

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE  
JOAQUIM VENÂNCIO

**VINÍCIUS AURÉLIO DA SILVA**

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E  
MICROBIOLÓGICOS NO CANAL DO CUNHA, PARA AVALIAÇÃO DOS  
POSSÍVEIS RISCOS À SAÚDE DA POPULAÇÃO NO ENTORNO**

**Rio de Janeiro**

**2019**

**VINÍCIUS AURÉLIO DA SILVA**

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E  
MICROBIOLÓGICOS NO CANAL DO CUNHA, PARA AVALIAÇÃO DOS  
POSSÍVEIS RISCOS À SAÚDE DA POPULAÇÃO NO ENTORNO**

Monografia apresentada à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial para aprovação no Curso Técnico em Análises Clínicas.

Orientadora: Profa Dr<sup>a</sup> Virginia de Lourdes Mendes Finete

Coorientadora: Profa MSc Mônica Mendes Caminha Murito

**Rio de Janeiro**

**2019**

Dedico esse trabalho à minha mãe,  
E a todos que acreditaram no meu potencial,  
me apoiaram e incentivaram. “A geral que confiou no meu trabalho”.  
(Mc Xamã)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por conseguir realizar tal trabalho em colaboração com diferentes laboratórios, sem a benção dele não seria possível ter contato com tantos órgãos importantes da FIOCRUZ, ao mesmo tempo, considerando o meu nível de formação.

Agradeço à minha Orientadora Virginia Finete, por todo o apoio e dedicação a este trabalho, sem contar no carinho a mim e todo amor ao seu trabalho como professora, que foram fatores inspiradores para esse trabalho, além da paciência para ensinar e ajudar na minha caminhada.

Agradeço à minha Coorientadora Mônica Murito, também por todo seu apoio e dedicação a este trabalho, por toda a paciência para realizar as coletas atrasadas ao meu lado, por toda paciência como coordenadora de estágio e amor a profissão.

Agradeço à Denise, Bete, Maicon, Vinicius, Priscila e a todo o pessoal do DSSA no setor de físico-química, que me auxiliaram na produção e interpretação de dados referentes a esse trabalho, sempre com a paciência para ensinar e discutir resultados, sem contar no amor a profissão, fator motivacional para a realização desse trabalho.

Agradeço à Ana Maria e Janne do setor de microbiologia do DSSA, que me ajudaram muito na realização desse trabalho, como amigas e profissionais dedicadas ao seu trabalho, me ensinando e orientando nesse caminho.

Agradeço à Marize Miagostovich chefe do LVCA do IOC, laboratório em que completei meu estágio obrigatório, por ter abraçado a ideia do trabalho e me auxiliado na produção do mesmo, com a paciência para ensinar e orientar o início da caminhada, sempre apoiando e motivando.

Agradeço à Renato Borges do setor de análise de metais do CESTE/ENSP, por ter me aceito como aluno informal e ter se disposto a me ensinar sobre as análises de metais pesados, e me orientado na discussão das mesmas.

Agradeço a todos os meus amigos que me apoiaram na produção deste trabalho, com palavras de apoio e motivação, em especial ao Marcelo, que me ajudou até mesmo nas análises experimentais e exposição na Semana de Ciência e Tecnologia da FIOCRUZ, 2018.

*Não foi sempre dito, que preto não tem vez,  
Então olha o castelo, irmão, foi você quem fez!*

*Racionais Mc's*

## RESUMO

A água é um recurso finito, ou seja, não é algo que possamos desperdiçar sem certos cuidados, uma vez que pode acabar. Porém, de forma geral, não se vê atualmente o cuidado necessário com os recursos hídricos disponíveis, o que pode se tornar uma ameaça iminente à sobrevivência no planeta, como perspectiva para o futuro. Um exemplo de como descuidamos da água que temos disponível é a poluição observada nos rios da cidade do Rio de Janeiro, bastante impactados pela ação do homem. Dentre estes, se destaca como objeto de estudo nesse trabalho um trecho do Rio Faria Timbó, pertencente à sub-bacia do Canal do Cunha e que deságua na Baía de Guanabara. Dados referentes à parâmetros físico-químicos e microbiológicos obtidos em determinado trecho do rio conhecido como “Canal do Cunha”, e coletados em pontos e períodos determinados, apontaram para alguns dos possíveis efeitos da poluição do rio à saúde da população no entorno. Com base nas Normas vigentes, a análise dos dados sugere níveis de contaminação altos por coliformes fecais, matéria orgânica biodegradável, e por vírus que causam gastroenterites, o que pode vir a representar um alto risco de efeitos adversos para a saúde humana e do ambiente nesse território, em caso de contato ou exposição à água nesse trecho do rio.

**Palavras-chave:** Poluição; Faria Timbó; Canal do Cunha; Saúde.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Região hidrográfica da Baía da Guanabara no RJ (Adaptado de: Google Maps). ...	13
Figura 2: Foto da Baía de Guanabara no RJ, poluída por fatores antrópicos (por Guitto Morte, Jornal O globo). .....	14
Figura 3: Localização da sub-bacia hidrográfica do Canal do Cunha e sua rede hidrográfica (Adaptado de: Armazém de Dados/Prefeitura do RJ). .....	15
Figura 4: A poluição das bacias hidrográficas como resultado das intervenções antrópicas. ...	17
Figura 5: Foto de trecho do Canal do Cunha poluído, por Raine Robichaud, 2017. ....	18
Figura 6: Esquema de coleta de amostras de água do rio para análise físico-química e microbiológica. ....	25
Figura 7: Foto da determinação de DBO: medição do Oxigênio Dissolvido. ....	29
Figura 8: Esquema de diluição seriada das amostras de água do rio, onde $10^{-n}$ é o fator de diluição e fD é o frasco para a realização da diluição. ....	31
Figura 9: Esquema de produção de volumes adicionais de soluções da amostra diluídas na faixa de $10^{-6}$ a $10^{-11}$ , onde fD é o frasco para a realização da diluição e fA o frasco para a realização da análise. ....	31
Figura 10: Esquema de diluição seriada da amostra de água do rio, onde fD é o frasco para a realização da diluição e fA o frasco para a realização da análise. ....	32
Figura 11: Foto do estande montado na Semana de Ciência e Tecnologia, FIOCRUZ, 2018. ....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Reagentes utilizados nas determinações de DBO. ....	26
Tabela 2: Reagentes utilizados nas determinações de DQO. ....	27
Tabela 3: Reagentes utilizados na extração de ácidos nucleicos.....	33
Tabela 4: Reagentes utilizados na obtenção do cDNA.....	34
Tabela 5: Reagentes utilizados na PCR.....	34
Tabela 6: Reagentes utilizados na qPCR.....	34
Tabela 7: Resultados das determinações de parâmetros físico-químicos e microbiológicos...	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cDNA – DNA complementar

cPCR – PCR convencional

CESTEH - Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DQO – Demanda Química de Oxigênio

DSSA – Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental

dXTP - Desoxirribonucleotídeos Fosfatados

*E. Coli* – Escherichia Coli

ENSP – Escola Nacional de Saúde Pública

EPSJV – Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

IOC – Instituto Oswaldo Cruz

Km – Quilômetro

mL – Mililitro

nm – nanômetros

NUTED – Núcleo de Tecnologias Educacionais

°C – Graus Celsius

OD – Oxigênio Dissolvido

PCR – Reação em Cadeia de Polimerização

qPCR – PCR quantitativa

RJ – Rio de Janeiro

RNA – Ácido Ribonucleico

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
<b>2.2</b>	<b>GERAL</b> .....	<b>12</b>
<b>2.3</b>	<b>ESPECÍFICOS</b> .....	<b>12</b>
<b>3</b>	<b>BACIA HIDROGRÁFICA DA BAÍA DE GUANABARA</b> .....	<b>13</b>
<b>3.1</b>	<b>Sub-BACIA DO CANAL DO CUNHA</b> .....	<b>15</b>
3.1.1	Rio Faria-Timbó.....	15
<b>3.2</b>	<b>A POLUIÇÃO DOS RIOS</b> .....	<b>16</b>
3.2.1	Poluição e transformações sofridas pelos rios da Sub-bacia do Canal do Cunha.....	16
3.2.2	A poluição no Canal do Cunha .....	18
<b>3.3</b>	<b>A IMPORTÂNCIA DE ESTUDAR OS RIOS</b> .....	<b>19</b>
<b>3.4</b>	<b>OS POSSÍVEIS RISCOS DA POLUIÇÃO DOS RIOS à SAÚDE</b> .....	<b>19</b>
3.4.1	Doenças associadas à poluição da água .....	20
<b>3.5</b>	<b>Parâmetros Físico-Químicos</b> .....	<b>21</b>
3.5.1	pH.....	22
3.5.2	DBO e DQO.....	22
<b>3.6</b>	<b>Parâmetros Microbiológicos</b> .....	<b>22</b>
3.6.1	Coliformes fecais .....	23
3.6.2	Vírus.....	23
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS</b> .....	<b>24</b>
<b>4.2</b>	<b>pH</b> .....	<b>26</b>
4.2.1	Material, reagentes e equipamentos .....	26
4.2.2	Metodologia .....	26
<b>4.3</b>	<b>DQO e DBO</b> .....	<b>26</b>
4.3.1	Material, reagentes e equipamentos .....	26
4.3.2	Metodologia .....	28
<b>4.4</b>	<b>COLIFORMES FECAIS</b> .....	<b>30</b>
4.4.1	Material, reagentes e equipamentos .....	30
4.4.2	Metodologia .....	30
<b>4.5</b>	<b>VÍRUS</b> .....	<b>33</b>
4.5.1	Material, reagentes e equipamentos .....	33
4.5.2	Metodologia .....	35
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>
<b>5.1</b>	<b>COLIFORMES FECAIS</b> .....	<b>38</b>
<b>5.2</b>	<b>pH</b> .....	<b>40</b>
<b>5.3</b>	<b>DBO E DQO</b> .....	<b>40</b>
<b>5.4</b>	<b>VÍRUS</b> .....	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A água dos rios é um recurso natural que vem se tornando escasso e com a qualidade comprometida em alguns territórios. Processos de industrialização, obras de engenharia como canalização e aterramento, a urbanização, os desmatamentos e os lançamentos de efluentes domésticos e industriais sem tratamento nos recursos hídricos, têm contribuído para o aumento da poluição e o conseqüente agravamento de tal situação (BRASIL, 2006).

Como resultado dessas intervenções antrópicas, destacam-se neste contexto as transformações fluviais apresentadas pelas bacias hidrográficas que deságuam na Baía de Guanabara, principalmente a poluição do rio Faria Timbó, no trecho do Canal do Cunha (DIAS; CUNHA, 2018).

Este rio nem sempre foi tão poluído assim, e neste trabalho é realizada uma descrição de como ele se transformou com o passar dos anos para chegar a tal ponto.

Segundo o Conselho Nacional do Meio Ambiente (2005) há classes de água (doce, salina, salobra) que podem ser destinadas à irrigação de culturas arbóreas, à pesca amadora, à recreação de contato secundário, à dessedentação de animais, dentre outros e, só pela observação de lixo boiando, da coloração da água, e pela percepção do odor do Canal do Cunha, pode-se notar que não seria viável utilizar essa fonte hídrica para essas finalidades.

Entretanto, não é raro observar o uso de trechos desse canal pela população do entorno, principalmente no verão, para atividades recreativas. Assim, se torna relevante estudar esse rio, para que ações de despoluição e conscientização do uso desse recurso hídrico sejam desenvolvidas e implantadas nesse local, para a promoção da saúde ambiental e da população.

