



I-192 - PRIMEIRO RELATO DE FLORAÇÃO TÓXICA DE *Microcystis aeruginosa* NO ESTADO DO CEARÁ

Stella Maris de Castro Carvalho⁽¹⁾

Bióloga da Companhia de Água e Esgoto do Ceará - CAGECE.

Milena de Oliveira Pereira

Bióloga da Companhia de Água e Esgoto do Ceará - CAGECE.

Mauro Batista Sampaio

Acadêmico de Ciências Biológicas pela UECE. Coordenador de Tratamento de Água e Esgoto do SAAE Iguatu. Membro do Comitê da Sub-Bacia Hidrográfica do Alto Jaguaribe. Membro do CONDEMA – Iguatu.

Maria Cleide Andrade Ximenes

Bióloga da Companhia de Água e Esgoto do Ceará - CAGECE.

Suianne Rebouças de Moura Queiroz

Bióloga da Companhia de Água e Esgoto do Ceará - CAGECE.

Endereço⁽¹⁾: Rua João Cordeiro, 2245 – Joaquim Távora – Fortaleza –CE. Cep: 60.110-301. Brasil. Tel: +55 (85) 3101-4766 – Fax: + 55 (85) 3101-4768 – email: stellamaris@cagece.com.br.

RESUMO

A presença de cianobactérias em corpos hídricos em valores da ordem de milhões de células por litro é conhecida como floração ou *bloom* de cianobactérias, um fenômeno que pode acarretar graves consequências, uma vez que as cianobactérias podem produzir toxinas letais a homens e animais. Em julho de 2008 foi observada uma floração de cianobactérias no açude Trussu, situado na cidade de Iguatu, Estado do Ceará, cuja espécie dominante foi *Microcystis aeruginosa*. O município de Iguatu possui uma clínica de hemodiálise e, portanto, foi avaliada a toxicidade da floração através de bioensaios em camundongos e imunoensaio ELISA para microcistinas em água bruta e tratada. Os resultados apontaram uma floração tóxica, ocorrendo a morte dos animais inoculados com o extrato algáceo. A maior dose inoculada foi 375,0 mg/Kg e a menor 149,1 mg/Kg do peso corpóreo dos animais submetidos aos testes, conferindo média toxicidade da floração. O fígado dos animais afetados apresentou aumento de peso, compreendendo cerca de 7 a 8% do peso do corpo dos animais testados. O ensaio para microcistinas confirmou sua presença na água bruta e na saída da Estação de Tratamento do SAAE Iguatu, porém no último caso, os níveis de microcistinas estavam em patamares considerados seguros para consumo humano. Também foi averiguada a presença de microcistinas na água fornecida à clínica de hemodiálise, cuja presença situou-se em torno de 0,07 µg/L, não colocando em risco a saúde dos pacientes da clínica.

PALAVRAS-CHAVE: microcistinas, açude Trussu, *Microcystis aeruginosa*, toxicidade.

INTRODUÇÃO

A ocorrência de cianobactérias em rios, lagos, lagoas e açudes é um evento natural, entretanto, alguns fatores podem influenciar seu intenso crescimento, produzindo um fenômeno conhecido por florações ou *blooms* de cianobactérias. A presença desses organismos em concentrações tão elevadas constitui um problema de saúde pública, uma vez que são capazes de produzir toxinas letais a homens e animais e liberá-las na água, através da ruptura da célula, quando da morte, natural ou não, destes organismos.

O Estado do Ceará reúne condições ambientais favoráveis para a ocorrência de florações durante todo o ano. Dentre estas condições pode-se citar a intensidade luminosa, as altas taxas de evaporação e a baixa pluviosidade que levam à concentração de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo. O aumento da população, da industrialização, do uso de fertilizantes químicos na agricultura, aquicultura e outros fatores também levam ao processo de eutroficação e favorecem a formação destas florações.

As formas de exposição mais comuns às cianotoxinas são: o uso recreativo de lagos e rios e o consumo de água potável e de alimentos de algas. Há casos de exposição através do uso de chuveiros (menos comuns) e através da hemodiálise (grupo de maior risco).



