



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências

# Ocorrência de Estafilococos coagulase negativa em água superficial e de profundidade

**Verónica Fernandes Solheiro**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

**Bioquímica**

(2º ciclo de estudos)

Orientador: Mestre Maria Margarida Valente

Co-orientador: Prof.<sup>a</sup> Doutora Cândida Tomaz

Covilhã, Outubro de 2012



**Dissertação realizada em colaboração  
com a empresa  
Águas do Douro e Paiva, SA.**



“Caminante son tus huellas  
El camino nada más;  
caminante no hay camino  
se hace camino al andar.  
Al andar se hace camino  
y al volver la vista atrás  
se ve la senda que nunca  
se ha de volver a pisar.  
Caminante, no hay camino  
sino estrellas sobre el mar.  
¿Para que llamar caminos  
A los surcos del azar...?(...)”

**Antônio Machado**



## Agradecimentos

No final desta caminhada são muitas as pessoas a quem tenho que agradecer.

Começo por agradecer à Águas do Douro e Paiva, à administração em particular ao Dr. Sérgio Lopes e ao diretor de Produção Dr. João Vilaça, pela possibilidade de realizar este trabalho e pela cooperação.

Agradeço às minhas orientadoras, Mestre Margarida Valente e Doutora Cândida Tomaz, pela disponibilidade, esclarecimentos e conhecimento transmitido.

Um obrigado a todos os colegas de trabalho da ETA que de uma forma ou outra colaboraram neste projeto. Não posso deixar de agradecer aos operadores Eurico Silva e José Carlos, que me acompanharam nas amostragens, pelo apoio, prontidão e disponibilidade. Não esquecendo os Engenheiros Sara Vieira, Ana Costa e João Ferreira, pelo apoio técnico, visitas guiadas e colaboração.

Queria agradecer a toda a equipa de Laboratório pela colaboração, especialmente à D. Emília e à D. Rosa pois sem a sua ajuda não seria possível chegar aqui.

Um obrigado muito especial aos meus colegas de equipa, Carolina Tavares, Joana Leal, Manuel Carneiro, não esquecendo a nossa estagiária Daniela Mendes, pela ajuda, pelo trabalho, mas sobretudo pelo carinho, pelo companheirismo, paciência e bom ambiente. Sem vocês, seria bem mais difícil...

Por fim, àqueles que estão sempre ao nosso lado e que mais sentem as nossas opções, a Família (Avó, Mãe, Pai, Irmãos, Marido, Filho...).

Obrigada Marco, pelo apoio incondicional, e José, pelos sorrisos e mimos, que nos fazem tão bem.

Um obrigado a todos que direta e indiretamente contribuíram para tornar mais fácil esta caminhada.

Obrigada!

Verónica Solheiro





## Resumo

A água é um recurso extremamente importante para todos os seres vivos. Um sistema de abastecimento adequado, seguro e acessível deve estar disponível a todos. Doenças relacionadas com a contaminação da água de consumo constituem um grande perigo para a saúde humana.

Ao longo do tempo tem sido reconhecida a importância dos parâmetros microbiológicos para fornecer informação útil para todo o processo de produção de água tratada. As consequências para a saúde pública provenientes de uma contaminação microbiana da água de consumo são tais que o seu controlo assume elevada importância e nunca deve ser comprometido.

A persistência e o desenvolvimento de microrganismos na água são afetados por uma variedade complexa de fatores físicos, químicos e biológicos. Deste modo, é importante avaliar sistematicamente as condições ambientais nas áreas de captação e a sua ação na contaminação microbiológica.

Nas últimas décadas, tem surgido um aumento de interesse, na relação entre novas bactérias patogénicas e a sua ocorrência natural na água. Estes microrganismos são definidos como patogénicos emergentes. No género *Estafilococos*, a espécie *Staphylococcus aureus*, é a mais conhecida, e frequentemente implicada na etiologia de uma série de infeções e intoxicações no homem e nos animais, enquanto os *Estafilococos* coagulase negativa (Ecn) têm sido considerados raramente patogénicos.

Contudo, durante a última década, consideráveis progressos na classificação sistemática dos *Estafilococos* e no desenvolvimento de métodos para a identificação do género, espécies e subespécies têm permitido aos clínicos detetarem uma grande variedade de Ecn presentes em amostras clínicas e, assim, considerarem estes microrganismos como agentes etiológicos de uma série de processos infecciosos. Ecn são bactérias ubíquas referidas como parte da microbiota normal do ar, água, solo, seres humanos e outros animais.

O estudo descrito neste trabalho teve como principal objetivo relacionar a ocorrência de *Staphylococos* spp. na captação da Estação de Tratamento de Água (ETA) de Lever da empresa Águas do Douro e Paiva, nos últimos anos, com as variações das condições ambientais e de qualidade da água que afetam a albufeira Crestuma-Lever.

Existindo na ETA de Lever, dois tipos de captação de água bruta, profundidade e superficial, foram estudadas as características de qualidade das duas matrizes. Numa primeira parte do trabalho, com o objetivo de caracterizar a população microbiana nos Poços de Captação e no Poço Coletor, foram realizadas colheitas nos diversos poços a diferentes níveis de profundidade. Desta caracterização concluiu-se que o Poço Coletor apresenta uma população microbiana homogénea, nos diferentes níveis, o que não se verifica nos Poços de Captação.

Numa fase inicial, quanto aos Ecn, o Poço Coletor apresentou uma distribuição uniforme e um menor número de espécies relativamente aos Poços de Captação, no mesmo período. Posteriormente, com o aumento do número de amostras provenientes do Poço Coletor, verificou-se o aparecimento de espécies de Ecn que inicialmente apenas existiam nos Poços de Captação em níveis diferentes da saída.

Numa segunda fase foram estudados parâmetros físico-químicos de qualidade da água (Carbono Orgânico Total, Alcalinidade, Turvação, Condutividade e Temperatura *in situ*), condições meteorológicas (Temperatura atmosférica máxima, mínima e Precipitação) e atividade de bombagem, para as diferentes origens de água (superficial e de profundidade).

Com os resultados obtidos durante o estudo de caracterização e com os dados existentes no histórico da Águas do Douro e Paiva não foi identificada qualquer relação, entre a presença de Ecn e os diferentes parâmetros avaliados, que nos permita atingir o objetivo de conseguir prever e prevenir um surto de Ecn na água de entrada na ETA.

## Palavras-chave

Albufeira Crestuma-Lever; captação em profundidade; captação superficial; condições meteorológicas; Estação de Tratamento de Água; *Estafilococos coagulase negativa*; qualidade da água.

## Abstract

Water is an undeniably important resource to any life form. Therefore, an appropriate, safe and affordable water supply system shall be available to all. Illnesses related to consumption water contamination are a serious threat to human life.

Over time, microbiological parameters have been accepted as being an important data source, very useful all along the process of treated water production. The seriousness of the consequences to public health related to a microbiological contamination of water is such that the high importance of its control shall never be compromised.

Microorganism development and persistence in water is affected by a complex variety of physical, chemical and biological factors. Therefore, a systematic evaluation of the environmental conditions in the water source areas, and their role in microbial contamination, is indispensable.

Over the past few decades, the connection between new pathogenic bacteria and their natural occurrence in water has been aim of increasing interest by specialists. These microorganisms are defined as emergent pathogens. In the staphylococcal kind, the *Staphylococcus aureus* species is the most well known for its common implication in a series of infections and intoxications etiology occurring both in men and animals, meanwhile Staphylococcus Negative Coagulase has hardly been considered pathogenic.

However, considerable advances in systematic classification of Staphylococcus and the development of kind, species and subspecies identification methods, have allowed clinics to have information on the variety of Staphylococcus Negative Coagulase present in clinic samples, and, therefore, to identify them as etiologic agents in a range of infectious processes. Staphylococcus Negative Coagulase are ubiquitous bacteria considered as being part of the air, water, soil, human beings and other animals standard microbiota.

Within this ambit, the following study has the main purpose of relating the occurrence of Staphylococcus spp. at Lever's Water Treatment Plant of Águas do Douro e Paiva company, with the variations in the environmental conditions and water quality affecting the Crestuma-Lever Bayou.

Provided that in Lever's Water Treatment Plant, there are two kinds of raw water abstraction, at depth and superficial, the quality features of both matrices were studied.

In a first stage, aiming to identify the microbial population in the Abstraction Wells and in the Collector Well, samples were taken from all of them at different depth levels. Out of the depiction it was concluded that the Collector Well, unlike the Abstraction Wells, displays an homogeneous microbial population, at the different levels. In an initial stage, concerning to Staphylococcus Negative Coagulase, the Collector Well displayed a uniform distribution and

fewer species, compared to the Abstraction Wells, in the same time period. Although later on, with the increasing number of samples taken, species of *Staphylococcus* Negative Coagulase which initially only appeared in the Abstraction Wells at levels other than the water outlet, were also identified in the Collectors Well.

In a second stage, physico-chemical water quality parameters were studied (Total Organic Carbon, Alkalinity, Turbidity, Conductivity and Temperature in situ), as well as meteorological conditions (Precipitation, Minimum and Maximum Atmospheric Temperature) and bombing activity to the different water origin levels (superficial and at depth).

With the obtained results in the identification study, and with the data existing in Águas do Douro e Paiva history, no relation could be identified between the presence of *Staphylococcus* Negative Coagulase and the different parameters evaluated, that can allow to reach the goal of predicting and preventing a *Staphylococcus* Negative Coagulase flare at Water Treatment Plant's water entry.

## Keywords

Capture at depth; Crestuma-Lever Bayou; *Staphylococcus* Negative Coagulase; superficial capture; meteorological conditions; water quality; Water Treatment Plant.

## Índice

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>VII</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>IX</b>
<b>PALAVRAS-CHAVE</b> .....	<b>X</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XI</b>
<b>KEYWORDS</b> .....	<b>XII</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>XIII</b>
<b>LISTA DE SIGLAS E ACRÓNIMOS</b> .....	<b>XV</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. Enquadramento do trabalho .....	1
1.2. Qualidade da água para consumo humano - Enquadramento legal .....	2
1.3. Águas Douro e Paiva .....	5
1.3.1. Complexo de Lever .....	6
1.3.2. Descrição do processo de tratamento de águas na ETA de Lever .....	7
1.4. Qualidade microbiológica de água de consumo .....	15
1.4.1. <i>Staphylococcus</i> spp. em águas de consumo .....	15
1.4.2. Histórico de <i>Staphylococcus</i> spp. na AdDP .....	16
1.5. Objetivo do trabalho .....	16
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>17</b>
2.1 Caracterização da população microbiana dos Poços de Captação e do Poço Coletor .....	17
2.1.1. Colheita em profundidade.....	17
2.1.2 Caracterização microbiológica .....	20
2.2 Dados de histórico da qualidade da água.....	27
2.2.1 Dados relativos à Qualidade da Água.....	27
2.2.1 Dados meteorológicos .....	27
2.2.2 Dados relativos à atividade da ETA .....	27
<b>3. TRATAMENTO DE RESULTADOS</b> .....	<b>29</b>
3.1. Caracterização da população microbiana dos Poços de Captação e do Poço Coletor .....	29
3.1.1 Poços de Captação.....	29
3.1.2 Poço Coletor .....	32
3.2 Dados de histórico da qualidade da água.....	36
3.2.1 Qualidade da água do Poço Coletor e do Rio Douro .....	36
3.2.2 Dados meteorológicos e <i>Estafilococos</i> coagulase negativa .....	44
3.2.3 Dados da atividade da ETA .....	47
<b>4 DISCUSSÃO DE RESULTADOS</b> .....	<b>49</b>
4.1 Caracterização da população microbiana dos Poços de Captação e do Poço Coletor .....	49
4.2 Dados de histórico da qualidade da água.....	50
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>53</b>
5.1 Linhas futuras de investigação .....	53
<b>6 BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>55</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>59</b>

<b>ANEXO A</b> .....	<b>61</b>
Anexo A 1- Pesquisa e Quantificação de <i>Estafilococos</i> - Método de filtração por membrana ..	62
Anexo A 2- Pesquisa e Quantificação de Bactérias Coliformes e <i>Escherichia coli</i> - Método de filtração por membrana .....	64
Anexo A 3- Pesquisa e Quantificação de <i>Clostridium perfringens</i> - Método de filtração por membrana.....	66
Anexo A 4- Pesquisa e quantificação de <i>Enterococos</i> fecais - Método de filtração por membrana.....	68
Anexo A 5- Pesquisa e quantificação de <i>Pseudomonas</i> - Método de filtração por membrana .	70
Anexo A 6- Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.- Método de filtração por membrana .....	72
Anexo A 7- Pesquisa de microrganismos cultiváveis- Método de incorporação .....	76
<b>ANEXO B</b> .....	<b>77</b>
B1. Caracterização microbiológica dos Poços de Captação e do Poço Coletor, em simultâneo.	78
B2. Poço Coletor .....	81
<b>ANEXO C</b> .....	<b>83</b>
C1. Qualidade da água.....	84
C2. Condições meteorológicas.....	87
C3. Atividade da ETA.....	98

## Lista de Siglas e Acrónimos

AdDP - Águas do Douro e Paiva

Ecn - Estafilococos Coagulase Negativa

ERSAR - Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos

ETA - Estação de Tratamento de Águas

INETI - Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação

LIMS - Laboratory Information Management System

LNEC - Laboratório Nacional de Engenharia Civil

OMS - Organização Mundial de Saúde

COT - Carbono Orgânico Total

COA- Carbono Orgânico Assimilável





# Capítulo 1

## 1. Introdução

### 1.1. Enquadramento do trabalho

Na carta europeia da água de 1968, pode ler-se: “Não há vida sem água. A água é um bem precioso indispensável a todas as atividades humanas.” [1].

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a água constitui um recurso essencial à vida e um fator indispensável à sobrevivência de todos os seres vivos. O acesso a água potável é vital para a saúde, um direito humano básico e um componente fundamental das políticas de proteção da saúde [2].

A preocupação global com a importância da água, saneamento e higiene, para o desenvolvimento da saúde e redução da pobreza é refletida na Declaração do Milénio, em particular nas oito Metas do Milénio, nos relatórios da Comissão das Nações Unidas sobre Desenvolvimento Sustentável e em muitos fóruns internacionais [3].

Uma grande parte do total de doenças no mundo (cerca de 10%) pode ser evitada melhorando questões relacionadas com a água potável, higiene, saneamento e gestão dos recursos hídricos [3]. Utilizando como indicador, a qualidade da água para consumo humano, pode avaliar-se o nível de desenvolvimento de um país e do bem-estar da sua população [4].

Em Portugal tem-se verificado uma evolução muito positiva, quer quanto à qualidade da água distribuída, quer quanto à realização do número de análises obrigatórias para o seu controlo. Com efeito, os últimos dados nacionais conhecidos não deixam quaisquer dúvidas sobre este assunto, evidenciando uma clara melhoria no controlo da qualidade da água na última década. Esta situação requer, no entanto, um investimento adicional em ações e medidas que permitirão atingir 100% de análises realizadas e 99% de cumprimento dos valores paramétricos especificados na legislação [4].

Água potável, tal como definida pela OMS, não apresenta qualquer risco para a saúde durante todo o intervalo de consumo, independentemente das fases de vida mais sensíveis (crianças, idosos e doentes imunodeprimidos) [2].

Ao longo do tempo tem sido reconhecida a importância dos parâmetros microbiológicos para fornecer informação útil para todo o processo de produção de água tratada, caracterização da matriz, eficiência do tratamento e monitorização do sistema de distribuição [2].

As consequências para a saúde pública provenientes de uma contaminação microbiana da água de consumo são tais que o seu controlo assume elevada importância e nunca deve ser comprometido [2].

Os métodos disponíveis atualmente não permitem uma análise de rotina de todos os microrganismos que estejam presentes na água. Deste modo, a qualidade microbiológica da água é determinada, em todo o mundo, através da análise a microrganismos indicadores de contaminação fecal [5,6]. O grupo de bactérias usadas como indicadores de poluição fecal pertence ao grupo dos coliformes: *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* e *Enterococcus faecalis* [6, 7, 8, 9].

A presença de indicadores de contaminação na água indica não só contaminação fecal recente, mas também a possível presença de outros organismos causadores de doenças (exemplo: vírus e protozoários). No entanto, estas bactérias indicadoras, não apresentam a mesma resistência à desinfecção que os organismos patogénicos, logo a sua ausência não indica necessariamente a ausência destes [10, 11].

Como forma de garantir a qualidade da água para consumo humano são pesquisadas algumas bactérias patogénicas, normalmente associadas a doenças com origem hídrica, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp. (incluindo *Staphylococcus aureus*) e *Salmonella* spp. (incluindo *S. typhi* e *S. paratyphi*), e alguns protozoários como *Cryptosporidium* e *Giardia* [10].

A persistência e o desenvolvimento de microrganismos na água são afetados por uma variedade complexa de fatores físicos, químicos e biológicos [5, 12]. Deste modo, é importante avaliar sistematicamente as condições ambientais nas áreas de captação e a sua ação na contaminação microbiológica.

