. Esse procedimento foi realizado, para o ponto A da coleta. Para os pontos B e C (coletados a margem do ponto inicial) fez-se apenas a diluição 1:1 e 1:100. Os resultados foram anotados após 24 horas e 48 horas de incubação a 35° C.

Exame Bacteriológico Confirmativo

Para a realização do exame, preparou-se os meios de cultura EC e Verde Brilhante 2% de acordo com as instruções dos fabricantes, distribuindo 10 ml em tubos de ensaio contendo tubos capilares invertidos.

Foram submetidas à repicagem nesses tubos as amostras do teste presuntivo que apresentaram a produção de gases (nas três diluições 1:1, 1:10, 1:100). Os resultados foram anotados após 24 e 48 horas de incubação a 35° C (Caldo Verde Brilhante 2%) ou 44,5 °C (Caldo EC). O levantamento desses resultados possibilitou estimar, através da quantidade de amostras com resultado positivo, o NMP (Número Mais Provável)/ 100 ml de coliformes na amostra para esse teste (FUNASA, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Desde o momento da coleta, observou-se indicadores de poluição físicos, sendo alguns deles: cor da água, odor, turbidez, formação de espuma em pequena queda d'água situada no local próximo ao ponto da coleta, pH aferido com resultado seis, lixo as margens do rio, entre outros (Figura 1). Além disso, estudos realizados Fundação Estadual do Meio Ambiente –

FEAM a partir de uma rede de amostragem e de dados históricos apresentou o pior nível de qualidade para o rio Betim, com valores de Índice de Qualidade de Água (IQA) na faixa ruim a muito ruim. Este estudo apresentou na época o lançamento de esgoto “in natura” e de efluentes industriais diretamente no curso d’água, como principal causa para este resultado (CETEC,199-).

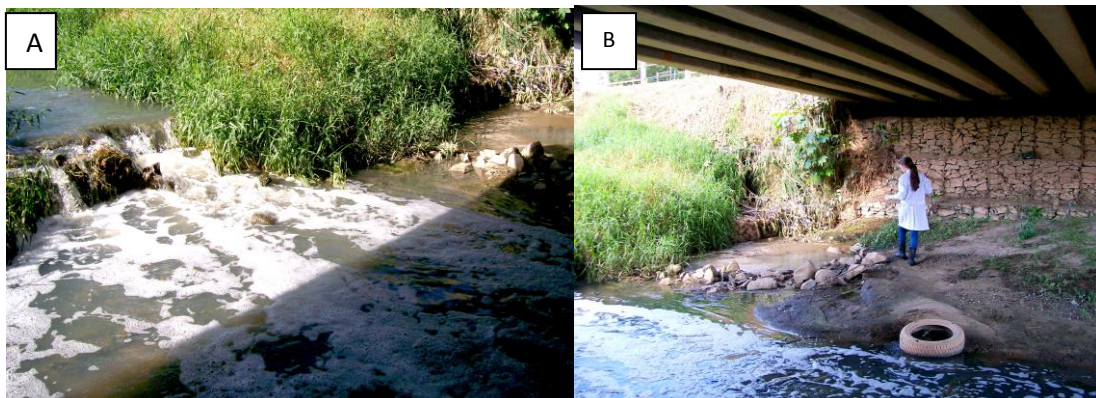


FIGURA 1: Trecho do rio Betim onde foram coletadas as amostras analisadas. Em A observa-se os indicadores visuais e físicos de poluição. Em B mostra a coleta no ponto C, que apresentava água parada.

Os testes presuntivo e confirmativo são um complemento do outro e são comumente utilizados em avaliação de água. Segundo o relatório do último trimestre de 2014 do IGAM, um dos trechos do rio Betim apresentou a presença de contaminação fecal a partir das bactérias *E. coli*, não atingindo o limite legal permitido (IGAM, 2015).

Para que se identifiquem mais facilmente microrganismos fermentadores, utilizou-se de meios de cultura contendo lactose. Por isso utilizou-se o caldo lactosado simples e duplo, pois estes facilitam o crescimento rápido das bactérias, recuperando células estressadas devido a tratamento térmico, congelamento, poluição, etc. Os meios utilizados disponibiliza a lactose como fonte de carbono. Nesse processo de fermentação pelos coliformes, há produção e liberação de ácido e gás (Tortora et al., 2005).

Esse teste foi analisado após 24 e 48 horas de crescimento bacteriano e os dados foram anotados e serviram como forma de triagem para a realização do teste confirmativo, uma vez que os resultados deste teste foram positivos. O grupo usado como controle (água destilada) foi nesse momento descartado, uma vez que, como esperado, gerou resultados negativos para microrganismos fermentadores. A tabela 1 mostra o resultado do teste presuntivo após 48 horas de incubação.