Nesse trabalho foi realizada a determinação de parâmetros físico-químicos (pH, demandas química e bioquímica de oxigênio) e microbiológicos (coliformes fecais e vírus) em amostras de água coletadas em trechos específicos do Canal do Cunha, através da qual foi possível estabelecer uma relação entre esses parâmetros e a poluição do rio, além de uma discussão, com base na resolução do CONAMA (2000) que define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras, dos possíveis impactos e riscos dessa poluição à saúde da população no entorno.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.2 GERAL**

Compreender a poluição do rio Faria Timbó, pertencente a Baía de Guanabara, pela obtenção de dados referentes à parâmetros físico-químicos e microbiológicos no trecho do Canal do Cunha, relacionando esse estudo à parte da história sobre o aterramento deste Canal, e aos possíveis efeitos da poluição à saúde da população no entorno.

### **2.3 ESPECÍFICOS**

- Descrever a história de como o rio Faria Timbó, no trecho do Canal do Cunha, chegou a tal ponto de poluição;
- Determinar parâmetros físico-químicos (pH, demandas química e bioquímica de oxigênio) e microbiológicos (coliformes fecais e vírus) em amostras de água do Canal do Cunha;
- Relacionar os possíveis impactos dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos determinados à saúde da população no entorno, em especial a de banhistas que utilizam esse trecho do rio para atividades recreativas.

### 3 BACIA HIDROGRÁFICA DA BAÍA DE GUANABARA

Bacia hidrográfica é a denominação dada a uma área captadora de água proveniente de chuvas, e do escoamento de precipitação, de forma natural, de canais que convergem a um mesmo local. Uma bacia hidrográfica é algo sistêmico, e por conta da sua característica estrutural, possibilita a formação também de bacias e sub-bacias, que se conectam por sistemas hídricos (PORTO, 2008).

Segundo Faustino (1996) uma sub-bacia hidrográfica é uma bacia com área maior que 100 Km<sup>2</sup> e menor que 700 Km<sup>2</sup>. Uma sub-bacia hidrográfica de escoamento, onde deságuam corpos de águas menores com rio e canais, ou seja, é uma área de drenagem de tributários<sup>1</sup> do corpo de água principal (TEODORO, 2007).

A Baía de Guanabara é uma baía oceânica localizada na cidade do Rio de Janeiro que apresenta extensão territorial de 504,2 km<sup>2</sup>. Considerada a segunda maior baía do litoral do Brasil, sua região hidrográfica (Figura 1) recebe volumes de água de várias sub-bacias hidrográficas, e no entorno dela se concentram as áreas mais densamente urbanizadas e industrializadas. (PREFEITURA RJ, 2009)



Figura 1: Região hidrográfica da Baía da Guanabara no RJ (Adaptado de: Google Maps).

<sup>1</sup> Tributário é o nome dado ao curso d'água que deságua ou desemboca em um rio maior ou em um lago. Sinônimo: afluente.

Apesar de toda a sua beleza e grandeza, a Baía de Guanabara é um corpo hidrográfico muito poluído. Essa poluição é visível, e se formos até as suas margens e a olharmos de perto, veremos claramente objetos em sua superfície tais como: garrafas, sacos de lixo, embalagens e etc., que são lixos nela despejados. Sendo a Baía de Guanabara um corpo hídrico extremamente afetado por fatores antrópicos<sup>2</sup>, como despejo de esgoto, rejeitos humanos e domiciliares jogados pela população, efluentes industriais, aterramento proveniente de obras (Figura 2), ela recebe grande parte desses efluentes provenientes dos rios que deságuam na mesma (BORGES, 2014).



Figura 2: Foto da Baía de Guanabara no RJ, poluída por fatores antrópicos (por Guitto Morte, Jornal O globo).

Um rio é um curso de água proveniente de uma nascente, uma estrutura natural formada abaixo de árvores e trechos entre pedras com terra, correndo de uma parte mais elevada para outra mais baixa, desaguando em lagos, bacias, no mar e nas baías. Normalmente é composto por água doce, mas isso não é necessariamente uma regra.

Dentre os rios que deságuam na Baía de Guanabara, destaca-se nesse estudo o Rio Faria Timbó em sua parte final denominada “Canal do Cunha”, no trecho correspondente à sua margem esquerda, beirando o terreno da Fundação Oswaldo Cruz.

---

<sup>2</sup> Fatores antrópicos são ações que independem do clima, não são tropicais ou provenientes da natureza, e estão relacionados à ação humana.

### 3.1. SUB-BACIA DO CANAL DO CUNHA

A sub-bacia hidrográfica do Canal do Cunha está localizada na região norte do município do Rio de Janeiro e deságua no Canal da Ilha do Fundão, localizado na Baía da Guanabara, entre a ilha da Universidade Federal do Rio de Janeiro e o continente (Figura 3). Abrange os bairros do Méier, Engenho de Dentro, Engenho Novo, Lins de Vasconcelos, Benfica, Caju, Jacaré, e Inhaúma, localizados na Macrozona de ocupação incentivada de acordo com o Plano Diretor de Desenvolvimento sustentável da cidade (PREFEITURA RJ, 2009).

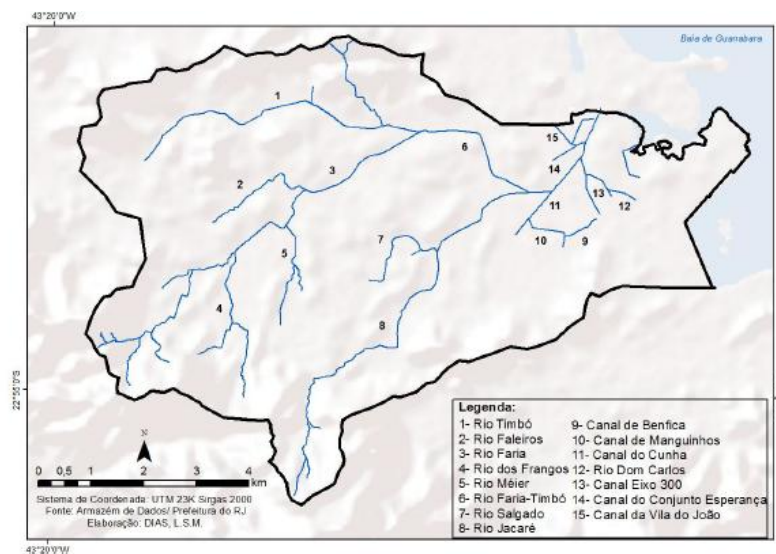


Figura 3: Localização da sub-bacia hidrográfica do Canal do Cunha e sua rede hidrográfica (Adaptado de: Armazém de Dados/Prefeitura do RJ).

Dos rios que compõe essa Sub-bacia, destaca-se o Faria-Timbó.

#### 3.1.1 Rio Faria-Timbó

O Rio Faria Timbó localiza-se na cidade do Rio de Janeiro, tem sua nascente na Serra dos Pretos-forros e apresenta cerca de 2.700 metros de extensão, percorrendo os bairros de Higienópolis, Bonsucesso e Manguinhos, seguindo ao longo da Sub-Bacia do Canal do Cunha. Os seus primeiros 1.300 metros seguem na direção das pistas da Linha Amarela, uma das mais importantes vias expressas da cidade. Na sequência, o curso d'água afasta-se desse local, passando a escoar ao longo da Rua Leopoldo Bulhões, por aproximadamente 1.000 metros. Nos últimos 400 metros, o Rio Faria-Timbó tem em sua margem esquerda o terreno

da Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, desaguando na Baía de Guanabara, segundo dados da Prefeitura do RJ (2009).

Em seu histórico o Rio Faria Timbó vem sofrendo a ação de fatores antrópicos desde a construção de um aterro na região do Canal do Cunha. Segundo o relato de um dos moradores do local, *"Tudo começou com o aterro que fizeram no bairro do Caju localizado na zona norte do Rio de Janeiro, e depois a refinaria que também foi construída nas proximidades do canal, tudo isso só contribuiu para o estado atual do rio"*, diz Roque, um velho pescador, que aparece no documentário *"É rio ou valão?"*, produzido pela Vídeo Saúde Distribuidora do ICICT/Fiocruz (2017).

Prejudicado com a poluição do rio, o pescador cita também a dificuldade que é hoje em dia encontrar peixes nadando no canal, afirmando ter que *"remar de 30 minutos à 2 horas para fora do Canal do Cunha"* para encontrá-los. Isso é só uma parte da história de como o aterramento do Canal do Cunha foi feito há alguns anos atrás (ICICT, 2017).

Os principais fatores antrópicos observados no Rio Faria Timbó são a poluição proveniente de efluentes industriais e rejeitos domésticos lançados pela população e o aterramento proveniente de obras no entorno, o deixando tão raso a ponto de não permitir a passagem de nenhuma embarcação (DIAS; CUNHA, 2017).

Deste modo é importante compreender melhor a poluição dos rios e tais fatores antrópicos.

## 3.2 A POLUIÇÃO DOS RIOS

Poluição é o termo usado para se referir a um conjunto de rejeitos despejados em determinado lugar, tornando assim tal local poluído. Esses rejeitos podem ser formados por efluentes industriais, efluentes residenciais, despejos de lixo, atividade humana e etc., e quando se tem uma via específica destinada a receber esse tipo de rejeitos, industriais e humanos, formada por um corpo hídrico, chamamos esse "efluente fluvial" de esgoto ou "valão".

### 3.2.1 Poluição e transformações sofridas pelos rios da Sub-bacia do Canal do Cunha

O conhecimento dos traçados dos rios urbanos e das transformações sofridas por eles ao longo do tempo fazem com que projetos de preservação ambiental possam ser propostos e desenvolvidos, para recuperação de drenagem e renaturalização desses recursos, possibilitando colocar em prática ações de planejamento urbano visando melhorias sociais e ambientais (DIAS; CUNHA, 2017).

Os rios que compõem a Sub-bacia do Canal do Cunha e deságuam na Baía de Guanabara apresentam transformações fluviais e poluição, como resultado das intervenções antrópicas (Figura 4) (DIAS; CUNHA 2017).

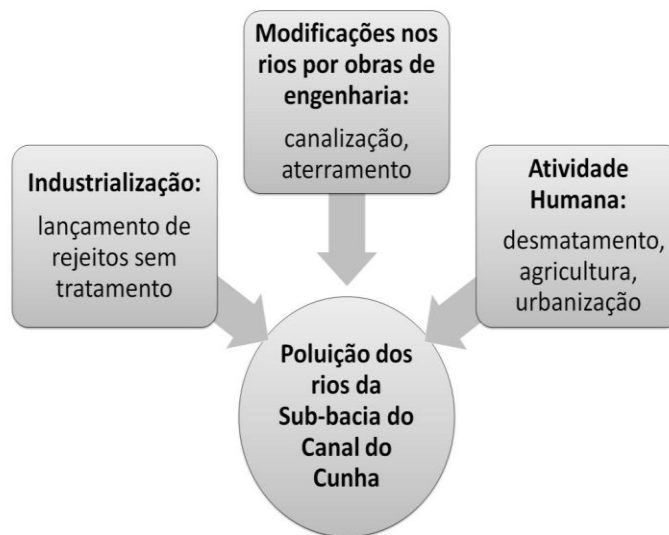


Figura 4: A poluição das bacias hidrográficas como resultado das intervenções antrópicas.