A Portaria nº 518/04 do Ministério da Saúde estabelece limites máximos para a presença destas cianotoxinas em água para consumo, sendo de 1,0 µg/L para microcistinas, 3,0 µg/L para saxitoxinas e 15,0 µg/L para cilindrospermopsina.

O açude Trussu localiza-se no município de Iguatu, pertence à Bacia do Alto Jaguaribe e tem capacidade de reservação de 301.000.000m³. Além do abastecimento público, é utilizado para piscicultura em tanques-rede e recreação, com passeios de barco e restaurantes em suas margens.

O sistema de tratamento utilizado pelo SAAE de Iguatu é filtração direta ascendente. O filtro é composto por areia e pedra de várias granulometrias. O processo de desinfecção ocorre após a filtração da água. O sistema alimenta a clínica de hemodiálise localizada neste mesmo município, tornando maior a responsabilidade da empresa na realização de efetivo controle de qualidade e processo de tratamento, uma vez que os pacientes hemodializados pertencem ao grupo de maior risco quando verificada a presença de cianobactérias no manancial.

As hepatotoxinas, em especial as microcistinas, respondem pelos casos mais comuns de intoxicação envolvendo cianobactérias. São comumente produzidas pela espécie *Microcystis aeruginosa*, mas também por outras espécies pertencentes aos gêneros *Anabaena*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Anabaenopsis*, *Aphanocapsa* e *Hapalosiphon*. O fígado é o órgão mais afetado pela ação das microcistinas, que interagem com os hepatócitos, alterando o citoesqueleto celular, ocasionando a destruição da arquitetura hepática, o que provoca a morte em minutos ou poucas horas.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi investigar a floração de *Microcystis aeruginosa* ocorrida no açude Trussu, utilizado para abastecimento público e localizado em Iguatu, Ceará, quanto à presença de microcistinas no manancial e nas diversas etapas de tratamento do SAAE até a chegada ao consumidor final.

METODOLOGIA

Para o desenvolvimento deste trabalho, a amostragem foi realizada no mês de julho de 2008 por técnicos do SAAE devidamente instruídos. Foram coletadas amostras de água bruta, tratada e na clínica de hemodiálise. As amostras de água bruta foram tomadas diretamente do açude, na sub-superfície da captação do SAAE e a 5,5m de profundidade da captação, com o auxílio de frascos de vidro âmbar. As amostras de água tratada foram coletadas na Estação de Tratamento após a filtração e a desinfecção, e na clínica de hemodiálise do município, na torneira de entrada da clínica e na entrada do aparelho de diálise. As amostras de água bruta e tratada para análises de identificação de cianobactérias e quantificação de cianotoxinas foram refrigeradas e encaminhadas ao laboratório imediatamente. As amostras destinadas à quantificação de cianobactérias foram fixadas com solução de lugol acético na proporção de 5mL por litro de amostra coletada.

As análises de identificação de cianobactérias foram realizadas através de filtração da amostra em malha de nylon de 25µm, uso de lâmina e laminula e auxílio de bibliografia especializada. As análises de quantificação de cianobactérias foram realizadas em câmara de Sedgwick-Rafter, após 24 horas de sedimentação em proveta de 1000mL. A metodologia utilizada está descrita em A.P.H.A (2005).

As análises de cianotoxinas realizadas foram bioensaio de toxicidade em camundongos e determinação de microcistinas. Para a realização de bioensaios de toxicidade foram filtrados 10.000mL de água bruta em filtros de fibra de vidro GF/C ou equivalente. A biomassa filtrada foi ressuspensa em solução salina 0,9% e o extrato filtrado em membrana estéril de nitrato de celulose 0,45µm para eliminação de bactérias. Foram utilizados camundongos machos tipo *Swiss*, inoculados por via intraperitoneal. Os animais foram acompanhados para avaliação de sintomas durante 7 dias e eutanasiados após esse período.

