

Dinâmica de protozoários patogênicos e cianobactérias em um reservatório de abastecimento público de água no sudeste do Brasil

Dinamic of pathogenic protozoa and cyanobacteria in a reservoir used for water supply in southeastern Brazil

Ana Maria Moreira Batista Lopes¹, Lenora Nunes Ludolf Gomes², Fabiana de Cerqueira Martins³, Daniel Adolpho Cerqueira⁴, Cesar Rossas Mota Filho⁵, Eduardo von Sperling⁶, Valter Lúcio de Pádua⁷

RESUMO

O presente estudo foi baseado no monitoramento de um reservatório tropical (Vargem das Flores) utilizado para o abastecimento público de água de sete cidades da região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais. O reservatório foi monitorado durante quatro anos: período inicial (de 2004 a 2007) para células de cianobactérias e parâmetros físico-químicos e, subsequentemente (2007 e 2008), para oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. em quatro estações de amostragem. Também foram avaliadas as concentrações de *Escherichia coli* de 2007 a 2008, o que permitiu a caracterização de cada ponto de amostragem de acordo com a legislação do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 274/2000. Os resultados indicaram concentrações de (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. variando de 0 a 0,8 (oo)cistos.L⁻¹, e as mais elevadas concentrações de células de cianobactérias, de 0,0 a 4,5 x 10⁵ cels.mL⁻¹, apontando assim para potencial risco à saúde humana caso a água do reservatório seja consumida sem tratamento. As cianobactérias não foram encontradas durante a estação seca. O grupo retornou rapidamente após a desestratificação. A estação chuvosa foi caracterizada pela elevada ocorrência de cianobactérias com a predominância da espécie picoplancônica (*Aphanocapsa* sp.), sobre *Microcystis* spp. previamente detectada, e apresentou as maiores variações de oxigênio dissolvido, turbidez, fósforo total, ortofosfato, amônia, nitrito e nitrato. A mudança observada no grupo das cianobactérias (*Aphanocapsa* spp. sobre

ABSTRACT

The current study monitored the water quality of a tropical reservoir (Vargem das Flores) used to supply potable water to seven cities in the metropolitan area of Belo Horizonte, Minas Gerais, southeast Brazil. The reservoir was monitored for four years: initially (from 2004 to 2007) for cyanobacterial cells and physicochemical parameters and, subsequently (in 2007 and 2008), for *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts in four sampling stations. The concentrations of *Escherichia coli* were also measured in 2007 and 2008, which allowed the characterization of each sampling point according to the National Environment Council (CONAMA) no. 274/2000. Results indicated concentrations of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. (oo)cysts ranging from 0 to 0.8 (oo)cysts.L⁻¹, and higher concentrations of cyanobacteria cells, from 0.0 to 4.5 x 10⁵ cells.mL⁻¹, thus indicating potential risks to human health, if the water from the reservoir is not properly treated before consumption. The group of cyanobacteria was not found during the dry season, returning soon after destratification. The rainy season was characterized by a higher occurrence of cyanobacteria and predominance of picoplanktonic species (*Aphanocapsa* spp.), over the *Microcystis* spp. previously found and presented the highest variations in dissolved oxygen, turbidity, total phosphorous, orthophosphate, ammonia, nitrite and nitrate. The change observed within the group of cyanobacteria (*Aphanocapsa* spp.

¹Doutora em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Pesquisadora do Departamento de Engenharia Sanitária, Ambiental e Recursos Hídricos da UFMG - Belo Horizonte (MG), Brasil.

²Doutora em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos pela UFMG. Professora no Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília (UnB) - Brasília (DF), Brasil.

³Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos pela UFMG. Bióloga no Departamento de Engenharia Sanitária, Ambiental e Recursos Hídricos da UFMG - Belo Horizonte (MG), Brasil.

⁴Doutora em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos pela UFMG. Gerente de qualidade na Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA) - Belo Horizonte (MG), Brasil.

⁵Doutor em Engenharia Civil e Ambiental pela North Carolina State University (NCSU), Estados Unidos. Professor do Departamento de Engenharia Sanitária, Ambiental e Recursos Hídricos da UFMG - Belo Horizonte (MG), Brasil.

⁶Doutor em Limnologia pela Technische Universität Berlin (TU Berlin), Alemanha. Professor do Departamento de Engenharia Sanitária, Ambiental e Recursos Hídricos da UFMG - Belo Horizonte (MG), Brasil.

⁷Doutor em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Universidade de São Paulo (USP). Professor do Departamento de Engenharia Sanitária, Ambiental e Recursos Hídricos da UFMG - Belo Horizonte (MG), Brasil.

Endereço para correspondência: Ana Maria Moreira Batista Lopes - Avenida Antônio Carlos, 6627, Escola de Engenharia, Bloco 1, Sala 4402a - Pampulha - 31270-901 - Belo Horizonte (MG), Brasil - E-mail: ana_mb7@yahoo.com.br

Recebido: 03/12/14 - **Aceito:** 08/04/16 - **Reg. ABES:** 143529

Microcystis spp.) pode ser um indicativo das alterações das características da água. De acordo com as concentrações de *E. coli*, as estações foram classificadas como próprias para recreação de contato primário, de acordo com a Resolução CONAMA nº 274/2000.

Palavras-chave: abastecimento público de água; qualidade da água; oocistos de *Cryptosporidium*; cistos de *Giardia*; cianobactérias; reservatório tropical; *Escherichia coli*; CONAMA nº 274/2000.

over *Microcystis* spp.) may be indicative of changing characteristics in the water source. All the sampling points were classified as adequate for primary contact recreation, given the *E. coli* concentrations, according to the CONAMA Resolution no. 274/2000.

Keywords: public water supply; water quality; *Cryptosporidium* oocysts; *Giardia* cysts; cyanobacteria; tropical reservoir; *Escherichia coli*; CONAMA no. 274/2000.

INTRODUÇÃO

A construção de represas e lagos artificiais tem aumentado expressivamente com o objetivo de atender às necessidades de suprimento de água e energia, dado o aumento da urbanização. Essas construções produzem impactos ambientais significativos, incluindo elevação do lençol freático, instabilidade de taludes, perda de fertilidade do solo, inundação de minas, fazendas e reservas minerais e alterações na biodiversidade local (VON SPERLING, 1999). Além disso, também pode interferir diretamente na biodiversidade aquática e na qualidade da água de um reservatório, como o uso e a ocupação da bacia podem reduzir ou aumentar a ocorrência de microrganismos patogênicos e toxigênicos.

No cenário brasileiro, grande parte dos reservatórios possui usos múltiplos de abastecimento de água e geração de energia, e existe um total de 392 barragens entre todos os municípios brasileiros (ANA, 2013). Todavia, essas bacias não são totalmente protegidas e sofrem descargas pontuais e difusas de esgoto, que por sua vez apresentam potencial perigo para a saúde humana, pois podem introduzir micro-organismos indesejáveis ao abastecimento de água e causar surtos de doenças de veiculação hídrica. Os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. estão entre os patógenos frequentemente associados a tais surtos. Um notório exemplo é o surto de criptosporidiose ocorrido em 1993 na cidade de Milwaukee (Estados Unidos), quando 403 mil pessoas foram acometidas e houve um total de 4.400 hospitalizações e mais de 100 óbitos documentados (MAC KENZIE *et al.*, 1994).

Pelo menos 297 surtos de veiculação hídrica registrados no mundo são atribuídos aos protozoários *Cryptosporidium parvum* e *Giardia duodenalis* (KARANIS; KOURENTI; SMITH, 2007), e estima-se que esses parasitas estão presentes em 80 a 96% das águas superficiais nos Estados Unidos. No Brasil, assim como em vários outros países em desenvolvimento, não há monitoramento sistemático da qualidade da água, portanto têm-se poucos dados disponíveis sobre a ocorrência de *Cryptosporidium* e *Giardia* em reservatórios de abastecimento de água. Como resultado, a maioria dos registros quanto às infecções causadas por esses protozoários patogênicos é obtida exclusivamente por meio de amostras clínicas de fezes humanas analisadas durante as epidemias de diarreia (JONES, 1997).

As florações de algas e cianobactérias representam outra questão emergente relacionada à qualidade da água nos reservatórios, uma vez que tais florações podem facilmente colmatar filtros em estações de tratamento de água, aumentar os gastos com produtos químicos para o tratamento, além de alterar o sabor e o odor da água tratada para níveis inaceitáveis. Ademais, vários gêneros de cianobactérias (por exemplo, *Microcystis*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum* e *Oscillatoria*) são potenciais produtores de cianotoxinas, que se tornam solúveis quando liberadas na água, fazendo com que a sua remoção seja mais difícil durante o tratamento.

O primeiro caso confirmado no mundo de mortes humanas provocadas por cianotoxinas aconteceu em 1996, na cidade de Caruaru, Pernambuco, Brasil, onde 131 pacientes foram envenenados em uma clínica de hemodiálise apresentando sintomas de forte hepatotoxicose, em função da presença de dois grupos de toxinas de cianobactérias (microcistina e cilindrospermopsina) na água utilizada para diálise. Dos 131 pacientes que foram envenenados, 76 vieram a óbito (CARMICHAEL *et al.*, 2001; AZEVEDO *et al.*, 2002).

Nos últimos anos alguns trabalhos foram publicados com dados de monitoramento de cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios brasileiros (por exemplo, complexo Billings; bacia hidrográfica do sistema Guarapiranga, na região metropolitana de São Paulo; e Lagoa Santa, localizada na região metropolitana de Belo Horizonte). Tais trabalhos evidenciaram a presença massiva e preocupante no tocante à qualidade de água tendo em vista esses parâmetros (FIGUEREDO & GIANI, 2001; 2009; MOSCHINI-CARLOS *et al.*, 2009; RODRIGUES; SANT'ANNA; TUCCI, 2010; OLIVER & RIBEIRO, 2014;).

Em virtude disso, as agências brasileiras de saúde pública e meio ambiente criaram regras mais rígidas para o controle microbiológico da qualidade da água, incluindo o acompanhamento de (oo)cistos de protozoários e células de cianobactérias em reservatórios de abastecimento de água (PINTO; HELLER; BASTOS, 2012), contudo apenas o monitoramento das células de cianobactérias e de alguns tipos de cianotoxinas foi implantado como medida obrigatória. (MS 2914, 2011)

Com o intuito de contribuir com a geração de dados sobre a ocorrência de dois grupos de tamanha importância sanitária (protozoários e cianobactérias), o principal objetivo deste estudo foi avaliar a segurança biológica da água bruta do reservatório de

Vargem das Flores por meio do monitoramento de oocistos de *Cryptosporidium*, cistos de *Giardia* e células de cianobactérias, além dos parâmetros físicos e químicos (oxigênio dissolvido, turbidez, fósforo total, ortofosfato, amônio, nitrito e nitrato). Realizou-se também a avaliação da balneabilidade das estações de amostragem de acordo com a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 274/2000, mediante resultados das concentrações de *Escherichia coli*.

