

Caracterização dos Períodos de Crise e Pós-Crise Hídrica da Água Bruta da Bacia do Guandu através de Parâmetros de Qualidade

Characterization of Periods of Crisis and Post-Crisis in the Raw Water of Guandu System through Quality Parameters

Adriana Sotero-Martins (1*); Aloysio da Silva Ferrão-Filho (2^a); José Augusto Albuquerque dos Santos (2^b); Priscila Gonçalves Moura (3^a); Natasha Berendonk Handam (3^b); Nelson Peixoto Kotowski Filho (4^a); Rodrigo Jardim (4^b); Elvira Carvajal (5)

(1) Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, FIOCRUZ, Rua Leopoldo Bulhões, 1480, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21041-210, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-4312-7699>

(2^a) Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av. Brasil, 4365 - Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-8833-1597>.

(2^b) Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av. Brasil, 4365 - Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360, Brazil. <https://orcid.org/0000-0003-0714-4608>.

(3^a) Programa de Pós Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, FIOCRUZ, Rua Leopoldo Bulhões, 1480, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21041-210, Brazil. <https://orcid.org/0000-0003-2553-1214>.

(3^b) Programa de Pós Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, FIOCRUZ, Rua Leopoldo Bulhões, 1480, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21041-210, Brazil. <https://orcid.org/0000-0001-9316-7966>

(4^a) Laboratório de Biologia Computacional e Sistemas, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av. Brasil, 4365 - Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360, Brazil. <https://orcid.org/0000-0001-5397-7980>.

(4^b) Pesquisador e professor, Laboratório de Biologia Computacional e Sistemas, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av. Brasil, 4365 - Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-0943-5356>.

(5) Laboratório BIOTECISA, Departamento de Biologia Celular, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier 524, Maracanã, Rio de Janeiro, RJ, 20550-900, Brazil. <https://orcid.org/0000-0001-7368-515X>.

*Autor para correspondência. E-mail: adrianasotero@ensp.fiocruz.br

Resumo

No início do ano de 2020, cerca de 9 milhões de habitantes da Região Metropolitana do Rio de Janeiro dependente do Sistema Guandu, vivenciou uma crise no abastecimento de água, recebendo água com gosto e odor. Este trabalho realizou a análise da qualidade sanitária da água bruta, captada por esse sistema, em dois momentos distintos, “na crise” e “pós-crise”, quanto à presença de cianobactérias e cianotoxinas na água bruta, através de estudos de metagenômica e de quantificação de cianotoxinas, microcistina (MC) e saxitoxina (SXT) por ELISA, comparando métodos de extração e processamento. Foram também realizadas análises de parâmetros de qualidade da água bruta, através da determinação dos níveis de coliformes totais e de *Escherichia coli* e de alguns parâmetros físico-químicos, de modo a se comparar com dados de análises do INEA. A água bruta captada nos dois momentos estava com níveis de *Escherichia coli*, acima da faixa de valores máximo permitidos (VMP) descrito na Resolução n. 357/2000 do CONAMA, enquanto os parâmetros físico-químicos analisados apresentaram níveis satisfatórios, assim como os níveis das cianotoxinas, para SXT. Entretanto, destaque-se que na metodologia de extração por filtro, a amostra “pós-crise” não estava dentro do VMP para a cianotoxina MC. Portanto, caso a análise tivesse sido feita por esta mesma

metodologia, é provável que os valores de MC das amostras no momento da crise também estariam acima do VMP. Isto porque, na metodologia comumente usada, o valor para MC foi acima do VMP para o momento "pós-crise". Portanto, na revisão da Portaria de Potabilidade se faz necessário descrever uma metodologia de extração que possa expressar o real risco em relação aos níveis de cianotoxinas presentes na água bruta. Desta forma, é importante que seja implementado, o quanto antes, o saneamento nas cidades a montante da captação de água bruta desse manancial, a fim de que eventos como os acontecidos durante a "crise hídrica" não seja vivenciado novamente. Além disso, a curto prazo, é necessária a realização de monitoramento periódico dos reservatórios, integrando as análises de genômica, biogeoquímica e de toxicidade, para que estação de tratamento tome as decisões adequadas para evitar algum problema e garantir a qualidade do abastecimento. Outrossim, esse recomendado procedimento poderá fornecer dados para a realização do Plano de Contingência, para que o quadro de floração não se amplie.

Palavras Chaves: Cianotoxinas; cianobactérias; análise físico-química e colimétrica; metagenômica; qualidade sanitária da água bruta; saúde pública.

Abstract

At the beginning of the year 2020, about 9 million inhabitants of the Metropolitan Region of Rio de Janeiro dependent of the Water Guandu System, experienced a crisis in the water supply, receiving water with taste and odor issues. In this way, this work carried out the analysis of the sanitary quality of raw water that is captured from this system, at two different moments, "in crisis" and "post-crisis", in relations to the presence of cyanobacteria and cyanotoxins in raw water, through studies of metagenomics and quantification of microcystin (MC) and saxitoxin (SXT) cyanotoxins by ELISA test, comparing extraction and processing methods. The analysis of raw water quality parameters was also carried out, through the evaluation of the levels of total coliforms and *Escherichia coli* and some physical-chemical parameters in order to compare with data from INEA analyzes. The raw water collected at both times had levels of *Escherichia coli* above the Maximum Acceptable Values (MAV) described in Resolution no. 357/2000 of CONAMA, while it presented satisfactory levels in the analyzed physical-chemical parameters as well as for cyanotoxin levels, for SXT. However, it is noteworthy that in the filter extraction methodology, the sample "after crisis" was not within the MAV for MC, so if it were done by this same method the samples of the moment "in crisis" would have the values of MC also much higher of the MAV, since in the commonly used methodology the value for MC was above the value for the moment "after crisis". Therefore, in the review of the Potability Ordinance, it is necessary to describe an extraction methodology that can express the real risk in relation to the levels of cyanotoxins present in raw water. Thus, it is important that sanitation be carried out as soon as possible in the cities upstream of the water treatment plant, so that events such as those that occurred during the "water crisis" are not experienced again. In addition, in the short term, it is necessary to perform periodic

monitoring of reservoirs, integrating genomics, biogeochemistry and toxicity analyzes, in order to signal any problems in advance and guarantee the quality of supply, in addition to being able to support data on the implementation of the Contingency Plan, as a precaution so that the flowering situation does not increase.