A determinação de microcistinas foi realizada com kit de imunoensaio em placas específico para esta cianotoxina, da marca Beacon, com padrões de 0,1, 0,3, 0,8, 1,0 e 2,0 µg/L. As amostras foram previamente tratadas com duplo congelamento.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise qualitativa para identificação da biota fitoplancônica presente no ponto de captação de água bruta revelou a dominância de *Microcystis aeruginosa*, cianobactéria potencialmente tóxica capaz de produzir microcistinas. Além desta cianobactéria foram identificadas, em menor número, *Anabaena* sp., *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Merismopedia* sp. e *Planktothrix agardhii*, também reportadas na literatura como produtoras de microcistinas e outros grupos de cianotoxinas.

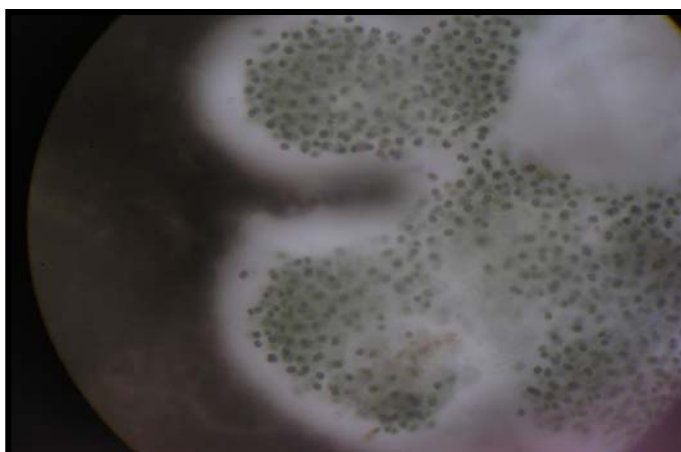


Figura 1: Colônia de *Microcystis aeruginosa* identificada no açude Trussu, Iguatu, Ceará. Observar a bainha evidenciada por nanquim.

A análise quantitativa revelou que a espécie de cianobactéria *Microcystis aeruginosa* constitui mais de 99,6% da massa fitoplancônica presente na amostra (69.360,0 células/mL). Todos os demais organismos juntos representam apenas 0,36% do total de células/mL, conforme observado na tabela 1.

Tabela 1: Resultado quantitativo do fitoplâncton do manancial em amostra sub-superficial coletada no dia 23/07/2008.

Organismos identificados	Organismos/mL	Células/mL
Cianobactérias		
<i>Anabaena</i> sp.	5,1	209,1
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	5,1	51
<i>Merismopedia</i> sp.	27,2	818,7
<i>Microcystis aeruginosa</i>	6,8	69.360,0
<i>Planktothrix agardhii</i>	1,7	102,0
Demais grupos		
<i>Aulacoseira granulata</i>	460,7	921,4
Bacillariophyta	137,7	137,7
<i>Centrtractus belanophorus</i>	3,4	3,4
<i>Closterium</i> sp.	1,7	1,7
<i>Crucigenia</i> sp.	6,8	27,2
<i>Cryptomonas</i> sp.	88,7	88,7
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	1,7	27,2
<i>Monoraphidium contortium</i>	22,1	22,1
<i>Trachelomonas</i> sp.	3,4	3,4
Total	772,1	71.773,1

O resultado quantitativo da amostra coletada na captação a 5,5m de profundidade revelou um número de cianobactérias ainda mais elevado, sendo de 162.828,0 células de cianobactérias/mL.

**Tabela 2: Resultado quantitativo do fitoplâncton do manancial em amostra de coletada a 5,5m de profundidade no dia 23/07/2008.**

Organismos identificados	Organismos/mL	Células/mL
Cianobactérias		
<i>Aphanocapsa</i> sp.	12,0	1.428,0
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	60,0	600,0
<i>Microcystis aeruginosa</i>	48,0	160.800,0
Demais grupos		
<i>Aulacoseira granulata</i>	1.332,0	2.664,0
Bacillariophyta	420,0	420,0
<i>Centritractus belanophorus</i>	12,0	12,0
<i>Cryptomonas</i> sp.	96,0	96,0
<i>Cyclotella</i> sp.	24,0	24,0
Micractinaceae	24,0	216,0
Total	2.028,0	166.260,0

Foram realizados dois bioensaios de toxicidade. Para o primeiro, a partir de amostra coletada no dia 07 de julho, foram filtrados 10,1 litros de amostra de água bruta. Foram utilizados 7 camundongos machos tipo Swiss, sendo um controle. Cada camundongo recebeu 1mL de inóculo através de injeção intraperitoneal, seguindo as concentrações na tabela 3. Cada dose foi aplicada em duplicata.