TABELA 1: Resultado do crescimentos microbiano em caldo lactosado simples e duplo em diferentes concentrações nas três amostras coletadas e no controle negativo (Água destilada estéril)

Pontos	Amostra A			Amostra B		Amostra C		Controle Negativo	
	Diluição	1:1	1:10	1:100	1:1	1:100	1:1	1:100	1:1
Amostra A	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Amostra B	+	+	+	-	+	+	+	-	-
Amostras C	+	+	-	+	-	+	+	-	-
Amostra D	+	+	-	+	+	+	+	-	-
Amostra E	+	+	+	+	+	+	+	-	-

O teste confirmativo foi feito visando à detecção de coliformes totais. Utilizou-se Caldo Verde Brilhante Lactose Bile a 2% (CVBLB) pois é nele que a bile bovina e o corante verde brilhante funcionam como inibidores. A produção de gás nesse meio indica o crescimento de Gram negativos fermentadores de lactose, o que é típico da presença de coliformes. O uso do meio EC visa a detecção de coliformes do tipo fecal, pois os sais biliares e incubação em temperatura elevada inibem a maioria dos microrganismos, permitido apenas o crescimento de *Escherichia coli* e algumas espécies relacionadas (Tortora et al., 2005).

Os dados de ambos os testes foram anotados após 24 e 48 horas da realização da repicagem. A partir daí foi possível determinar o Número Mais Provável (NMP)/100 ml de coliformes. A tabela 2 apresenta os dados obtidos após 48 horas de crescimento microbiano, além de indicar o NMP de coliformes em 100 ml de amostra, conforme consultado no Manual Prático de Análise de Água (FUNASA, 2009), retirado da APHA (1985)

Tabela 2- crescimento de microrganismo e surgimento de gás no meio de cultura verde Brilhante

Pontos	Caldo Lactosado Verde Brilhante			Caldo EC		
	Amostra A	Amostra B	Amostra C	Amostra A	Amostra B	Amostra C
Diluição	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
Amostra A	+	-	-	+	-	-
Amostra B	+	-	-	+	-	-
Amostras C	+	+	-	+	-	-
Amostra D	+	+	-	-	+	-
Amostra E	-	+	-	-	+	-
NMP/100ml	16*	9,2 **	<2 ***	9,2 **	5,2 ****	< 2 ***

* (valor limite inferior a 3,3 e superior a 52,9), ** (valor limite inferior a 1,6 e superior a 29,4), *** (valor limite inferior a 0 e superior a 6), **** (valor limite inferior a 0,5 e superior a 9,2)

Os resultados positivos para a presença de coliforme e coliformes de origem fecal era esperado uma vez que o rio Betim recebe esgoto não tratado em vários pontos de seu curso. Sendo assim, os resultados apresentados corroboram os parâmetros levantados na avaliação do último trimestre de 2014, que identificaram a presença de *E. coli* em alguns trechos do rio Betim (IGAM, 2015). Contudo, considera-se que as quantidades de bactérias encontradas demonstra risco a saúde humana, podendo causar infecção urinária, dentre outros males. Assim, considerando que as análises relatadas neste trabalho foram parte do treinamento da equipe para posteriores análise em locais mais representativos do rio Betim, pode-se ponderar que o método utilizado foi adequado. Esses resultados poderão auxiliar no decorrer do projeto pois ainda serão realizadas coletas em estações diferentes (seca e chuvosa), sendo que serão selecionados cinco diferentes pontos representativos da bacia hidrográfica do rio Betim para coleta de água.

CONCLUSÕES

Os testes utilizados foram apropriados ao objetivo de identificação de indicadores microbiológicos em amostras coletadas no rio Betim. Constatou-se que os microrganismos do grupo coliformes, incluindo a espécie *E. coli*, estão presentes em quantidade considerável na água analisada, tornando a mesma imprópria para consumo e um fator de risco para a saúde humana. Além disso, o não surgimento de gases na amostra controle (água destilada) valida os testes, pois revela que a água coletada apresenta os microrganismos responsáveis pela produção de gases. O aprimoramento da equipe nessa etapa de desenvolvimento do projeto foi fundamental para que as coletas nas estações e nos demais pontos previstos originalmente sejam realizadas com sucesso.

AGRADECIMENTOS

Ao IFMG e CNPq pelo financiamento da bolsa de pesquisa; aos professores co-orientadores Diego Alves de Oliveira e Walter Alves Durão Júnior e as professoras Marcela Camargo Matteuzzo e Meiriane Cristina Faria Soares de Lima pelas colaborações.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CETEC Ed. Bacia do rio Betim: Aspectos Ambientais do diagnóstico ambiental. Betim, 32 p. 199-.

AMARAL, A.L.P. Microrganismos Indicadores De Qualidade De Água. Monografia, UFMG. Belo Horizonte, 2007.

Silva, D.A.A.C. Estudo da Análise Temporal da Ocupação Urbana no Rio Betim/MG. 2010. Disponível em: < <http://www.csr.ufmg.br>>. Acesso em: 18 Ago.2015

FUNASA, Fundação Nacional da Saúde. Manual Prático de Análise de Água. 2ª Ed. 2009.

IGAM, Instituto Mineiro de Gestão das Águas. Monitoramento da qualidade das águas superficiais no estado de Minas Gerais: relatório trimestral. Belo Horizonte, 2015.

PEDROZO C.S.; KAPUSTA S.C. Indicadores Ambientais em Ecossistemas Aquáticos. Porto Alegre, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, 2010.

PELCZAR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. Microbiologia: conceitos e aplicações. 2ª Ed., v. 2, São Paulo, Pearson Makron Books, 1997.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Microbiologia. 8a Ed., Porto Alegre, Artmed, 2005.