Keywords: Cyanotoxins; cyanobacteria; physical-chemical and collimetric analysis; metagenomics; sanitary quality of raw water; public health

1. INTRODUÇÃO

A falta de saneamento das cidades a montante ao ponto de captação da água do manancial utilizado na captação de água bruta pelas estações de tratamento de água (ETAs), faz com que as cidades estejam consumindo um tipo de água de reuso indireto (Moura et al, 2020 - *in press*). Conforme descrito na ABNT n°13969/1997, isso ocorre quando efluentes são descarregados no meio ambiente (a montante), e são novamente utilizados a jusante, em sua forma diluída, de maneira não intencional e não controlada.

Na bacia hidrográfica do rio Guandu, o esgoto lançado nas águas dos rios Ipiranga, Queimados e Poços, traz uma carga de nutrientes para as bactérias presentes no corpo hídrico, que aliado à elevada luminosidade e baixa movimentação da água nas lagoas que ficam próximas ao ponto de captação de água bruta, favorece o crescimento dos microrganismos nessas lagoas (INEA, 2012). Como várias espécies de cianobactérias produzem toxinas, o lançamento dos efluentes tratados ou não tratados, contendo toxinas no corpo receptor pode vir a afetar a biota aquática, provocando alterações na cadeia alimentar por inibir o desenvolvimento de outros organismos (Lapolli et al., 2011; Ferrão-Filho e Kozlowsky-Suzuki, 2011).

Na água bruta captada para abastecimento, geralmente são empregados processos de tratamento capazes de evitar a presença das cianobactérias na água tratada, reduzindo, dessa forma, concentrações insalubres de cianotoxinas. O crescimento massivo de cianobactérias tende a causar sabor e odor desagradáveis à água, além de um desequilíbrio na comunidade fitoplanctônica local, uma vez que tendem a ser dominantes sobre outras espécies. O maior problema associado à presença das cianobactérias, diz respeito à produção de cianotoxinas (Lapolli et al., 2011). Deste modo, o risco de retorno das condições propícias à proliferação de cianobactérias e produção de cianotoxinas em mananciais de abastecimento deve ser constantemente monitorado, a fim de evitar que a população abastecida seja exposta as condições adversas (Ministério da Saúde, 2016).

Conforme destacam Sivonen e Jones (1999), a maioria das cianotoxinas identificadas até o momento, parece ser mais perigosa para os mamíferos terrestres do que para a biota aquática. Por isso, a captação de água bruta contaminada com cianobactérias potencialmente produtoras de cianotoxinas constitui risco à saúde, sendo que essas moléculas podem levar a doenças crônicas e até mesmo à morte. Por isso se faz necessário o constante monitoramento dos reservatórios para evitar episódios como os que ocorreram em Itaparica, em 1988, que levou a morte de 88 pessoas e 2000 intoxicadas (Teixeira et al, 1993), e em Caruaru, quando em 1996, aparelhos de hemodiálise tratados com água contaminada deixaram um saldo de 76 mortes (Carmichael et al., 2001). Vale lembrar os casos ocorridos na Pensilvânia, em

1975, em que 5000 pessoas tiveram infecção gastrointestinal devido à água contaminada (Falconer, 1994).

Os objetivos do trabalho foram: 1) verificar a presença de cianobactérias na água bruta do sistema Guandu, associadas à produção de substâncias causadoras do odor e gosto, 2) de potenciais espécies produtoras de cianotoxinas; 3) comparar as amostras coletadas nos períodos de crise hídrica (“na crise”) e “pós-crise” de 2020, quanto aos parâmetros: colimétricos, físico-químicos e cianotoxinas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de água bruta foram coletadas nos pontos de tomada d’água da ETA Guandu (Figura 1), representando o período “crise hídrica” que afetou municípios da Região Metropolitana do Rio de Janeiro (RMRJ), com exceção dos municípios de Itaboraí, São Gonçalo e Niterói, que são atendidos pelo sistema de água potável de Imunana-Laranjal. Ou seja, a maior parte da RMRJ é abastecida pelo sistema produtor do Guandu (aproximadamente 45 m³/s), com cerca de 9 milhões de habitantes dependentes do Sistema Guandu, que vivenciaram uma crise no abastecimento de água, recebendo água com gosto e odor. Dentro desse período de crise hídrica foi coletada uma amostra no dia 13/01/2020 (“na crise”) e outra no dia 09/03/2020 (“após-crise”), conforme procedimentos descritos no “Manual Cianobactérias/Cianotoxinas: procedimentos de coleta, preservação e análise”, do Ministério da Saúde (Brasil, 2015). Foram coletados volumes que permitissem as análises de metagenômica, colimétrica, físico-química e de cianotoxinas. As autorizações de coleta foram dadas pelo Grupo de Atuação Especializada em Meio Ambiente (GAEMA) do Ministério Público do Estado do Rio de Janeiro (MPRJ), durante vistoria na Estação de Tratamento de Água (ETA) do Guandu. E o projeto foi registrado no SisGen (cadastro AB91094).

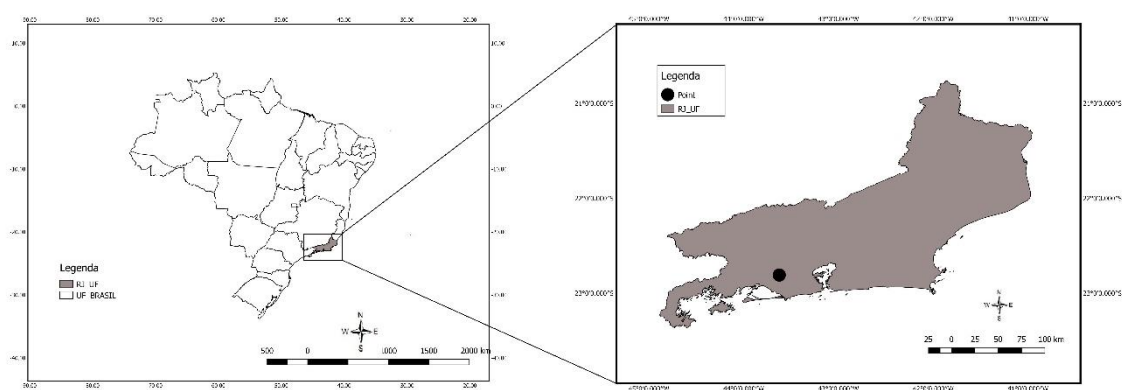


Figura 1 – Mapa com o ponto de coleta represento o local de coleta de água bruta na bacia hidrográfica do Guandu.