Neste âmbito, o estudo realizado teve como principal objetivo correlacionar a ocorrência de *Estafilococos* spp na captação da Estação de Tratamento de Água (ETA) de Lever da empresa Águas do Douro e Paiva, nos últimos anos e as variações das condições ambientais que afetam a albufeira.

## 1.2. Qualidade da água para consumo humano - Enquadramento legal

No Decreto-lei 306/2007 de 27 de agosto, é estabelecido o regime de controlo da qualidade da água destinada ao consumo humano e são descritas normas, critérios e objetivos de qualidade com o propósito de “proteger a saúde humana dos efeitos nocivos resultantes da eventual contaminação dessa água e assegurar a disponibilização tendencialmente universal de água salubre, limpa e desejavelmente equilibrada na sua composição” [13].

Compete à entidade gestora do sistema de abastecimento público, disponibilizar água própria para consumo humano, devidamente controlada, em quantidade e qualidade que satisfaça as necessidades da população. Para atingir este objetivo, devem as entidades gestoras, assegurar que a água que distribuem não contenha qualquer microrganismo, parasita ou substância em quantidade ou concentração que constitua perigo para a saúde humana. Desta forma, são vários os parâmetros que têm a obrigação de controlar. Na legislação aplicável, acima referida, estes parâmetros estão agrupados em parâmetros de rotina (1 e 2), e parâmetros de inspeção. O controlo de rotina visa a monitorização regular da qualidade da água (organolética e microbiológica), monitorização e eficácia do tratamento e cumprimento dos valores paramétricos. Por sua vez, o controlo de inspeção visa essencialmente o cumprimento dos valores paramétricos [13].

Na Tabela 1, podem consultar-se os parâmetros, e respetivos valores, do controlo de rotina 1 e 2 relativos à água destinada ao consumo humano, fornecida por redes de distribuição [13].

Tabela 1- Parâmetros de controlo de rotina 1 e 2 de acordo com o DL 306/2007.

	Parâmetros de controlo	Valores paramétricos
Parâmetros de controlo de rotina 1	Bactérias coliformes	0 UFC/100 mL
	<i>Escherichia coli</i> ( <i>E.coli</i> )	0 UFC/100 mL
	Desinfetante residual	- *
Parâmetros de controlo de rotina 2	Alumínio	200 µg/L
	Amónio	0,50 mg/L
	Cheiro	factor de diluição 3
	Cor	20 mg/L
	Condutividade	2500 µS/cm a 20°C
	<i>Clostridium perfringens</i> (incluindo esporos)	0/100 mL
	pH	≥ 6,5 e ≤ 9
	Ferro	200 µg/L
	Manganês	50 µg/L
	Nitratos	50 mg/L
	Nitritos	0,5 mg/L
	Número de colónias a 22°C	100/mL
	Número de colónias a 37°C	20/mL
	Oxidabilidade	5 mg/L
	Sabor	factor de diluição 3
	Turvação	4 UNT**

\* Recomenda-se que as concentrações se situem na gama de 0,2 a 0,6 mg/L de cloro residual livre

\*\*UNT - Unidades nefelométricas de turvação

Uma monitorização de rotina para microrganismos patogénicos emergentes na água de consumo não é exigida, como se pode verificar na tabela 1. É utilizado o indicador de contaminação fecal, *Escherichia coli*, para indicar a potencial presença de bactérias patogénicas, no entanto, como referido anteriormente, estas bactérias indicadoras, não

apresentam a mesma resistência à desinfecção que os organismos patogênicos, logo a sua ausência não indica necessariamente a ausência destas [10].

Apesar da monitorização de microrganismos patogênicos não ser obrigatória, a empresa Águas do Douro e Paiva (AdDP) considerou relevante a monitorização de alguns destes microrganismos em captações, estações de tratamento, reservatórios e em diferentes pontos da rede de abastecimento.

Na área de microbiologia, do laboratório da AdDP, são efetuados diversos parâmetros por rotina, além dos exigidos por lei (tabela 2). Os valores de aceitação para os diferentes parâmetros variam conforme a matriz da amostra (tabela 2).

**Tabela 2-** Parâmetros microbiológicos analisados na AdDP nas diferentes matrizes, respetivos limites de aceitação e periodicidade

Parâmetros	Água bruta		Água poço		Água tratada	
	Limite aceitação	Periodicidade	Limite aceitação	Periodicidade	Limite aceitação	Periodicidade
<i>B. coliformes</i>	50000/100 mL	Mensal	0/100ml	Diária	0/100ml	Diária
<i>E. coli</i>	20000/100 mL	Mensal	0/100ml	Diária	0/100ml	Diária
<i>E.fecais</i>	10000/100 mL	Mensal	0/100ml	Diária	0/100ml	Diária
<i>C. perfringens</i>	100/100 mL	Mensal	0/100ml	Diária	0/100ml	Diária
Nº de col.22°C	sem limite	Mensal	100/ml	Diária	100/ml	Diária
Nº de col.37°C	sem limite	Mensal	20/ml	Diária	20/ml	Diária
<i>P. aeruginosa</i>	-	Trimestral	-	-	0/100ml	Semanal
<i>Estafilococos</i>	-	Trimestral	0/100ml	Semanal	0/100ml	Semanal
<i>Salmonella</i>	-	Trimestral	-	-	Ausência/1L	Semanal

### 1.3. Águas Douro e Paiva

Em 1996, a Águas do Douro e Paiva, SA (AdDP) celebrou um contrato de concessão com o Estado Português, tendo ficado concessionária, até ao ano de 2026, do Sistema Multimunicipal de Abastecimento de Água à Área Sul do Grande Porto (Figura 1) [14].



Figura 1 - Mapa do sistema de abastecimento da AdDP.

É responsabilidade da empresa a conceção, construção e gestão do sistema de captação, tratamento e adução de água “em alta” a 20 Municípios e que representam cerca de 1,8 milhões de habitantes residentes em Amarante, Arouca, Baião, Castelo de Paiva, Cinfães, Espinho, Felgueiras, Gondomar, Lousada, Maia, Matosinhos, Oliveira de Azeméis, Ovar, Paços de Ferreira, Paredes, Porto, Santa Maria da Feira, São João da Madeira, Valongo e Vila Nova de Gaia [14].

De acordo com o Relatório Anual do Setor de Águas e Resíduos em Portugal, elaborado pela ERSAR, Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos, em 2010 a AdDP apresentava, entre empresas congéneres no setor de abastecimento de água, o 2º maior nível de atividade em Portugal, no que diz respeito ao volume de água faturado e o 5º em volume de negócios [14].

O sistema de gestão da AdDP está certificado, desde 2003, num conjunto de normas reconhecidas internacionalmente, como é o caso da ISO 9001 na área da qualidade, da ISO 14001 na área do ambiente e da OHSAS 18001 na segurança [14].

Em 2009, este sistema de gestão passou a ser acreditado na norma de competência técnica do laboratório (NP EN ISO/IEC 17025), estando atualmente acreditados 36 parâmetros [14].

Durante o ano de 2010 ocorreu ainda a certificação na norma de responsabilidade social (SA8000), sendo a primeira empresa do sector com este tipo de certificação [14].

Para manter a conformidade mas também para identificar áreas de melhoria, em termos de eficácia e eficiência, a empresa mantém um Programa Anual de Auditorias, internas e externas por entidade independente [14].

No ano de 2012, a AdDP viu reconhecidas a manutenção das certificações nas vertentes da qualidade, ambiente, segurança e responsabilidade social, e da acreditação do seu laboratório na vertente da competência técnica [14].

O desafio a que a empresa Águas do Douro e Paiva responde diariamente, é tornar possível a distribuição de água potável. Como forma de atingir este objetivo, a AdDP desenvolveu sistemas de captação de água em grande escala, articulados com um tratamento para a tornar potável e um dispositivo para a sua posterior distribuição. A água doce existe dispersa pela natureza, mas raramente apresenta as exigências de potabilidade necessárias ao consumo e muito menos nos grandes volumes que os sistemas urbanos exigem [15].

Em última instância, pode dizer-se, que a AdDP foi criada para produzir qualidade, na medida em que lhe foi confiado como objeto social a produção de um bem destinado ao consumo humano, a água potável, a partir da transformação de água de superfície de um dos principais rios peninsulares, o rio Douro [15].

### 1.3.1. Complexo de Lever

O Complexo de Lever (Figura 2) encontra-se integrado no Sistema Multimunicipal de Abastecimento de Água à Área Sul do Grande Porto, constitui a “grande fábrica” do sistema (16). Situado na margem esquerda do rio Douro é responsável pelo tratamento de água para cerca de milhão e meio de habitantes, 85% da população abrangida por todo o sistema da AdDP [14].



Figura 2 - Vista aérea do Complexo de Lever.

O Complexo de Lever integra uma captação de água superficial, um reservatório de água bruta e outro de água tratada, uma unidade de pré-tratamento, uma Estação de Tratamento de Água (ETA), uma unidade de tratamento de lamas, uma estação elevatória, duas subestações elétricas, além de três poços de captação em profundidade situados no areal de Lever (Figura 3) e duas estações elevatórias que lhes estão associadas. Inclui ainda um laboratório, onde são realizadas análises microbiológicas e físico-químicas, de controlo de qualidade da água produzida e distribuída pelo sistema da AdDP [16, 17].



Figura 3 - Fotos da construção dos poços de captação (1985).

### 1.3.2. Descrição do processo de tratamento de águas na ETA de Lever

A ETA de Lever utiliza as mais modernas tecnologias no processo de tratamento de água e é considerada das melhores estruturas do género na Europa, possuindo uma capacidade atual de produção que ronda os 400 000m<sup>3</sup>/dia [15].

#### CAPTAÇÃO

No Complexo de Lever existem dois tipos de captação de água bruta, água superficial e água de profundidade. A água de profundidade é utilizada desde o início da história de captação neste local, sendo a água proveniente desta origem de maior qualidade, não necessitando de tratamentos complexos e dispendiosos a contrário da água superficial cuja qualidade levou à necessidade de construção de uma ETA para o seu tratamento.

A água de profundidade é de elevada importância no volume de abastecimento de água da AdDP, devido à grande quantidade e ao baixo custo desta matriz, representando em média, nos meses de menor consumo, cerca de 80-90% do volume total fornecido pelo complexo de Lever. No entanto, este volume não é suficiente para colmatar as necessidades nos meses de maior consumo (verão), tornando-se necessário o aumento de volume de água captada superficialmente.

A água superficial é captada na albufeira de Crestuma-Lever por grupos de elevação submersíveis (Figura 4) e encaminhada para um reservatório de água bruta (Figura 5). A cota

da superfície da água neste reservatório é suficiente para permitir que todo o escoamento de água seja gravítico até ao final do processo [16].

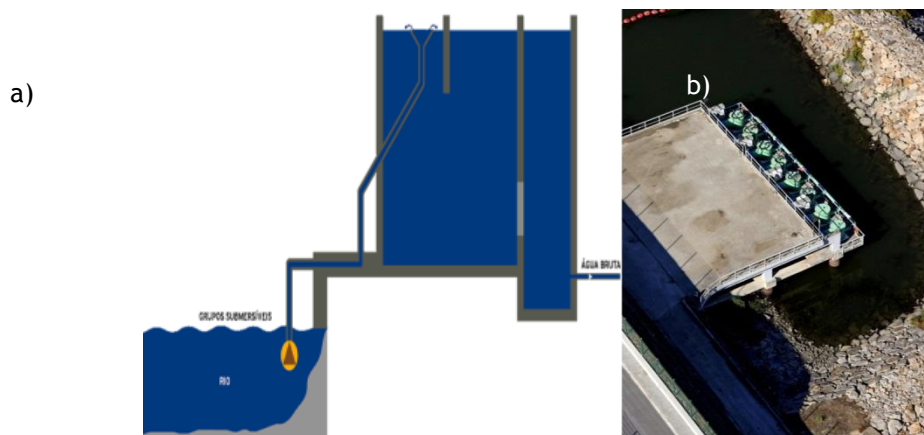


Figura 4 - Grupos de elevação de superfície. a) Esquema de funcionamento dos grupos elevatórios; b) fotografia aérea dos grupos de elevação.

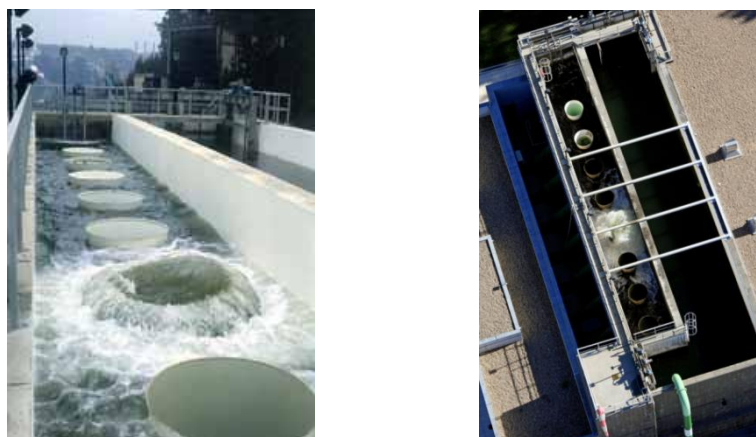


Figura 5 - Reservatório de água bruta.

A água subterrânea é captada no subleito do rio, em 3 poços de captação em profundidade (sub-aluvionares) é filtrada naturalmente, em leitos de areia (Figura 6), e apresenta uma elevada qualidade. O seu tratamento consiste essencialmente na desinfecção.

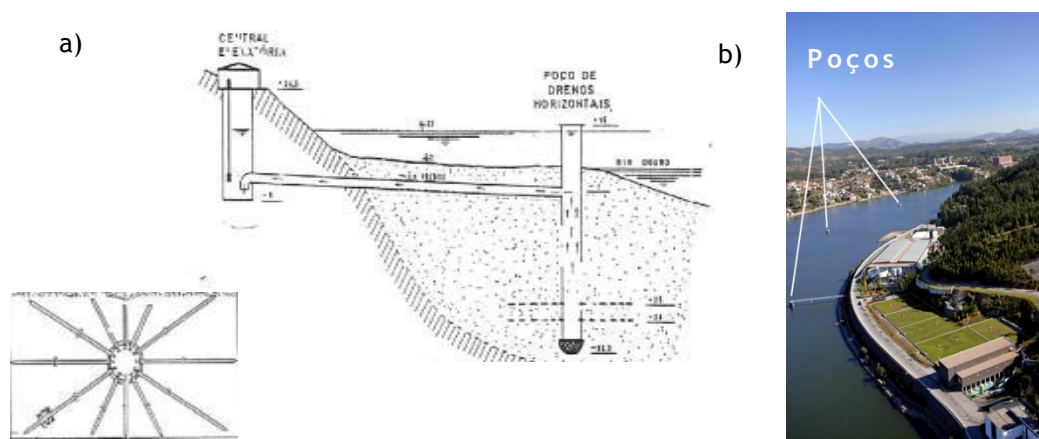


Figura 6- Poços de Captação em profundidade. a) Esquema da captação; b) Fotografia aérea dos Poços de Captação no rio Douro.

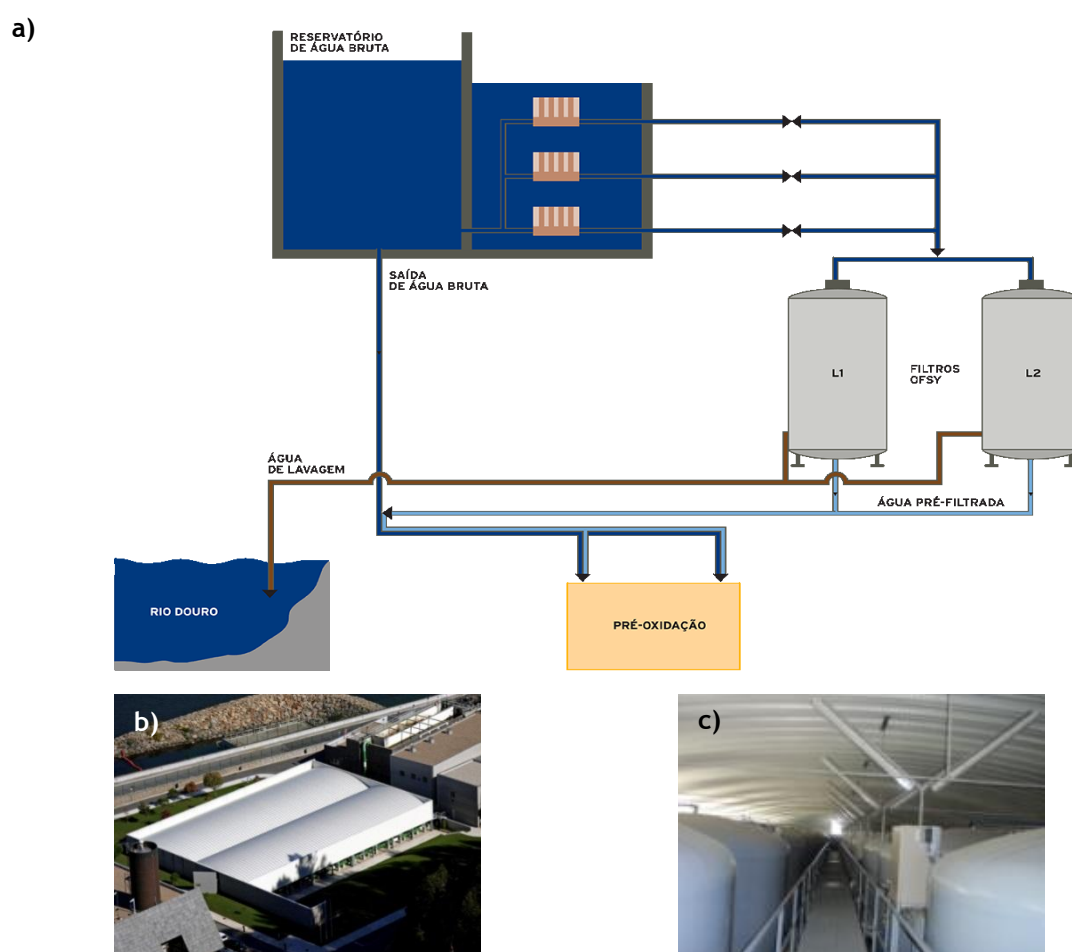


## PRÉ-TRATAMENTO

O pré-tratamento pode receber água de captação superficial ou subterrânea, conforme seja necessário para garantir os requisitos da água distribuída.