Tabela 3: Dados do bioensaio de toxicidade realizado em amostra do açude Trussu do dia 07/07/2008.

Animal	Dosagem (mg ps/Kg pc)	Morte	Tempo de morte (min)	Sintomas
I	369,6	Sim	1 hora 31 minutos	Hepatointoxicação
II	375,0	Sim	2 horas 29 minutos	Hepatointoxicação
III	281,2	Sim	1 hora 40 minutos	Hepatointoxicação
IV	296,9	Sim	1 hora 11 minutos	Hepatointoxicação
V	200,0	Sim	3 horas 42 minutos	Hepatointoxicação
VI	202,0	Sim	2 horas 8 minutos	Hepatointoxicação

Os camundongos testados desenvolveram uma série de sintomas que culminaram na morte de todos os animais, mesmo dos que receberam as doses mais baixas. O tempo de morte variou de 1 hora e 11 minutos (animal IV) a 3 horas e 42 minutos (animal V). Os sintomas observados foram: palidez nas extremidades (focinho, orelhas e membros), dificuldade de respiração, desequilíbrio ao caminhar, lentidão e, finalmente, prostração com a paralisia dos membros inferiores, seguida de morte. Cinco animais foram dissecados (1 controle e 4 afetados) e o fígado analisado em busca de indícios de hepatointoxicação. O fígado dos animais afetados apresentou crescimento e escurecimento em relação ao fígado do animal controle (que recebeu apenas solução salina). O peso também sofreu aumento, sendo de 5% do peso do corpo no controle e de 7 a 8,5% nos animais afetados.

O segundo ensaio de toxicidade foi realizado a partir de amostra de água bruta coletada na captação no dia 23 de julho. Foram filtrados 7,4 litros de amostra e utilizados 10 camundongos machos Swiss, sendo 1 (um) controle. As doses aplicadas variaram de 200,0 mg/kg a 58,0 mg/kg de peso corpóreo, segundo a Tabela 4.

Tabela 4: Dados do bioensaio de toxicidade realizado em amostra do açude Trussu do dia 23/07/2008.

Animal	Dosagem (mg/Kg pc)	Morte	Tempo de morte (min)	Sintomas
I	200,0	Sim	1 hora 40 minutos	Hepatointoxicação
II	182,1	Sim	1 hora 33 minutos	Hepatointoxicação
III	181,5	Sim	1 hora 38 minutos	Hepatointoxicação
IV	149,1	Sim	1 hora 48 minutos	Hepatointoxicação
V	148,6	Não	-	Hepatointoxicação
VI	116,1	Não	-	Hepatointoxicação
VII	115,3	Não	-	Hepatointoxicação
VIII	100,3	Não	-	Hepatointoxicação
IX	58,0	Não	-	Hepatointoxicação



Os animais apresentaram sintomas semelhantes aos observados no primeiro ensaio, sendo possível, a partir desta segunda análise, estimar a dose letal em torno de 148mg/kg de peso corpóreo. Baseados nos valores estabelecidos por Lawton *et al.* (1994) *apud* Chorus & Bartram (1999), e expostos na Tabela 5, tal dosagem pode ser considerada de média toxicidade.

Tabela 5: Faixas de toxicidade para amostras de seston.

Dosagem (mg/Kg peso corpóreo)	Toxicidade
> 1000	Não tóxico
1.000 – 500	Baixa
500 – 100	Média
< 100	alta

Amostras de água bruta e tratadas coletadas na saída da ETA e na entrada da clínica de hemodiálise foram submetidas à análise da presença de microcistinas pelo método ELISA. Os resultados encontram-se na tabela 6.

Tabela 6: Resultado da análise de microcistinas (ELISA) em água bruta e tratada, coletadas no dia 23/07/2008.