Essas modificações das características naturais dos rios que compõem essa região ocorreram ao longo do tempo, desde o início da colonização, se intensificando principalmente no final do século XIX e início do século XX. Essas alterações se deram pelas obras de canalização e drenagem urbana executadas pelos municípios, pelas Comissões de Saneamento, como a da Baixada Fluminense, e por agências federais, como o Departamento Nacional de Obras e Saneamento, DNOS, o que trouxe muitas mudanças nesse período (SAMPAIO, 2003).

Nas áreas mais urbanizadas muitos rios foram canalizados ou cobertos por ruas, se tornando parte do sistema de drenagem, além de ter em suas margens intensa e irregular ocupação do território, o que causou grande impacto na qualidade da água (DIAS; CUNHA, 2017).

É importante compreender alguns desses impactos, relacionando-os com a saúde do ambiente e da população do entorno.

### 3.2.2 A poluição no Canal do Cunha

O trecho denominado Canal do Cunha hoje é uma das vias fluviais mais poluídas dentre as outras que compõem a sub-bacia de mesmo nome (Figura 5). Sendo o produto da atividade humana, aterramento proveniente de obras de urbanização e da poluição industrial, essa via fluvial tem um enorme impacto na saúde e vida da população que vive às suas margens.



Figura 5: Foto de trecho do Canal do Cunha poluído, por Raine Robichaud, 2017.

O estado atual desse trecho do rio foi recentemente discutido quando, nas Olimpíadas de 2016, atletas que estavam competindo em modalidades como canoagem, foram submetidos ao contato direto com a poluição presente na Baía de Guanabara, o que se tornou assunto conhecido mundialmente (LIMA, 2016).

Apesar da poluição visível, ainda existem trechos do Canal do Cunha que são utilizados para atividades recreativas, em sua maioria, por crianças moradoras do entorno. *“Esse rio sara as feridas, sabia? Quando estou com algum machucado, venho aqui e pulo na água. É remédio, cura na hora”* diz Leonardo, 15 anos, morador da comunidade do Mandela, em entrevista ao “Jornal O Globo” após se jogar de um trampolim dentro do Canal do Cunha, que beira a comunidade de Manguinhos e a FIOCRUZ, alegando a cura de machucados após saltar no rio completamente poluído (BRISO, 2015).

### 3.3 A IMPORTÂNCIA DE ESTUDAR OS RIOS

A água é um recurso hídrico natural limitado no planeta utilizado diariamente, já que é um fator importante para a sobrevivência dos seres vivos. É geralmente encontrada em mares, rios e lagos em abundância, sendo apenas 3,5% desse recurso composto de água doce, ou seja, naturalmente própria ao consumo e conseqüentemente à sobrevivência (GOMES, 2012).

A água pode ser utilizada tanto para recreação quanto para consumo, e como não é ilimitada, deve ser conservada ao máximo pelo ser humano, que controla e utiliza tal recurso. A sobrevivência da espécie, futuramente, vai depender de como estamos tratando esse recurso nesse momento, pois como a água é um fator de sobrevivência utilizado por todos diariamente, pode ser também um mecanismo de disseminação de qualquer contaminante que chegue ao mesmo, se tornando um meio propício a surtos e emergência de doenças (BRASIL, 2006).

A importância de estudarmos o quanto algum rio foi poluído vem da necessidade de saber o quanto fatores antrópicos podem interferir ou prejudicar tal corpo hídrico, e conseqüentemente, o corpo hídrico em questão será considerado ou não, um risco em potencial à saúde da população (DIAS; CUNHA, 2017)

O conhecimento dos rios urbanos e das transformações sofridas por eles ao longo do tempo faz com que projetos de preservação ambiental possam ser propostos e desenvolvidos para recuperação de drenagem e renaturalização desses recursos. É um conhecimento que deve ultrapassar as barreiras dos saberes científicos para serem postas em prática ações de planejamento urbano visando melhorias sociais e ambientais (DIAS; CUNHA, 2017).

### 3.4 OS POSSÍVEIS RISCOS DA POLUIÇÃO DOS RIOS À SAÚDE

Um dos maiores meios de disseminação de doenças é a água, logo, podemos considerar que rios, lagos e mares, que são fontes abundantes de água, são um meio de contaminação em potencial, considerando a vasta extensão que um rio pode percorrer e seu volume (FACHIN, 2015).

Considerando que um indivíduo contaminado com alguma doença infecto-contagiosa teve contato com algum tipo de corpo hídrico, e que esse corpo hídrico é usado como fonte de água potável para uma população, logo, parte desta poderá estar contaminada com a mesma doença, que se tornará epidêmica. Medidas de controle devem ser estabelecidas de forma a impedir ou controlar que tal doença se dissemine para toda a população (VIEIRA, 2015).

Tendo em vista que a água poluída pode se tornar um meio de contaminação em massa é muito importante que tal recurso hídrico esteja sempre em condições adequadas para o contato com a população.

### **3.4.1 Doenças associadas à poluição da água**

A água pode se tornar um meio de transmissão de grande número de enfermidades ao ser humano, e isso pode ocorrer de várias formas: por ingestão ou contato, pela falta de água ou quando ela se torna um meio propício para reprodução de vetores transmissores de doenças. Por isso é muito importante ter uma água de abastecimento de qualidade (BRASIL, 2006).

Ao ingerir ou entrar em contato com água contaminada, o indivíduo pode adoecer devido a algum componente nocivo que estava presente. Por outro lado, quando a quantidade de água é insuficiente, problemas com a higiene pessoal e de utensílios domésticos podem ocorrer, o que também está relacionado ao surgimento de doenças (BRASIL, 2006).

A água também pode se tornar meio propício para o desenvolvimento de organismos transmissores de doenças. Um exemplo disso é a transmissão da dengue pelo Mosquito *Aedes aegypti*, que tem a reprodução de suas larvas em água parada, o que é atualmente um grave problema de saúde pública no Brasil (LENZI, 2008).

A poluição de rios, lagos e mares podem ser consideradas um fato “alarmante” para a saúde da população, pois, uma vez que se tem um corpo hídrico infectado com algum patógeno infeccioso, pode-se desencadear um surto de alguma doença afetando grande parte da população, que se não for controlado, pode chegar a virar uma “epidemia<sup>3</sup>” ou até mesmo uma “pandemia<sup>4</sup>”, no caso da população de um continente (LUNA, 2013).

Hepatite A, Cólera e algumas gastroenterites são exemplos de doenças de veiculação hídrica que, se não controladas por órgãos públicos, podem vir a acarretar surtos provenientes da contaminação por águas fluviais.

#### **3.4.1.1 Hepatite A**

A Hepatite A é uma doença causada pelo vírus da Hepatite A, que causa uma inflamação crônica no fígado, e pode chegar a causar a morte se não tratada. Após evoluir

---

<sup>3</sup> Epidemia é doença de caráter transitório, que atinge simultaneamente grande número de indivíduos em uma determinada localidade

<sup>4</sup> Pandemia é uma epidemia de doença infecciosa que se espalha entre a população localizada em uma grande região geográfica como, por exemplo, um continente, ou mesmo o planeta.

para uma “cirrose hepática”, acaba por desencadear a fibrose do tecido e a formação de nódulos que dificultam a circulação sanguínea, o que pode levar a falência total do órgão, necessitando de um transplante ao paciente. A Cirrose faz o fígado produzir tecido conjuntivo de cicatrização (cartilagem) ao invés de células saudáveis, que morrem (FERREIRA, 2004).

#### 3.4.1.2 Cólera

A Cólera é uma infecção do intestino delgado causada por algumas estirpes das bactérias *Vibrio cholerae*. Os sintomas podem variar entre nenhum, moderados ou graves. O sintoma clássico é a grande quantidade de diarreia aquosa com duração de alguns dias (GEROLOMO, 2000).

#### 3.4.1.3 Gastroenterite

Gastroenterites são inflamações do trato gastrointestinal, causadas por vírus distintos como Rotavírus e Adenovírus (vírus estudados nesse trabalho) que afetam o estômago e o intestino delgado. Os sintomas mais comuns são diarreia, vômitos e dor abdominal. Outros possíveis sintomas incluem febre, falta de energia e desidratação (distúrbio eletrolítico) proveniente da diarreia, que pode levar até a morte do paciente (VIEIRA, 2012).

### 3.5 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Os parâmetros físico químicos estão relacionados às propriedades físicas e químicas da matéria, e sua determinação. As propriedades físicas podem ser medidas sem que ocorra alteração da natureza da matéria, como temperatura, densidade, pontos de fusão e ebulição, cor, solubilidade, etc. As propriedades químicas estão relacionadas à composição química das substâncias e a sua capacidade em sofrer transformações (REIS, 2013).

A água é considerada um solvente universal, e isso se deve à sua capacidade em dissolver gases como oxigênio e gás carbônico, e outras substâncias químicas, que têm grande importância na determinação da sua qualidade. A solubilidade dessas substâncias está associada principalmente a fatores como o pH e a temperatura do meio (BRASIL, 2006).

No caso dos rios, entre as substâncias que podem estar dissolvidas na água, merecem destaque: os gases, como oxigênio e gás carbônico; os nutrientes responsáveis pela eutrofização<sup>5</sup>, substâncias que contêm nitrogênio (amônia, nitritos, nitratos) ou fósforo

---

<sup>5</sup> Eutrofização é o processo pelo qual um corpo hídrico adquire níveis altos de nutrientes, o que provoca um acúmulo de matéria orgânica em decomposição.

(fosfatos); compostos metálicos (metais pesados provenientes de rejeitos industriais, sódio, ferro); substâncias orgânicas e sais, como carbonatos, sulfatos, cloretos. Estas substâncias dissolvidas podem ser utilizadas para a avaliação da qualidade de uma amostra de água (BRASIL, 2006).

Os parâmetros físico-químicos preconizados pela Legislação do CONAMA nº 357/2005, para definir os padrões de balneabilidade da água de um rio, são os materiais flutuantes que podem estar presentes, como espumas de natureza desconhecida, óleos e graxas; substâncias que apresentem gosto ou odor; corantes provenientes de fontes antrópicas; resíduos sólidos; oxigênio dissolvido; demandas bioquímica e química de oxigênio (DBO e DQO); turbidez; cor verdadeira (nível de cor natural da matriz aquática) e pH.

Neste trabalho serão estudados o pH e as DBO e DQO.

### **3.5.1 pH**

Potencial hidrogeniônico, ou pH, é a concentração de íons hidrônio (íons  $H^+$ ) em uma solução aquosa, indicando o seu caráter ácido, básico ou neutro. Na escala de pH, um valor igual a 7 indica um potencial hidrogeniônico neutro; de 0 a 7 indica uma solução ácida, e de 7 a 14, uma solução básica (JOHNSON, 1997).

### **3.5.2 DBO e DQO**

A Demanda Química de Oxigênio (DBO) se refere à quantidade de oxigênio consumido por micro-organismos aeróbicos, ou seja, mede a demanda de oxigênio proveniente destes no consumo de matéria biodegradável.

A Demanda Química de Oxigênio (DQO) se refere à quantidade de oxigênio consumido, em meio ácido, para que ocorra a oxidação da matéria orgânica presente no meio. Diferente da DBO é uma oxidação química que reflete a quantidade total de componentes oxidáveis, como carbono e hidrogênio (JOHNSON, 1997).

## **3.6 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS**

Os parâmetros microbiológicos são todos os que remetem à presença de um determinado patógeno, ou à carga microbiótica deste patógeno presente no meio, seja ele um vírus ou bactéria (BRASIL, 2006).