Esta fase, do processo de tratamento, foi criada devido à necessidade de normalizar os níveis de turvação da água captada. A turvação varia muito ao longo do ano e por vezes atinge níveis elevados que a ETA não consegue normalizar.

Esta etapa consiste numa filtração pressurizada, passando no sentido descendente por filtros “multicamada”, compostos por uma camada de antracite e por várias camadas de areia, de diferente granulometria (Figura 7a). Ao ser filtrada por este processo, a água beneficia de uma forte redução da sua turvação e teor de Manganês.



## PRÉ-OXIDAÇÃO

Pré-oxidação é a primeira etapa do tratamento da ETA. Nesta primeira etapa, a água captada é tratada com ozônio (Figura 8). Este produto oxida a matéria orgânica e elimina microrganismos e algas existentes na água. O ozônio é produzido no local, a partir de oxigênio.

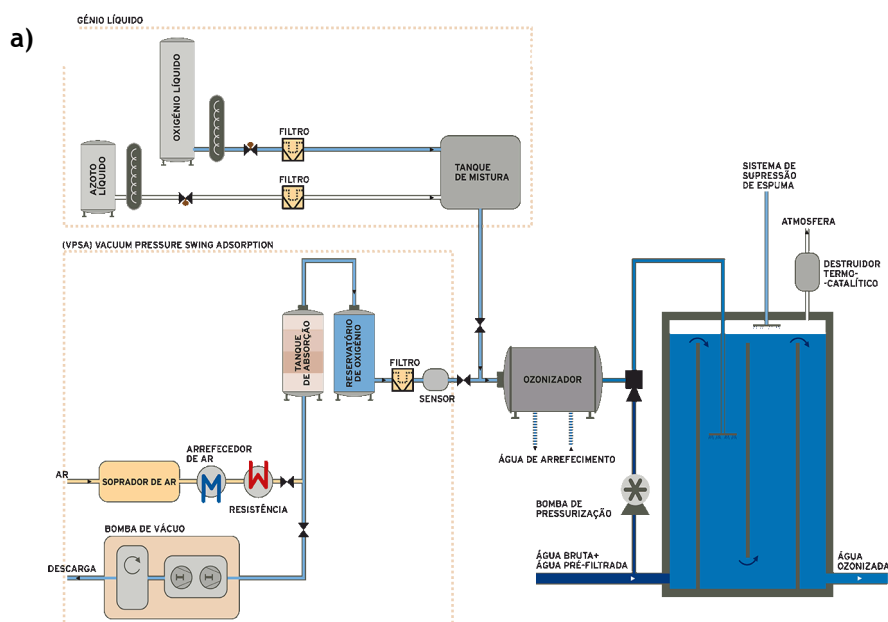
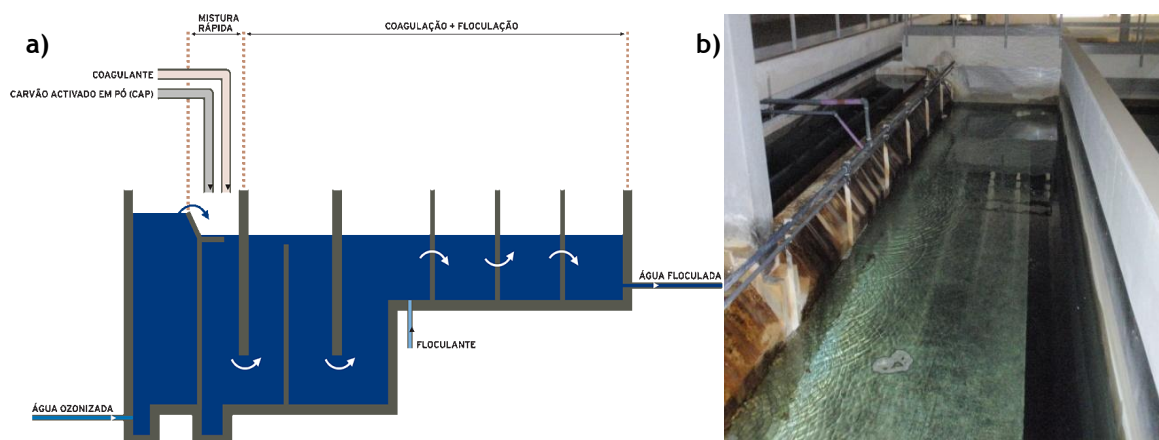


Figura 8- Pré-oxidação a) Esquema de funcionamento da pré-oxidação; b) Fotografia dos reatores.

## FLOCULAÇÃO

Após a pré-oxidação, a água é doseada com sulfato de alumínio (Figura 9) conjuntamente com um floculante. A adição destes reagentes permite a agregação das partículas em suspensão, facilitando a sua separação nas etapas de tratamento subsequente. Graças ao perfil hidráulico

da instalação, a mistura destes produtos com a água é conseguida sem recorrer a misturadores mecânicos, otimizando a eficiência processual e reduzindo custos energéticos.



**Figura 9-** Floculação. a) Esquema de funcionamento da floculação; b) Fotografia do tanque de floculação.

#### TRATAMENTO POR DOSEAMENTO DE CARVÃO ATIVADO EM PÓ

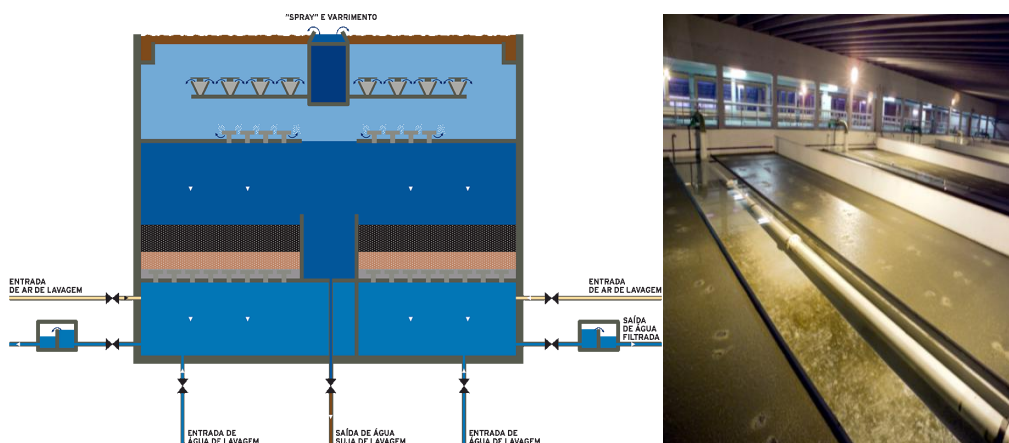
Para remover eventuais pesticidas e melhorar as características organolépticas da água, é possível o doseamento de carvão ativado em pó (Figura 10), juntamente com os reagentes floculantes.



**Figura 10-**Reservatório de carvão ativado.

## COCODAFF (FLOTAÇÃO E FILTRAÇÃO)

O processo CoCoDAFF (Counter Current Dissolved Air Flotation and Filtration) (Figura 11) conjuga numa só unidade duas etapas de tratamento: flotação e filtração. Na primeira, os flocos formados na etapa da floculação são arrastados para a superfície por microbolhas de ar introduzidas na unidade. Na segunda etapa a água clarificada entra diretamente no filtro, constituído por areia e antracite, onde as partículas sólidas mais pequenas, que não tenham sido separadas na flotação, são capturadas. Esta tecnologia permite a remoção eficaz de substâncias pouco densas, nomeadamente algas.



**Figura 11-** CoCoDAFF. a)Esquema de funcionamento dos tanques de coagulação e flotação; b) Fotografia dos tanques de CoCoDAFF.

## DESINFEÇÃO FINAL

É efetuada uma desinfecção final com cloro (Figura 12), de modo a garantir a qualidade microbiológica da água produzida, quer à saída da estação, quer ao longo de toda a rede de distribuição. É nesta fase que é misturada a água proveniente da captação em profundidade, que poderá ter passado, ou não, pelo pré-tratamento.



**Figura 12-** Clorímetros.

## ARMAZENAMENTO E ELEVAÇÃO DE ÁGUA TRATADA

A água tratada é armazenada num reservatório com capacidade para 30000 m<sup>3</sup> (Figura 13b), sendo depois elevada para os Reservatórios de Jovim, Lagoa e Seixo Alvo.



**Figura 13-** Elevação e Armazenamento de água tratada. a) Bombas elevatórias; b) Reservatório subterrâneo de água tratada.

## TRATAMENTO DE LAMAS

As águas de lavagem dos filtros e as lamas recolhidas à superfície do CoCoDAFF são dirigidas para a Unidade de Tratamento de Lamas (Figura 14), onde serão desidratadas. Este processo é realizado em duas etapas, espessamento e centrifugação.

A água recuperada durante este processo é reencaminhada para o reservatório de água bruta, ou seja, para o início do processo de tratamento de água.



**Figura 14-** Unidade de Tratamento de Lamas

## CONTROLO DE QUALIDADE

Ao longo da Estação de Tratamento existem vários pontos de amostragem e de análise automática de diversos parâmetros da qualidade da água. Estes analisadores permitem uma monitorização constante da eficiência do processo e do controlo de qualidade da água produzida (Figura 15).



Figura 15- Monitorização on-line.

#### 1.4. Qualidade microbiológica de água de consumo

Nas últimas décadas, tem surgido um aumento de interesse, na relação entre novas bactérias patogênicas e a sua ocorrência natural na água. Estes microrganismos são definidos como patogênicos emergentes. Na maioria dos casos, os organismos indicadores, apesar da sua capacidade de indicarem a presença de bactérias patogênicas entéricas, não se relacionam com todos os patogênicos emergentes. Não existem, atualmente, indicadores adequados para a maioria destes patogênicos bacterianos [10].

Fatores físico-químicos referentes à qualidade da água têm relação direta com a contaminação microbiana. Por exemplo, o teor de Carbono Orgânico Total (COT) pode estar relacionado com o crescimento microbiano e com o desenvolvimento de biofilmes nas paredes das condutas e reservatórios dos sistemas de distribuição de água [18, 19].

As bactérias patogênicas que podem ser transmitidas através da água potável contaminada, são diferentes em características, comportamento e resistência [2].

##### 1.4.1. *Staphylococcus* spp. em águas de consumo

*Estafilococos* são bactérias ubíquas referidas como parte da microbiota normal do ar, água, solo, seres humanos e outros animais e ainda de produtos processados como o queijo ou enchidos (20) (21). A sua estrutura celular de cocos Gram-positivos é responsável por uma alta tolerância à desidratação, secura e baixa atividade da água, e explica, em parte, a sua ampla distribuição e persistência no ambiente [20].

O género *Estafilococos* é composto atualmente por 35 espécies, 17 das quais podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. São cocos gram-positivos, com 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, ocorrem isolados, em pares, em tétradas, em pequenas cadeias ou em agrupamentos irregulares que lembram cachos de uvas, são imóveis, não formam esporos, são geralmente catalase-positivos, e tipicamente não encapsulados ou com limitada formação de cápsulas [22].

A maioria das espécies são catalase-negativa, não formam gases a partir de carboidratos e são anaeróbias facultativas (exceto *Staphylococcus saccharolyticus* e *S. aureus* subsp. *Anaerobius* que são anaeróbios estritos) [22].

No género *Estafilococos*, a espécie *Staphylococcus aureus*, coagulase-positiva e produtora de uma série de outras enzimas e toxinas, é a mais conhecida, e frequentemente implicada na etiologia de uma série de infeções e intoxicações no homem e nos animais, enquanto os *Estafilococos* coagulase-negativa (Ecn) têm sido considerados saprófitas ou raramente patogênicos [23].

Contudo, durante a última década, consideráveis progressos na classificação sistemática dos *Estafilococos* e no desenvolvimento de métodos para a identificação do género, espécies e subespécies têm permitido aos clínicos detetarem uma grande variedade de Ecn presentes

em amostras clínicas e, assim, os considerarem como possíveis agentes etiológicos de uma série de processos infecciosos [24, 25].

Como muitas outras bactérias ubíquas, alguns Ecn podem comportar-se como agentes patogênicos oportunistas, muitas vezes introduzidos por dispositivos médicos ou colonizadores de feridas expostas. Devido à intensificação de práticas médicas invasivas e números crescentes de imunodeficiência, o risco de infecção por Ecn tem aumentado durante os últimos anos. Assim, dadas as suas formas de transmissão, Ecn são contaminantes altamente indesejáveis do ambiente clínico (exemplo: ar, água, biofilmes). Além disso, durante as últimas décadas tem-se verificado uma “escalada” na resistência a antibióticos destas bactérias o que pode agravar os riscos a elas associados, nomeadamente a afetação do sistema nervoso central [26, 27].

#### 1.4.2. Histórico de *Staphylococcus* spp. na AdDP

Como referido anteriormente, a pesquisa de bactérias do género *Estafilococos* não consta na legislação da qualidade da água atualmente em vigor, o Dec. Lei 306/2007, no entanto a AdDP efetua a sua pesquisa no âmbito do controlo operacional.

Ao longo do tempo foi sendo registado o aparecimento de colónias atípicas em meio de isolamento para *Enterococos*. Foram efetuadas várias campanhas analíticas e realizada a identificação das estirpes (através de testes bioquímicos de identificação e análise de ácidos gordos), identificação esta não conclusiva a nível da espécie, no entanto, determinou o género das bactérias, sendo os organismos relacionados com o género de *Estafilococos* ou *Aerococos*.

Atualmente, a pesquisa e quantificação de *Estafilococos* produtores e não produtores de coagulase encontra-se implementada na rotina do Laboratório da AdDP, sendo um dos parâmetros acreditados, acompanhado de identificação ao nível da espécie sempre que necessário.

#### 1.5. Objetivo do trabalho

O presente estudo tem como objetivo verificar se existe algum fator ambiental, meteorológico (temperatura atmosférica e precipitação) ou físico-químico (carbono orgânico total, alcalinidade, condutividade a 25°C, turvação, temperatura da água) que permita prever o aparecimento deste tipo de bactérias.



## Capítulo 2

### 2. Materiais e Métodos

#### 2.1 Caracterização da população microbiana dos Poços de Captação e do Poço Coletor

Durante o mês de março de 2012 foi efetuada uma campanha de amostragem nos Poços de Captação sub-aluvionares (Montante 1 e Montante 2, o poço a jusante não se encontra em utilização), com o objetivo de caracterizar a sua flora microbiana a diferentes profundidades. Durante este período, foi também realizada a caracterização do Poço Coletor, que mistura a água proveniente dos poços 1 e 2, a qual se manteve para o parâmetro em estudo até ao mês de maio.

##### 2.1.1. Colheita em profundidade

###### 2.1.1.1 MATERIAL

O material utilizado incluiu: amostrador, corda, peso, roldana, mala térmica para transporte de amostras, frascos de colheita esterilizados (devidamente identificados), acumuladores refrigerados, luvas, frascos com Água estéril.



Figura 16- Material de colheita.

### 2.1.1.2 MÉTODO DE COLHEITA

#### 1 - Abertura do amostrador (Figura 17)

A tampa superior (1) é colocada em posição pelo cabo (2) que atravessa a pega (3) e o seu laço é colocado na fenda (4). Pressionando com um dedo o bloco de libertação (5) o parafuso existente na fenda é libertado, e o laço colocado sobre o parafuso. Quando deixamos de pressionar o bloco, a haste retorna à posição inicial e o cabo fica preso.