METODOLOGIA

A amostragem foi realizada no reservatório de Vargem das Flores, que está localizado na bacia do Rio São Francisco, Minas Gerais, há cerca de 500 km da costa, à altitude de 856 m (19°53'44,99" S e 44°09'01,56" W). O reservatório é uma das fontes de água para abastecimento da cidade de Belo Horizonte e atende a uma demanda de água de cerca de 400 mil pessoas. Possui área superficial de 5,25 km², volume de 44 milhões de m³ e profundidade máxima de 25 m (Figura 1). Seus principais usos são o fornecimento de água potável e industrial e atividades recreacionais. As estações de amostragem do presente estudo, assim como os córregos tributários e a localização das cidades, estão indicadas conforme Figura 1.

O clima local apresenta duas estações bem definidas: uma chuvosa (de outubro a março) e uma seca (de abril a setembro), com precipitação anual média de 1.500 mm. A umidade relativa varia

de 65 (agosto a setembro) a 80% (dezembro), com média de 2.600 horas de insolação/ano. O reservatório contém padrão térmico monomítico, sendo estratificado na maior parte do ano, com uma mistura profunda da coluna d'água que ocorre apenas uma vez na metade da estação fria e seca, isto é, entre junho e agosto. A temperatura média do ar variou no período de estudo entre 17 e 28 °C na estação chuvosa e entre 11 e 24 °C na estação seca, e a temperatura da água ficou entre 24 e 28 °C na estação chuvosa e 21 e 24 °C na estação seca.

Destaca-se que o reservatório está localizado em área urbana, na parte sudoeste da região metropolitana de Belo Horizonte, dentro da bacia de drenagem do Rio Paraopeba, e abastece as cidades de Contagem, Betim, Belo Horizonte, Ribeirão das Neves, Vespasiano, Pedro Leopoldo, Ibirité e Santa Luzia. A contaminação do reservatório é causada principalmente pelo despejo de esgoto doméstico sem tratamento proveniente desses municípios. A forte pressão antrópica nas margens do reservatório também contribui para o declínio da qualidade da água. Além disso, há poluição proveniente de fontes difusas, como a drenagem de áreas urbanas e agrícolas.

Coleta e processamento das amostras

Os parâmetros de qualidade da água foram monitorados mensalmente por meio de uma amostragem contínua, por um período de três anos (de outubro de 2004 a outubro de 2007) para as cianobactérias e nutrientes; e no período de um ano (de dezembro de 2007 a

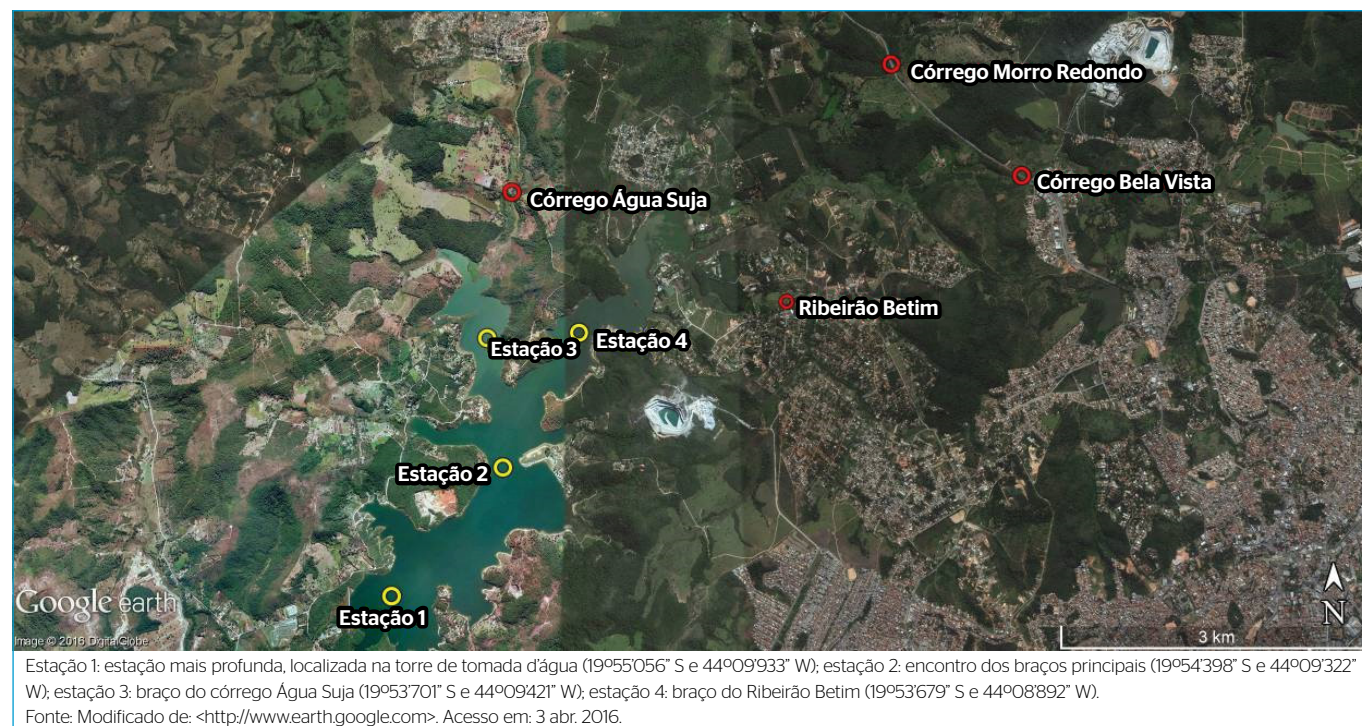


Figura 1 - Imagem satélite do manancial Vargem das Flores com a localização do reservatório de Vargem das Flores, as quatro estações de amostragem e os córregos tributários.

novembro de 2008) para oocistos de *Cryptosporidium* spp., cistos de *Giardia* spp. e *E. coli*, temperatura, transparência, oxigênio dissolvido e turbidez foram monitorados durante os dois períodos.

As amostras de água foram coletadas com auxílio de uma garrafa de Van Dorn para coleta em profundidade.

Análise de nutrientes

As análises dos nutrientes solúveis nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+) e fósforo solúvel (PO_4^{3-}) foram realizadas segundo métodos colorimétricos. As frações das amostras não filtradas foram usadas para a realização das análises de fósforo total. Todos os ensaios seguiram métodos padronizados de acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

Contagem de cianobactérias

As amostras de fitoplâncton destinadas às investigações microscópicas foram preservadas com solução de Lugol (1%). A quantificação do fitoplâncton foi feita em amostras previamente concentradas utilizando uma câmara de Sedgewick-Rafter (SR). As células foram contadas até que 100 indivíduos da espécie dominante fosse enumerado. Expressaram-se os resultados em células por mililitro.

O cálculo do número de indivíduos/mL foi realizado de acordo com a fórmula $n = Vt/x$, em que o volume analisado (V_a) é proporcional ao número de organismos contados (n), e o volume total ($V_t = 1 \text{ mL}$), proporcional ao total de organismos (x) na câmara de SR.

O cálculo de incerteza do método possui erro menor ou igual a 20%, segundo a fórmula $2/\sqrt{N}$, na qual N é o número total de organismos (filamentos ou colônias) contados (APHA, 2005).

Para a obtenção da contagem das cianobactérias em número de células/mL, foi utilizado o retículo de Whipple, calibrado com régua micrométrica padrão, como descrito por Jardim *et al.* (2002).

Contagem de (oo)cistos

A filtração das amostras para recuperação dos (oo)cistos foi feita conforme descrito no Método 1623 (USEPA, 2005), com o auxílio de uma bomba peristáltica. Depois disso, as cápsulas foram processadas imediatamente. Um volume de *pellet* de até 1 mL foi submetido à separação imunomagnética (IMS). A IMS dos (oo)cistos aconteceu com um *kit* de Dynal GC-Combo (Oslo, Noruega). Os concentrados IMS foram fixados com metanol absoluto e corados com um combinado de isotiocianato de fluoresceína (FITC) e anticorpos monoclonais à base de água (Inc., Nova Orleans, LA, EUA), de modo que os (oo)cistos pudessem ser identificados. A confirmação da presença dos (oo)cistos foi realizada por meio de coloração DAPI/Sigma (4',6'-diamidino-2-fenilindol), juntamente com contraste de interferência diferencial Nomarski (DIC) em microscopia (Zeiss TM microscópio Axioskop, Carl Zeiss MicroImaging, Inc., Thornwood, NY, EUA) para determinar as estruturas internas, como esporozoítos em *Cryptosporidium*

e corpos medianos em *Giardia* (USEPA, 2005). Os Anexos 1 e 2 apresentam todos os equipamentos, etapas e reagentes empregados na análise.

Além disso, foi realizado um controle de qualidade da análise (CQA) para averiguar o grau de recuperação do Método 1623 (USEPA, 2005). Foram obtidos resultados com grau de recuperação em torno de 40% para oocistos e 30% para cistos, utilizando *kits* EasySeed com 100 ± 1 oocistos por suspensão testada. Esses percentuais não foram aplicados sobre os resultados finais, pois condiziam com os resultados de recuperação previamente relatados na literatura.

Determinação de Escherichia coli

Para a determinação da concentração do número mais provável (NMP) de *E. coli* por 100 mL (NMP.100 mL^{-1}), foi utilizada a técnica cromogênica do substrato definida segundo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

Determinação de turbidez

As análises de turbidez foram realizadas de acordo com o princípio da nefelometria, segundo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005) em turbidímetro digital da marca Hach, modelo 2100N.

Categorização das estações monitoradas segundo as recomendações da Environmental Protection Agency

A classificação das estações nas categorias *bins* 1, 2, 3 e 4, estabelecidas pela LT2ESWTR (USEPA, 2005), foi feita com base na média aritmética das concentrações de oocistos de *Cryptosporidium* spp. obtidas durante 12 meses, com análise de 12 amostras, em cada uma das estações separadamente.