As amostras coletadas foram submetidas a análises físico-químicas e colimétricas conforme descrito por Handam et al. (2020), e de acordo com Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012). Nas análises colimétricas foram avaliados os níveis de coliformes totais (CT) e de *Escherichia coli* (EC), conforme descrito por Sotero-Martins et al. (2017), através da metodologia de membrana filtrante, com

substrato cromogênico. Foram considerados os seguintes parâmetros: Dureza total (mg/L CaCO₃); pH; Condutividade (µS/cm); Sólidos totais dissolvidos (mg/L); Cloretos (mg/L); Alcalinidade total (mg/L CaCO₃); Turbidez (NTU); Amônia (mg/L); Cloro residual total (mg/L Cl); e Sulfato (mg/l SO₄⁻). Os parâmetros físico-químicos e biológicos foram utilizados como elementos de comparação estatística de variância (ANOVA), através do Programa BioEstat 5.0, entre a água bruta coletada nos dois pontos de entrada de água bruta na ETA.

A presença das cianotoxinas, microcistina (MC) e saxitoxina (STX), foi verificada em amostras dos dois períodos, sendo que a coletada durante a crise foi mantida em congelamento e as do “pós-crise” foram mantidas em duas formas de preservação, em geladeira por 24 h após a coleta e congeladas em freezer -26°C. Todas as amostras foram descongeladas e submetidas a ultrassom por 15 minutos para rompimento das células. Outra amostra do momento “pós-crise” foi concentrada por filtração, em filtro de fibra de vidro, de porosidade 1,2 µm (Whatman GF/C, Millipore), retendo material particulado (Andersen, 2005). A extração de MC para a amostra de material particulado foi feita com ácido trifluoracético (TFA) 0,1% em metanol, macerando-se os filtros e depois centrifugando a amostra a 3000 RPM, com recolhimento do sobrenadante (Sanches et al., 2007); e para SXT foi realizado o mesmo procedimento, com a solução de ácido acético glacial 0,1N para a maceração dos filtros (Aragão et al., 2016). A amostra para microcistina contida nos filtros foi evaporada com jato de ar até a secura completa, sendo posteriormente ressuspensa em 1 mL de água ultra pura. A amostra para saxitoxina contida nos filtros foi congelada e liofilizada, sendo posteriormente ressuspensa em 1 mL de água ultra pura. E a presença das cianotoxinas, microcistina (MC) e saxitoxina (STX), foi verificada em amostras do momento “na crise” mantidas somente na forma congeladas em freezer -20°C, sendo descongelada para realização das análises. As amostras foram analisadas em teste imunológico ELISA (Enzyme-Linked Immuno-sorbance Assay) da Beacon (Analytical Systems), utilizando uma leitora de microplacas (Thermo Plate Reader).

Foram utilizados na comparação dos resultados colimétricos e de físico-química, os dados obtidos de laudos do Instituto Estadual do Ambiente (INEA), de análises realizadas nos dias 09/01 e 13/01/2020 (OF INEA/OUVID n° 151/2020), que foram disponibilizados pelo GAEMA, também por conta de não terem sido realizadas por nosso grupo as análises colimétricas no momento “crise hídrica”.

Parte da amostra que foi para as análises genéticas por metagenômica foi concentrada por filtração em membranas de nitrocelulose de 0,8 µm; 0,45 µm e 0,22 µm de porosidade. Foi utilizada a análise do filtrado do momento “crise hídrica” para demonstrar o perfil de subprodutos de cianobactérias encontradas na amostra. Contudo as análises genéticas, por metagenômica, do momento “crise hídrica” foram obtidas das amostras processadas por centrifugação, conforme descrito, para extração de DNA, sequenciamento e busca de sequências em Moura et al. (2020). Enquanto as amostras “após crise” foram processadas por filtração, conforme descrito em Moura (2019). Para amostras dos dois períodos, as montagens das bibliotecas e o sequenciamento foram realizados na Plataforma de Sequenciamento do Instituto SENAI de Inovação Biossintéticos e Fibras do Centro de *Tecnologia* da Indústria Química e Têxtil (CETIQT), no sequenciador Nextseq 550 da Illumina. Na análise das sequências foi feita busca dos gêneros de cianobactérias relacionados com a produção de cianotoxinas, indicados na

referência do Ministério da Saúde (MS) - “Cianobactérias/cianotoxinas: procedimentos de coleta, preservação e análise” (Brasil, 2015).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Indicadores Microbiológicos de Colimetria

Os níveis de coliformes totais (CT) e de *Escherichia coli* (EC) nas amostras de água bruta, tanto do momento “crise”, como do momento “pós-crise” não estavam em conformidade com os Valores Máximos Permitidos (VMP) descritos na resolução CONAMA no. 357/2005 (Tabela 1 e 4), estando, portanto, impróprios para captação pela ETA. Comparando-se os valores dos parâmetros biológicos das amostras de água bruta dos dois pontos de captação de água bruta que entram na ETA Guandu, essas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, p-valor > 0,05 (Tabela 2).