A tampa inferior (6) é colocada na posição de abertura e o gancho de engate na extremidade do cabo e preso ao outro cabo.

Atenção: O gancho não deverá ser preso ao laço situado na extremidade do cabo da parte superior (2), deverá ficar preso depois da esfera de plástico existente no cabo.

#### 2 - Fixação ao cabo

O amostrador deverá ser preso a um cabo. Par tal desapertar as porcas de orelhas (7), de forma a colocar o cabo no dispositivo guia. Apertar as duas porcas sem utilizar ferramentas.

O parafuso superior de ventilação deve ser fechado.

É necessário colocar um peso na extremidade inferior do equipamento para que o amostrador seja posicionado na vertical.

#### 3 - Descida do amostrador (Figura 18)

Manualmente ou com auxílio de uma roldana fazer descer o amostrador seguro pela corda.



Figura 18- Descida do amostrador.

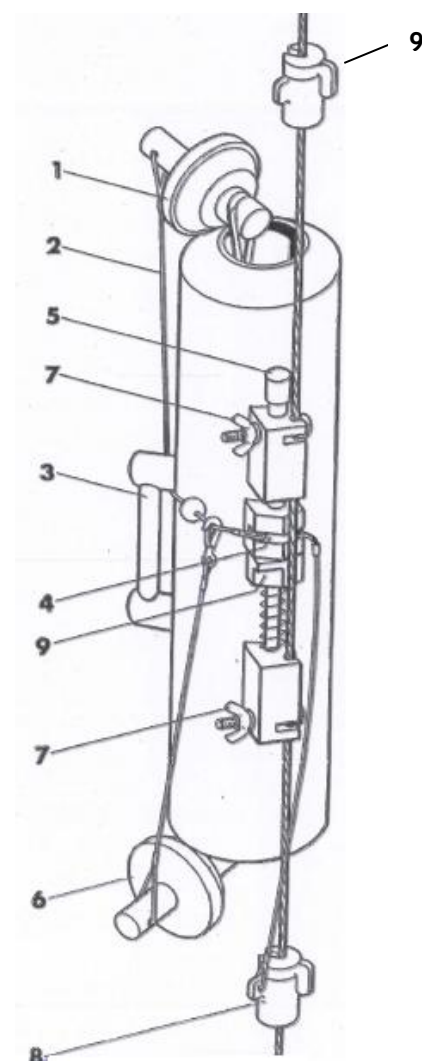


Figura 17- Amostrador.

4 - Recolha da amostra

Após atingida a profundidade desejada, colocar o emissário (9) na corda de suspensão solta-lo. Este ao bater no bloco de libertação (5) fará com que o laço colocado na fenda seja libertado levando ao fecho das tampas (1 e 6).

Puxar o amostrador para a superfície (Figura 19).



Figura 19- Amostrador a subir.

5 - Transferência da amostra (Figura 20)

Com o amostrador posicionado na vertical abrir o parafuso superior de ventilação e a torneira de drenagem inferior e proceder à transferência da amostra para o recipiente de colheita.



Figura 20- Transferência da amostra.

## 2.1.2 Caracterização microbiológica

### 2.1.2.1 MÉTODOS DE FILTRAÇÃO POR MEMBRANA - PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO

A toma de ensaio selecionada foi passada através de uma membrana (poros 0,25 µm), a qual retém os microrganismos procurados. A membrana foi então colocada num meio de agar, específico para cada um dos microrganismos. As placas foram incubadas à temperatura e condições ideais para o microrganismo pesquisado. Após crescimento das colónias realizaram-se os passos para confirmação dos diferentes microrganismos (Anexo A). Na incubação, as colónias formam-se na superfície da membrana [28].

Os parâmetros microbiológicos analisados por filtração em membrana estão indicados na tabela 3.

**Tabela 3-** Métodos de ensaio para determinação dos parâmetros microbiológicos por filtração em membrana [40, 37, 38, 39, 35, 36].

Parâmetro	Método de ensaio	Anexo
<i>Estafilococos</i>	NP 4343:1998	A-1
<i>Bactérias Coliformes</i>	ISO 9308-1:2000	A-2
<i>Escherichia coli</i>	ISO 9308-1:2000	A-2
<i>Clostridium perfringens</i>	Blue book 230- part 6:2010	A-3
<i>Enterococos fecais</i>	ISO 7899-2:2000	A-4
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	EN ISO 16266:2008	A-5
<i>Salmonella</i>	ISO 19250:2010	A-6

### 2.1.2.2 MÉTODOS POR INCORPORAÇÃO

A toma de ensaio misturou-se com um meio nutritivo de Agar, previamente derretido e arrefecido a uma temperatura próxima à de solidificação e, após a incubação, contaram-se as colónias que se desenvolveram dentro e na superfície do meio [28].

**Tabela 4-** Métodos de ensaio para determinação dos parâmetros microbiológicos por incorporação [34].

Parâmetro	Método de ensaio	Anexo
Colónias a 22°C	ISO 6222:1999	A-7
Colónias a 37°C	ISO 6222:1999	A-7

### 2.1.2.3 MÉTODO DE IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA DE BACTÉRIAS

A identificação de bactérias isoladas de amostras de água foi realizada através de testes miniaturizados.

Os substratos desidratados existentes em cada poço foram reconstituídos com uma suspensão do organismo a identificar. Se os substratos individuais forem metabolizados pelo organismo,

ocorrerá uma alteração de cor durante a incubação ou após a adição de um reagente específico.

Para a identificação de *Staphylococcus spp* foi usado o teste MICROGEN® STAF-ID que inclui uma Galeria Microgen® Staph ID - MID69A, meio líquido para suspensão - MID 69B, óleo mineral, PYR, Reagente Nitrato A e Reagente Nitrato B.

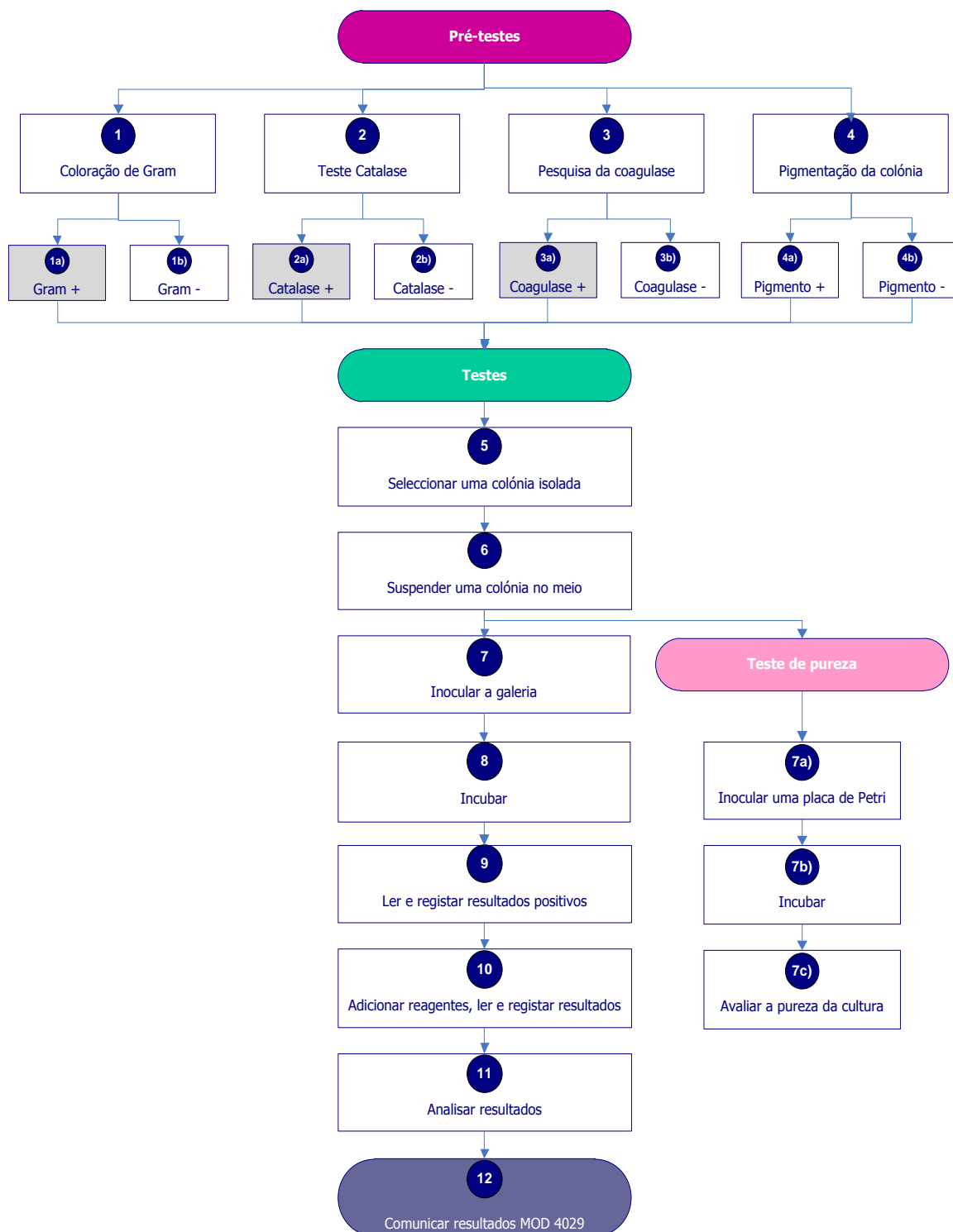
Nos isolados foram realizados os seguintes pré-testes: Gram, Catalase e Coagulase e a pigmentação da colônia foi registrada. Seguidamente, 1-2 colônias foram inoculadas no meio de suspensão, a suspensão foi inoculada na galeria de teste de 12 poços e incubada a  $36\pm 1$  °C. Após  $21\pm 3$  horas de incubação foram adicionados os reagentes de Nitrato e PYR e as tiras foram lidas, tendo sido gerado um código de 5 dígitos, o qual foi inserido no software e efetuada a identificação.

Para evitar interferências é fundamental garantir a utilização de culturas puras na realização dos testes. A incubação incorreta, enchimento inadequado dos poços, ou densidade inadequada do inóculo podem dar origem a falsos resultados.

Descrição Geral do Método Analítico MICROGEN®

IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA DE *STAPHYLOCOCCUS*

Para a identificação de *Staphylococcus*, procedeu-se de acordo com as tarefas descritas no diagrama seguinte:



## Pré-testes

Os pré-testes têm como objetivo a confirmação de que o isolado pertence ao gênero *Staphylococcus*.

Os testes referidos nos pontos 1, 2 e 3, descritos no diagrama anterior, foram efetuados de acordo com a metodologia referida na Pesquisa e quantificação de Estafilococos (Anexo A-1).

No teste 4 do diagrama anterior foi registrada a existência de produção de pigmento.

**Nota 1:** Caso os isolados fossem provenientes da análise descrita no Anexo A-1, não existia a necessidade de repetir os pré-testes, bastando avaliar a produção de pigmento.

## Testes

Para a realização dos testes de identificação realizaram-se os seguintes procedimentos:

### 5 - SELECIONAR UMA COLÔNIA ISOLADA



Figura 21- Seleção de colônia para identificação.

A partir de uma cultura pura com 18-24h, selecionou-se uma colônia bem isolada para ser identificada (Figura 21).

### 6 - SUSPENDER UMA COLÔNIA NO MEIO



Figura 22- Emulsão da colônia no meio MID 69B.

Emulsionou-se a colônia no meio MID 69B, fornecido juntamente com a galeria (Figura 22).

Agitou-se vigorosamente.

## 7 - INOCULAR A GALERIA



Figura 23- Inoculação da galeria.

Cuidadosamente retirou-se a película adesiva que sela a galeria.

Utilizando uma pipeta de Pasteur ou uma Micropipeta, adicionaram-se 3 a 4 gotas ( $.100\mu\text{L}$ ) da suspensão a cada poço da galeria e encheram-se com 3-4 gotas de óleo mineral os poços indicados (10 e 11): Urease (URE) e Arginina (ARG) (Figura 23). Nota 2: Estes poços encontravam-se assinalados com um círculo negro. Selou-se a galeria com a fita adesiva.

Em paralelo efetuaram-se as tarefas relativas aos testes de pureza descritas nos pontos 7a), 7b) e 7c).

### TESTES DE PUREZA

#### 7 a) Inocular uma placa de Petri

Transferiu-se uma gota da suspensão inicial para uma placa de Petri contendo um meio não seletivo diferencial.

Efetuuou-se espalhamento com ansa.

#### 7 b) Incubar

Incubaram-se as placas aerobicamente a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $21 \pm 3\text{h}$ .

#### 7 c) Avaliar a pureza da cultura

Foi avaliada a pureza da cultura por observação da sua morfologia.

Consideraram-se apenas os resultados obtidos a partir de isolados cuja pureza tivesse sido confirmada.

## 8 - INCUBAR

Incubaram-se as galerias a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $21 \pm 3\text{h}$ .

## 9 - LER E REGISTRAR RESULTADOS POSITIVOS

Removeu-se a fita adesiva e registaram-se todas as reações positivas de 1 a 11, com auxílio da Tabela de Referência.


























Poco	1 a 6	7	8	9	9a	10	11	12
Reacção	Fermentação carboidratos	PHS	βGL	βGN	(βGN) Nitrato	Urease	Arginina	PYR
Negativa								 
Positiva	 	 	 	 	 	 	 	 

Figura 24- Tabela de referência

Registaram-se os resultados no modelo do fornecedor (Figura 25), completando o código octal.

Cada substrato encontrava-se assinalado com um valor numérico (1, 2 ou 4). A soma das reações positivas em cada triplete deu origem a um único dígito do código octal o foi utilizado para determinar a identidade do isolado.

MICROGEN STAPHYLOCOCCUS-ID 12 TEST  
REPORT FORM

Lab. No. Poco Coletor      Specimen Type: Superficio      Date: 03/05/12

Well No.	Staphylococcus ID														
	LAT	CPG	MT	SUC	TRE	MAN	NAG	MNS	TUR	PHO	βGL	βGN (NIT)	MSE	ARG	PYR
24 hours	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions	1			7			4			3			0		
Profile No.:	Final Identification: <u>Staph. Ubreri</u>														

Figura 25- Modelo MICROGEN para registo dos resultados.

## 10 - ADICIONAR REAGENTES, LER E REGISTRAR RESULTADOS



Figura 26- Adição de reagentes.

Adicionaram-se aos poços indicados os reagentes (Figura 26):

**Poço PYR (12)** - Adicionou-se 1 gota do reagente PYR e efetuou-se a leitura passado 10 minutos. A formação de coloração rosa/vermelho indicava resultado positivo.

**Poço  $\beta$ GN - NIT (9)** - Após efetuar a leitura do poço 9 para a reação da  $\beta$  Glucuronidase, adicionou-se a este poço 1 gota do reagente Nitrato A e 1 gota do reagente Nitrato B e efetuou-se nova leitura passado 60 segundos. O desenvolvimento de coloração vermelha indicava que o Nitrato foi reduzido a Nitrito.

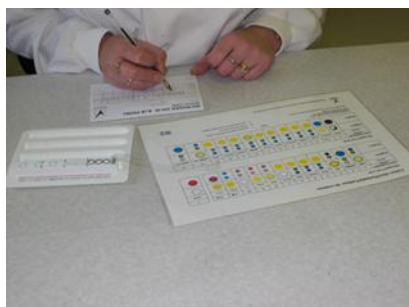


Figura 27- Interpretação e registo de resultados

Interpretaram-se os resultados utilizando como guia a Tabela de Referência (Figura 24).

Registaram-se os resultados adicionais no modelo do fornecedor (Figura 25 e 27), em 9a e 12, completando o código octal.

## 2.2 Dados de histórico da qualidade da água

Ao longo de todo o projeto foram reunidos diversos dados relacionados com a qualidade da água do Rio Douro e dos Poços de Captação, da atividade da ETA, e das condições meteorológicas na região do Porto.

### 2.2.1 Dados relativos à Qualidade da Água

Com base os resultados existentes no sistema de gestão de informação do Laboratório (LIMS - Laboratory Information Management System), foi compilado o histórico relativo ao Poço Coletor e ao Rio Douro, selecionados os parâmetros de interesse e estudadas as potenciais relações (Anexo C1).

### 2.2.1 Dados meteorológicos

Tendo a AdDP um contrato de fornecimento de serviços com o Instituto de Meteorologia, sendo diariamente fornecidos por estes dados relativos à precipitação, temperatura mínima e máxima, foram reunidos os dados do histórico, com o objetivo de os relacionar com os parâmetros químicos e microbiológicos da água da Albufeira (Anexo C2).

### 2.2.2 Dados relativos à atividade da ETA

Utilizando os sistemas de registo diário da atividade da ETA, nomeadamente caudais de saída e entrada, foram recolhidos os dados referentes à atividade das bombas no poço coletor no período das colheitas realizadas durante o presente estudo (Anexo C3).