Avaliação do padrão de balneabilidade da água nas estações monitoradas

Para classificação da qualidade da água no reservatório de Vargem das Flores, segundo o padrão de balneabilidade, cada estação foi avaliada separadamente, por profundidade de coleta, de acordo com as concentrações de *E. coli*, cujo método de análise foi previamente descrito. Dessa forma, as águas foram classificadas nas categorias própria ou imprópria e subdivididas nas subcategorias excelente, muito boa e satisfatória. As águas foram enquadradas na categoria própria, subcategoria excelente, quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras coletadas no mesmo local houvesse no máximo 200 NMP.100 mL^{-1} de *E. coli*. A subcategorização na categoria muito boa ocorreu quando em 80%, ou mais, de um conjunto de amostras também coletadas no mesmo local fosse detectada no máximo 400 NMP.100 mL^{-1} de *E. coli*, e na subcategoria satisfatória quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras do mesmo local houvesse uma concentração máxima de 800 NMP.100 mL^{-1} de *E. coli*.

Análises estatísticas

Os dados de estatísticas descritivas foram utilizados, incluindo média, desvio padrão, mediana, além de 10 e 90% para as cianobactérias. Aplicaram-se os testes de Kruskal-Wallis e ANOVA com nível de confiança de 95% para avaliar diferenças significativas entre os valores médios dos vários parâmetros. Testes estatísticos Mann-Whitney ($\alpha = 5\%$) foram usados para verificar se havia diferenças significativas entre as concentrações de nutrientes medidas nos períodos seco e chuvoso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorrência de cianobactérias

A Figura 2 apresenta as variações sazonais na profundidade do disco de Secchi e as concentrações de células de cianobactérias no reservatório de Vargem das Flores.

As maiores profundidades de extinção do disco de Secchi foram observadas nas quatro estações (Figura 2), durante os meses correspondentes à seca, estação mais fria (abril a setembro), de maneira especial de junho a setembro. Isso indica uma zona eufótica mais profunda nos meses de seca. No período chuvoso, provavelmente pelo maior carreamento de sólidos por conta das chuvas, juntamente com a possibilidade de maior turbidez biogênica (fitoplâncton/cianobactérias), houve diminuição da penetração de luz na coluna d'água e consequente redução da profundidade de extinção do disco de Secchi e da zona eufótica.

Quanto à distribuição das cianobactérias na profundidade de extinção do disco de Secchi nas estações 1, 2, 3 e 4 (Figura 2B), houve diferença significativa ($\alpha = 5\%$) entre os dois períodos; sendo que na estação chuvosa a densidade de células foi significativamente maior do que na estação seca. A ocorrência sazonal de cianobactérias já foi relatada em outros estudos (SHERMAN *et al.*, 1998; FIGUEREDO & GIANI, 2001; 2009; GOMES *et al.*, 2012; LOZA; PERONA; MATEO, 2014) e pode estar associada tanto com as temperaturas mais elevadas como com a estratificação da coluna d'água durante os meses de verão, propiciando a formação de uma zona eufótica menos turbulenta. A maior estabilidade da coluna d'água é considerada um fator importante para a presença de cianobactérias no ambiente. Além disso, pela presença de espécies de cianobactérias com vesículas de gás (aerótopos), a estratificação da coluna d'água pode favorecer esse grupo em relação aos outros grupos fitoplanctônicos, em função da capacidade de controle da flutuabilidade na coluna d'água que essas espécies possuem. Muitas vezes essa capacidade de movimentação ao longo da coluna d'água permite a captação de nutrientes nas camadas mais profundas da coluna d'água.

A ocorrência de cianobactérias constatada no primeiro período chuvoso monitorado, particularmente de outubro de 2004 a fevereiro de 2005, foi elevada nas quatro estações de amostragem, sendo

as espécies predominantes nas amostras as do gênero *Microcystis*. No início do período chuvoso, compreendido entre setembro e dezembro de 2005, apenas a espécie *Sphaerocavum brasiliense* foi observada nas quatro estações de amostragem e em densidades celulares mais baixas. Vale ressaltar que essa espécie possui ocorrência relatada somente no Brasil e no Uruguai (SANT'ANNA *et al.*, 2004). No período chuvoso seguinte (setembro de 2005 a abril de 2006), foi visualizada nova ocorrência de cianobactérias na estação 1, mas dessa vez a espécie encontrada foi do gênero *Aphanocapsa* spp. (picoplâncton). Embora os gêneros predominantes de cianobactérias observados sejam típicos de ambientes mesoeutróficos, a provável sucessão observada nesse grupo pode estar relacionada às mudanças no ambiente aquático, uma vez que esses gêneros têm características fisiológicas distintas (OLIVER & GANE, 2000; STOCKNER; CALLIERI; CRONBERG, 2000). A predominância do gênero picoplânctônico (*Aphanocapsa* spp.) sobre o gênero *Microcystis* spp. pode ser uma evidência dessa mudança no ambiente. Durante os períodos de ocorrência de cianobactérias, ensaios de toxicidade (ELISA) foram realizados para medir a concentração de cianotoxinas (microcistinas), mas os resultados foram negativos, isto é, abaixo do limite de detecção do ensaio.

Ocorrência de (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp.

A Figura 3 apresenta as variações da profundidade do disco de Secchi e as concentrações de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e de cistos de *Giardia* spp.

A Figura 3A mostra que os maiores valores de profundidade do disco de Secchi foram observados durante a estação seca, conforme observado nos primeiros anos de monitoramento do reservatório (Figura 2B), indicando assim maior transparência da coluna d'água nesse período quando comparado com a estação chuvosa. As concentrações de cistos de *Giardia* spp. não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, ao nível de significância de 5%, entre as estações monitoradas, caracterizando uma distribuição aparentemente homogênea de cistos de *Giardia* spp. ao longo do reservatório de Vargem das Flores.

Os resultados mostraram que as concentrações de cistos de *Giardia* spp. encontradas no reservatório Vargem das Flores variou entre 0,0 e 0,8 cistos.L⁻¹, com percentagem de amostras positivas de 66,6% na estação 3 e de 50,0% nas estações 1, 2 e 4. Essas concentrações de cistos de *Giardia* spp. foram relativamente baixas quando comparadas às concentrações encontradas em outras fontes de água de ambientes lóticos tropicais (FRANCO; ROCHA-EBERHARDT; CANTUSIO NETO, 2001). Contudo, os resultados são similares aos relatados por Hachich *et al.* (2004), que estudaram várias fontes de abastecimento público de água no estado de São Paulo. Os pesquisadores relataram que, em geral, os sistemas aquáticos lênticos tiveram menor incidência

de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. do que os sistemas aquáticos lóticos (HACHICH *et al.*, 2004).

De acordo com Brookes *et al.* (2004), a menor ocorrência de protozoários em reservatórios é atribuída a fatores de remoção, incluindo sedimentação e inativação pela temperatura, radiação ultravioleta (UV) e predação. Como afirmado pelos autores, o destino e transporte de agentes patogênicos ao longo do reservatório estão intimamente relacionados a processos hidrodinâmicos que ocorrem em ambientes léticos e, de maneira especial, com o carreamento, juntamente com partículas sólidas, desses patógenos para o reservatório. Isso pode explicar por que a estação chuvosa mostrou a mais elevada concentração

de cistos entre todas as estações (Figura 3), uma vez que durante esse período as partículas e os sedimentos são transportados para dentro do reservatório, aumentando a carga de patógenos que afluem ao reservatório. A turbulência também pode ressuspender microrganismos patogênicos presentes nos sedimentos do fundo do corpo d'água, o que também influencia a distribuição de protozoários no reservatório (BROOKES *et al.*, 2004).

Não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações de oocistos de *Cryptosporidium* spp. detectadas entre as estações. As concentrações de oocistos variaram de 0,0 a 0,4 oocistos.L⁻¹, com percentual de 50,0% de amostras positivas na estação 1, seguido por

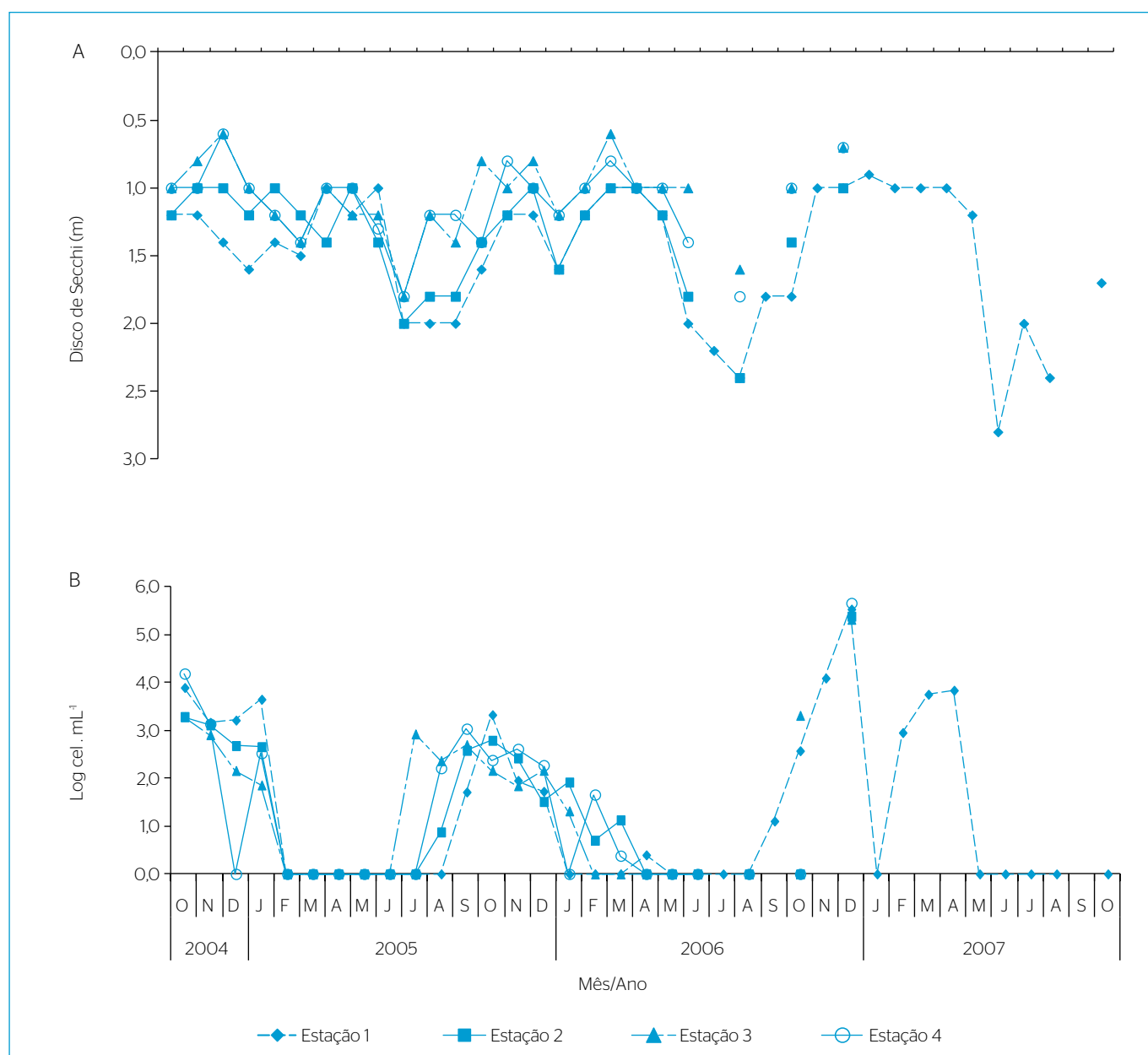


Figura 2 - Variação sazonal na profundidade do disco de Secchi (A) e concentrações de células de cianobactérias por mililitros (B) no reservatório de Vargem das Flores durante o período estudado (2004 a 2007).