Há também parâmetros utilizados como “marcadores microbiológicos”, que são micro-organismos indicadores de algum tipo de contaminação no meio de interesse, ou seja, é um micro-organismo que se encontrado em determinada matriz, na qual habitualmente não deveria estar presente, indica a contaminação de tal matriz por algum tipo de efluente,

apontando também o quanto tal matriz foi contaminada, provendo dados quantitativos de contaminação (BRASIL, 2006).

Os parâmetros microbiológicos preconizados pela Legislação do CONAMA nº 274/2000 são coliformes termotolerantes (bactérias que se originam do intestino de animais de sangue quente), como *Escherichia coli*, e enterococos.

### **3.6.1 Coliformes fecais**

Coliformes fecais era o termo utilizado antigamente para se referir ao coliforme termotolerante *Escherichia coli*, já que hoje o grupo dos coliformes fecais abrange outros gêneros de bactérias, como enterobactérias. Porém, o termo ainda hoje é utilizado na determinação qualitativa e quantitativa da *E. coli* pois, sendo um marcador microbiológico, é um importante indicativo na identificação de contaminação por esgoto em matriz aquosa (BARBIERI, 2013).

### **3.6.2 Vírus**

Vírus são pequenos parasitas intracelulares formados basicamente por genoma e capsídeo. Um vírus pode ser patogênico ou não, isto é, pode ser ativo ou inativo. Se um vírus encontrado em determinado meio estiver inativado, tal meio não oferece riscos à saúde. Porém, nem todos os métodos analíticos identificam vírus com potencial patogenicidade, sendo necessária a realização de uma técnica chamada PCR em tempo real, método de identificação do vírus íntegro, para a determinação quantitativa de carga viral presente na matriz (qPCR) (ITURRIZA-GÓMARA, 2002).

Supondo que uma PCR comum identifique apenas proteínas, que em parte, tenham uma sequência de bases nitrogenadas iguais às de um determinado vírus, tal PCR teria resultado positivo, entretanto, é pouco provável que uma PCR tenha resultado positivo sem conter de fato alguma carga viral, considerando o tamanho de um vírus (ITURRIZA-GÓMARA, 2002).

Os vírus estudados nesse trabalho são o Adenovírus, que de acordo com o sistema proposto por Baltimore, pertencem ao grupo I, DNA dupla hélice linear, não envelopado e, por conta disso, são extremamente resistentes e o Rotavírus, que de acordo com a classificação proposta por Baltimore, pertencem ao grupo III, com RNA fita dupla, não envelopado, e extremamente resistente (MADIGAN, 2004; VIEIRA, 2012).

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS**

Para a determinação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água do rio Faria Timbó, no trecho do Canal do Cunha, foram seguidos os critérios definidos pelas Resoluções CONAMA nº 274, que *Define os Critérios de balneabilidade em águas brasileiras* (CONAMA, 2000) e nº357, que *Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes* (CONAMA 2005). A coleta e análise das amostras de água foi realizada em parceria com o Departamento de Saneamento e Saúde ambiental, DSSA, com o Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, CESTEHL, da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, ENSP, e com o Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental, LVCA, do Instituto Oswaldo Cruz, IOC.

### **4.1. COLETA DAS AMOSTRAS**

A coleta das amostras foi realizada superficialmente e em profundidade com o auxílio de uma vara, de aproximadamente 5 metros de comprimento, com um recipiente de plástico acoplado em sua ponta de aproximadamente 1L, apropriado para esse fim. Para a coleta de maiores volumes, utilizou-se um balde de aproximadamente 15L e uma corda de aproximadamente 15 metros de comprimento para a sua suspensão. Foram definidos dois pontos de coleta de amostras, às margens do Canal do Cunha, no trecho que compreende o Campus FIOCRUZ: o primeiro, próximo ao Centro Tecnológico de vacinas, CTV, da Unidade Bio-Manguinhos – “bifurcação” (Ponto 1), e o segundo próximo a Avenida Leopoldo Bulhões – ponte em frente à EPSJV (Ponto 2).

Os pontos de coleta foram definidos com o intuito de contemplar, nas determinações de parâmetros físico-químicos e microbiológicos, tanto pontos em que se observam os moradores se banhando no local, quanto os pontos em que não se observa essa atividade, construindo assim uma amostra representativa do Rio, em um dado momento e condição climática. Foi obtida essa “fotografia” do Rio em duas estações climáticas: chuvosa (período de outubro a dezembro) e seca (de junho a setembro).

Para a coleta foram tomadas medidas de Biossegurança, como o uso do Equipamento de Proteção Individual, EPI, adequado (luvas, botas, jaleco, calça comprida, máscara) e a proteção vacinal (vacina contra a hepatite A). Os frascos para a coleta das amostras de determinações microbiológicas foram previamente esterilizados a 121°C por 15 minutos. Para as determinações físico-químicas, os frascos foram limpos, imersos em solução de detergente

neutro por 24 h, enxaguados abundantemente com água da torneira, rinsados com água purificada por três vezes e secos à temperatura ambiente.

Um volume total de 23L de amostra de água foi coletado e distribuído de acordo com o esquema representado na Figura 6:

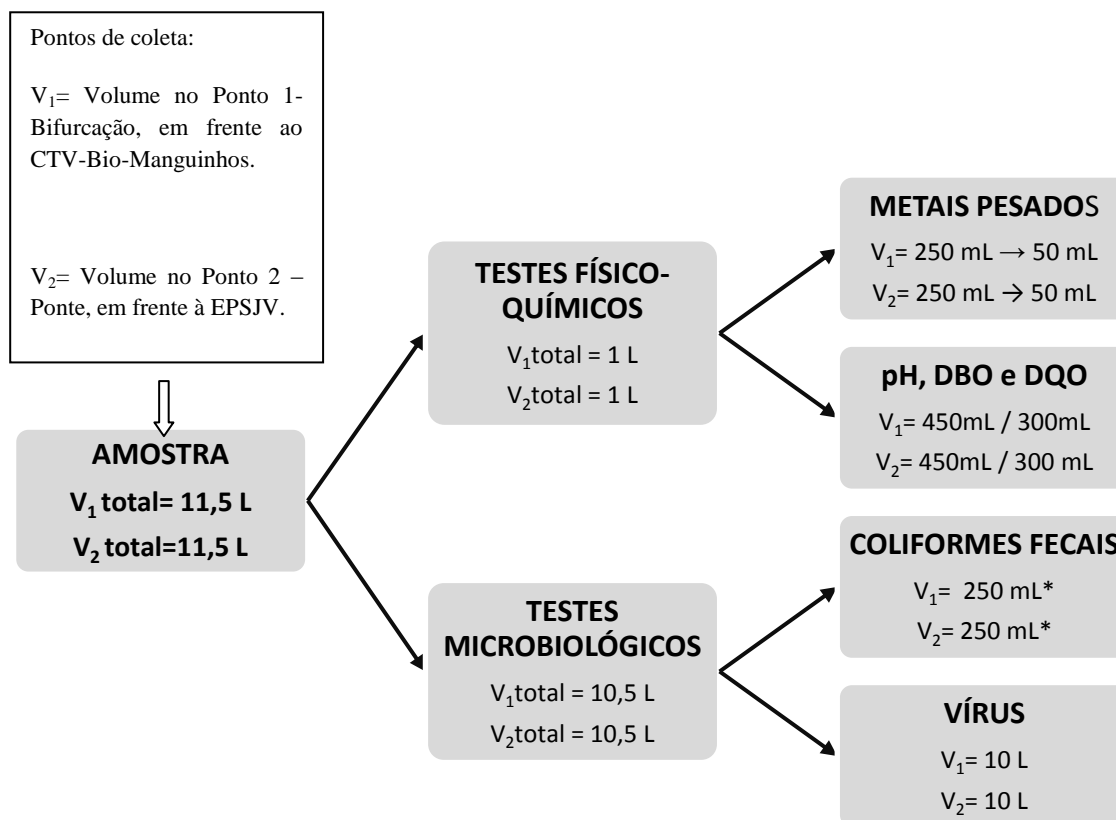


Figura 6: Esquema de coleta de amostras de água do rio para análise físico-química e microbiológica.

Tais coletas foram realizadas em parceria com a equipe do Departamento de Saúde e Saneamento Ambiental, DSSA, da ENSP e junto ao Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental, LVCA, do IOC.

## 4.2 pH

### 4.2.1 Material, reagentes e equipamentos

O parâmetro físico-químico potencial hidrogeniônico (pH) foi medido com um medidor de bancada multiparâmetros Orion Versa Star Pro pH /ISE/Condutividade/Oxigênio Dissolvido (Thermo Scientific), e seguindo as orientações do fabricante, seu eletrodo medidor de pH, foi calibrado com soluções tampão de pH 4,0 (Merck KgaA, Germany), pH 7,0 (Merck KgaA, Germany) e pH 10,0 (Merck KgaA, Germany).

### 4.2.2 Metodologia

A metodologia seguida para as análises de pH foi realizada de acordo com a metodologia descrita no *Standard methods for the examination of water and wastewater (2001)*. Inserido, na amostra pura, o eletrodo medidor de pH, previamente calibrado com as soluções tampão, como orientado pelo fabricante, foi então realizada a medição do pH de cada amostra. Cada medição de pH foi realizada em até 40 minutos após a coleta, para evitar ao máximo mudança do pH no meio, proveniente da metabolização de bactérias presentes.

## 4.3 DQO E DBO

### 4.3.1. Material, reagentes e equipamentos

Os reagentes utilizados nas determinações de DBO e DQO estão listados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Reagentes utilizados nas determinações de DBO.

Nome da Solução	Reagente utilizado	Marca do Reagente	Massa (g)	Volume final da solução (mL)
Solução tampão fosfato	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Merck	1,01	50
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Merck	0,4	
	NH <sub>4</sub> Cl	Merck	0,1	
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> +H <sub>2</sub> O	Merck	1,7	
Cloreto férrico	FeCl <sub>3</sub>	Across	0,013	50
Sulfato Magnésio	MgSO <sub>4</sub>	Scharlau	1,125	50
Cloreto de Cálcio	CaCl <sub>2</sub>	Merck	1,38	50

Tabela 2: Reagentes utilizados nas determinações de DQO.

Solução produto	Nome da solução	Reagente utilizado	Marca do reagente	Quantidade do reagente	Volume final da solução (mL)
Solução digestora (faixa baixa)	Dicromato de Potássio	$K_2Cr_2O_7$	Merck	2,07g	2000
	Sulfato de Mercúrio	$Hg_2SO_4$	Neon	66,6g	
	Ácido Sulfúrico	$H_2SO_4$	Merck	334mL	
Solução digestora (faixa alta)	Dicromato de Potássio	$K_2Cr_2O_7$	Merck	20,7g	2000
	Sulfato de Mercúrio	$Hg_2SO_4$	Neon	66,6g	
	Ácido Sulfúrico	$Hg_2SO_4$	Merck	334mL	
Solução catalítica	Sulfato de Prata	$Ag_2SO_4$	Neon	30,3g	3000
	Ácido Sulfúrico	$Hg_2SO_4$	Merck	2000mL	
	Ácido Sulfúrico	$Hg_2SO_4$	Merck	1000mL	
Solução padrão (500mg/L)	Biftalato de Potássio	$C_8H_5KO_4$	Neon	4g	1000
Solução padrão (50mg/L)	Biftalato de Potássio	Solução padrão (500mg/L)	Neon	1mL	100

Para a determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio, foram utilizados frascos graduados, com volume de 300 mL, identificados com numeração e conteúdo exatos (A identificação de cada frasco se dava pela numeração e capacidade máxima, pois os volumes de cada frasco divergiam, mas eram necessários para o cálculo de quanto a amostra foi diluída em cada frasco). Foi colocada em um barrilete de 10L água ultrapura de tipo 1, e adicionados os reagentes citados na tabela 1. Com o auxílio de um equipamento de aeração, tal água foi posta em contato constante com o ar (predominantemente  $O_2$ ), para que seu meio ficasse rico em Oxigênio e outros gases como  $CO_2$ , durante aproximadamente 20 horas, e em seguida deixada em repouso durante 4 horas. Para a medida do Oxigênio Dissolvido (OD) foi utilizado um Medidor de Bancada Multiparâmetros Orion Versa Star Pro pH/ISE/Condutividade/Oxigênio Dissolvido (Thermo Scientific).