## Capítulo 3

### 3. Tratamento de Resultados

#### 3.1. Caracterização da população microbiana dos Poços de Captação e do Poço Coletor

##### 3.1.1 Poços de Captação



**Figura 28-** Localização dos Poços de Captação e Poço Coletor na Albufeira de Crestuma-Lever.

**Tabela 5-** Características dos Poços de Captação.

	Montante 1	Montante 2
Nível médio da água (m)	33	38
Saída para poço coletor (m)	26	26

Durante o mês de março de 2012 foram realizadas colheitas nos dois Poços de Captação e no Poço Coletor, com o objetivo de caracterizar a população microbiana de cada um dos poços a diferentes profundidades, para averiguar a existência de diferenças significativas nesta população.

Nas tabelas em anexo (Anexo B) encontram-se os resultados dessas análises. O fundo do poço foi considerado o nível zero. Algumas diferenças nas profundidades de colheita devem-se às diferenças do volume de água presente nos poços, níveis estes dependentes do caudal de saída.

### 3.1.1.1 COMPARAÇÃO ENTRE OS POÇOS

Nos gráficos a seguir representados (Gráficos 1, 2 e 3), pode observar-se a caracterização microbiológica dos poços a diferentes profundidades, valores médios da população microbiota.

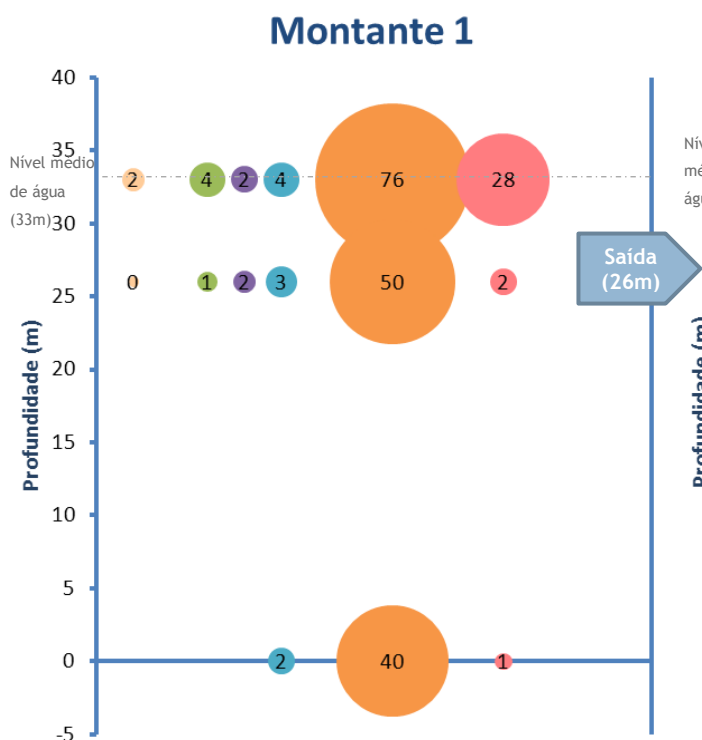


Gráfico 1 - Distribuição média de microrganismos no Poço de Captação Montante 1 (Março 2012)

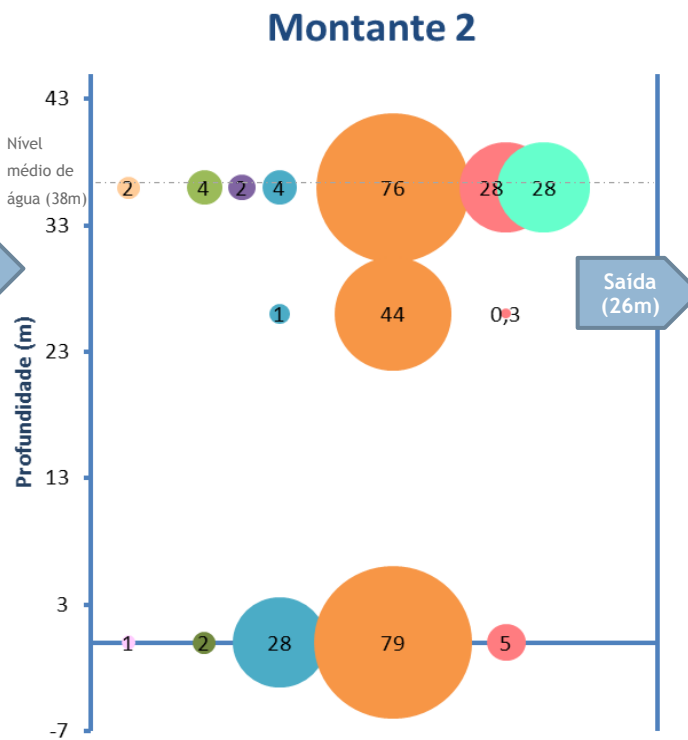


Gráfico 2 - Distribuição média de microrganismos no Poço de Captação Montante 2 (Março 2012)

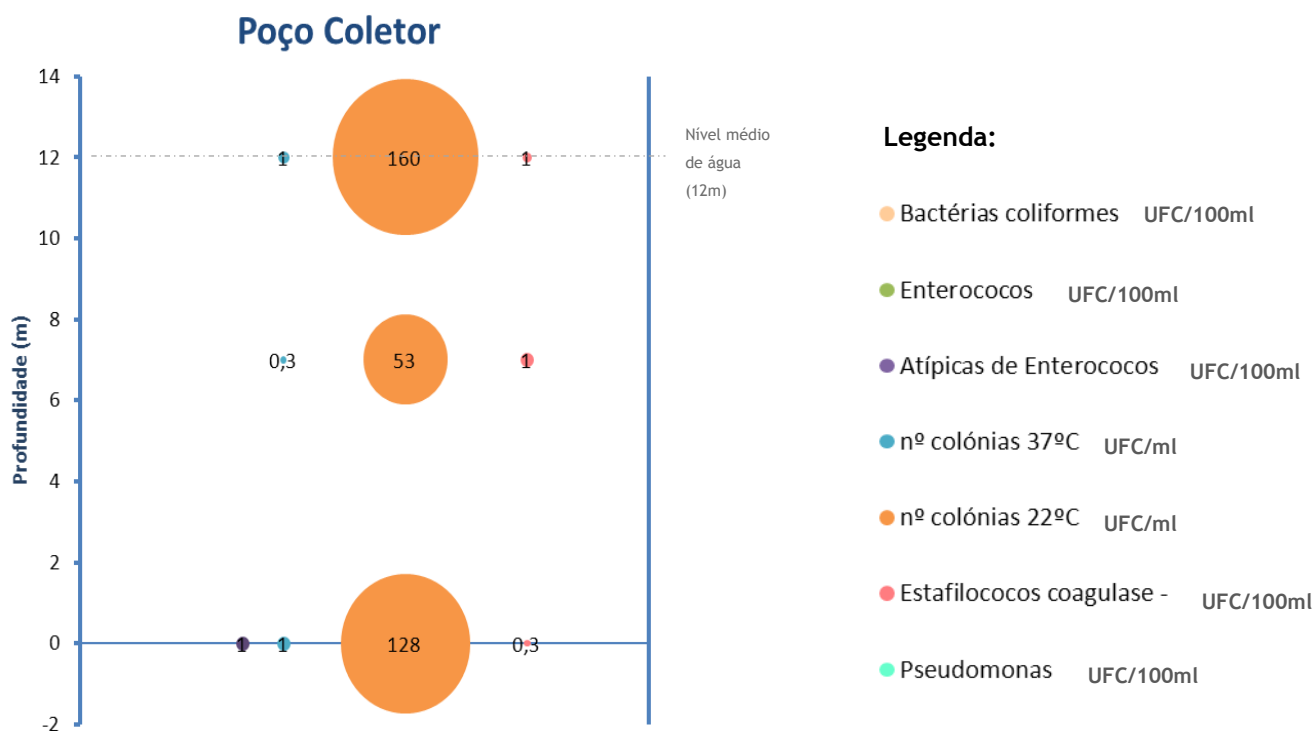


Gráfico 3 - Distribuição média de microrganismos no Poço Coletor (Março 2012)

Os Ecn encontrados foram identificados ao nível da espécie (Gráfico 4).

Valores superiores a 10 UFC/100ml foram assumidos como 10 UFC/100ml, para uma mais fácil visualização (Anexo B - Tabela 4).

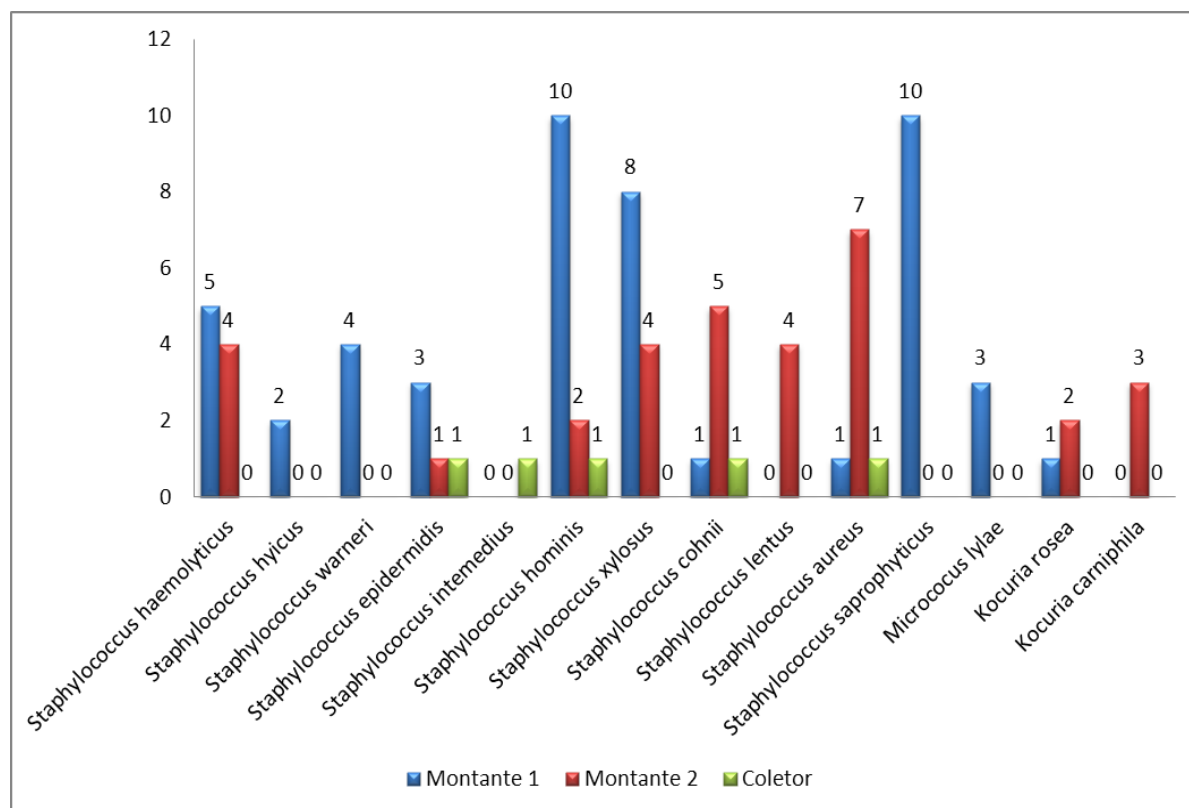


Gráfico 4 - Espécies de Ecn presentes nos diferentes poços.

Seguidamente, prosseguiu-se com a caracterização do Poço Coletor, num período mais alargado, em diferentes profundidades, para os parâmetros de interesse (*Estafilococos*, *Enterococos* e N° de Colónias a 22 e 37°C).

### 3.1.2 Poço Coletor

Sendo o Poço Coletor, tal como o nome indica, coletor da água proveniente dos dois Poços de Captação e o local de onde se retira a água para tratamento na ETA, revelou-se de maior interesse uma caracterização mais exaustiva do Poço Coletor.

Na figura abaixo pode observar-se a estrutura do Poço Coletor, com indicação do local de entrada de água, proveniente dos Poços Montante (Figura 28), do local de saída para uma das condutas (saída 1) e a saída para a outra (saída 2). Cada uma destas saídas possui grupos de bombas diferentes.

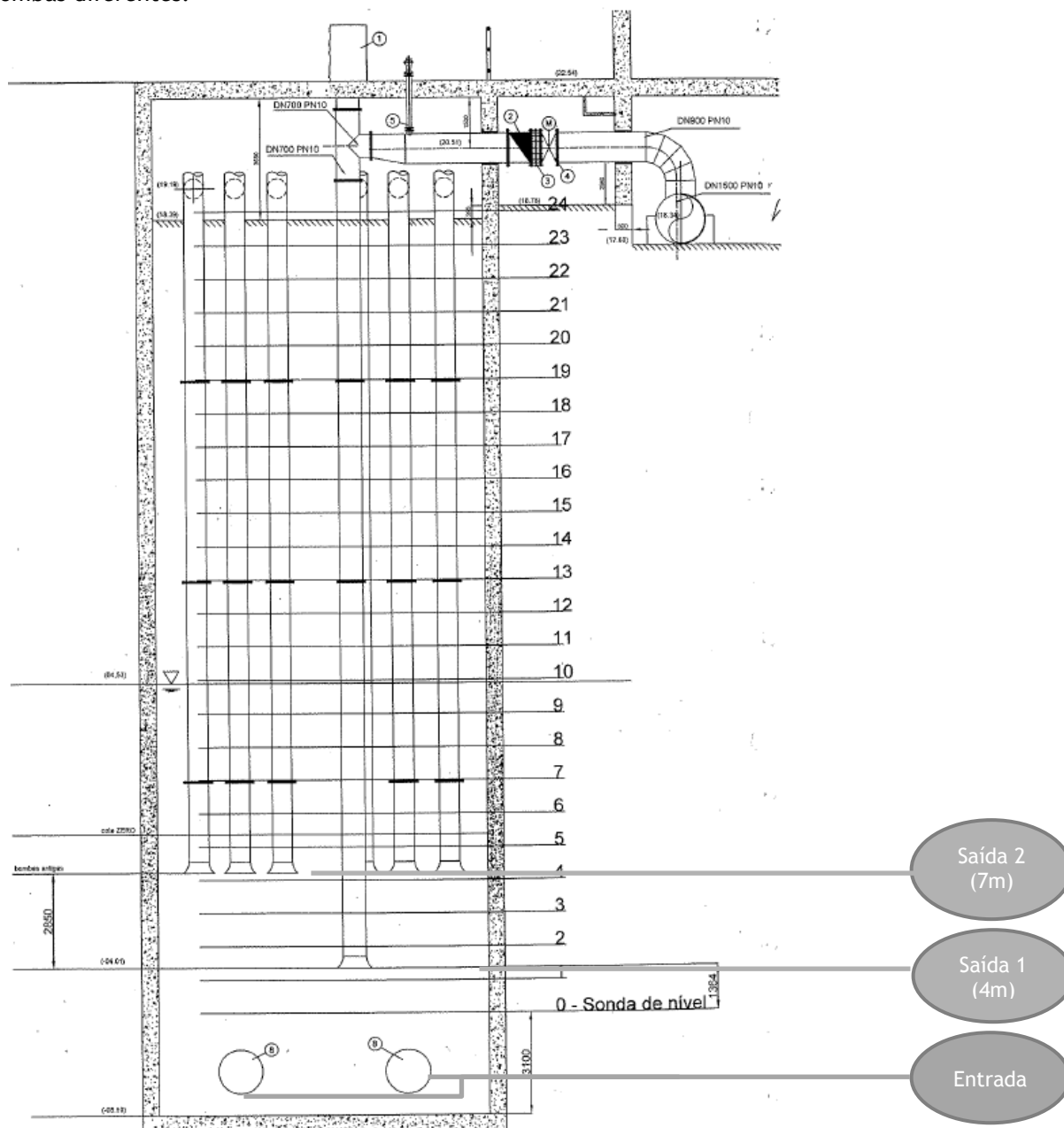


Figura 29- Esquema do Poço Coletor, entrada e saídas de água



A caracterização do Poço Coletor passou por diferentes fases.

1º Colheita no mês de Dezembro de 2011, para uma primeira caracterização, nas diferentes profundidades.

2º Período contínuo de amostragem, entre Março a Maio de 2012

O resultado desta caracterização nos diferentes níveis encontra-se resumido nas Tabelas em Anexo (Anexo B2).

Foi feita uma identificação dos Ecn ao nível da espécie ao longo de todo o período de amostragem (Gráfico 5). Realizou-se uma caracterização quanto à população bacteriana ao longo do período de amostragem e nos diferentes níveis de profundidade do poço (Gráfico 6, 7 e 8).