Ponto de amostragem	Resultado observado (µg/L)	Valor de referência segundo a Portaria nº 518/04/MS
Captação de água bruta	2,28	Não se aplica
Torneira de saída da ETA	0,47	1 µg/L de microcistinas
Torneira de entrada na clínica de hemodiálise	0,07	

CONCLUSÕES

Os resultados das análises claramente evidenciam a presença de uma floração de cianobactérias tóxicas, especificamente *Microcystis aeruginosa*, neste manancial. Os ensaios de toxicidade realizados confirmaram a presença das cianotoxinas microcistinas, em amostras de água bruta e tratada, embora, neste último caso, encontre-se em níveis considerados seguros para consumo humano segundo a Portaria nº 518/04/MS.

Caso seja comprovada a presença de cianotoxinas em água tratada em níveis que ofereçam riscos à saúde da população, deve-se estudar a possibilidade de substituição do manancial por fonte hídrica alternativa, em caráter temporário, se as medidas para amenizar o problema não se apresentarem eficientes em curto prazo.

A floração observada no açude Trussu apresentou grande potencial hepatotóxico, portanto, um risco para os animais que fazem uso dessa água para dessedentação, bem como para as populações que a utilizam para consumo doméstico sem o devido tratamento realizado na Estação de Tratamento de Água do SAAE Iguatu.

É imprescindível o acompanhamento sistemático da dinâmica das cianobactérias no açude Trussu a fim de evitar a intoxicação da população por cianotoxinas, destacando-se as microcistinas, seja por contato primário, por ingestão oral ou via intravenosa (pacientes da clínica de hemodiálise).

Por possuírem capacidade de bioacumulação e promoção tumoral, devem ser realizados estudos complementares a fim de evitar exposições crônicas e o desenvolvimento de carcinomas hepáticos em populações expostas a baixas dosagens de microcistinas, por períodos prolongados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A.P.H.A. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21. ed. Washington, APHA/WEF/AWWA. 1400pp, 2005
2. BRASIL. Ministério da Saúde Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. 24pp, 2004.
3. CALIJURI, M.C. *et al.* Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais. São Carlos-SP, RiMa, 118p. 2006.
4. CARMICHAEL, W.W. The toxins of cyanobacteria. Scientific American vol. 270, nº 1, p. 78-86, 1994.



5. CHORUS, I & BARTRAM, J. Toxic cyanobacteria in water: a guide to public health consequences, monitoring and management. World Health Organization. London and New York, 416p, 1999.
6. CYBIS, L.F. *et al.* Manual para estudo de cianobactérias planctônicas em mananciais de abastecimento público: caso da represa Lomba do Sabão e Lago Guaíba, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Rio de Janeiro. ABES. 64p. 2006.
7. DI BERNARDO, L. *et al.* Avaliação da toxicidade aguda de uma cepa de *Microcystis spp.* por meio de testes com camundongos. Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental. Volume 12, número 1, p. 24-31, 2007.
8. ESPÍNDOLA, E.L.G.; BOTTA-PASCHOAL, C.M.R.; ROCHA, O.; BOHRER, M.B.C.; OLIVEIRA-NETO, A.L. de (Editores). Ecotoxicologia: Perspectivas para o Século XXI, São Carlos – SP, RiMa, 2000.
9. JARDIM, F.A. *et al.* Detecção de toxicidade em cianobactérias como ferramenta para o monitoramento e tomada de decisões no sistema de tratamento de água de Montes Claros - MG. XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. João Pessoa - PB, 2001.
10. LEAL, A.C. & SOARES, M.C.P. Hepatotoxicidade da cianotoxina microcistina. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Volume 37, Suplemento II, 2004.
11. SANT'ANNA, C.L. *et al.* Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras. Rio de Janeiro-RJ. Editora Interciência. 58p. 2006.
12. SANTOS, A.P.M.E & BRACARENSE, A.P.F.R.L. Hepatotoxicidade associada à microcistina. Semina: Ciências Agrárias. Londrina-PR, volume 29, número 2, p. 417-430, 2008.