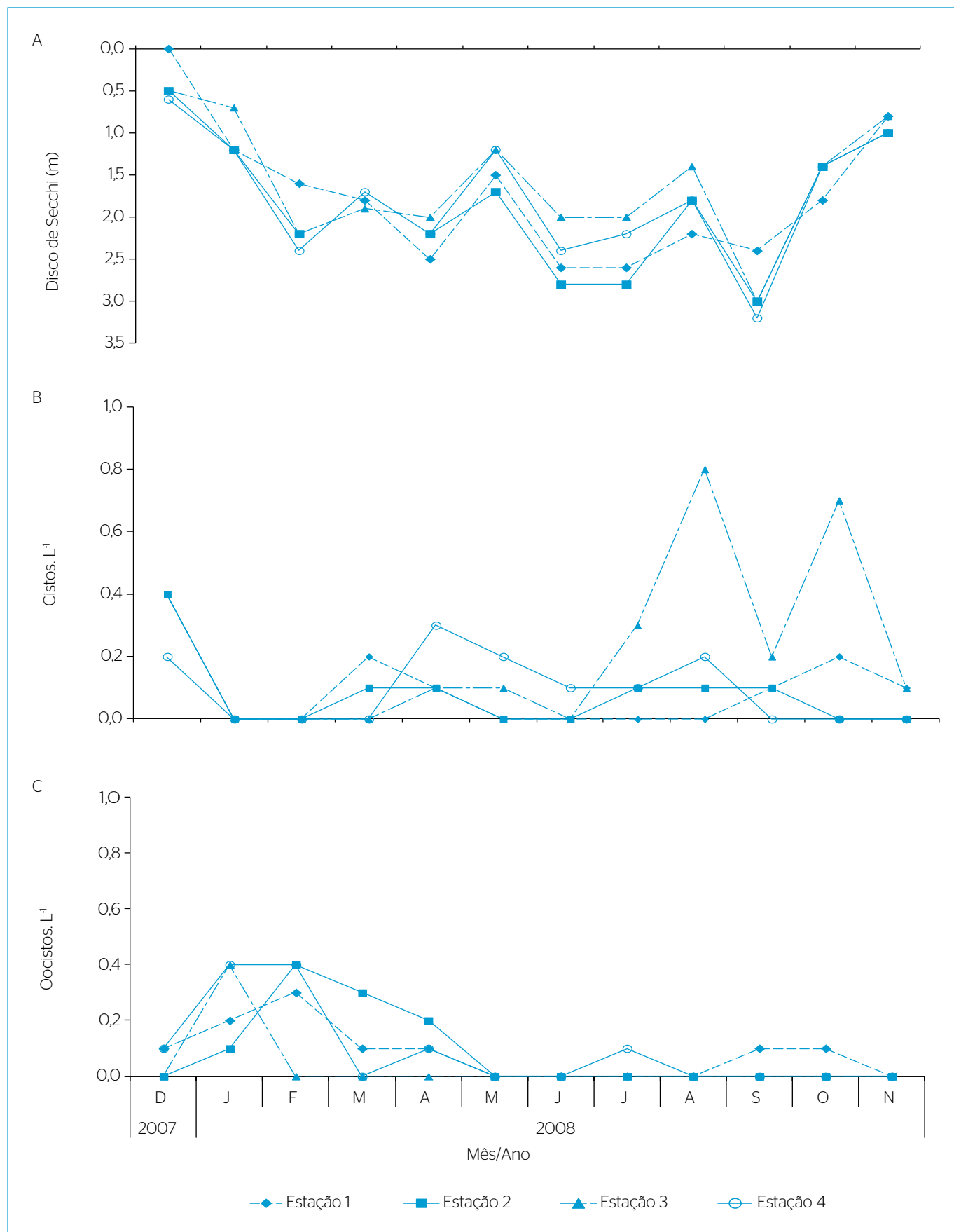


Figura 3 - Alterações sazonais na profundidade do disco de Secchi (A) e concentrações de (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. (B) e *Giardia* spp. (C) em Vargem das Flores durante o período estudado (2007 e 2008).

41,6% na estação 4; 33,3% na estação 2; e 8,3% na estação 3, para os 12 meses de monitoramento.

Tais resultados permitiram observar que as estações mais próximas aos córregos tributários (estações 3 e 4) apresentaram menores concentrações de (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. do que as demais, localizadas à jusante do reservatório, resultado que divergiu do usual, uma vez que há maior carga pontual de esgotos afluentes nesses pontos e que teoricamente poderiam contribuir para o aumento da concentração de (oo)cistos. Portanto, esses resultados sugerem que a ocorrência de protozoários no reservatório Vargem das Flores não pode ser atribuída exclusivamente às descargas pontuais e difusas de esgotos ao reservatório, mas também à ocupação e aos vários usos da bacia, tais como atividades recreacionais e a presença de animais nas margens do reservatório. De acordo com Phillip *et al.* (2008), animais selvagens e domésticos são as principais fontes de contaminação de águas superficiais por oocistos de *Cryptosporidium*.

Parâmetros abióticos

A Figura 4 apresenta as variações de temperatura e oxigênio dissolvido (OD) na profundidade de extinção do disco de Secchi no reservatório de Vargem das Flores durante o período de monitoramento. A Figura 4A mostra pouca amplitude de variação da temperatura, na profundidade de extinção do disco de Secchi, como esperado para ambientes tropicais.

Não houve diferença significativa nas concentrações de oxigênio dissolvido (Figura 4B) na profundidade de extinção do disco de Secchi entre as quatro estações monitoradas, contudo foram observados valores mais elevados de OD na profundidade do disco de Secchi quando comparado com encontrados nas camadas mais profundas (dados não apresentados). Isso acontece por conta da atividade fotossintética e, conseqüentemente, da maior produção de oxigênio na zona eufótica, enquanto na zona afótica o oxigênio é consumido pela decomposição microbiana da matéria orgânica. Além disso, a elevada temperatura possivelmente registrada no hipolimnio de lagos tropicais (muitas vezes próximo a 20°C) também pode ser responsável pela redução da concentração de oxigênio nas camadas mais profundas. Quando ambos os períodos são comparados, as maiores concentrações de OD na profundidade de extinção do disco de Secchi são observadas nos meses chuvosos. Entretanto, essas diferenças não foram estatisticamente significativas (ao nível de significância de 5%).

As formas de nitrogênio que podem ser utilizadas pelas cianobactérias são nitrato (NO_3^-), e amônio (NH_4^+), além do nitrogênio atmosférico, que pode ser fixado por algumas espécies, porém, o nitrato e o íon amônio são geralmente as principais fontes de nitrogênio para o fitoplâncton em ecossistemas aquáticos, e a amônia é a via preferida para a obtenção desse nutriente, uma vez que já se encontra na forma reduzida (OLIVER & GANE, 2000). As Figuras 5A, 5B e 5C apresentam

as concentrações desses três nutrientes na profundidade de extinção do disco de Secchi.

O perfil de distribuição das concentrações de nitrato (Figuras 5A e 5B) ao longo do período de monitoramento evidencia a ocorrência de maiores concentrações no período entre maio de 2005 e abril de 2006, o que coincide com concentrações de OD mais elevadas (Figura 4). Na presença de OD pode ocorrer a oxidação química ou biológica da amônia por bactérias nitrificantes, aumentando assim a produção de nitrito e nitrato (KALFF, 2002).

A maior concentração do íon amônio foi observada no período inicial do monitoramento (2004). As maiores concentrações de amônia (Figura 4C) durante a estação chuvosa, entre outubro de 2004 e janeiro de 2005, nas quatro estações de amostragem, podem ser mais bem evidenciadas se observada a variação desse parâmetro ao longo do monitoramento da estação 1. O aumento da concentração desse nutriente pode ter sido em função das elevadas cargas orgânicas transportadas pela chuva nesse período, assim como observado no monitoramento da qualidade da água de três reservatórios da Austrália (JONES, 1997), onde se destacou aumento na concentração de nutrientes relacionado com a estação chuvosa. Após o período inicial de monitoramento, as medições não mostraram grandes variações entre os períodos seco e chuvoso no tocante às concentrações de amônia.

As concentrações dos nutrientes fósforo e nitrogênio têm grande influência na produtividade de ecossistemas aquáticos como parte do metabolismo dos organismos fotossintetizantes. O fósforo (ortofosfato) é considerado o principal nutriente limitante da produtividade primária em lagos e reservatórios em ambientes temperados (REYNOLDS, 2006) e tropicais (BARBOSA & CIRILO, 2015). A Figura 6 apresenta as concentrações de ortofosfato (Figura 6A) e fósforo total (PT) (Figura 6B) em Vargem das Flores na profundidade de extinção do disco de Secchi.

Durante o período de janeiro de 2005 a junho de 2006, houve uma distribuição semelhante das concentrações de ortofosfato em todas as estações na profundidade de extinção do disco de Secchi. No entanto, não foi possível verificar se essa distribuição foi mantida a partir de julho de 2006, uma vez que o monitoramento foi mantido apenas na estação 1. Os dados da estação 1 mostram ter havido uma redução da concentração de ortofosfato após julho de 2006. Em geral, o perfil de distribuição do fósforo total foi semelhante ao do ortofosfato, conforme apresentado na Figura 6A.

Dinâmica da ocorrência de (oo)cistos de protozoários e células de cianobactérias no reservatório de Vargem das Flores

A ocorrência de (oo)cistos de protozoários e células de cianobactérias não apresentou o mesmo perfil de variação nos pontos de monitoramento do reservatório, mas houve alguma variabilidade entre as estações de amostragem.

A Figura 7 mostra uma avaliação preliminar da dinâmica de (oo)cistos de protozoários e cianobactérias ao longo do curso d'água, passando pelos afluentes e pelas estações de monitoramento, até o ponto de coleta em cada local de amostragem nas estações chuvosa (Figura 7A) e

seca (Figura 7B). As concentrações de células e (oo)cistos referem-se a valores mínimo e máximo registrados durante o monitoramento.