Para as determinações de Demanda Química de Oxigênio, foram utilizadas solução padrão de Biftalato de Potássio (50mg/L), uma solução com 2 mL de amostra, 2,8 mL de solução catalítica e 1,2 mL da solução digestora (faixa alta), citadas na tabela 2. Para a digestão das amostras foi utilizado um termobloco COD Reactor (Hach), e para as análises espectrofotométricas, um espectrofotômetro Libra 560 (Bio Chrom).

A separação e quantificação dos componentes das amostras foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência. O software Microsoft Office Excel foi utilizado para a construção dos gráficos da curva padrão e cálculos da DBO e DQO nas amostras.

### **4.3.2 Metodologia**

#### 4.3.2.1 Determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

A determinação da DBO foi realizada, no Laboratório Físico-Químico do DSSA, ENSP, em três momentos distintos (“fotografias”), de acordo com a metodologia descrita no *Standard methods for the examination of water and wastewater (2001)*, sendo a metodologia a seguir utilizada para as duas primeiras “fotografias” do rio, e para a última, foi utilizada uma metodologia adaptada para tais análises, com base no experimento feito com a “semente”, totalizando, assim, três “fotografias” do rio e duas análises à parte, para a obtenção de dados.

Para a determinação da DBO em efluentes quase nunca se usa uma diluição apenas, levando em consideração a instabilidade da matriz manipulada. Assim, foram feitas triplicatas de cada diluição, volumes de 10 mL, 20 mL, e 40 mL de amostras, diluídas no volume total de cada frasco. Esse ensaio foi repetido para cada ponto de coleta, ou seja, pontos 1 e 2, totalizando assim vinte e um frascos de ensaio (sendo dezoito para as diluições das duas amostras e três para o ensaio em branco). O ensaio em branco foi feito a partir da água aerada citada no item 4.3.1 utilizada para as diluições.

Foram então completados, com a água aerada, todos os outros dezoito frascos, e medidos, de todos os vinte um, o OD presente em cada frasco. Após as medidas, os frascos do ensaio foram incubados a 19,9°C por cinco dias.

Após cinco dias, foi medido o OD contido em cada frasco novamente (Figura 7). Tais medições são realizadas em triplicata, para cada frasco, para a obtenção de uma média entre os três valores obtidos em cada ensaio. Procura-se nesse tipo de medida a depleção da concentração de OD, determinando assim o oxigênio consumido por micro-organismos aeróbicos, isto é, a Demanda Bioquímica de Oxigênio.



Figura 7: Foto da determinação de DBO: medição do Oxigênio Dissolvido.

#### 4.3.2.2 Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A determinação da DQO foi realizada de acordo com a metodologia descrita no *Standard methods for the examination of water and wastewater (2001)*, sendo a metodologia a seguir utilizada para as duas primeiras “fotografias” do rio, e para a última “fotografia”, foi utilizada uma metodologia adaptada para tais análises com base no experimento feito com a “semente” totalizando, assim, três “fotografias” do rio e duas análises à parte, para a obtenção de dados sobre o rio.

Foram separados nove tubos de ensaio para as análises cromatográficas (*High Performance Liquid Chromatography, HPLC*), sendo três para a primeira amostra, três para a segunda, ambos os frascos com a solução produto de DQO citadas no item 4.3.1, e mais três para a solução padrão de Biftalato de Potássio (50mg/L) citada na tabela 2. Os nove tubos de ensaio foram colocados em um termobloco a 150°C por uma hora.

Após a retirada dos tubos do termobloco, deixou-se esfriar em repouso por aproximadamente 15 minutos, e então foram realizadas as medidas no espectrofotômetro, ajustado para o comprimento de onda de 600 nm, após zerar o espectrofotômetro com água purificada. Foi utilizada a técnica de medida em mais de uma posição do tubo de ensaio, fazendo-o rotacionar aproximadamente 10°, a cada leitura, em um mesmo sentido (horário ou anti-horário) até completar uma rotação completa de 360°. O intuito dessa técnica foi evitar a leitura inespecífica no espectrofotômetro, por conta de “arranhões” nas paredes do tubo de ensaio utilizado, buscando sempre a menor medida possível ou a medida que menos foi impactada pelas ranhuras espalhadas pela superfície do tubo.

## 4.4 COLIFORMES FECAIS

### 4.4.1 Material, reagentes e equipamentos

Frascos esterilizados (como descrito no item 4.1) foram utilizados para a diluição das amostras, padrões e ensaio em branco. Foi utilizada água fosfatada, tampão fosfato de pH 7, para diluição das amostras. Como controle positivo foi utilizada a bactéria *E. Coli*; como controle negativo, *Staphylococos*; e para o ensaio em branco foi utilizada água ultrapura. Como equipamento de proteção coletivo foi utilizada a cabine de segurança biológica Herques Instruments, modelo Hera Safe. Para a determinação quantitativa do marcador microbiológico *E. Coli* (coliforme fecal) foi utilizado o kit Colilert®-18 Quanti-Try®/2000 (IDEXX Laboratories, Westbrook, EUA), seguindo as orientações do fabricante. Uma seladora IDEXX Laboratório, modelo Quanti-Try Sealer 2x foi usada para selagem das galerias.

### 4.4.2 Metodologia

As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de microbiologia do DSSA da ENSP. Para a identificação e determinação quantitativa do marcador microbiológico *E. Coli* (coliforme fecal) foram seguidas as orientações do fabricante do Kit utilizado. O método se baseou na quantificação visual de coliformes totais, emitindo pigmentação alaranjada, quando presente no meio, e a quantificação de *E. coli* pela emissão de fluorescência, quando há bactérias do grupo dos coliformes.

#### 4.4.2.1 Otimização do sistema de diluições das amostras para a identificação e quantificação de coliformes fecais

Considerando que a água do rio é uma matriz complexa foi necessário otimizar a metodologia e a faixa de diluições de trabalho para as amostras coletadas.

Assim, foram transferidos 10 mL de uma amostra, coletada especificamente para essa otimização, para 90 mL de água fosfatada (tampão fosfato, de pH 7), produzindo assim uma diluição da ordem de  $10^{-1}$ ; então, seguiu-se com a diluição seriada da amostra, de acordo com o esquema seguinte (Figura 8):

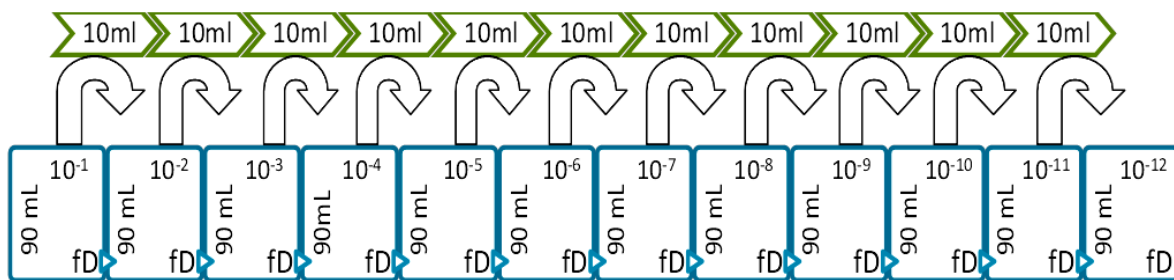


Figura 8: Esquema de diluição seriada das amostras de água do rio, onde  $10^{-n}$  é o fator de diluição e fD é o frasco para a realização da diluição.

Após a amostra ser diluída até a ordem de  $10^{-12}$ , foram obtidos frascos com diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-11}$  com 90 mL da solução produto, e um único frasco com diluição de  $10^{-12}$  e 100 mL da solução produto. Seguindo as orientações do fabricante do kit utilizado, e seguindo a demanda de usar principalmente as diluições de  $10^{-6}$  a  $10^{-11}$  para as leituras, um maior volume das diluições compreendidas nessa faixa de concentração foi produzido, de acordo com o esquema a seguir (Figura 9):

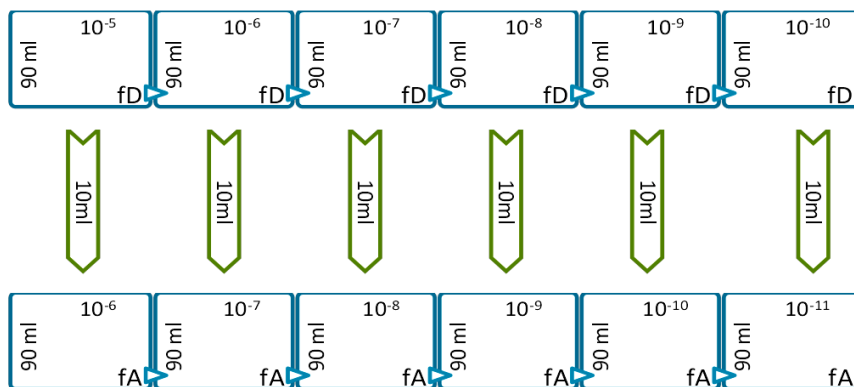


Figura 9: Esquema de produção de volumes adicionais de soluções da amostra diluídas na faixa de  $10^{-6}$  a  $10^{-11}$ , onde fD é o frasco para a realização da diluição e fA o frasco para a realização da análise.

Após a diluição das amostras, foram preparados três frascos controle, sendo o controle positivo *E. Coli*, o negativo *Staphylococos* e o ensaio em branco. Foi inserido um de substrato cromógeno para a detecção e quantificação visual da *E. Coli* por emissão de fluorescência e identificação e quantificação visual por coloração normal, da presença de coliformes totais em todos os frascos utilizados no experimento.

Os conteúdos de todos os dez frascos (sete frascos com diluições de  $10^{-6}$  a  $10^{-12}$  e os controles positivo, negativo e branco) foram colocados em suas respectivas galerias, devidamente identificadas, para a realização da análise quantitativa de *E. Coli* e coliformes totais. A leitura das galerias foi realizada após 24 horas de incubação a  $37^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.4.2.2 Metodologia de diluição das amostras para a realização das análises

Foram transferidos 10 mL da amostra para 90 mL de água fosfatada (tampão fosfato pH 7), produzindo assim uma diluição da ordem de  $10^{-1}$ ; então, seguiu-se com a diluição seriada da amostra, de forma a obter diluições na faixa otimizada compreendida entre  $10^{-1}$  e  $10^{-6}$  (Figura 10).