De acordo com a Resolução CONAMA nº 357/2005 para água de mananciais de classe 2, que é a classe da água bruta captada pela ETA do Guandu, os níveis de coliformes termotolerantes não deve ultrapassar a 1.000 NMP/100 mL, em 80% ou mais de pelo menos 6 (seis) amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Apesar desse estudo não ter sido realizado nessa situação, foi utilizado esse valor como referência para comparação dos resultados. A mesma Resolução estabelece que os níveis de *E. coli* poderão ser determinados em substituição ao parâmetro coliforme termotolerantes (BRASIL, 2005). Segundo Santos et al. (2018) amostras com níveis elevados de coliformes termotolerantes, acima do permitido podem indicar a contaminação devido a fezes de animais que beiram as margens dos rios, assim como de aglomerações de pessoas ao longo do rio, onde são desprovidos de saneamento, como rede de coleta de esgoto. Destaca-se que as coletas realizadas no período “após crise” foram feitas próximas a dias chuvosos e, de acordo com Santos et al. (2018), isso pode ocasionar carreamento de grande quantidade de sedimentos e efluentes localizados à montante para a jusante do rio. Os níveis de coliformes termotolerantes indicam também que na região pode haver descarga de esgoto em período recente, o que aumenta a possibilidade de ter outros organismos patogênicos na água captada, que podem causar doenças por veiculação hídrica (Brasil, 2017; Moragas, 2005).

Tabela 1 – Níveis de Microbiológicos de Coliformes Totais (CT) e *Escherichia coli* (EC) das amostras de água bruta no período “pós crise” dos pontos de captação na ETA Guandu, e os valores máximos permitidos (VMP) para captação de água para abastecimento.

| Amostra | Água Bruta1 (NMP/100mL) | Água Bruta2 (NMP/100mL) | VMP(1) |
|---------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| CT | 1.393 x 10 ³ | 1.584 x 10 ³ | ND |
| EC | 94 x 10 ³ | 99 x 10 ³ | 1 x 10 ³ /100mL(*) |

(1) Resolução CONAMA no.357/2005 (Brasil, 2005), (*) valor descrito para os termotolerantes.

(2) ND- Não descrito.

Tabela 2 - Comparação entre os pontos de tomada d'água bruta 1 (VETA) e 2 (NETA) da ETA Guandu no período "pós crise". Médias dos valores das amostras analisadas em duplicata, e o p-valor da comparação por variância ANOVA.

| Parâmetro | Água Bruta1 | Média | Água Bruta2 | Média | p-valor |
|-----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------|
| CT | 1.204 x 10 ³ | 1.393 x 10 ³ | 1.629 x 10 ³ | 1.584 x 10 ³ | 0,8 |
| | 1.582 x 10 ³ | | 1.538 x 10 ³ | | |
| EC | 80 x 10 ³ | 94 x 10 ³ | 91 x 10 ³ | 99 x 10 ³ | 0,9 |
| | 108 x 10 ³ | | 108 x 10 ³ | | |

– Análises Físico-Químicas

Segundo a classificação da água captada pela ETA do Guandu, os níveis de todos os parâmetros físico-químicos analisados, da água bruta coletada nos dois momentos analisados, estavam dentro dos valores máximos permitidos (VMP) descritos na Resolução CONAMA no.357/2005 (Brasil, 2005). E corroborando com os dados colimétricos, os pontos 1 e 2 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (p-valor > 0,05) também quanto aos parâmetros físico-químico, ou seja os dois pontos de captação estão próximos e recebem a água da mesma lagoa, após os flutuadores (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados das análises físico-químicas. das amostras de água bruta no período "pós crise" dos pontos de captação na ETA Guandu, e os valores máximos permitidos (VMP) para captação de água para abastecimento.

| Parâmetros | Água Bruta_pt1 | Água Bruta_pt2 | VMP(1) CONAMA 357/2005 (Classe 1) | VMP (2) CONAMA 357/2005 (Classe 2) |
|---|----------------|----------------|---|---|
| Dureza total (mg/L CaCO ₃) | 10,91 | 12,73 | ND | ND |
| pH | 6,33 | 6,32 | 6,0 - 9,0 | ND |
| Condutividade (µS/cm) | 76,00 | 74,20 | ND | ND |
| Sólidos totais dissolvidos (mg/L STD) | 37,80 | 38,90 | 500 mg/L | ND |
| Cloretos (mg/L Cl ⁻) | 4,40 | 4,40 | 250 mg/L | ND |
| Alcalinidade total (mg/L CaCO ₃) | 32,50 | 35,00 | ND | ND |
| Turbidez (UNT) | 46,10 | 43,10 | 40 UNT | 100 UNT |
| Cloro residual livre (mg/L Cl) | 0,00 | 0,00 | 0,01 mg/L Cl | ND |
| Amônia (mg/L) | 0,05 | 0,05 | ** | ND |
| Sulfatos (mg/L SO ₄ ⁻) | 12,70 | 12,88 | 250 mg/L SO ₄ | ND |

VMP – valor máximo permitido ou faixa descrita.

(1) – Resolução CONAMA no.357/2005 (Brasil, 2005) – classe 1.

(2) – Resolução CONAMA no.357/2005 (Brasil, 2005) – classe 2.

Na análise comparativa com os dados descritos nos laudos do INEA, de análises dos dias 09/01 e 13/01 (OF INEA/OUVID n° 151/2020), constata-se que o único dado de físico-química que não esteve em conformidade com a Res. CONAMA no. 357/2005 foi a “turbidez”, para a amostra Água Bruta Guandu - RJ12GN0200 (Relatório INEA) do dia 09/01/2020 (Tabela 4).

Tabela 4 – Comparativo das duas vistorias, períodos “na crise” e “após crise”, com os dados de análises do INEA.

| Parâmetros | 09/01/2020 | 09/01/2020 | 13/01/2020 | 13/01/2020 | 09/03/2020 | 09/03/2020 | VMP(1) | VMP(2) |
|--|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| | Água Bruta Guandu RJ12GN 0200 | Água Bruta Guandu RJ12GN 0201 | Água Bruta Guandu RJ12GN0200 | Água Bruta Guandu FIOCRUZ | Água Bruta Guandu FIOCRUZ _pt1 | Água Bruta Guandu FIOCRUZ _pt2 | CONAMA 357/2005 (Classe 1) | CONAMA 357/2005 (Classe 2) |
| Dureza total (mg/L CaCO ₃) | - | - | - | 20,00 | 10,91 | 12,73 | ND | ND |
| Ph | 7,45 | 7,44 | 6,91 | 6,2 | 6,33 | 6,32 | 6,0 - 9,0 | ND |
| Condutividade (µS/cm) | 89,2 | 75,1 | 82,2 | 71,5 | 76,00 | 74,20 | ND | ND |
| Sólidos totais dissolvidos (mg/L STD) | 120,0 | 71,10 | 17 | 38,6 | 37,80 | 38,90 | 500 mg/L | ND |
| Cloretos (mg/L Cl ⁻) | 6,3 | 4,7 | 5,6 | 4,40 | 4,40 | 4,40 | 250 mg/L | ND |
| Alcalinidade total (mg/L CaCO ₃) | 22 | 22 | 24 | 40 | 32,50 | 35,00 | ND | ND |
| Turbidez (uT) | 253 | 59,2 | 64,95 | 4,18 | 46,10 | 43,10 | 40 UNT | 100 UNT |
| Coliformes termotolerantes (NMP/100mL) | 7,9x10 ³ | 2,3x10 ³ | 9,0x10 ² | - | 94 x 10 ³ | 99 x 10 ³ | - | 1x10 ³ NMP/100 mL |