O perfil sazonal de (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. não demonstrou diferença sazonal significativa (chuvoso e seco)

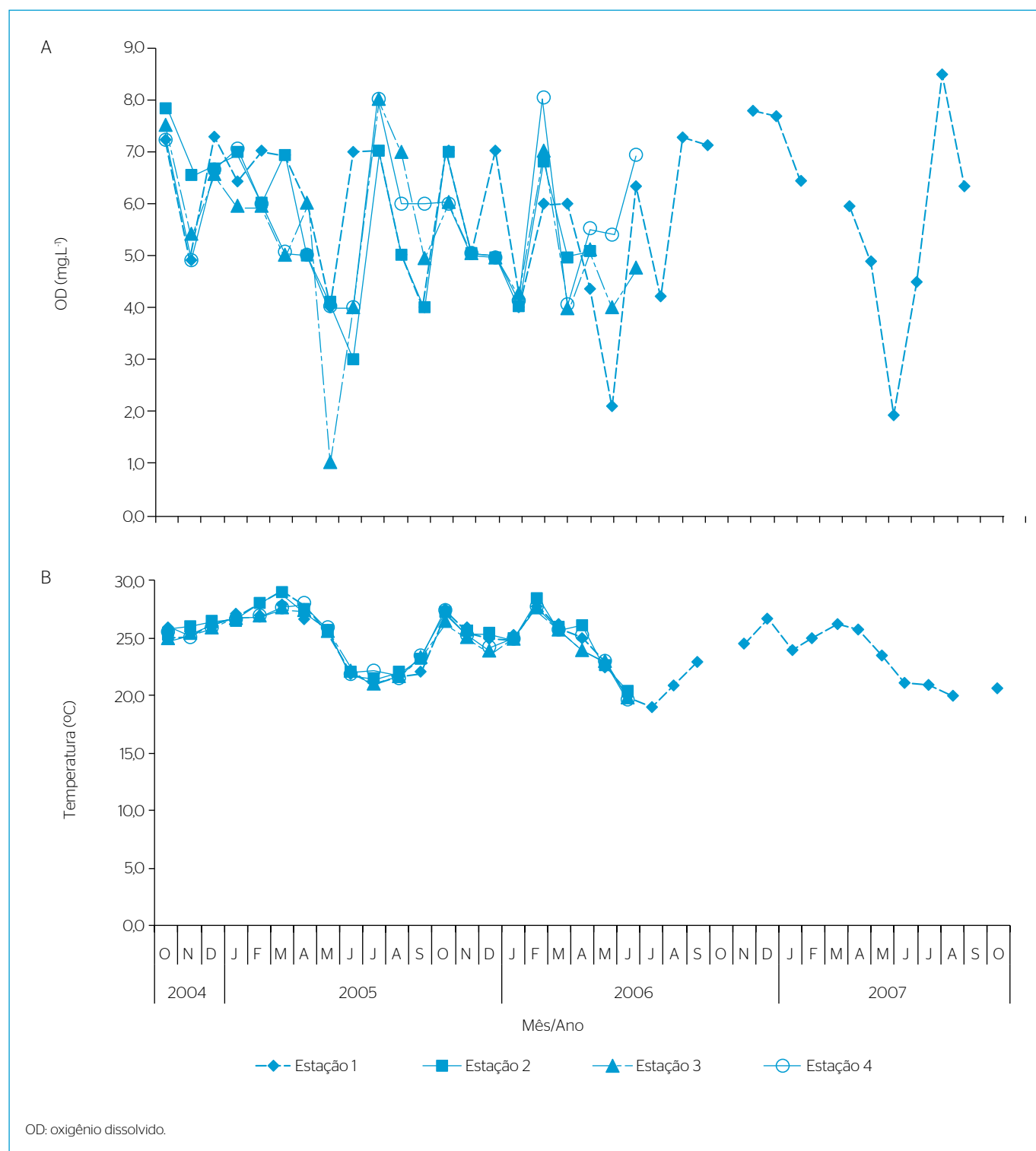


Figura 4 - Variação das características de qualidade da água: (A) temperatura e (B) oxigênio dissolvido na profundidade do disco de Secchi no reservatório de Vargem das Flores durante o período de monitoramento (2004 a 2007).

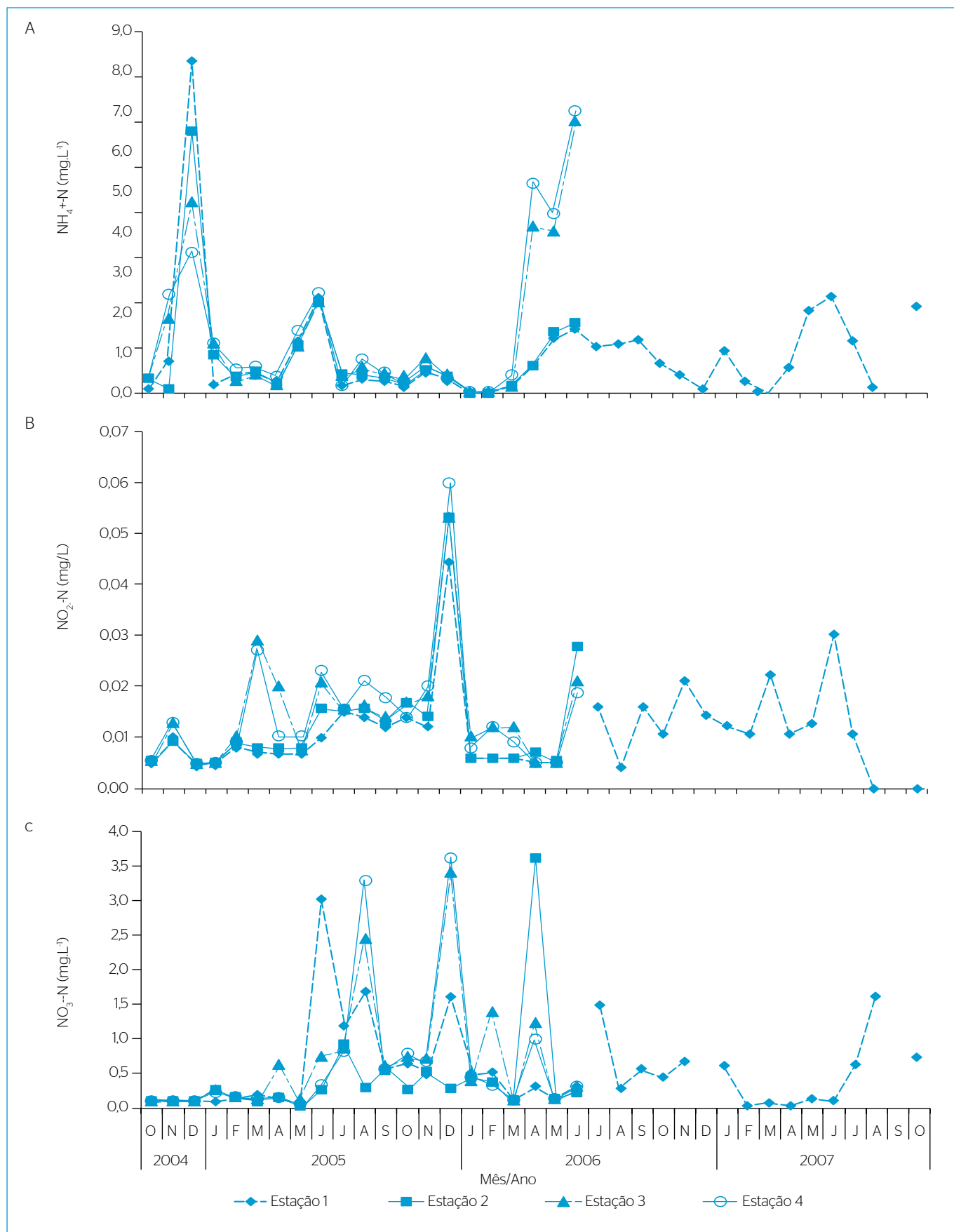


Figura 5 - Variação das características de qualidade da água $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (A) $\text{NO}_2\text{-N}$ (B) $\text{NO}_3\text{-N}$ (C), na profundidade do disco de Secchi em Vargem das Flores durante o período de estudo (de 2004 a 2007).

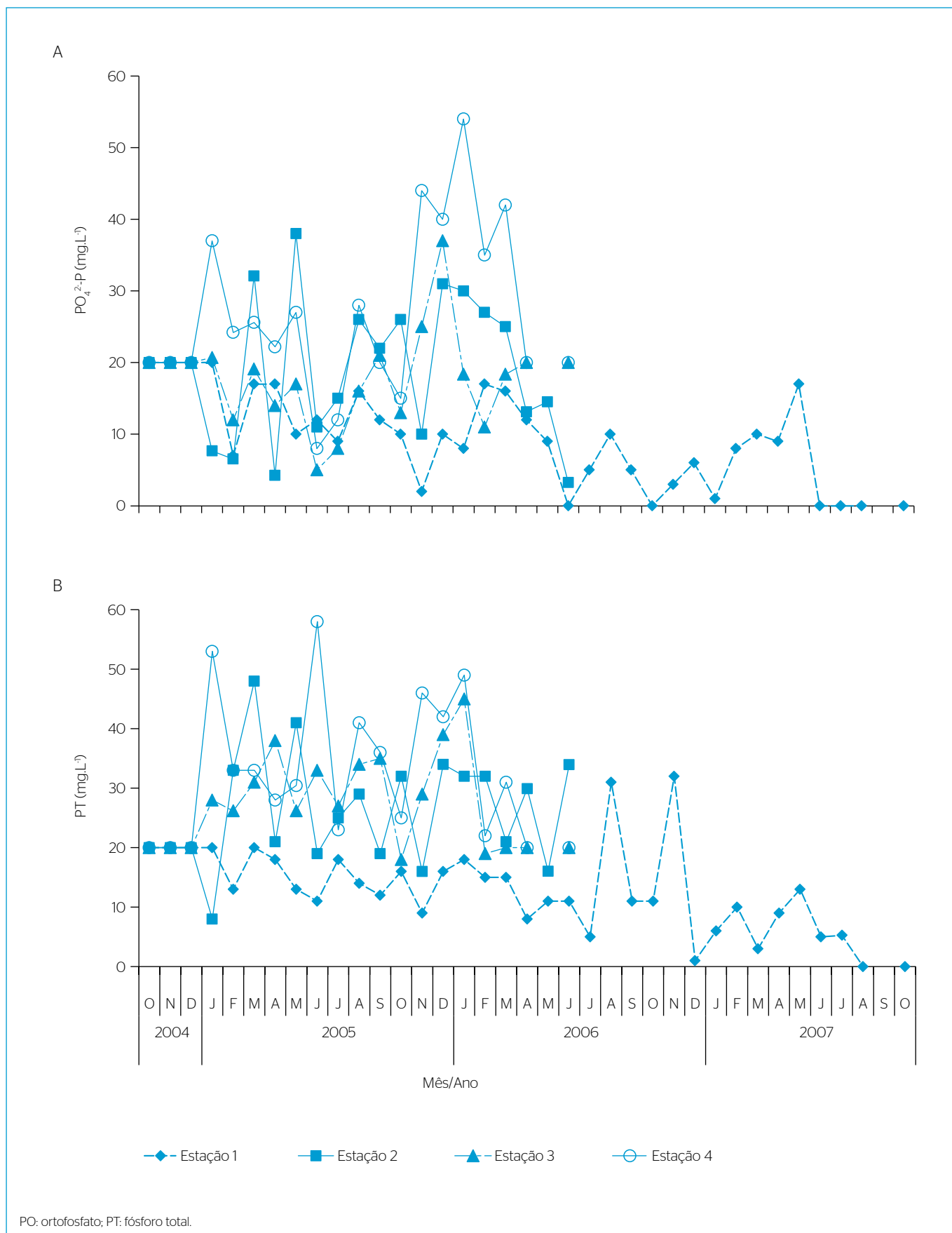


Figura 6 - Variações das características de qualidade da água: ortofosfato (A) e fósforo total (B), profundidade de Sechi, em Vargem das Flores durante o período de estudo (de 2004 a 2007).

nem diferença espacial entre as estações de amostragem (Tabela 1 e Anexo 3).