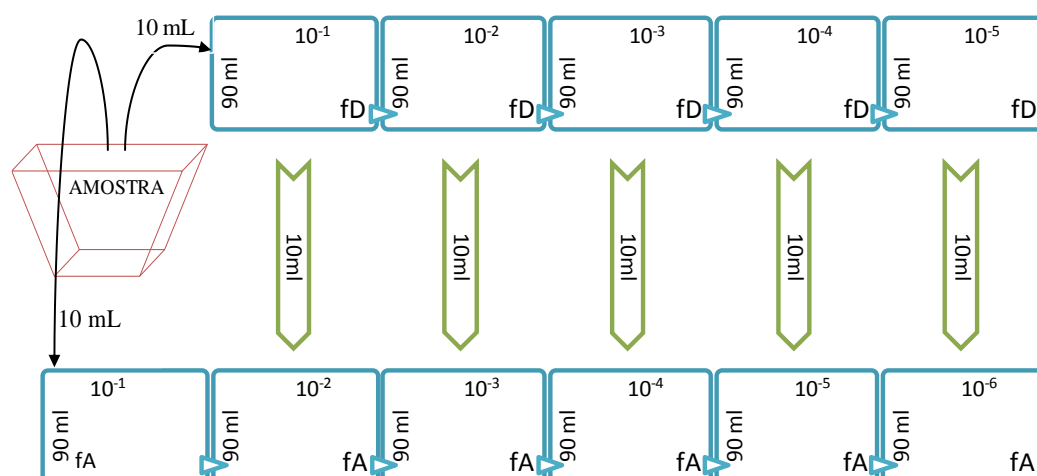


Figura 10: Esquema de diluição seriada da amostra de água do rio, onde fD é o frasco para a realização da diluição e fA o frasco para a realização da análise.

Foi utilizado o kit Colilert®-18 Quanty-Try®/2000, segundo as orientações do fabricante, para a determinação de *E. Coli* nas amostras e nos controles positivo, *E. Coli*, negativo, *Staphylococcus*, e no ensaio em branco.

Foi inserido um substrato cromógeno liofilizado, para a detecção e quantificação visual da *E. Coli* por emissão de fluorescência e identificação e quantificação visual por coloração, sem a emissão de fluorescência, da presença de coliformes totais em todos os frascos utilizados no experimento. Os conteúdos de todos os dez frascos (sete frascos com diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  e os controles positivo, negativo e branco) foram colocados em suas respectivas galerias, devidamente identificadas, para a realização da análise quantitativa de *E. Coli* e coliformes totais. A leitura das galerias foi realizada após 24 horas de incubação a  $37^{\circ}\text{C}$ .

## 4.5 VÍRUS

### 4.5.1 Material, reagentes e equipamentos

Para a higienização dos recipientes das amostras foram utilizadas soluções de hipoclorito a 2,5% (Merck), álcool a 70% e água tridestilada. Duas bombonas de 10L de capacidade foram usadas para a homogeneização das amostras em homogeneizador eletrônico magnético modelo Isotemp (Fisher Scientific). Ácido clorídrico a 10% foi utilizado para a correção do pH das amostras. Para a correção da condutividade foi usada uma solução salina liofilizada. Frascos eppendorf de 1,8 mL de capacidade foram utilizados como recipiente de coleta. Pipetas com capacidade de 5 mL e 20 mL, foram utilizadas para as pipetagens. Um pipetador eletrônico Accu-Jet pro (Brand), foi utilizado para auxiliar nas pipetagens. A condutividade, pH e temperatura das amostras foram medidos em um pHmetro e um medidor de condutividade, ambos da marca Quimis. Para a pesagem dos reagentes foi utilizada uma balança analítica. Uma mini-centrífuga modelo Verson Hills Illinois (Cole Parmer), e uma ultracentrífuga modelo Avanti J-26 xp centrifuge (Beckman Coulter) foi usada para a centrifugação das amostras. Para a Extração de ácido nucleico e análises de PCR, foram utilizadas micropipetas da marca Brand de capacidades 10, 100 e 1000 uL, uma cabine de segurança Telstar (Bio II A), câmara asséptica Scientech e um termociclador de modelo PROFLEX PCR SYSTEM (Applied Biosystems). A extração de ácidos nucleicos foi feita por kit comercial Qiagen Viral RNA Kit, utilizando uma Cabine de Segurança modelo Telstar (Bio II A). Os reagentes apresentados na Tabela 3 a seguir foram utilizados nas reações de extração.

Tabela 3: Reagentes utilizados na extração de ácidos nucleicos.

<b>Nome do Reagente</b>	<b>Reagentes utilizados</b>	<b>Quantidades utilizadas</b>
Tampão AVL (tampão de lise)	–	4,48 mL
Tampão AVE (tampão de eluição)	–	0,79 mL
Tampão AVE Carrier	Tampão AVE Proteína carreadora de RNA liofilizado	0,31 mL 0,31 g
Tampão AVL Carrier RNA	Tampão AVE Carrier Tampão AVL	0,0448 mL 4,48 mL
Tampão de lavagem 1 (AWI)	Etanol Absoluto AWI	4 mL –
Tampão de lavagem 2 (AWII)	Etanol Absoluto AWII	4,8 mL –
Etanol Absoluto	–	13,28 mL

Para a obtenção de DNA complementar, cDNA, foram utilizados os reagentes da Tabela 4. Os volumes dos reagentes a serem utilizados foram calculados para nove reações, em que seis reações são as amostras, e três os controles negativo e positivo de Rotavírus e Adenovírus.

Tabela 4: Reagentes utilizados na obtenção do cDNA.

<b>Reagentes</b>	<b>Volume (mL)</b>
H <sub>2</sub> O	0,1431
Buffer	0,090
dXTP (2.5mM)	0,036
MgCl <sub>2</sub> (50mM)	0,0135
RT SuperScript III (200U)	0,009
Random Primer (25mM)	0,036
DTT (10mM)	0,009
RANse Out	0,0054
Total	0,342

Para as reações em cadeia de polimerase, PCR, foram utilizados os reagentes da Tabela 5. Os volumes totais foram calculados para oito reações, em que seis reações são amostras, e dois são os controles negativo e positivo para Adenovírus.

Tabela 5: Reagentes utilizados na PCR.

<b>Reagentes</b>	<b>Volume (mL)</b>
PCR Master MIX	0,1
Primer Ad F (22,5 µM)	0,008
Primer Ad R (22,5 µM)	0,008
Sonda Ad P1 (11,5 µM)	0,004
Total	0,12
Amostra	0,01

Para a reação de PCR em tempo real, qPCR, foram utilizados os reagentes da tabela 6. Os valores expressos na tabela foram calculados a partir do volume de reagentes para nove reações, em que seis reações são amostras, e três são os controles positivos Rotavírus e PP7 (controle utilizado na concentração viral), e negativo.

Tabela 6: Reagentes utilizados na qPCR.

<b>Reagente</b>	<b>Volume (mL)</b>
H <sub>2</sub> O RNase Free	0,0176
PCR Master Mix	0,0125
Primer 247 f (10 µM) PP7	0,00125
Primer 320 r (10 µM) PP7	0,00125
Probe 274 p (10 µM) (FAM e TAMRA)	0,0003
Primer NSP3 F (10 µM) Rotavirus	0,001
Primer NSP3 R (10 µM) Rotavirus	0,001
Probe NSP3 S (10 µM) (VIC e NONE)	0,0005
Total	0,16

## 4.5.2 Metodologia

### 4.5.2.1 Determinação da condição das amostras

A metodologia para a identificação de vírus como Rotavírus e Adenovírus foi realizada logo após a coleta das amostras, no Laboratório de Virologia Comparada e Ambiental, LVCA, do IOC. Foi realizada a higienização do recipiente das amostras, de acordo com o protocolo seguido pelo laboratório, com volumes de hipoclorito a 2,5%, água tridestilada e álcool a 70%. Passada a fase de higienização de todo o material utilizado na coleta, pôde-se começar a metodologia de concentração viral. Com a bombona de 10L sendo constantemente homogeneizada, foi iniciado o tratamento das amostras. Foram realizadas medições da condutividade, temperatura e pH das amostras e, logo após esse procedimento para a determinação da condição das amostras, prosseguiu-se com a “floculação”.

### 4.5.2.2 Floculação

A floculação por “Skim Milk” foi descrita por Calgua e colaboradores (2013), e é muito utilizada para a concentração de amostras ambientais de esgotos, considerando a sua natureza, e por ser economicamente mais acessível substituindo, em determinados casos, técnicas como a ultrafiltração descrita por Katayama e colaboradores (2002), com a mesma eficácia.

Foi preparado o chamado “leite desnatado”, um leite industrial (Skim Milk, Becton Dickinson) feito especificamente para esse tipo de procedimento, diluindo-se 100g do mesmo em 1L de H<sub>2</sub>O em homegeinizador magnético, para ser introduzido posteriormente nas bombonas de 10L. O pH das amostras foi medido e ajustado para um valor igual a 3 com HCl 10%. Foi ajustada também a condutividade para 1500 µs/cm introduzindo salina liofilizada. Foi inserido o PP7, uma proteína utilizada como controle na metodologia de concentração viral. Após todo esse tratamento das amostras, deixou-se homogeneizando “over night” (termo utilizado na metodologia para se referir a homegeinização de 8 horas de duração, que sucederia durante a noite, deixando do tempo para a sedimentação completa do concentrado).

Após a homogeneização foi retirado o sobrenadante de cada bombona, e então coletado o *pellet*, corpo de fundo que continha o leite floculado com o vírus, posto em um frasco, e centrifugado a 30.000 rpm durante 30 minutos em ultracentrífuga.

Descartou-se o sobrenadante, com o cuidado para não resuspender o *pellet*, e coletou-se o mesmo das paredes do frasco, após ser diluído em 7 mL de água fosfatada. Com o auxílio de uma pipeta, obteve-se uma solução produto composta por todo o corpo sólido que formava

o *pellet*. Este eluato, então, foi alíquotado em sete tubos eppendorf de 2 mL, contendo em cada tubo, volumes distintos da solução, aproximadamente 1,9 mL da solução em cada tubo.

As amostras foram conservadas, temporariamente, à temperatura de -20°C e depois transferidas para -70°C.

Após, foi feita a higienização de toda a bancada e do material com álcool a 70% e solução de hipoclorito a 2,5%, enxaguando com água da torneira e finalmente com água purificada.

#### 4.5.2.3 Extração de ácido nucleico

Para a extração de ácidos nucleicos (RNA viral) foram pipetados 0,14mL de amostra, volume necessário para a extração, de acordo com o POP preconizado pelo LVCA/IOC. Foram pipetados 0,56 mL do tampão AVL e 0,14 mL de amostra em um eppendorf de 1,5mL, homogeneizada em um agitador magnético por 15 segundos, e deixada a temperatura ambiente por 10 minutos. Após, foi brevemente centrifugada para a remoção de gotículas da tampa, e então adicionado 0,56 mL de etanol 100% e homogeneizada por 15 segundos, sendo novamente centrifugada para a remoção do gotículas da tampa do tubo. Foi transferido, então, 0,56 mL da solução produto para uma coluna com um tubo coletor, sem molhar a borda, e centrifugada por 1 minuto a 8000 rpm. O mesmo foi repetido para o restante da solução, até que fosse utilizada por completo. A coluna foi então transferida para outro tubo coletor e descartou-se o filtrado. Foram inseridos 0,5 mL do tampão de lavagem 1, e centrifugado a 8000 rpm por 1 minuto. Novamente se transferiu a coluna para outro tubo coletor e descartou-se o filtrado e se inseriu 0,5 mL do segundo tampão de lavagem, esse foi centrifugado a 14000 rpm por 3 minutos. Descartou-se o coletor e se centrifugou a coluna em outro tubo, mais uma vez, a 14000 rpm por 1 minuto, com o intuito de não deixar nenhum resíduo do segundo tampão de lavagem, já que o mesmo seria um inibidor de PCR. Por último, se descartou o coletor, e colocou-se a coluna em um microtubo de 1,5 mL, adicionando-se 0,06 mL do tampão Carrier AVE e incubou-se por 1 minuto em temperatura ambiente, sendo após centrifugada a 8000 rpm por 1 minuto. Descartou-se a coluna e armazenou-se o ácido nucleico extraído a -70°C. O mesmo procedimento foi repetido para as seis amostras concentradas, o controle negativo (água tridestilada) e o positivo para Rotavírus.