Resultados das análises dos dias 09/01 e 13/01 foram obtidos a partir do OF INEA/OUVID n° 151/2020.

- Análise de Microcistina e Saxitoxina

Os resultados das análises de ELISA para STX demonstram que a água bruta estava em condições satisfatórias. Contudo para MC, na amostra do material particulado retida nos filtros GF/C, o resultado não estava em conformidade com o VMP do descrito na Portaria de Consolidação MS n.05/2017 - Anexo XX (Tabela 5). Este resultado se deve à maior concentração da amostra nos filtros, o que aumenta o poder de detecção do ensaio (Ferrão-Filho et al., 2009). Portanto, embora a análise das cianotoxinas em amostras de água para abastecimento humano seja uma exigência do Ministério da Saúde, a portaria de potabilidade não estabelece o método de extração e de análise a serem utilizados. A quantificação das toxinas é comumente realizada por ELISA ou HPLC, contudo a eficiência depende do método de processamento e extração utilizados.

Segundo Silva-Stenico et al. (2009), o método de extração com ultrassom em água, é um método simples, rápido e barato e que demonstrou ser mais eficiente. Portanto, ao comparar os níveis de MC nas amostras do momento “na crise”, com o momento “pós-crise”, de amostras processadas pela mesma metodologia, usualmente utilizada pelo INEA e pelas companhias de tratamento de água, a amostra do momento da crise teve valores de MC detectados (0,103 µg/L), enquanto que as amostras “pós-crise” por essa metodologia de extração apresentou 0,16 µg/L (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores de microcistina (MC) e saxitoxina (STX) nas amostras do Guandu.

| Amostra | Data | MC (µg/L) | STX (µg/L) | Observação |
|--|------------|--------------|---------------|--|
| Momento da Crise | | | | |
| Água Bruta (ponto 1) | 13/01/2020 | 0,103 | <0,02 | Amostra de água bruta congelada |
| Momento após crise | | | | |
| Água Bruta-Congelada | 09/03/2020 | <0,10 | <0,02 | Amostra de água bruta congelada |
| Água Bruta - refrigerada (ponto 1) | 09/03/2020 | 0,160 | <0,02 | Amostra de água bruta mantida em geladeira |
| Água Bruta-Filtro (ponto 1) | 09/03/2020 | 1,191 | 0,804 | Amostra de água bruta filtrada, congelada. |
| Limite detecção | | 0,1 | 0,02 | |
| Valor Máximo Permitido (Portaria de Consolidação MS 05/2017 - Anexo XX) | | 1,0 | 3,0 | |

Na comparação dos resultados desse trabalho com os dados descritos nos laudos do INEA, processados de forma similar (somente congelamento), os resultados para as cianotoxinas avaliadas foram similares aos analisados nas mesmas datas que foram realizadas as coletas desse trabalho (Tabela 6).

Tabela 6 - Comparativo das duas vistorias com os dados de análises do INEA

| | 09/01/2020 | 09/01/2020 | 13/01/2020 | 13/01/2020 | 09/03/2020 | VMP MS Port.5/2017 |
|---------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| | Água Bruta Guandu RJ12GN0200 | Água Bruta Guandu RJ12GN0201 | Água Bruta Guandu RJ12GN0200 | Água Bruta Guandu FIOCRUZ | Água Bruta Guandu FIOCRUZ_pt1 | |
| Microcistinas | 0,164 | - | 0,119 | 0,103 | <0,160 | <1µg/L |
| Cilindrospermopsina | <0,1 | - | <0,1 | - | - | <1µg/L |
| Saxitoxinas | <0,02 | - | <0,02 | <0,02 | <0,02 | <3µg/L |

OBS.: Resultados das análises dos dias 09/01 e 13/01 foram obtidos a a partir do OF INEA/OUVID n° 151/2020.

- Análise do Filtrado da Água Bruta na metodologia de concentração de amostra

Parte da amostra coletada no momento “crise hídrica” que foi coletada com a rede de concentração de fitoplâncton, submetida à filtração em membranas de 0,8 µm;

0,45 μm e 0,22 μm de porosidade, apresentou cor azul no filtrado e nas membranas de 0,8 μm ; 0,45 μm de porosidade (Figura 2), caracterizado pela produção do pigmento de ficocianina em altas concentrações pelas cianobactérias durante a floração (Utsumi et al., 2015).

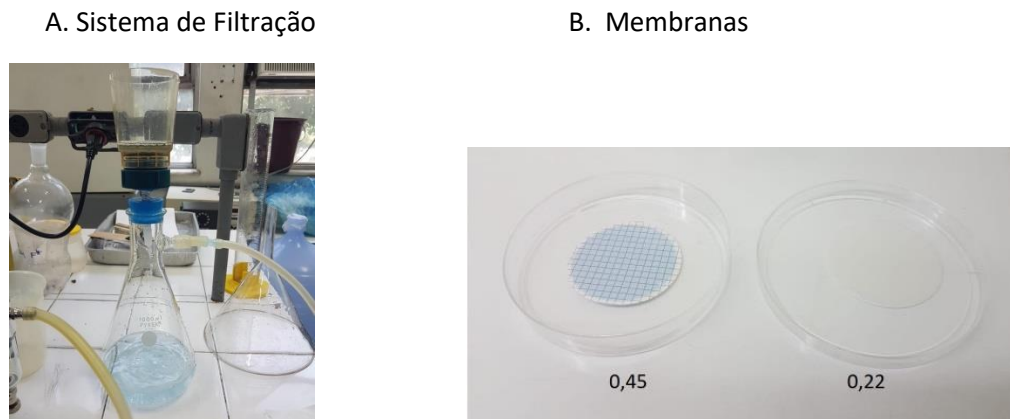


Figura 2- Fotos ilustrativas do aspecto da água bruta coletada pela técnica de rede de fitoplâncton e das membranas após filtração da água bruta. **A-** Sistema de Filtração; **B-** Membrana de 0,45 μm de porosidade após filtrar 600 mL de água bruta da ETA do Guandu, coletada pela técnica da rede de fitoplâncton. A amostra passou sequencialmente através das membranas de 0,45 e 0,22 μm de porosidade.