Em contraste, as células de cianobactérias tiveram a maior concentração detectada na estação chuvosa. A Tabela 2 apresenta estatística descritiva do monitoramento de cianobactérias.

Os protozoários parasitas *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. têm diferentes formatos estruturais. Nas fezes e no ambiente por elas contaminado, encontram-se os (oo)cistos, que são a estrutura reprodutiva, infecciosa e de resistência. Nos tecidos se veem as formas endógenas, os esporozoítos e os trofozoítos, que são liberados do encistamento logo após a interação com ácidos estomacais e sais biliares do hospedeiro (CAREY; LEE; TRAVORS, 2004; NEVES, 2005; TORTORA; FUNKE; CASE, 2007). Portanto, o ambiente não é o hábitat natural desses protozoários, mas apenas onde passam uma parte do seu ciclo, sempre na forma de resistência, podendo permanecer infecciosos durante mais de seis meses na água, além de sobreviverem a alguns processos de tratamento e desinfecção com cloro (KARANIS; KOURENTI; SMITH, 2007).

As cianobactérias pertencem ao domínio Bacteria e predominam com frequência em ambientes aquáticos com temperaturas elevadas e disponibilidade de nutrientes. Podem agregar-se em colônias esféricas, ovoides ou filamentosas e distribuem-se ao longo da coluna d'água, de acordo com a disponibilidade de luz (CHORUS & BARTRAM, 1999).

Tais características fazem dos protozoários *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp., assim como das cianobactérias, microrganismos que se adaptam às alterações ambientais com facilidade e conseguem sobressair e dominar os demais grupos.

Com base nas médias aritméticas das concentrações de (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. encontradas no reservatório de Vargem das Flores, também foi possível enquadrar cada uma das estações monitoradas em uma categoria de acordo com a LT2ESWTR (USEPA 2005), regulamentação que propõe níveis de remoção e/ou inativação mínimos necessários para a redução da concentração de oocistos observada na água da fonte, de modo que não determine risco superior ao adotado como aceitável. Essa orientação é principalmente direcionada aos sistemas abastecidos por fontes superficiais,

inclusive por mananciais lóticos (USEPA, 2005). A categorização está apresentada na Tabela 3.

A tecnologia de tratamento utilizada na estação de tratamento de água (ETA) de Vargem das Flores é a filtração direta, capaz de atender ao log de remoção requerido pela USEPA, para as estações 1 (onde é realizada a captação) e 3, contudo, as estações 2 e 4 enquadraram-se na categoria 2 e para ambas seria necessário tratamento adicional para alcançar mais um log de remoção. É importante ressaltar que a categorização exibida na Tabela 3 foi feita fundamentada na média aritmética das concentrações de oocistos de *Cryptosporidium* spp. obtidas durante 12 meses e com análise de apenas 12 amostras, porém a USEPA (2005) recomenda a análise em um período de 24 meses, com coletas mensais ou quinzenais. Se for mensal, é feita a média aritmética das 24 amostras; se for quinzenal, a média das 12 maiores concentrações para tal categorização, o que seria inviável para uma pesquisa de curto prazo. Por conseguinte, o enquadramento realizado apenas complementa a discussão, mas não deve ser dado como verdade absoluta da categorização da represa de Vargem das Flores, uma vez que esse manancial vem sofrendo cada dia mais ocupação urbana, o que, juntamente com a presença de animais, justifica a ocorrência ubíqua dos protozoários *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. verificada no reservatório.

Condições de qualidade da água de acordo com o parâmetro de balneabilidade

Ao avaliar os resultados desta pesquisa, considerando o parâmetro microbiológico *E. coli*, as estações 1, 2 e 4 foram classificadas como própria na categoria excelente para recreação de contato primário, de acordo com a Resolução CONAMA nº 274/2000, em todos os pontos de amostragem (superfície, Secchi, 5 e 1 m do fundo), pois foi verificada, em mais de 80% do conjunto de amostras (avaliação separada por profundidade de coleta), concentração máxima de 200 *E. coli*/100 mL.

Já para a estação 3, apenas a superfície foi classificada como própria na categoria excelente para a recreação de contato primário, tendo sido constatado que mais de 80% do conjunto de amostras apresentou concentração máxima de 200 *E. coli*/100 mL.

Tabela 1 - Estatística descritiva dos parâmetros *Cryptosporidium* oocisto.10 L⁻¹ e *Giardia* cisto.10 L⁻¹ nas estações 1, 2, 3 e 4.

	Estação 1		Estação 2		Estação 3		Estação 4	
	Oocisto	Cisto	Oocisto	Cisto	Oocisto	Cisto	Oocisto	Cisto
Máximo	2,0	4,0	4,0	4,0	4,0	8,0	4,0	3,0
Mínimo	-	-	-	-	-	-	-	-
Média aritmética	0,6	0,9	0,8	0,8	0,3	2,3	0,9	0,9
Mediana	0,5	0,5	-	0,5	-	1,0	-	0,5
Desvio padrão	0,7	1,2	1,4	1,1	1,2	2,8	1,5	1,1

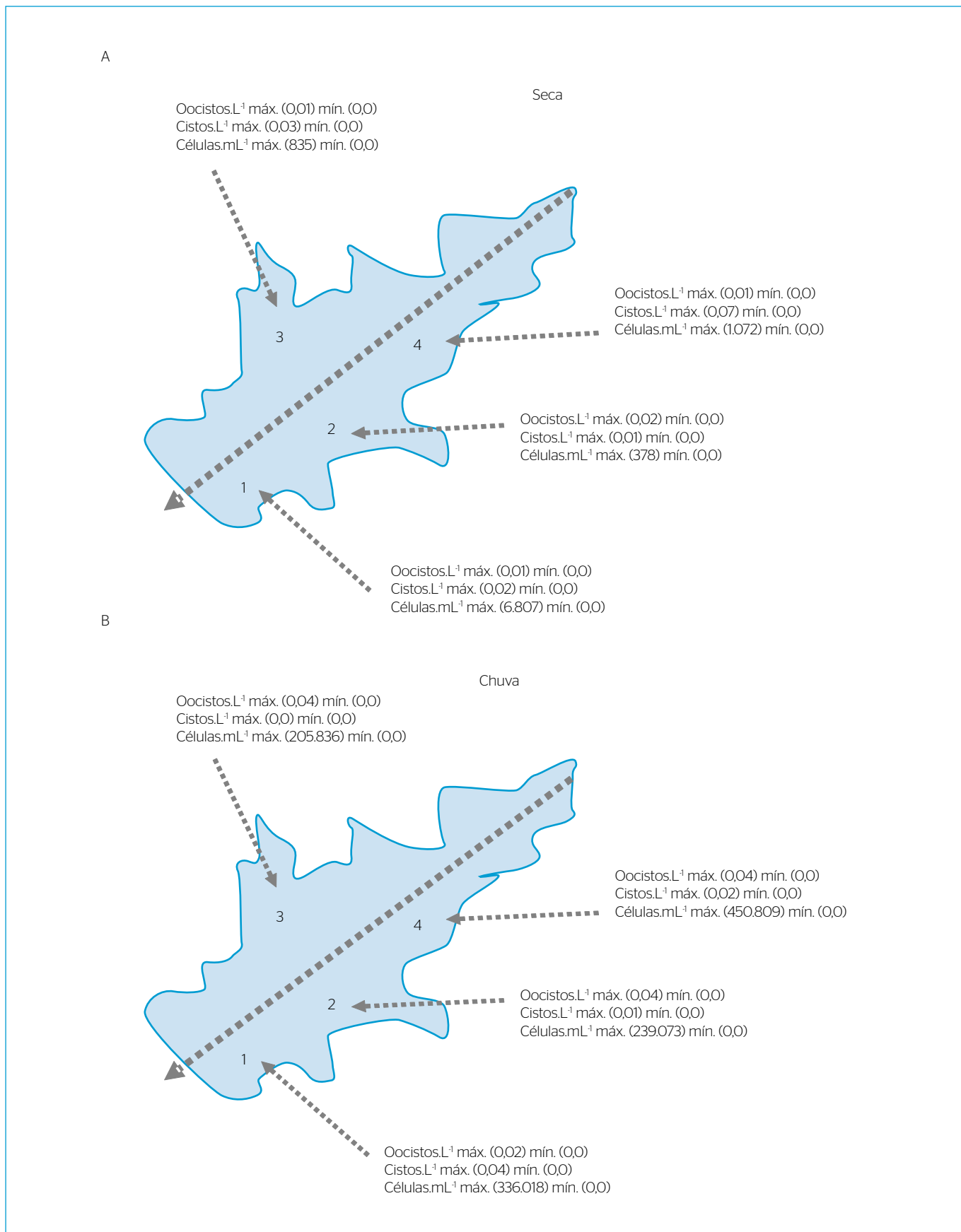


Figura 7 - Distribuição de (oo)cistos.L⁻¹ e células de cianobactérias (cels.mL⁻¹) durante as estações seca (A) e chuvosa (B), com os valores mínimo e máximo em cada estação.

A profundidade de extinção do disco de Secchi, de 5 m e do fundo, foi categorizada como própria, mas na categoria muito boa, pois apresentou, em 80% ou mais do conjunto de amostras, concentração máxima de 400 *E. coli*/100 mL, conforme a Resolução CONAMA nº 274/2000. O resultado encontra-se na Tabela 4.