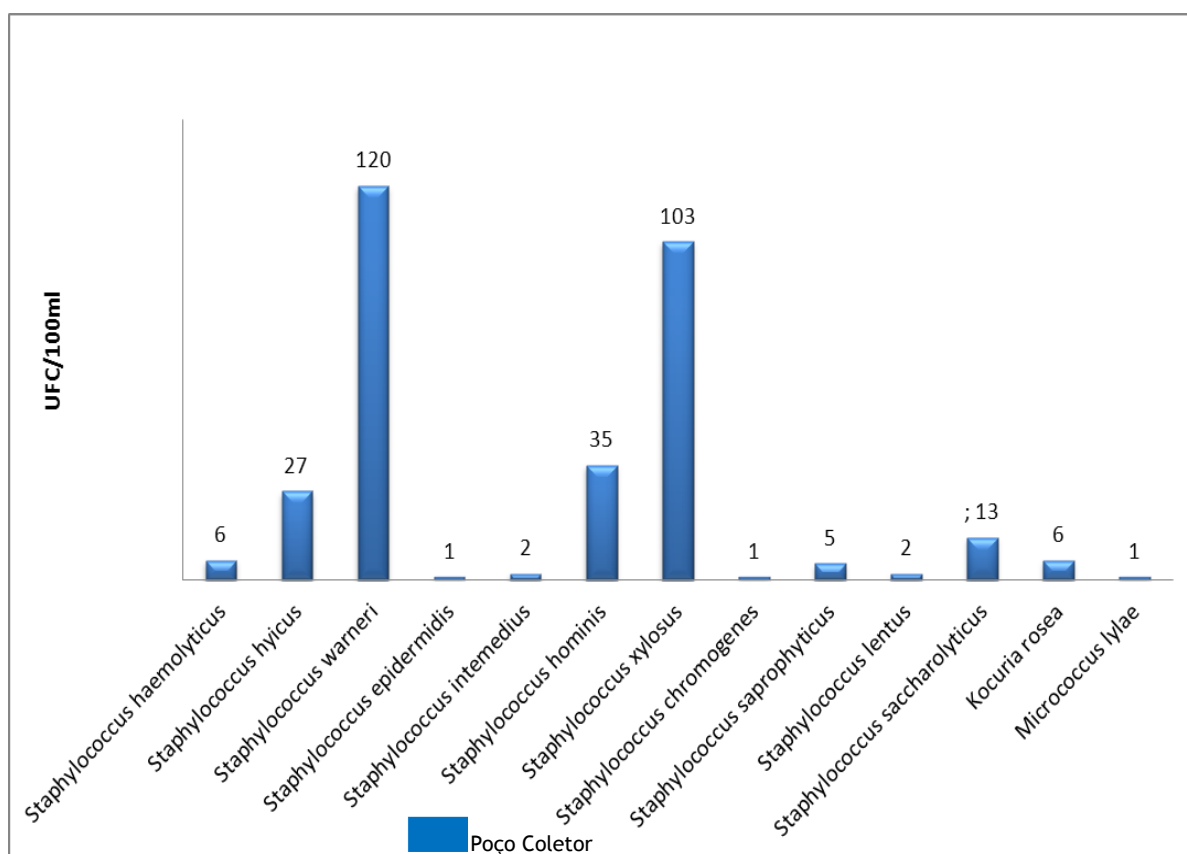


Gráfico 5 - Espécies de Estafilococos coagulase negativa presentes no Poço Coletor, ao longo de todo o período de amostragem.

### 3.1.2.1 COMPARAÇÃO DOS DIFERENTES NÍVEIS DO POÇO COLETOR

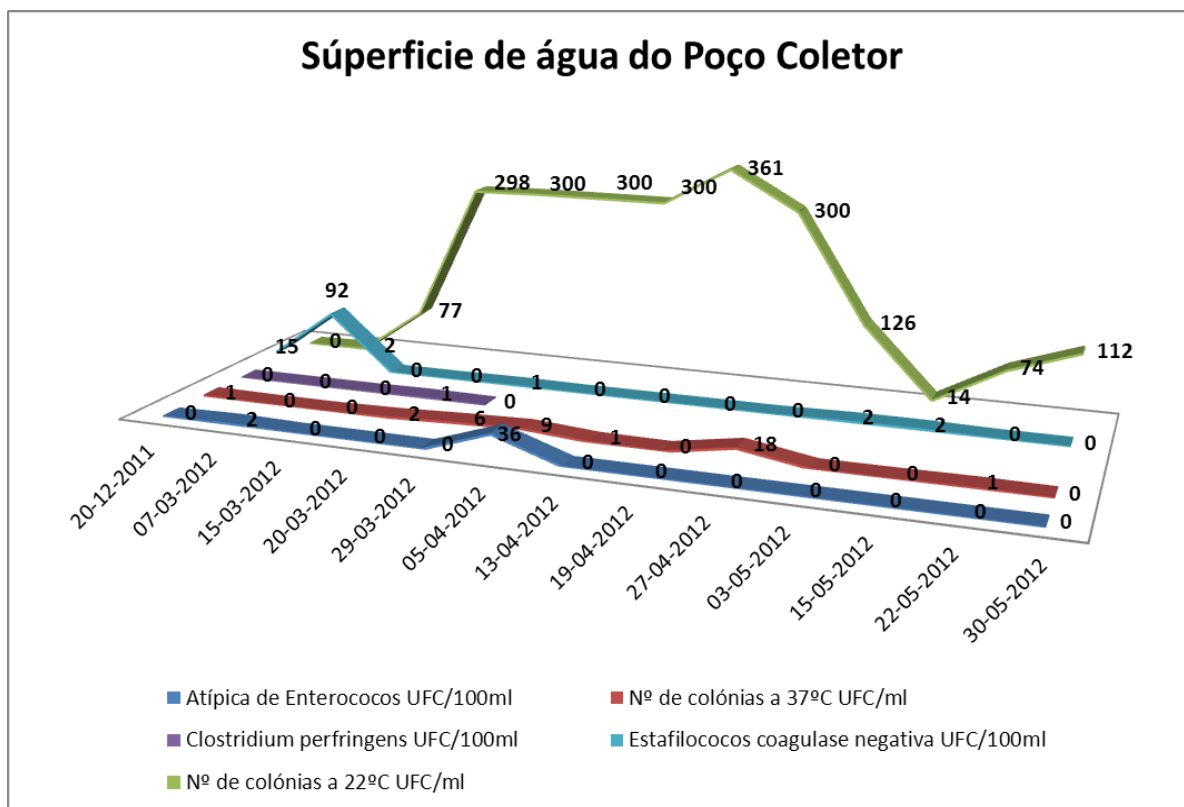


Gráfico 6 - Contaminação microbiológica ao nível da superfície da água do Poço Coletor, ao longo do período de amostragem.

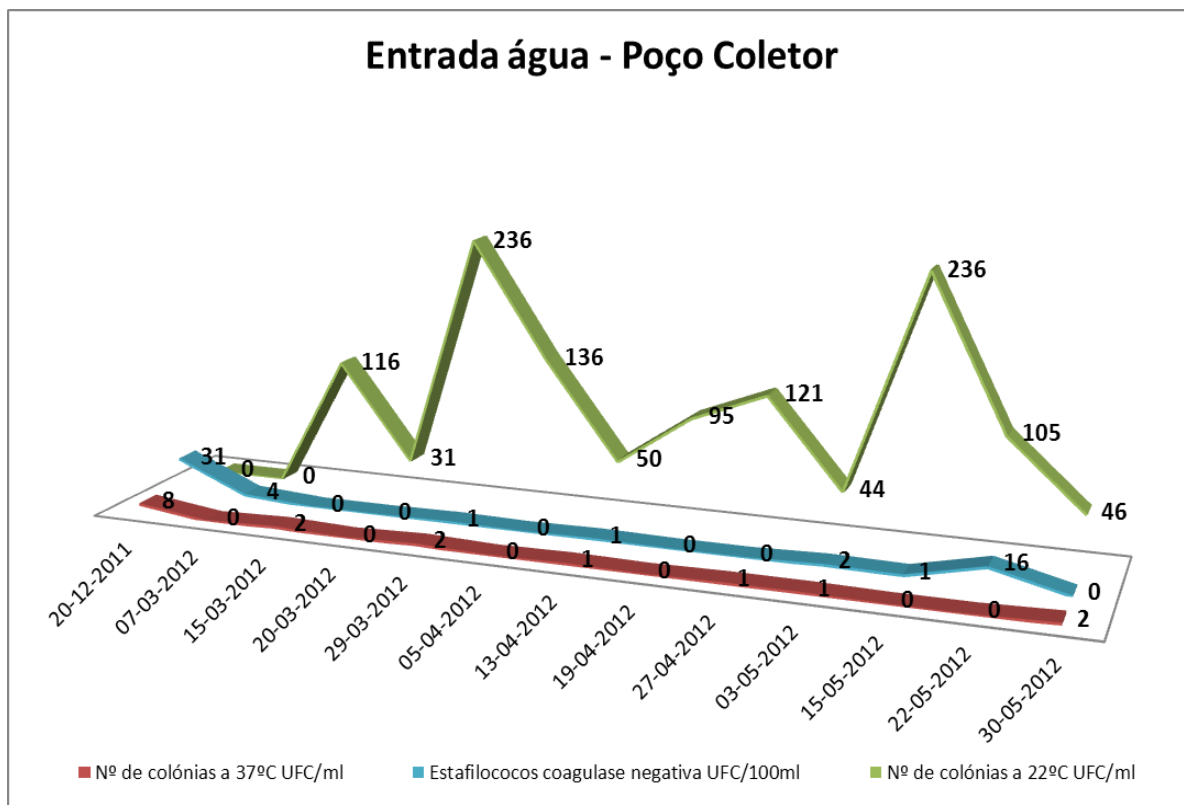


Gráfico 7 - Contaminação microbiológica ao nível da Entrada de água (0m) do Poço Coletor, ao longo do período de amostragem.

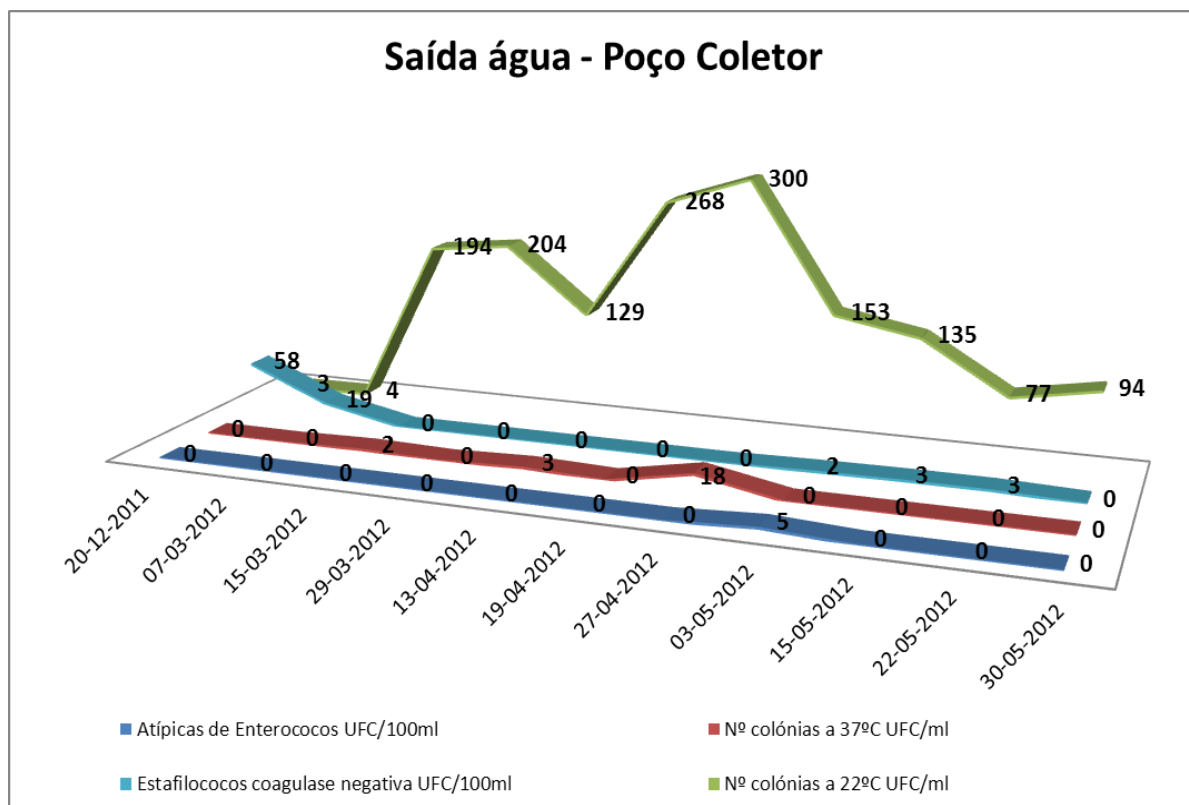


Gráfico 8 - Contaminação microbiológica ao nível da saída de água ( $\pm 7m$ ) do Poço Coletor, ao longo do período de amostragem.

## 3.2 Dados de histórico da qualidade da água

### 3.2.1 Qualidade da água do Poço Coletor e do Rio Douro

Foram compilados os dados existentes no sistema de gestão de informação do laboratório (LIMS) e os dados fornecidos pelo Instituto de Meteorologia (Anexo C), para os dois pontos de amostragem, Rio Douro (captação superficial) e Poço Coletor (captação em profundidade), as origens de água para a ETA de Lever.

Análise dos dados relativos aos Ecn (Gráficos 9 e 10):

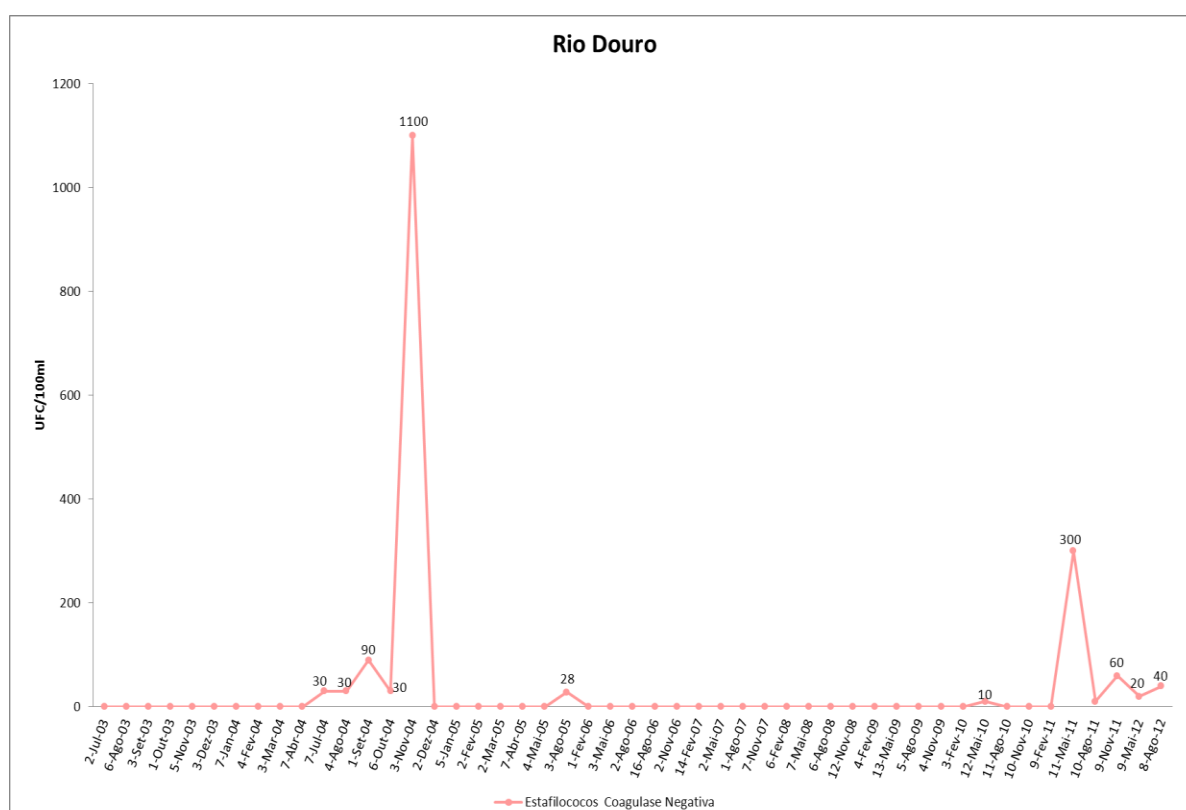
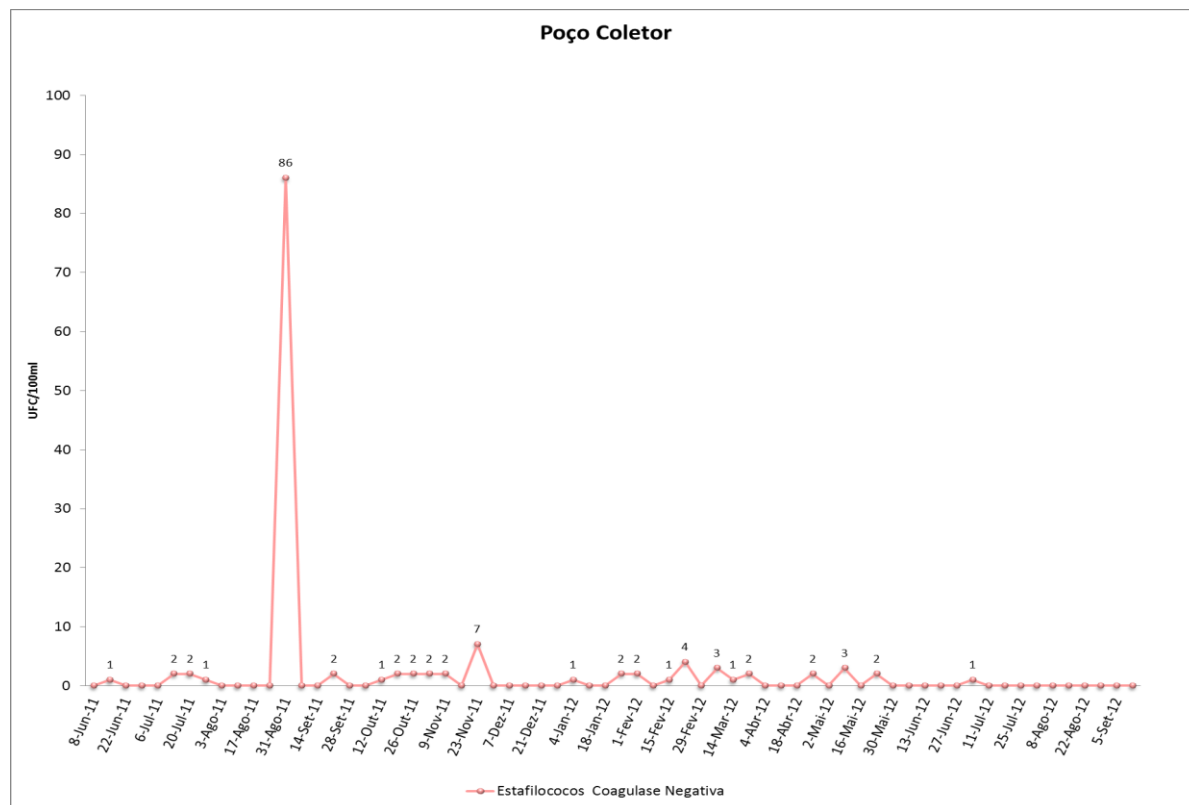


Gráfico 9 - Histórico de Estafilococos coagulase negativa no Rio Douro, 2003-2012.