- Principais Gêneros Indicados pelo Ministério da Saúde como produtores de cianotoxinas encontrados nas sequências genéticas das amostras

Foram identificados, no estudo metagenômico, sequências genômicas correspondentes aos gêneros de cianobactérias relacionados com a produção de cianotoxinas, indicados na referência do Ministério da Saúde (MS) - “Cianobactérias/cianotoxinas: procedimentos de coleta, preservação e análise” (Brasil, 2015). Foram encontrados tanto na amostra de água de água bruta do período “na crise” hídrica, como no “após crise”. Contudo na amostra de água bruta do momento “na crise”, do dia 13/01/2020, foi encontrado um percentual de 5% de sequências genéticas para cianobactérias no domínio das bactérias, que representavam 11 gêneros, do total de 12 gêneros listados como relacionados com cianobactérias como potencialmente produtoras de neurotoxinas; e também foram encontrados de 14 gêneros, do total de 22 gêneros listados como relacionados com bactérias como potencialmente produtoras de hepatotoxinas indicados pelo MS. Enquanto que na amostra coletada no momento “após crise” (dia 09/03/2020), esse percentual de sequências genéticas para cianobactérias foi reduzido, do total de sequências dentro domínio de sequências para bactérias, apenas 1% de sequências genéticas correspondiam a cianobactérias, e representado apenas por 2 gêneros relacionados com o potencial genético de produção de neurotoxinas e 3 gêneros relacionados com o potencial genético de produção de hepatotoxinas (Tabela 7).

Tabela 7 – Gêneros de cianobactérias presentes (+) ou ausentes (-) nas sequências genéticas das amostras, baseado em referência do Ministério da Saúde (Brasil, 2015), em dois períodos de análise “crise hídrica” e “após crise”.

| | Neurotoxinas | | | Hepatotoxinas | |
|--------------------|--------------|------------|--------------------|---------------|------------|
| | Crise | Após crise | | Crise | Após crise |
| Aphanizomenon | + | - | Anabaena | + | - |
| Arthrospira | + | - | Anabaenopsis | - | - |
| Cylindrospermum | + | - | Aphanocapsa | - | - |
| Oscillatoria | + | + | Arthrospira | + | - |
| Phormidium | + | - | Fischerella | + | - |
| Planktothrix | + | - | Gloeotrichia | - | - |
| Anabaena | + | - | Hapalosiphon | + | - |
| Raphidiopsis | + | - | Microcystis | + | - |
| Cylindrospermopsis | + | - | Nostoc | + | + |
| Planktolyngbya | - | - | Oscillatoria | + | + |
| Hydrocoleum | + | - | Phormidium | + | - |
| Lyngbya | - | + | Planktothrix | + | - |
| | | | Plectonema | - | - |
| | | | Radiocystis | - | - |
| | | | Synechocystis | + | - |
| | | | Woronichinia | - | - |
| | | | Cylindrospermopsis | + | - |
| | | | Aphanizomenon | + | - |
| | | | Lyngbya | - | + |
| | | | Raphidiopsis | + | - |
| | | | Umezakia | - | - |
| | | | Nodularia | + | - |

+ presença
- ausência

Embora não esteja listado na principal referência do MS do Brasil (Brasil, 2015), o gênero *Planktothricoides*, encontrado em trabalho anteriormente publicado por nosso grupo, sendo o gênero mais abundante na amostra do momento da “crise hídrica” (Moura et al., 2020). E no momento “após crise” esse gênero não foi encontrado nas sequências do estudo metagenômico. Segundo Komárek & Komáreká (2004), as bactérias do gênero *Planktothricoides* eram classificadas como do gênero *Planktothrix*, embora distintos, ambos possuem repertório genômico capaz de produzir substâncias que conferem gosto e odor na água, assim como de produzir cianotoxinas, como microcistina (hepatotoxina), saxitoxinas e BMAA (neurotoxinas), entre outras (Te et al, 2017; Cox et al., 2005).

4. CONCLUSÕES

O nível de *Escherichia coli*, principal parâmetro bioindicador da presença recente de esgoto na água bruta, ficou acima do VMP nos dois períodos, mesmo para uma água bruta em classe 2 segundo Res. 357/2005. Esse resultado indica o quanto se encontra impactada a Bacia do Rio Guandu pela falta de saneamento das cidades a montante do ponto de captação da água do manancial utilizado pela ETA do Guandu. Consequentemente, a região metropolitana do Rio de Janeiro está consumindo um tipo de água de reúso indireto não planejado. Portanto, esse reúso não intencional e não controlado precisa ser modificado para o *status* controlado, por meio do urgente e necessário saneamento básico nas cidades à montante da captação de água.

Quanto à dosagem de cianotoxinas, o método de processamento, extração e análise precisa ser ajustado, de modo a aumentar o poder de detecção desses compostos. Isso é necessário, para a adequada avaliação do real risco relacionado com a presença desse tipo de contaminante, na água bruta captada pela estação de tratamento de água. Verificamos que o método de concentração das células em filtro de fibra de vidro possibilitou melhor detecção de microcistina. Por estarem muito diluídas na amostra de água bruta, muitas vezes as toxinas podem ficar abaixo do limite de detecção do método utilizado. Considerando que a legislação está em fase de modificação, seria oportuno recomendar um método de concentração (liofilização, filtração, etc.) que aumente a sensibilidade da análise a ser utilizada, a fim de que o monitoramento seja mais eficiente.