#### 4.5.2.4 Obtenção do DNA complementar (cDNA)

Utilizando os materiais citados no item 4.5.1 foi previamente preparada o *mix* de reagentes, e então se iniciou a PCR no termociclador nas temperaturas de 25°C por 5 minutos, depois 50°C por 1 hora, 70°C por 20 minutos e 10°C até o termino da reação .O produto foi armazenado a -20°C, até a identificação e quantificação do Rotavírus.

#### 4.5.2.5 Reação em cadeia de polimerase (PCR)

Utilizando os materias citados no item 4.5.1, foi previamente preparado o *mix* com os reagentes, e então pipetada a solução produto em uma placa de 96 poços, sendo 0,12 mL de *mix* para cada amostra, e então iniciada a PCR. Ativação a 50°C por 2 minutos, desnaturação 95°C por 10 minutos, e 40 ciclos de desnaturação a 95°C 15 segundos, e, hibridização e extensão a 60°C por 1 minuto.

#### 4.5.2.6 Reação em cadeia de polimerase, em tempo real (qPCR, Real Time)

Utilizando os materias citados no item 4.5.1, foi previamente preparado a mix com os reagentes, e então pipetados a solução produto em uma placa de 96 poços, sendo inserido 0,02 de mix para 0,005 mL de amostra, e então rodada a qPCR. Ativação 50°C por 2 minutos, desnaturação 95°C por 10 minutos, e então 45 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos e anelamento e extensão a 60°C por 1 minuto.

A principal diferença da técnica de qPCR para a técnica de cPCR é a quantificação, onde se pode acompanhar a partícula íntegra de vírus em tempo real, diferente da cPCR que identifica apenas ácido nucleico.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos e microbiológicos determinados nas amostras de água coletadas são apresentados a seguir na Tabela 7.

Tabela 7: Resultados das determinações de parâmetros físico-químicos e microbiológicos.

TESTES		RESULTADOS		
		1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta
Coliformes	Identificação	Positivo	Positivo	Positivo
	Quantificação	1.504.446	–	1.792.425
Vírus	Rotavírus	Positivo	Positivo	Positivo
	Quantificação	35,3 x 10*	36,68 x 10*	31,015 x 10*
	Adenovírus	Positivo	Positivo	Positivo
pH		6,5	7,3	7,4
DBO (mg/L)		24	26	71
DQO (mg/L)		76	106	81

É importante ressaltar que todos os resultados encontrados correspondem a um valor médio, calculado a partir dos dois resultados obtidos em cada ponto de coleta. Esses dados correspondem a um “retrato” do rio, feito em três momentos, ou três datas de coleta, realizadas no mesmo horário, porém em diferentes períodos do ano caracterizados por chuva ou seca.

### 5.1 COLIFORMES FECAIS

O valor de coliformes fecais é expresso em relação ao Número Mais Provável de *E. Coli* por 100 mL de amostra (NMP/100mL). Os resultados das determinações de coliformes fecais foram obtidos a partir dos três procedimentos distintos realizados: um teste para otimização dos valores das diluições, e dois experimentos utilizando os fatores de diluição otimizados.

No primeiro teste realizado para capacitação e otimização, em que se diluiu a amostra até o fator de diluição  $10^{-12}$ , levando em consideração, em princípio, a natureza da amostra comparada à de esgoto bruto, os resultados microbiológicos obtidos nesta etapa foram fora do esperado, pois consideramos que foram selecionadas as maiores diluições ( $10^{-6}$  a  $10^{-12}$ ) para

as leituras. Tais medidas foram desconsideradas neste trabalho, pois como a amostra foi muito diluída, foram obtidas leituras muito baixas, encontrando assim uma variação entre os valores de 1.000.000 e 2.000.000 de *E. Coli*/100 mL na mesma amostra, considerando duas diluições de uma amostra de  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$ , respectivamente, e que em cada galeria tinha-se 49 poços grandes e 28 poços pequenos, de acordo com o material do fabricante. A relação do número mais provável, se dá pelo número de poços grandes e o número de poços pequenos, ou seja, se tivermos 1 poço grande e 0 poços pequenos (uma leitura muito baixa) na medida de fluorescência dentro da leitura de coliformes totais, por exemplo, o número mais provável de acordo com a interpretação do fabricante, será de 1/100mL, porém, esse número será multiplicado por sua ordem de grandeza, logo, o número mais provável segundo as diluições será de 1.000.000 e 10.000.000 de *E. Coli* /100mL, respectivamente, uma variação muito imprecisa do número mais provável para a mesma amostra.

No segundo experimento, levando em consideração o resultado do teste de otimização anterior, foram utilizadas diluições até a ordem de  $10^{-6}$  e foram lidas todas as diluições com o intuito de identificar em qual diluição se teria a leitura de *E. Coli* “estourada”, ou seja, acima do limite de quantificação do teste. Neste ponto do experimento obtivemos resultados satisfatórios, alcançando o objetivo de definir as melhores diluições, que são da ordem de  $10^{-3}$  a  $10^{-6}$ , diluições que alcançaram números mais precisos, com o intuito de chegar a resultados os mais próximos possíveis do número mais provável de *E. Coli* (NMP/100mL).

No terceiro e último experimentos realizados para determinar o número mais provável de *E. Coli*, ainda com base nas diluições otimizadas para a matriz em questão, foram realizadas diluições da ordem de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ , e lidas as diluições de  $10^{-3}$  a  $10^{-6}$ , de acordo com os resultados obtidos, com a finalidade de aumentar a precisão da análise e chegar ao número mais provável de *E. Coli* (NMP/100mL).

Os resultados de *E. Coli* obtidos nos dois últimos experimentos foram muito acima do nível aceitável para balneabilidade de águas de 2000 NMP/ 100 mL, segundo a Resolução nº 274 de 2000 do CONAMA, que define os padrões normais para balneabilidade de corpos hídricos normalmente usados para meios recreativos. Estes dados indicam um risco iminente à população que viesse a utilizar aquele trecho do rio, naquele momento, tanto para meios recreativos quanto para outras finalidades, como lavar roupa ou utensílios domésticos e etc, considerando o quantitativo de contaminação por esgoto.

## 5.2 pH

De acordo com os valores obtidos, e segundo a resolução nº 274 do CONAMA, o pH entre 6 e 9 é o único parâmetro, que encontrou-se dentro do aceitável. Isso se deu, possivelmente, devido à quantidade de matéria dissolvida, presença de micro-organismos e o nível de oxigênio presente no rio, isto é, o pH quase neutro do rio se dá provavelmente pela temperatura ambiente, que contribui para a solubilidade de substâncias químicas que afetariam o pH do local.

Outro fator é a baixa taxa de oxigênio dissolvido, que dificulta a sobrevivência de micro-organismos aeróbicos, que ao liberarem gases alterariam também o pH do rio. Assim, como não ocorre essa troca gasosa, também não há impacto no pH.

A própria carga microbiótica do rio também é um fator relevante, pois mesmo em um local em que se deveriam encontrar altos níveis de bactérias, como as do grupo dos coliformes, por exemplo, a alta concentração de restos metabólicos produzidos por tais micro-organismos inibem seu próprio crescimento, e pela temperatura do rio, que provavelmente é alta considerando o clima no Rio de Janeiro, tal carga de restos metabólicos também não interferem no pH (Brasil, 2006).

Com base no já discutido e nos parâmetros observados, não se pode afirmar, mas tais dados já apontam para um rio morto, rio que não serve mais como habitat para quase nenhum organismo vivo.

## 5.3 DBO E DQO

Os resultados de DBO e DQO apresentaram certa discrepância, possivelmente devido à instabilidade da matriz. O limite para a Demanda Bioquímica de Oxigênio definido pela resolução nº 357 CONAMA (2005) é de 10 mg/L O<sub>2</sub>, logo, percebe-se que nenhuma medida se enquadra no nível aceitável, porém no caso das amostras coletadas na primeira e segunda coleta, os níveis determinados de DBO foram coerentes, levando em consideração os níveis de *E. Coli* encontrados no meio, ou o nível de contaminação por esgoto, considerando também a instabilidade da matriz.

Neste ponto da análise, se encontra a primeira discrepância do resultado do experimento, onde a DQO não está coerente com a DBO, isto é, a relação entre os valores de DQO e DBO para águas residuais domésticas (admitindo que o nível de contaminação por tal

matriz é alto, se levarmos em consideração a área de lançamento de esgoto ao longo do canal) é de normalmente 1,7 a 2,4 (VON SPERLING, 1996), então mesmo considerando a origem da amostra, não faz sentido uma diferença de 52 a 80 unidades entre os valores obtidos na primeira e na segunda coleta, por exemplo.

A finalidade do teste com a “semente” (licor obtido da estação de tratamento da FIOCRUZ) seria a de obter dados implícitos indicadores do quão nocivo o rio Faria Timbó estaria em geral, isto é, o intuito seria saber se o rio já é tão poluído que se tornou um meio seletivo até mesmo para micro-organismos. Um exemplo de como o meio se tornou seletivo, e que pode explicar, em princípio, a diferença entre os valores de DQO e DBO, é o Oxigênio Dissolvido (OD) ser quase zero, impedindo que micro-organismos aeróbicos (micro-organismos identificados pela DBO) cresçam (JOHNSON, 1997), deixando assim o meio predominantemente de micro-organismos anaeróbicos, levando em consideração que a DQO determina micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos.

A explicação do OD ser quase zero seria o suficiente para explicar o fenômeno na diferença da DQO e a DBO, entretanto, estamos tratando de uma matriz que recebe frequentemente todo tipo de efluente possível ao longo de seu percurso, e por isso pode ser considerada uma matriz muito instável, despertando a dúvida sobre a validade da explicação do OD zero.

A análise de DQO é um teste que tem seu princípio na espectrofotometria, e como as soluções catalíticas e digestoras são facilmente afetadas por componentes como cloreto e sabão (JOHNSON, 1997), por exemplo, havia a possibilidade de que algum componente presente no rio no momento das coletas estivesse afetando também os valores obtidos na DQO, com a possibilidade de se diferenciarem mais ainda da DBO.

Após toda a pesquisa, obtivemos apenas um resultado satisfatório que aparentemente confirma a teoria sobre o OD ser próximo de zero interferir no resultado apenas da DBO. Entre todas as formas de diluições e de misturas utilizadas para o experimento com a “semente” na DBO, obtivemos o resultado de 67 mg/L O<sub>2</sub>, do ensaio com o branco 2 (água aerada com licor) + 10 mL de amostra; o branco 2 continha um volume desconhecido de licor obtido da estação de tratamento de esgoto, diluído em 10 L de água ultrapura, aerada por 20 horas e deixado em repouso por 4 contendo os nutrientes necessários para a realização da DBO. Obtivemos também a medida de 68 mg/L O<sub>2</sub>, obtida no ensaio de DQO dentro do experimento da semente; nesse ensaio havia 0,5 mL de amostra diluído nas soluções catalíticas e digestoras da DQO, e como já observado anteriormente, não houve grande

alteração no resultado se comparado com os resultados anteriores. Entretanto, houve alteração no resultado obtido no ensaio selecionado de DBO, em que se tinha água aerada, nutrientes, e micro-organismos aeróbicos e anaeróbicos.