No Gráfico 9, pode observar-se a ocorrência pontual de Ecn no Rio Douro. Sendo de referir, que este parâmetro é analisado, a partir de 2006, com periodicidade trimestral neste local, facto que limita a quantidade de dados disponíveis para o acompanhamento da ocorrência de surtos destas bactérias (49 valores).

No Gráfico 10, pode observar-se a presença de Ecn no Poço Coletor (66 valores), de forma persistente, apesar de em número reduzido quando comparado com os valores registados no Rio Douro. Este parâmetro neste ponto de amostragem a partir de 2011 passou a ter periodicidade semanal.

Não foi efetuado cruzamento de resultados de ECN do Poço Coletor e no Rio Douro, devido a ausência de dados em datas coincidentes, ou seja, o período de amostragem do Poço Coletor refere-se ao ano de 2011 e 2012, e neste período os dados existentes do Rio Douro são muito reduzidos, uma vez que a periodicidade de análise do parâmetro era trimestral.



**Gráfico 10** - Histórico de Estafilococos coagulase negativa no Poço Coletor, 2011-2012 (nos anos anteriores o parâmetro não era determinado)

De forma a tentar encontrar uma relação com os Ecn foram recolhidos dados referentes a diversos parâmetros de qualidade da água (Anexo C1), tendo sido selecionados os que teoricamente poderiam apresentar algum tipo de relação com a presença de microrganismos. Dentro destes parâmetros foi necessário restringir aqueles de que se dispunha dados suficientes para estabelecer uma relação, uma vez que os períodos de análise eram diferentes para cada um dos parâmetros.

Nos Gráficos 11 e 12, pode observar-se a relação entre a presença de Ecn e o COT no Rio Douro e no Poço Coletor, respetivamente. No caso do Rio Douro havia menos informação, existindo em 8 anos apenas 33 datas com informação coincidente para os dois parâmetros. Quanto ao Poço coletor, no período de um ano obtiveram-se dados relativos a 65 datas. Pontualmente no Poço Coletor verifica-se um aumento de Ecn quando aumenta o COT, existindo no entanto períodos em que tal não é observado.

Relativamente à alcalinidade (Gráficos 13 e 14), condutividade a 25°C (Gráficos 15 e 16), Turvação (Gráficos 17 e 18) e Temperatura da água *in situ* (Gráfico 19 e 20), não foi observada nenhuma relação de aumento dos valores, dos parâmetros referidos, associados

com o aumento de Ecn. Neste ponto, tendo em vista o objetivo deste trabalho, foram apenas selecionados parâmetros de determinação rápida.

Nos gráficos seguintes, as análises de *Estafilococos* efetuadas no Rio Douro com os valores superiores a 200 UFC/100ml foram assumidos como 200 UFC/100ml, para uma mais fácil visualização (Anexo C1 - tabela 1). Quanto aos Gráficos referentes aos valores de *Estafilococos* do Poço Coletor os valores superiores a 10 UFC/100ml foram também assumidos como 10 UFC/100ml (Anexo C1 - tabela 2).

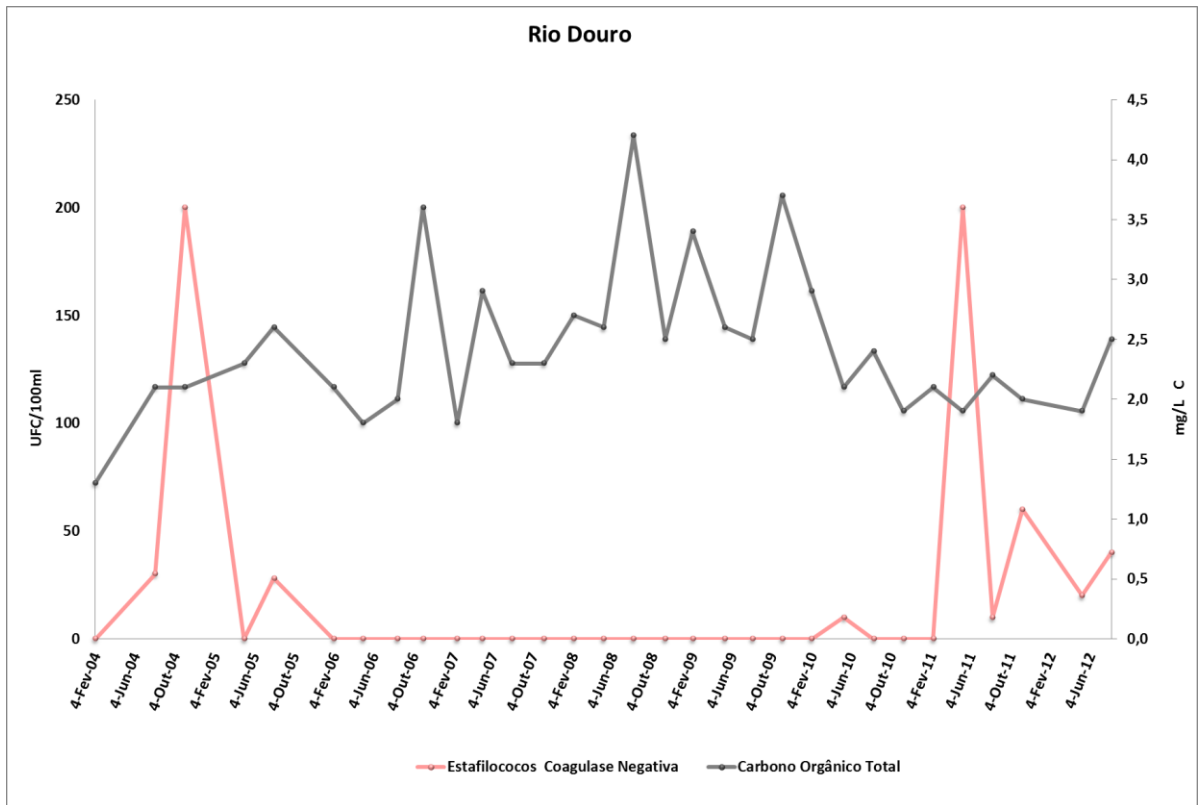


Gráfico 11 - Estafilococos coagulase negativa e concentração de Carbono Orgânico Total no Rio Douro.

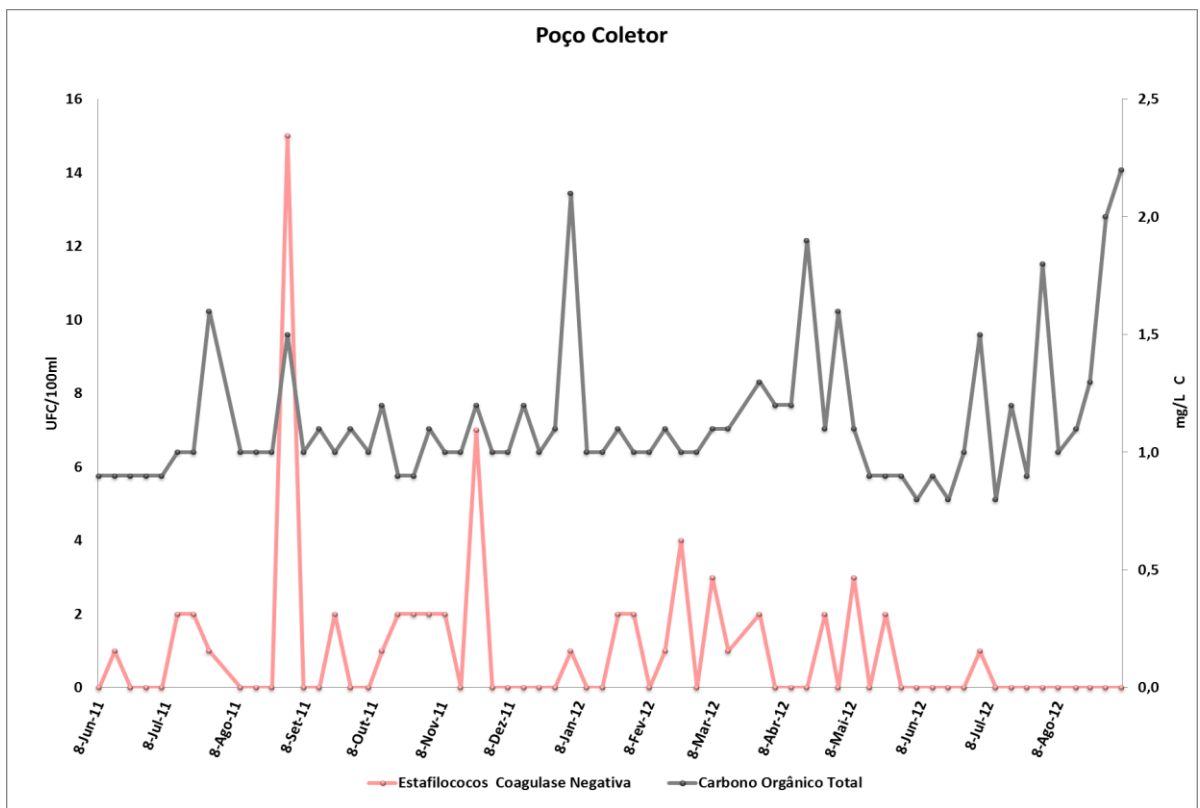


Gráfico 12 - Estafilococos coagulase negativa e concentração de Carbono Orgânico Total no Poço Coletor.

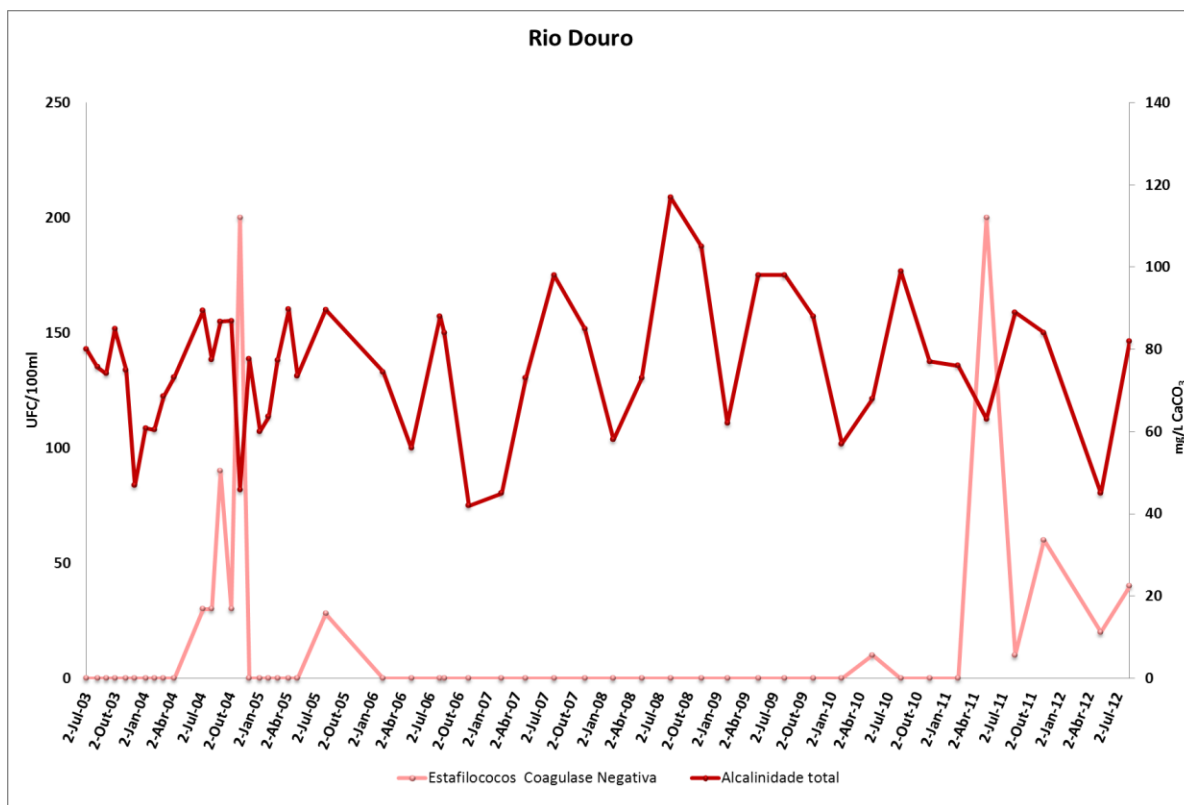


Gráfico 13 - Estafilococos coagulase negativa e Alcalinidade no Rio Douro.

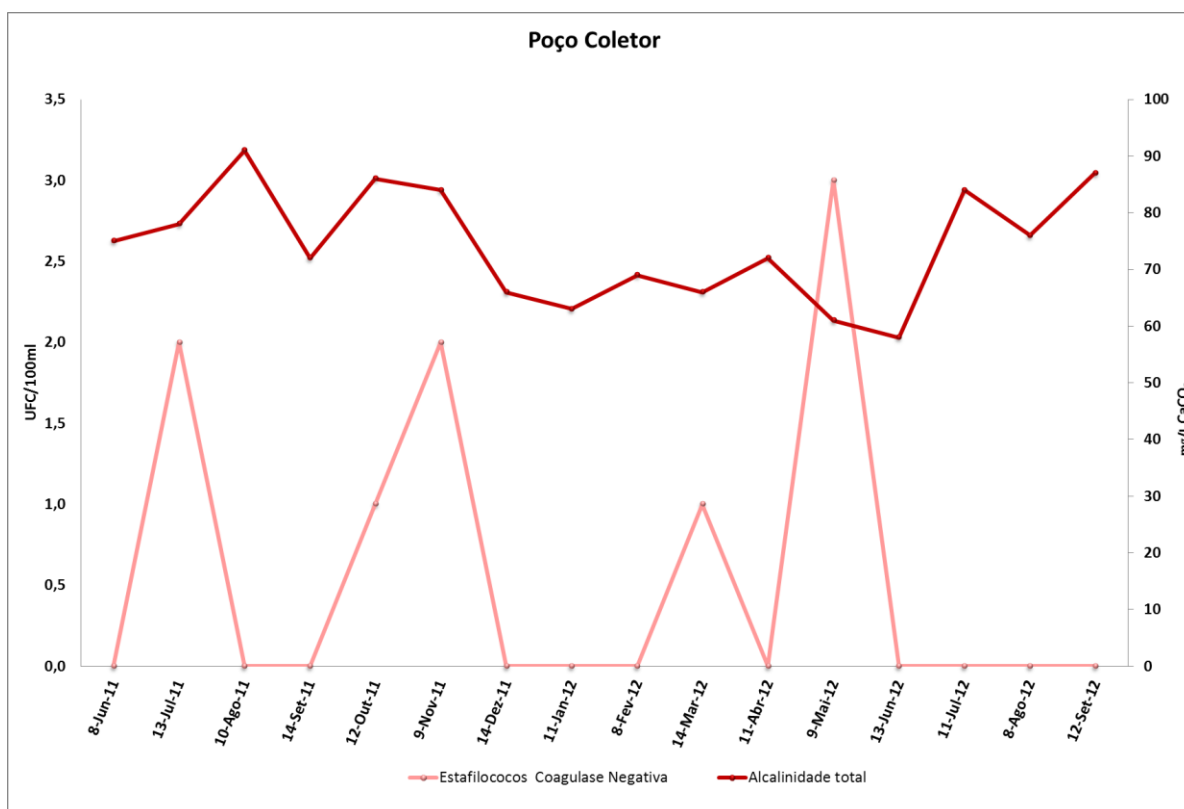


Gráfico 14 - Estafilococos coagulase negativa e Alcalinidade no Poço Coletor.