A maioria dos gêneros de cianobactérias encontrados nas amostras de água bruta do período “após crise” é comum ao plâncton de lagos e mananciais utilizados por ETAs. Portanto a diminuição da ocorrência de diversidade de gêneros de cianobactérias com potencial genético para produção de neurotoxinas e hepatotoxinas, foi um dado positivo no momento “pós-crise”. Esse resultado demonstrou que medidas de controle e mitigação para melhoria dos problemas que conferia gosto e odor na água tratada foram adotadas e funcionaram. Contudo há de se considerar que um alerta foi dado, e que eventos similares tendem a se tornar mais frequentes e críticos no futuro, especialmente em caso de escassez hídrica. Portanto, medidas e ações de gestão nos recursos hídricos precisam urgentemente serem adotadas, de modo garantir a segurança hídrica da bacia do Rio Paraíba do Sul, para não comprometer a qualidade da oferta hídrica para os usuários.

Recomendamos o monitoramento periódico dos reservatórios, integrando análises de genômica, biogeoquímica e de toxicidade, como ferramenta importante para garantir a qualidade do abastecimento e fornecimento de dados para a realização do Plano de Contingência, em momentos de floração de algas potencialmente produtoras de toxinas.

5. AGRADECIMENTOS

À Vice-Presidência de Ambiente, Atenção e Promoção da Saúde (VPAAPS) da Fiocruz pelo financiamento, e do Programa de Pós Graduação pela inclusão do pós doc, e pagamento da bolsa de alunos de doutorado pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), nº do processo E-26/200.393/2020. E apoio do Ministério Público do Estado do Rio de Janeiro, através do Grupo de Atuação Especializada em Meio Ambiente (GAEMA) pela oportunidade no desenvolvimento desse trabalho.

6. REFERÊNCIAS

ABNT. REUSO de ÁGUA SERVIDA e/ou de ESGOTOS TRATADOS - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - NBR. 13.969/97, 1997.

ANDERSEN, R.A. Algal Culturing Techniques. Elsevier, Amsterdam. 2005 - books.google.com, em 578p.

APHA. American Public Health Association. Standard methods for examination of water and waste water. 23rd ed. Washington: 2012.

ARAGÃO, M.C.; Abreu, A.Z.; Capelo Neto, J. Estabilidade de Saxitoxinas GTX 2/3, dc-GTX 2/3 e C1/2 em água de abastecimento e impactos na validação de método analítico. Revista DAE, Ed. 203, p 80-95, 2016.

BLANKENBERG D, KUSTER G VON, CORAOR N, ANANDA G, LAZARUS R, MANGAN M, ET AL. Galaxy: A Web-Based Genome Analysis Tool for Experimentalists. In: Current Protocols in Molecular Biology. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2010.

BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, 1 ago. 2014.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA - Resolução nr. 357/2005, Brasília, Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação no. 05, de 28 de setembro de 2017. Publicada No. 190 – DOU de 03/10/2017 – Seção 1 – Suplemento. P. 360, Anexo XX.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. Cianobactérias/cianotoxinas: procedimentos de coleta, preservação e análise. Brasília, 2015. 106 p. www.saude.gov.br/svs

BUCHFINK, B.; XIE, C.; HUSON, D. H. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. Nature methods, v. 12, n. 1, p. 59–60, 17 jan. 2015.

CEDAE site – Qualidades da Água – Relatórios Guandu- Ano 2020, em: <https://www.cedae.com.br/relatoriosguandu> e em <https://www.cedae.com.br/Portals/0/qualidade/CIANOACT%C3%89RIAS%20-%2006%20JANEIRO%20-%20MANANCIAL%20GUANDU.pdf>, acesso dia 20 de janeiro de 2020.

COX, P. A. et al. Diverse taxa of cyanobacteria produce β -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 102, n. 14, p. 5074–5078, 2005.

FALCONER, I. Toxicity of the Blue-Green Alga (Cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*, v. 9, p. 131–139, 1994.

Ferrão-Filho AS, Kozlowsky-Suzuki B (2011) Cyanotoxins: bioaccumulation and effects on aquatic animals. *Marine Drugs* 9:2729–2772. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04851-6>

FERRÃO-FILHO, A.S; Soares M.C.S., Magalhães, V.F.; Azevedo, S.M.F.O. Biomonitoring of cyanotoxins in two tropical reservoirs by cladoceran toxicity bioassays. *Ecotox. Environ. Saf.*, 72: 479–489. 2009.

GOMEZ-ALVAREZ, V.; REVETTA, R. P.; DOMINGO, J. W. S. Metagenomic analyses of drinking water receiving different disinfection treatments. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 78, n. 17, p. 6095–6102, 2012.

HAHN, M. W. et al. *Limnohabitans australis* sp. nov., isolated from a freshwater pond, and emended description of the genus *Limnohabitans*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 60, n. 12, p. 2946–2950, 2010.

HANDAM, N., Santos, J., Moraes Neto, A., Alencar, M., Ignacio, C., Sotero-Martins, A. (2020). Drinking water quality in Brazilian urban slums. *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 15(3), 1-11. doi:<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.2532>

HUSON, D. H. et al. MEGAN Community Edition - Interactive Exploration and Analysis of Large-Scale Microbiome Sequencing Data. *PLoS Computational Biology*, v. 12, n. 6, p. 1–12, 2016.

INEA - Instituto Estadual do Ambiente. *Bacia Hidrográfica dos Rios Guandu, da Guarda e Guandu-Mirim Experiências para a gestão dos recursos hídricos*. 2012, 340 p.

JEZBERA, J.; ŠIMEK, K.; HAHN, M. W. Europe PMC Funders Group *parvus* sp. nov., two novel planktonic Betaproteobacteria isolated from a freshwater reservoir. v. 60, n. Pt 12, p. 2710–2714, 2011.

CARMICHAEL, W. W. et al. 2001. Human fatalities from cyanobacteria: Chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*, 109: 663–668. DOI: 10.1289/ehp.01109663.

KULAKOV, L. A. et al. Analysis of bacteria contaminating ultrapure water in industrial systems. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 4, p. 1548–1555, 2002.