Com base no observado nos experimentos com a semente, não é possível afirmar que o nível de oxigênio dissolvido na amostra é a causa do resultado não coerente obtido na DBO, pois não se realizaram replicatas suficientes dos experimentos. Porém, o primeiro experimento já indica que se o rio não tivesse oxigênio quase nulo, o resultado da DBO apontaria para um alto risco de exposição, indicando um nível consideravelmente alto, sob o ponto de vista toxicológico, de possibilidade de agravos à saúde da população que vive em contato com o rio.

#### 5.4 VÍRUS

Com base no observado na análise qualitativa e quantitativa viral no rio, afirma-se que todas as amostras foram positivas tanto para Rotavírus quanto para Adenovírus, ou seja, a presença destes vírus causadores de gastroenterites, nos dias coletados, já aponta uma determinada frequência na contaminação pelos mesmos. A forma de contaminação por Rotavírus e Adenovírus é de origem fecal-oral; tais vírus também servem como marcadores microbiológicos, na identificação de contaminação por esgoto, se quantificarmos alguns genótipos causadores da doença em humanos, mas esse não era o intuito das determinações.

Apenas a presença desses vírus em determinada matriz, já indica algum possível risco a saúde da população de contato com a mesma, isto é, se a matriz contaminada fosse utilizada como meio recreativo pela população, por exemplo, a certa frequência que se encontra determinado vírus já indica que não se deve tomar banho no mesmo, porém isso não é atendido no rio utilizado como objeto de estudo, onde mesmo sendo visivelmente contaminado, ainda assim é utilizado para fins recreativos pela população.

Outro modo de se determinar o risco à saúde da população de contato com a matriz é a quantificação do nível contaminação ou a determinação da carga viral, e com base no observado da quantificação de Rotavírus nas três coletas, pode-se dizer que o nível de contaminação nesses determinados dias estava alto, considerando a carga viral encontrada numa matriz fecal, por exemplo. A CONAMA não utiliza como parâmetro para abordar a balneabilidade de um rio a carga viral, porém, é correto afirmar que uma carga viral alta, de um vírus que causa uma doença, que é a diarreia, responsável por 1,5 bilhões de mortes de crianças, na faixa de 5 anos, em 1 ano, é um risco em potencial a saúde (OMS, 2009).

Não foram analisadas replicatas autênticas das amostras nos testes quantitativos, e por isso o tratamento estatístico dos dados, como a obtenção do valor do Desvio Padrão<sup>6</sup>, por exemplo, não foi possível, uma vez que os valores são únicos, e por esse motivo não foi realizado.

Embora, em princípio, pela simples observação das condições de poluição do Canal do Cunha os resultados sejam coerentes, o reduzido número de amostras coletadas, pontos de coleta e número de coletas realizadas não são suficientes para afirmar que esses resultados significam ou caracterizam a área de estudo, não sendo possível sua utilização para afirmar que essa é a condição permanente daquele corpo hídrico, ou classificar o grau de risco de exposição humana e ambiental.

Porém, com base no estudo e nas Normas do CONAMA, os dados sugerem níveis de contaminação altos por Coliformes fecais, níveis altos de matéria orgânica biodegradável, e de contaminação por vírus que causam gastroenterites, além da poluição visível, e já apontam possíveis riscos à saúde da população que vive no entorno, o que pode vir a representar um alto risco de efeitos adversos para a saúde humana e do ambiente nesse território, em caso de exposição às águas desse rio.

---

<sup>6</sup> Desvio Padrão é um parâmetro estatístico que demonstra a dispersão de um determinado conjunto de dados em relação ao valor da média dos mesmos.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A finalidade de todos os dados apresentados nesse trabalho é fornecer de forma didática e de fácil acesso, informação à população que é mais afetada pelo Rio Faria Timbó, no trecho do Canal do Cunha. Assim, como desdobramento deste trabalho e em uma perspectiva de contribuir para o debate sobre o tema, pretende-se produzir um vídeo, com o apoio do NUTED da EPSJV, e também promover palestras em escolas do entorno desse território, de forma a divulgar esse estudo, estimulando e conscientizando principalmente a população jovem, de forma a pensar, coletivamente, em uma solução para este problema que é a poluição do Canal do Cunha, sob o ponto de vista da saúde.

No período de realização deste trabalho, não foi possível o acesso à área de Manguinhos, e o vídeo é algo a ser discutido antes da produção. Porém, foi conseguido atender parcialmente à demanda de contato com a população do entorno, pela Semana de Ciência e Tecnologia promovida pela FIOCRUZ em seu campus em 2018 (Figura 11), em que foi montado um pequeno estande com informações apresentadas de forma ilustrativa sobre a importância de estudar a contaminação do rio, levando parte da informação para crianças e adolescentes, público predominante nas atividades recreativas no Canal do Cunha.



Figura 11: Foto do estande montado na Semana de Ciência e Tecnologia, FIOCRUZ, 2018.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBIERI, M. D. P. et al. **Qualidade microbiológica da água de algumas nascentes de Muzambinho/MG.** Revista Agrogeoambiental, pouso Alegre, edição especial n.1, p79-84, 2013.
- BORGES, R.C. et al. **Use of GIS for the evaluation of heavy metal contamination in the Cunha Canal watershed and west of the Guanabara Bay.** Rio de Janeiro, RJ. Marine Pollution Bulletin, v.89 issues1-2 p.75-84, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano.** Série B: Textos Básicos de Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- BRISO, C. B. **Manguinhos: sem área de lazer, moradores nadam em esgoto. Com medo de serem detidos na ida à praia, jovens preferem brincar em meio à podridão.** Jornal O Globo, 2015.
- CALGUA B. et al. **Detection and quantification of classic and emerging viruses by skimmed-milk flocculation and PCR in river water from two geographical areas.** Water research, 2013.
- CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357 (2005).** Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Data do acesso: 07 dez 2017.
- CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 274 (2000).** Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=272>. Data do acesso: 07 dez 2017.
- DIAS, L.S.M.; CUNHA, S.B. **Mudanças nos canais fluviais da sub-bacia do Canal do Cunha (RJ): intervenções antrópicas.** Revista Equador (UFPI), v. 6, nº 2, p. 23-43 ISSN: 2317-3491, (2017).
- FAUSTINO, J. **Planificación y gestión de manejo de cuencas.** Turrialba: CATIE, 1996. 90p.
- FACHIN, P. **A contaminação das águas e a Disseminação de doença de proliferação hídrica.** ECODEBATE, publicado pela IHU ON-LINE, parceria editorial da revista eletrônica ECODEBATE na socialização da informação, 2015.
- FERREIRA, C.T.; SILVEIRA, T.R. **Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção.** Ver. Bras. De Epidemiologia v.7, n.4, versão online: ISSN 1980-5497, 2004.
- GEROLOMO, M.; PENNA, M.L.F. **Cólera e condições de vida da população.** Rev. Saúde pública, 34 (4): 342-47, 2000.
- GOMES, M. A. F. **Água: sem ela seremos o planeta Marte de amanhã,** 2012.
- ICICT/Fiocruz. VídeoSaúde Distribuidora. **É rio ou valão?** Documentário, 2017.
- ITURRIZA-GÓMARA, M.; WONG, C.; BLOME, S.; DESSELBERGER, U.; GRAY, J. **Molecular characterization of VP6 genes of human rotavirus isolates: correlation of genogroups with subgroups and evidence of independent segregation.** J Virol. 76 (13) 6596-601, 2002.

JOHNSON, C.G. et al. Standard methods for the examination of water and wastewater apha-awwa-wpcf. Aggregate organic constituents 5000; **5220: Chemical Oxygen Demand (COD)**. Approved by Standard Methods Committee, 1997.

KATAYAMA, H.; SHIMASAKI, A.; OHGAKI, S. **Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater**. Appl Environ Microbiol. 68 (3): 1033-9, 2002.

KODAMA, K. **Mortalidade escrava durante a epidemia de cólera no Rio de Janeiro (1855-1856): uma análise preliminar. História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, Rio de Janeiro, v.19, p.59-79, dez. 2012. Suplemento.

LENZI, M. F. **As invisibilidades do dengue: um olhar sobre suas representações em uma favela do Município do Rio de Janeiro: retratos de uma vulnerabilidade**. Rio de Janeiro s.n (2008) 103p b.

LIMA, L. **Baía de Guanabara: águas despolidas só depois de 2030**. Jornal O Globo, 2016.

LUNA, E.J.A.; SILVA JUNIOR, J.B. **Doenças transmissíveis, endemias, epidemias e pandemias**. In: *A saúde no Brasil em 2030 : prospecção estratégica do sistema de saúde brasileiro*[S.l: s.n.], 2013.

MADIGAN, M. et al. **Microbiologia de Brock**. Pearson Prentice Hall, 10a ed., 2004.

OMS. UNICEF e OMS **lançam relatório sobre diarreia, a segunda maior causa de mortalidade infantil**, 2009.

PORTO, M.F.A.; PORTO, R.L.L. **Gestão de bacias hidrográficas**. Dossiê água. Estudos avançados, v. 22, n. 63, São Paulo, 2008. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-40142008000200004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-40142008000200004&script=sci_arttext). Data do acesso: 01 nov 2017

PREFEITURA RJ. Prefeitura da cidade do Rio de Janeiro. Secretaria Municipal de saneamento e recursos hídricos. Fundação Instituto das águas. **Plano Municipal de saneamento básico da cidade do Rio de Janeiro- manejo de águas pluviais (2009)**. Disponível em: [http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/6165511/4162116/pmsb\\_drenagem\\_e\\_manejo\\_de\\_aguas\\_pluviais.pdf](http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/6165511/4162116/pmsb_drenagem_e_manejo_de_aguas_pluviais.pdf). Data do acesso: mar, 2018.

PSAM. **Programa de Saneamento Ambiental dos Municípios no Entorno da Baía de Guanabara**. Boletim produzido pelo PSAM, com auxílio do Centro para Ciências Ambientais da Universidade de Maryland (UMCES) e a KCI Technologies, e suporte do Banco Interamericano de Desenvolvimento (BID) e utilizando dados fornecidos pelo INEA (2016) disponível em: <http://200.20.53.7/guanabara/Content/DOWNLOAD/Boletim%20de%20Sa%C3%BAde%20Ambiental%20da%20Ba%C3%ADa%20de%20Guanabara.pdf> data do acesso: outubro, 2018.

REIS, M. **Química**. v. 1. Editora Ática. 1a ed. São Paulo, 2013.

SAMPAIO, M. **Estudo de Circulação Hidrodinâmica 3D e Trocas de Massas D'água da Baía de Guanabara – RJ**. UFRJ. Dissertação de Mestrado. Rio de Janeiro, 2003.

TEODORO, V. L. I. **Conceito de bacia hidrográfica e a importância da caracterização morfométrica para o entendimento da dinâmica ambiental local.** REVISTA UNIARA, n.20, 2007.

VIEIRA, C. B. et al. **Vírus entéricos na Lagoa Rodrigo de Freitas.** Oecologia Australis, v.16, n.3, p.540-565, Set. 2012.

VIEIRA, C.B. **Rastreamento microbiológico de fontes de contaminação humana e animal por marcadores virais e avaliação de risco de infecções por vírus gastroentéricos na bacia do Rio Negro, Manaus, Amazonas.** 2015. 206f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2015.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** v. 1. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1996.

YOUNG, J.C. et al. Standard methods for the examination of water and wastewater apha-awwa-wpcf. Aggregate organic constituents 5000. **5210: Biochemical Oxygen Demand (BOD).** Approved by Standard Methods Committee, 2001.