É importante ressaltar que a balneabilidade não é dada apenas pelo parâmetro microbiológico, embora ele tenha peso alto. Segundo esse parâmetro, todas as estações monitoradas no reservatório Vargem das Flores, nas distintas profundidades, foram categorizadas como próprias para recreação de contato primário, segundo a Resolução CONAMA nº 274/2000.

Tabela 2 - Estatística descritiva do parâmetro cianobactérias (cél.s.mL⁻¹) amostrado mensalmente na profundidade de extinção do disco de Secchi, estações 1, 2, 3 e 4, nos períodos seco e chuvoso.

	Estação 1		Estação 2		Estação 3		Estação 4	
	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva
Número de dados	17	19	11	14	11	14	10	14
Percentual 10%	-	-	-	-	-	-	-	-
Percentual 90%	50	12.229	7	1.923	498	2.039	616	15.169
Média aritmética	404	19.612	35	17.444	143	15.084	123	33.466
Mediana	-	371	-	172	-	107	-	115
Desvio padrão	1.650	76.693	114	63.792	278	54.907	337	120.185

Tabela 3 - Categorização segundo LT2ESWTR das estações de coleta.

Estação	Concentração média de oocistos	Categoria log de remoção CC e FD	Tratamento adicional
1 e 3	< 0,075 oocistos.L ⁻¹	1 - FD confere 3 log satisfatório	Não requer tratamento adicional
2 e 4	> 0,075 até 1,0 oocistos.L ⁻¹	2 - FD confere 3 log satisfatório	Necessário mais log adicional para sistemas com ciclo completo, FD ou FL

CC: ciclo completo; FD: filtração direta; FL: filtração lenta.
Fonte: USEPA (2005).

Tabela 4 - Classificação e categorização das estações de coleta em cada profundidade da represa de Vargem das Flores para o parâmetro balneabilidade (recreação de contato primário), segundo a Resolução CONAMA nº 274/2000.

	Profundidade (ponto) de coleta	Classificação	Categoria
Estação 1	Superfície	Própria	Excelente
	Secchi	Própria	Excelente
	5 m	Própria	Excelente
	10 m	Própria	Excelente
	Fundo	Própria	Excelente
Estação 2	Superfície	Própria	Excelente
	Secchi	Própria	Excelente
	5 m	Própria	Excelente
	Fundo	Própria	Excelente
Estação 3	Superfície	Própria	Excelente
	Secchi	Própria	Muito boa
	5 m	Própria	Muito boa
Estação 4	Fundo	Própria	Muito boa
	Superfície	Própria	Excelente
	Secchi	Própria	Excelente
	5 m	Própria	Excelente

CONCLUSÃO

Em síntese, os resultados comprovaram a presença de *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. e cianobactérias na água do reservatório de Vargem das Flores no período monitorado, o que representa potencial risco à saúde dos consumidores, caso a água não seja tratada adequadamente. A distribuição de (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. correlacionada com a de *Giardia* spp. no reservatório de Vargem das Flores demonstrou que não havia nenhuma estação monitorada que fosse particularmente melhor em termos de qualidade biológica da água. Diferenças sazonais foram observadas, e a estação chuvosa apresentou as maiores variações dos parâmetros físicos e químicos (OD, turbidez, fósforo total,

ortofosfato, amônio, nitrito e nitrato) entre as estações. A estação chuvosa também foi caracterizada pela maior ocorrência de cianobactérias. A sucessão observada no grupo das cianobactérias (*Aphanocapsa* spp. sobre *Microcystis* spp.) pode ser um indicativo de alterações das características da qualidade de água no reservatório. A caracterização da qualidade da água, baseada principalmente em segurança biológica, é importante por conscientizar a população local dos perigos da ingestão de água do reservatório durante as atividades recreacionais. Em relação à balneabilidade e recreação, a água do reservatório foi categorizada como adequada para recreação de contato primário, segundo a Resolução Conama n.º 274/2000.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS - ANA. (2013). Sistema Nacional de Informações sobre Recursos Hídricos. *Atlas Geográfico de Recursos Hídricos do Brasil*. Seção 6: infraestrutura. Rede de abastecimento urbano. 69 p. Disponível em: <<http://www.snirh.gov.br/atlasrh2013livro/>>. Acesso em: 21 jan. 2016.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. (2005) *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Washington: APHA.
- AZEVEDO, S. M.; CARMICHAEL, W. W.; JOCHIMSEN, E. M.; RINEHART, K. L.; LAU, S.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru, Brazil. *Toxicology*, v. 181-182, p. 441-446.
- BRASIL. (2011) Portaria n. 2914 de 12 de dezembro de 2011. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Diário Oficial, Poder Executivo, Brasília, DF.
- BARBOSA, I. B. R. & CIRILO, J. A. (2015). Contribuição média de fósforo em reservatório de abastecimento de água: parte 1. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 20, n. 1, p. 39-46.
- BROOKES, J. D.; ANTENUCCI, J.; HIPSEY, M.; BURCH, M. D.; ASHBOLT, N. J.; FERGUSON, C. (2004). Fate and transport of pathogens in lakes and reservoirs. *Environment International*, v. 30, n. 5, p. 741-759.
- CAREY, M. C.; LEE, H.; TREVORS, T. J. (2004). Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research*, v. 38, n. 4, p. 818-862.
- CARMICHAEL, W. W.; AZEVEDO, S. M.; AN, J. S.; MOLICA, R. J.; JOCHIMSEN, E. M.; LAU, S.; RINEHART, K. L.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. (2001). Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*, v. 109, n. 7, p. 663-668.
- CHORUS, I. & BARTRAM, J. (1999). Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. Londres/Nova York: E & FN Spon.
- FIGUEREDO, C. C. & GIANI, A. (2001). Seasonal variation in the diversity and species richness of phytoplankton in a tropical eutrophic reservoir. *Hydrobiologia*, v. 445, n. 1-3, p. 165-174.
- FIGUEREDO, C. C. & GIANI, A. (2009) Phytoplankton community in the tropical lake of Lagoa Santa (Brazil): cConditions favoring a persistent bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Limnologia - Ecology and Management of Inland Waters*, v. 39, n. 4, p. 264-272, 2009.
- FRANCO, R. M. B.; ROCHA-EBERHARDT, R.; CANTUSIO NETO, R. (2001). Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 43, n. 2, p. 109-111.
- GOMES, L. N.; OLIVEIRA, S. M.; GIANI, A.; VON SPERLING, E. (2012). Association between biotic and abiotic parameters and the occurrence of cyanobacteria in a Brazilian reservoir. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 184, n. 8, p. 4635-4645.
- HACHICH, E. M.; SATO, M. I.; GALVANI, A. T.; MENEGON, J. R.; MUCCI, J. L. (2004). *Giardia* and *Cryptosporidium* in source waters of Sao Paulo State, Brazil. *Water Science & Technology*, v. 50, n. 1, p. 239-245.
- JARDIM, F. A.; CAVALIERI, S. O.; GALLINARI, P. C.; VIANNA, L. N. L. (2002). Metodologia para a contagem de cianobactérias em células/mL: um novo desafio para o analista de laboratório. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 7, n. 3, p. 109-111.
- JONES, G. (1997). Limnological study of cyanobacterial growth in three south-east Queensland reservoirs. In: DAVIS, J. R. (Ed.). *Managing algal blooms: outcomes from CSIRO's multi-divisional blue-green algal program*. Camberra: CSIRO Land and Water. p. 51-68.

- KALFF, J. (2002). *Limnology: inland water ecosystems*. Nova Jersey: Prentice Hall.
- KARANIS, P.; KOURENTI, C.; SMITH, H. (2007). Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *Journal of Water and Health*, v. 5, n. 1, p. 1-38.
- LOZA, V.; PERONA, E.; MATEO, P. (2014). Specific responses to nitrogen and phosphorus enrichment in cyanobacteria: factors influencing changes in species dominance along eutrophic gradients. *Water Research*, v. 48, p. 622-631.
- MAC KENZIE, W. R.; HOXIE, N. J.; PROCTOR, M. E.; GRADUS, M. S.; BLAIR, K. A.; PETERSON, D. E.; KAZMIERCZAK, J. J.; ADDISS, D. G.; FOX, K. R.; ROSE, J. B.; DAVIS, J. P. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *New England Journal of Medicine*, v. 331, n. 3, p. 161-167.
- MOSCHINI-CARLOS, V.; BORTOLI, S.; PINTO, E.; NISHIMURA, P. Y.; FREITAS, L. G.; POMPÊO, M. L. M.; DÓRR, F. (2009). Cyanobacteria and Cyanotoxin in the Billings Reservoir (São Paulo, SP, Brazil). *Limnetica*, v. 28, n. 2, p. 273-282.
- NEVES, D. P. (2005). *Parasitologia humana*. 11. ed. São Paulo: Atheneu. 494 p.
- OLIVER, R. L. & GANF, G. G. (2000). Freshwater blooms. In: WHITTON, B. A. & POTTS, M. (Eds.). *The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p. 149-194.
- OLIVER, S. L. & RIBEIRO, H. (2014). Variabilidade climática e qualidade da água do Reservatório Guarapiranga. *Estudos Avançados*, v. 28, n. 82, p. 95-128.
- PHILLIP, D. A.; RAWLINS, S. C.; BABOOLAL, S.; GOSEIN, R.; GODDARD, C.; LEGALL, G.; CHINCHAMEE, A. (2008). Relative importance of the various environmental sources of *Cryptosporidium* oocysts in three watersheds. *Journal of Water and Health*, v. 6, n. 1, p. 23-34.
- PINTO, V. G.; HELLER, L.; BASTOS, R. K. (2012). Drinking water standards in South American countries: convergences and divergences. *Journal of Water and Health*, v. 10, n. 2, p. 295-310.
- REYNOLDS, C. S. (2006). *The ecology of phytoplankton* (ecology, biodiversity and conservation). Cambridge: Cambridge University Press.
- RODRIGUES, L. L.; SANT'ANNA, C. L.; TUCCI, A. (2010). *Chlorophyceae* das represas Billings (Braço Taquacetuba) e Guarapiranga, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 33, n. 2, p. 247-264.
- SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; SENNA, P. A. C.; KOMÁREK, J.; KOMÁRKOVÁ, J. (2004). Planktic cyanobacteria from São Paulo State, Brazil: *Chroococcales*. *Brazilian Journal of Botany*, v. 27, n. 2, p. 213-227.
- SHERMAN, B. S.; WEBSTER, I. T.; JONES, G. J.; OLIVER, R. L. (1998). Transitions between *Aulacoseira* and *Anabaena* dominance in a turbid river weir pool. *Limnology and Oceanography*, v. 43, n. 8, p. 1902-1915.
- STOCKNER, J. G.; CALLIERI, C.; CRONBERG, G. (2000). Picoplankton and other non-bloom forming cyanobacteria in lakes. In: WHITTON, B. A. & POTTS, M. (Eds.). *The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p. 195-231.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. (2007). *Microbiologia*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed. 894 p.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. (2005). *Method 1623: Cryptosporidium and Giardia in water by filtration/IMS/FA*. Washington, DC.: USEPA.
- VON SPERLING, E. (1999). *Morfologia de lagos e represas*. Belo Horizonte: DESA/Editora da UFMG.