LAPOLLI, F. R.; CORAL, L. A.; RECIO, M.Á.L. *Revista SABESP – DAE*, Edição nº: 185 Ano: 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Ambiental e Saúde do Trabalhador. Orientações técnicas para o monitoramento de cianobactérias/cianotoxinas nos mananciais de abastecimento de água para consumo humano / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador, – Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 22 p.: il Modo de acesso: World Wide Web. ISBN 978-85-334-2432-6

MORAGAS, W.M. Análise dos sistemas ambientais do alto Rio Claro – sudoeste de Goiás: contribuição ao planejamento e gestão. Tese (Doutorado em Geografia) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 2005.

MOURA, P.G. Metagenômica da água de reúso: esgoto e água potável. Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca. Fundação Oswaldo Cruz, tese de doutorado do Programa de Pós Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, 2019.

MOURA, P.G.; FILHO KOTOWSKI, N.P.; CARVAJAL, E.; HANDAM, N.B.; JARDIM, R.; SOTERO-MARTINS, A. Scientific Electronic Library On line, Scielo PrePrints (Pilot). Article submitted to Reports in Public Health ISSN1678-4464, 2020. DOI: 10.1590/ScieloPreprints.529

NCBI. Taxonomy Browser Bradyrhizobium. Disponível em: <ncbi:txid374>. Acesso em: 20 nov. 2019.

NORTON, C. D.; CHEVALLIER, M. W. L. E. A Pilot Study of Bacteriological Population Changes through Potable Water Treatment and Distribution. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, v. 66, n. 1, p. 268–276, 2000.

ONDOV, B. D.; BERGMAN, N. H.; PHILLIPPY, A. M. Interactive metagenomic visualization in a Web browser. BMC Bioinformatics, v. 12, n. 1, p. 385, 2011.

SANCHES, S. M., Vieira, E.M., Prado, E. L., Benetti, F., & Takayanagui, A. M. M.. (2007). Estudo da presença da toxina microcistina-LR em água utilizada em clínica de hemodiálise e validação de um método analítico. Eclética Química, 32(4), 43-48. <https://doi.org/10.1590/S0100-46702007000400006>.

SANTOS RCL, Lima ÁS, Cavalcanti EB, Melo CM de, Marques MN. Aplicação de índices para avaliação da qualidade da água da Bacia Costeira do Sapucaia em Sergipe. Engenharia Sanitaria e Ambiental. 23(1):33–46. 2018.

SILVA-STENICO, M. E.; Cantúcio Neto, R.; Ivânio R. Alves, I.R.; Moraes, L.A. B.; Shishidoa, T. K. ; Fiore, M.F. Hepatotoxin Microcystin-LR Extraction Optimization. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 20, No. 3, 535-542, 2009.

ŠIMEK, K. et al. Broad habitat range of the phylogenetically narrow R-BT065 cluster, representing a core group of the betaproteobacterial genus limnhabitans. Applied and Environmental Microbiology, v. 76, n. 3, p. 631–639, fev. 2010.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. In: BARTRAM, J. (Ed.). . Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences monitoring and management. London: [s.n.]. v. 22p. 41–111.

SOTERO-MARTINS, A.; Handam, N. B.; Moura, P.G.; Amaral, L.S.; Caldas, L.V.L.; Carvajal, E. Methods for Sanitary Inspection of Microbiological and Parasitary Quality of Water and Sand of Recreation Areas. American Journal of Engineering Research (AJER), v. 6, n. 2, 56-62.

TE, S. H. et al. Genomics insights into production of 2-methylisoborneol and a putative cyanobactin by *Planktothricoides* sp. SR001. *Standards in Genomic Sciences*, v. 12, n. 1, p. 1–9, 2017.

TEIXEIRA, M. DA G. L. C. et al. Epidemia de gastroenterite na area da barragem de Itaparica, Bahia. *Bol Of Sanit Panam*, v. 114, n. 6, p. 502–512, 1993.

UTSUMI, A.G.; GALO, M. L. B. T.; TACHIBANA, V.M.. Mapeamento de cianobactérias por meio da fluorescência da ficocianina e de análise geoestatística. *Rev. bras. eng. agríc. ambient.* [online]. 2015, vol.19, n.3 [cited 2020-05-21], pp.273-279.

WAGNER G, JARDIM R, TSCHOEKE DA, LOUREIRO DR, OCAÑA KACS, RIBEIRO ACB, et al. STINGRAY: System for integrated genomic resources and analysis. *BMC Research Notes*, v. 7, n. 1, p. 1–9, 2014.

ZENG, Y. Genome Sequences of Two Freshwater Betaproteobacterial Isolates, Limnohabitans Species Strains Rim28 and Rim47, Indicate Their Capabilities as Both Photoautotrophs and Ammonia Oxidizers. v. 194, n. 22, p. 6302–6303, 2012.

Principais Contribuições dos Autores:

Adriana Sotero-Martins - Coordenou o projeto, responsável pelas coletas e processamento das amostras, e como docente na orientação dos alunos, e na organização do artigo. **Aloysio da Silva Ferrão-Filho** - Realizou as análises de cianotoxinas, e participou da elaboração do artigo. **José Augusto Albuquerque dos Santos** - Contribuiu como pesquisador responsável pelas análises físico-química e colimétricas, e como docente na orientação dos alunos, e participou da elaboração do artigo. **Priscila Gonçalves Moura** – aluna de pós doutorado, contribuiu como pesquisador no processamento das amostras e nas análises dos resultados, e participou da elaboração do artigo. **Natasha Berendonk Handam** – aluna de doutorado, participou das análises físico-química e colimétrica, e na análises dos resultados, e participou da elaboração do artigo. **Nelson Peixoto Kotowski-Filho** - Contribuiu como pesquisador pelas análises metagenômicas, e como docente na orientação dos alunos, e participou da elaboração do artigo. **Rodrigo Jardim** - Contribuiu como pesquisador responsável pelas análises metagenômicas, e como docente na orientação dos alunos, e participou da elaboração do artigo. **Elvira Carvajal** - Contribuiu como pesquisador responsável nas análises dos resultados, e participou da elaboração do artigo.