Anexo 1 - Resumo esquemático do Método 1623 desenvolvido pela USEPA (2005) para identificação de (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em águas bruta e tratada.


1A: coleta da amostra: 10 L de água bruta (ou 100 a 1000 L de água tratada) em galão de polietileno previamente homogeneizado com solução PBST 1%; 2A: filtração em bomba peristáltica a 4L.min⁻¹: módulo de filtro em espuma (Filta-Max) ou diretamente em campo; 2B: retenção do material particulado nos discos de espuma; 3A: retirada das tampas de contenção do módulo de espuma com auxílio de uma chave Allen 4 mm; 3B: expansão dos discos de espuma para promover o desprendimento do material retido; 3C e 3D: eluição das amostras, adição de 600 mL de solução PBST 1% (2 x) e processamento em *Stomacher* durante 5 min. (cada vez); 3E e 3F: transferência do líquido eluído para um bquer de 2,0 L, espremendo o máximo as espumas na bolsa plástica; 4A: transferência da amostra eluída para os tubos de centrifugação de 250 mL; 4B: equilíbrio dos tubos de centrifugação de 250 mL; 4C: concentração das amostras: 15 min de centrifugação, a 1500 g; 4D: aspiração do sobrenadante, até a marca dos 10 mL de todos os tubos de 250 mL; 4E e 4F: agitação em vórtex e transferência do sobrenadante de todos os tubos para apenas 1 tubo de 250 mL, submetendo novamente à centrifugação (15 min; 1500 g); 4G: transferência do sobrenadante do tubo de 250 mL, após aspiração até 10 mL, para o tubo de 50 mL; 4H: equilíbrio dos tubos de centrifugação de 50 mL; 4I: centrifugação: 15 min a 1500 g; 4J e 4K: aspiração do sobrenadante até a marca de 5 mL e obtenção do *pellet* final (até 0,5 mL); 5A: separação imunomagnética: ressuspensão do *pellet* com uso do vórtex, transferência da amostra para o tubo de lado chato e posterior adição dos reagentes de separação Sistema Dynal/Biobeads; 5B: rotação em homogeneizador a 18 rpm, durante 1 hora, para promoção da reação de separação (os anticorpos presentes no *kit* Biobeads vão reagir com os antígenos contidos na amostra (oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*)); 5C: tubo de lado chato colocado no MPC-1 e com a rotação manual de 90°, durante 2 min, é promovido o arraste do conjugado (Biobeads-(oo)cistos) para a parede do tubo. Depois disso, o sobrenadante é descartado; 5D: o tubo de lado chato é lavado com 1,0 mL de solução tampão-A 1 x e 0,5 mL de água destilada; 5E: o lavado é transferido para um tubo Eppendorf; 5F: o tubo Eppendorf é colocado no MPC-S e agitado a 180°, por 1 min; o sobrenadante é descartado e são colocados 100 mL de água destilada no tubo Eppendorf; 5G: etapa de dissociação térmica: o tubo Eppendorf é submetido ao banho seco a 80°C durante 10 min, nessa etapa o conjugado Biobeads-(oo)cistos se desprende; 5H: tubo Eppendorf novamente colocado no MPC-S, dessa vez somente os Biobeads serão arrastados, deixando, assim, os (oo)cistos livres na amostra; 6A: amostra com os (oo)cistos transferida para um dos poços da lâmina; 6B: a lâmina é levada à secagem em estufa, à temperatura de 35 a 37°C; 6C e 6D: imunofluorescência, os reagentes do *kit* Merifluor são acrescentados ao poço da lâmina contendo a amostra; 6E e 6F: a lâmina é levada à câmara úmida, por 30 min, em local escuro; 6G: o excesso de reagentes e PBS 1% são sugados e a lâmina é selada com lamínula e esmalte; 7A: a lâmina é levada ao microscópio óptico com epifluorescência para quantificação.

Anexo 2 - Material e métodos de análise das amostras de água para pesquisa de (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp.

Material	Etapa
Módulos de filtro em espuma de porosidade 1 µm (Sistema Filta-Max - IDEXX/EUA)	Filtração
Solução de tampão fosfato com Tween 20 (PBST) c/ processamento em Stomacher (Modelo: K1204/fabricante: Boiton/Brasil)	Eluição
Centrífuga (Modelo: CT 6000D/fabricante: Cientec/Brasil) com aceleração de 1.500 g, a 2.700 rpm, por 15 min	Concentração
Kit Dynal (Oslo/Noruega)	Purificação
(Kit Merifluor/EUA) - Coloração DAPI/Sigma (4',6-diamidino-2-fenilindol) - Contraste de Interferência Diferencial (CID) (modelo do microscópio: DMLB/fabricante: Leica/Alemanha)	Deteção e quantificação

Anexo 3 - Estatística descritiva dos parâmetros físicos e microbiológicos monitorados: estações 1, 2, 3 e 4.

	Parâmetro	Unidade	Número de dados	Estatística	Superfície	Secchi	5 m	10 m	Fundo
Estação 1	<i>E. coli</i>	NMP/100 mL ⁻¹	12	Máximo	37,3	29,2	41,4	186,0	39,3
				Mínimo	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
				Média aritmética	7,9	6,4	9,1	41,3	13,6
				Média geométrica	3,4	3,2	3,2	11,0	7,8
				Mediana	2,6	3,1	2,0	11,1	8,0
				Desvio padrão	11,9	8,4	14,6	60,1	13,3
	Turbidez	uT	12	Máximo	6,2	6,4	6,5	12,0	20,2
				Mínimo	1,9	2,2	2,2	2,2	2,9
				Média aritmética	3,5	3,6	3,7	4,6	7,5
				Média geométrica	3,3	3,4	3,5	4,0	6,5
				Mediana	3,2	3,1	3,0	3,4	6,3
				Desvio padrão	1,4	1,3	1,5	2,8	4,8
	Temperatura	°C	12	Máximo	27,5	27,5	27,0	26,5	26,5
				Mínimo	21,5	21,5	21,5	21,0	21,0
				Média aritmética	25,3	25,3	25,0	24,2	23,4
				Média geométrica	25,2	25,2	24,9	24,1	23,4
				Mediana	26,3	26,3	25,3	24,5	23,5
				Desvio padrão	2,2	2,2	2,2	1,8	1,8
Estação 2	<i>E. coli</i>	NMP/100 mL ⁻¹	11	Máximo	122,3	148,3	148,3	435,2	
				Mínimo	1,0	< 1,0	< 1,0	3,0	
				Média aritmética	19,0	20,4	27,2	99,0	
				Média geométrica	7,5	6,7	6,6	43,7	
				Mediana	4,1	5,2	4,8	38,6	
				Desvio padrão	34,4	41,4	47,4	130,2	
	Turbidez	uT	10	Máximo	6,7	6,3	6,6	18,3	
				Mínimo	2,0	2,4	2,41	3,0	
				Média aritmética	3,8	3,7	3,9	7,5	
				Média geométrica	3,6	3,5	3,8	6,4	
				Mediana	3,2	3,4	3,5	5,5	
				Desvio padrão	1,5	1,2	1,4	4,9	
	Estação 2	Temperatura	°C	11	Máximo	27,5	27,5	27,5	26,0
					Mínimo	21,5	21,5	21,5	21,0
					Média aritmética	25,2	25,0	24,9	23,8

Continua..

Anexo 3 - Continuação.

	Parâmetro	Unidade	Número de dados	Estatística	Superfície	Secchi	5 m	Fundo
Estação 2	Temperatura	°C	11	Média geométrica	25,1	25,0	24,8	23,7
				Mediana	25,5	25,5	25,3	24,3
				Desvio padrão	2,0	2,2	2,2	1,6
Estação 3	<i>E. coli</i>	NMP/100 mL ¹	11	Máximo	2419,6	2419,6	2419,6	2419,6
				Mínimo	< 1,0	8,5	7,4	3,0
				Média aritmética	254,2	266,2	359,7	606,2
				Média geométrica	29,9	48,8	66,7	123,3
				Mediana	19,9	31,6	34,1	136,2
				Desvio padrão	686,2	683,2	715,7	946,9
	Turbidez	uT	10	Máximo	10,1	11,0	47,8	66,9
				Mínimo	2,5	3,0	2,6	4,1
				Média aritmética	4,9	5,2	9,0	12,5
				Média geométrica	4,5	4,7	6,0	8,5
				Mediana	4,2	4,5	5,2	8,0
				Desvio padrão	2,4	2,5	13,0	17,4
	Temperatura	°C	11	Máximo	27,5	27,5	27,0	27,0
				Mínimo	21,5	21,5	21,5	21,5
				Média aritmética	25,0	25,1	24,6	24,8
				Média geométrica	25,0	25,0	24,5	24,7
				Mediana	26,0	26,0	25,0	25,3
				Desvio padrão	2,2	2,2	2,2	2,1
Estação 4	<i>E. coli</i>	NMP/100 mL ¹	11	Máximo	123,4	123,4	122,3	156,5
				Mínimo	< 1,0	1,0	1,0	2,0
				Média aritmética	22,2	26,2	26,9	56,5
				Média geométrica	7,6	7,5	10,6	23,6
				Mediana	5,8	11,8	7,9	24,8
				Desvio padrão	36,4	39,3	42,1	61,5
	Turbidez	uT	10	Máximo	7,0	6,5	7,1	19,9
				Mínimo	2,3	1,8	3,1	4,6
				Média aritmética	4,0	4,4	4,6	9,0
				Média geométrica	3,8	4,1	4,4	8,0
				Mediana	3,6	4,3	4,3	6,8
				Desvio padrão	1,4	1,3	1,5	5,0
	Temperatura	°C	11	Máximo	28,0	28,0	27,0	26,0
				Mínimo	21,5	21,5	21,5	21,0
				Média aritmética	25,0	24,9	24,7	24,3
				Média geométrica	24,9	24,8	24,6	24,3
				Mediana	26,0	25,5	25,8	25,0
				Desvio padrão	2,1	2,1	2,1	1,9

NMP: número mais provável.