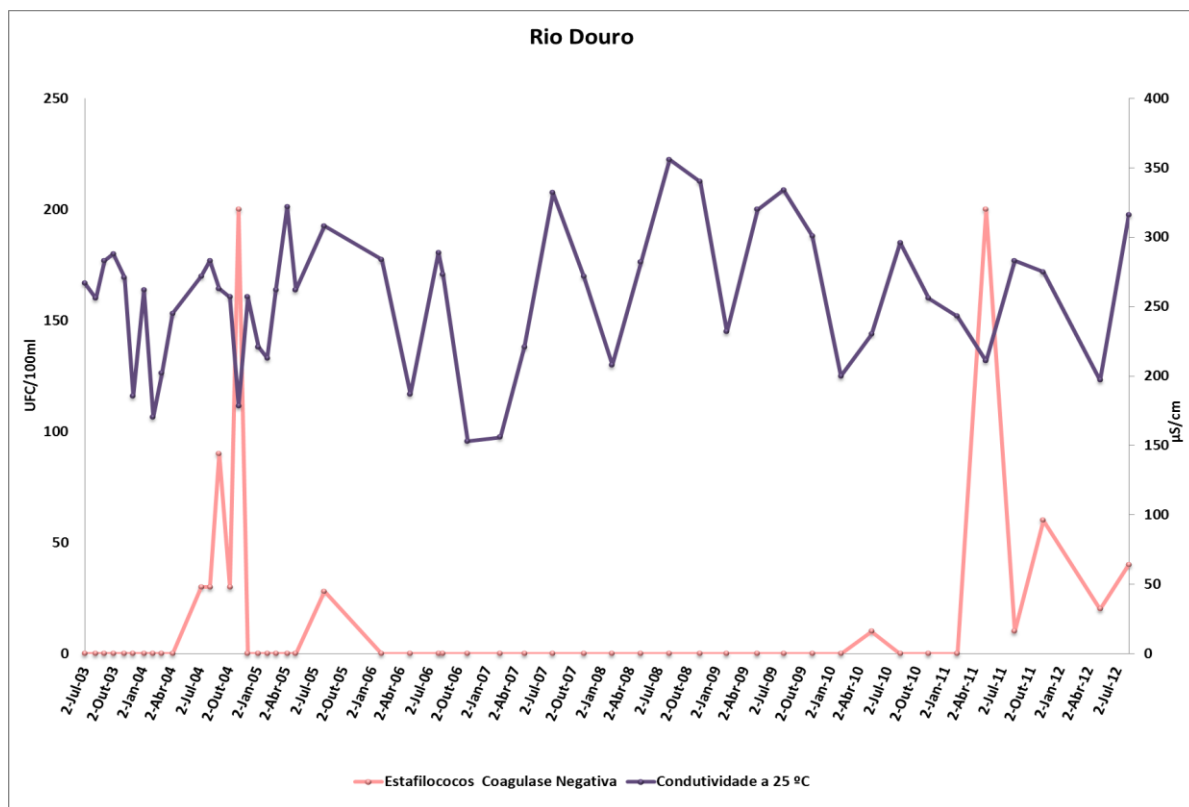


Gráfico 15 - Estafilococos coagulase negativa e Condutividade a 25°C no Rio Douro

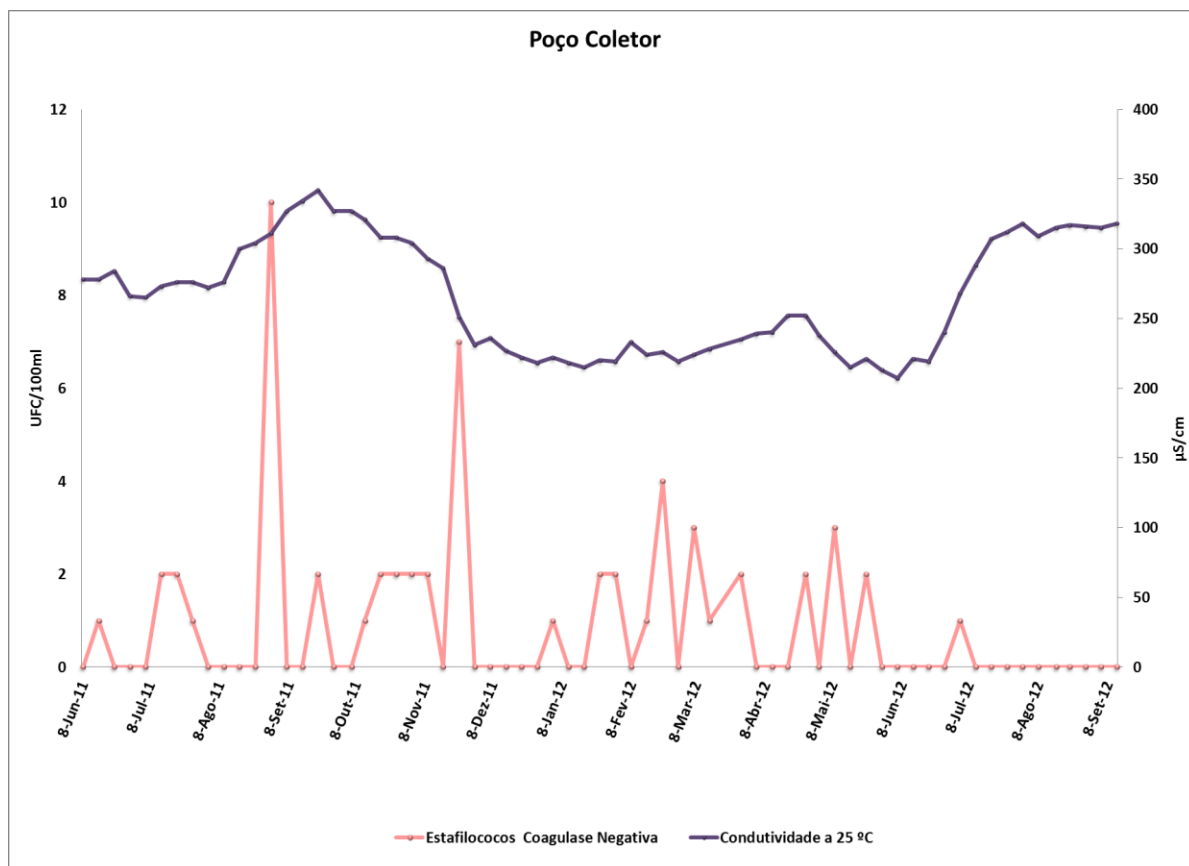


Gráfico 16 - Estafilococos coagulase negativa e Condutividade a 25°C no Poço Coletor.

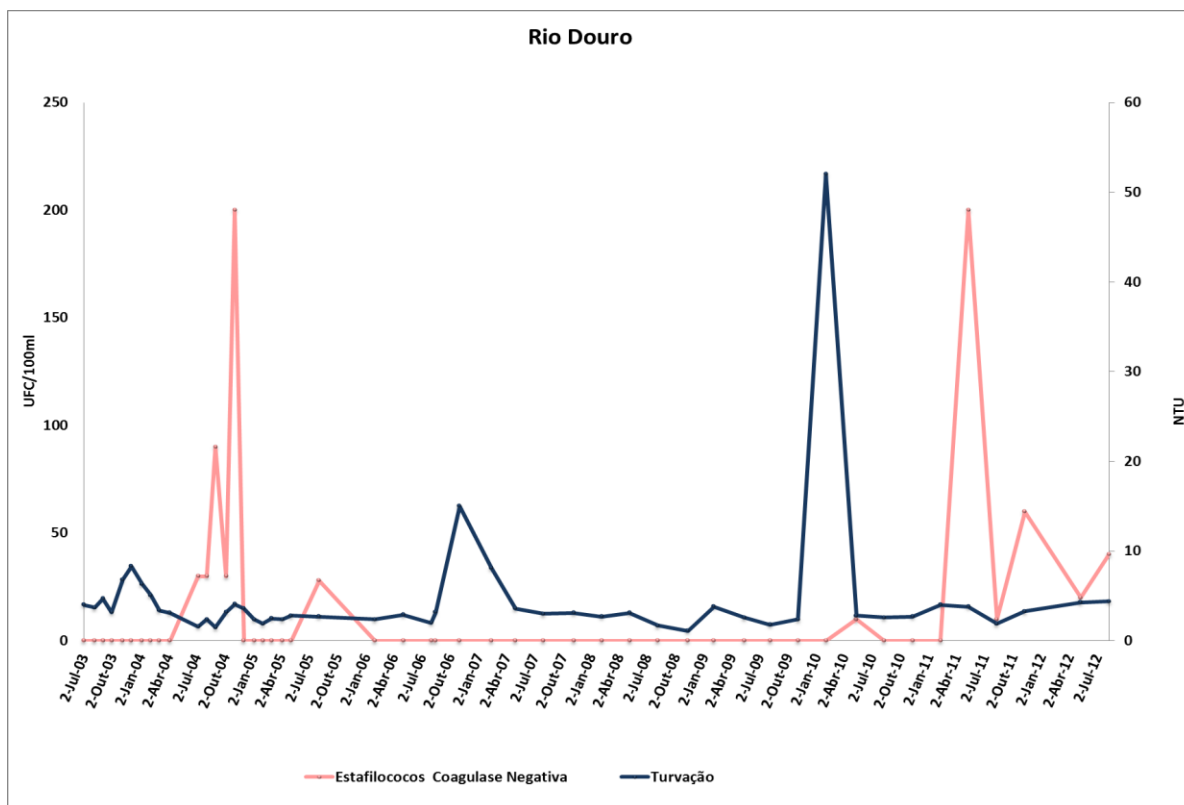


Gráfico 17 - Estafilococos coagulase negativa e Turvação no Rio Douro.

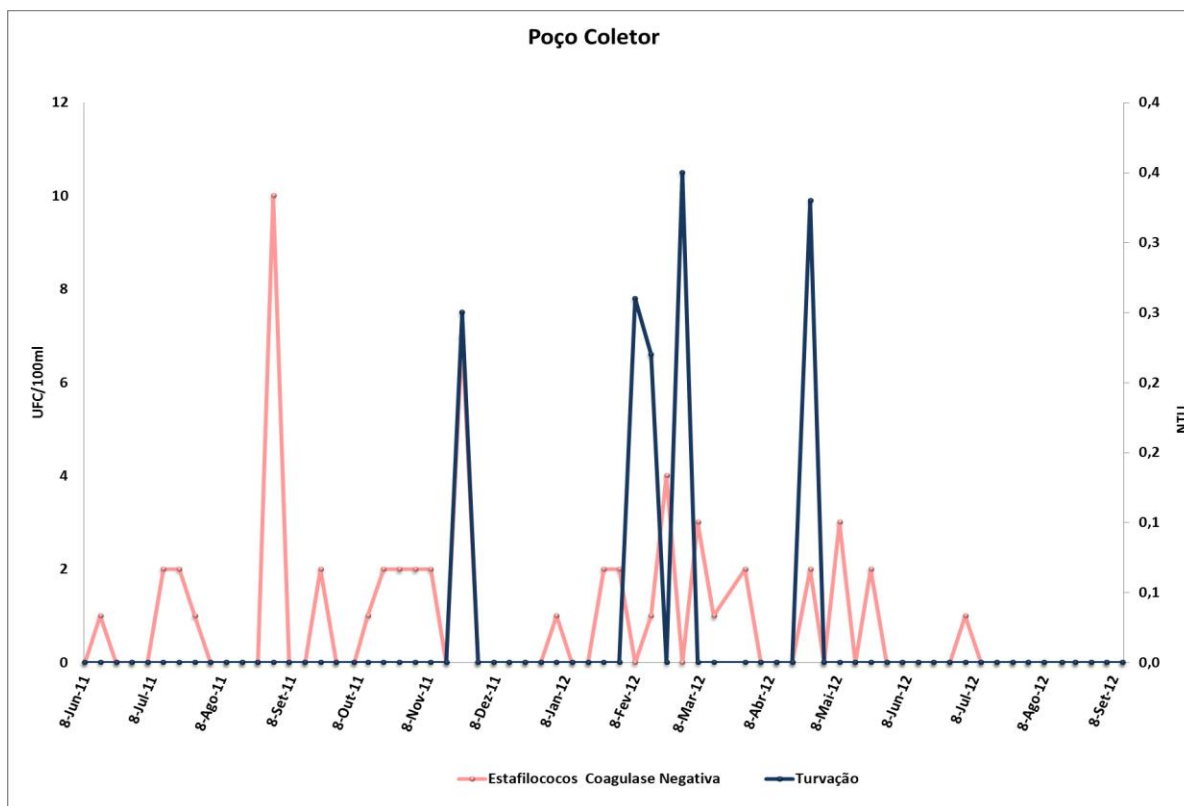


Gráfico 18 - Estafilococos coagulase negativa e Turvação no Poço Coletor.

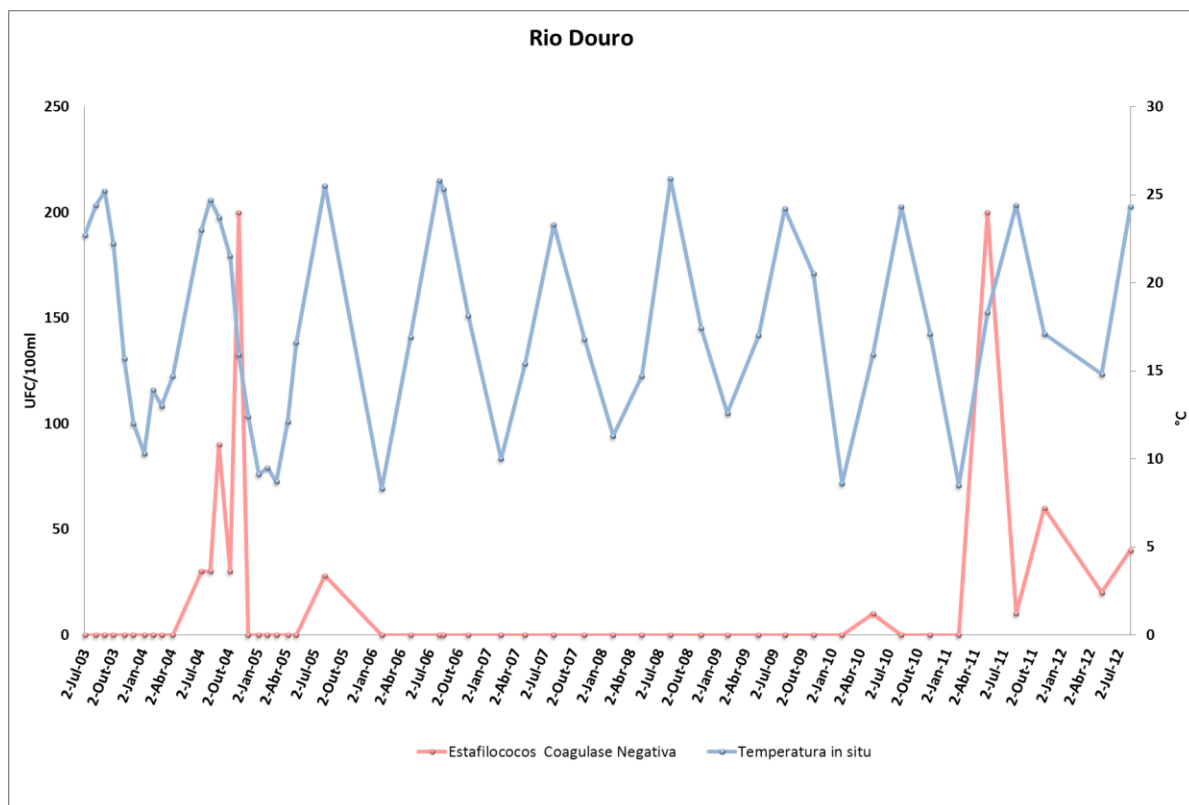


Gráfico 19 - Estafilococos coagulase negativa e Temperatura da água no Rio Douro.

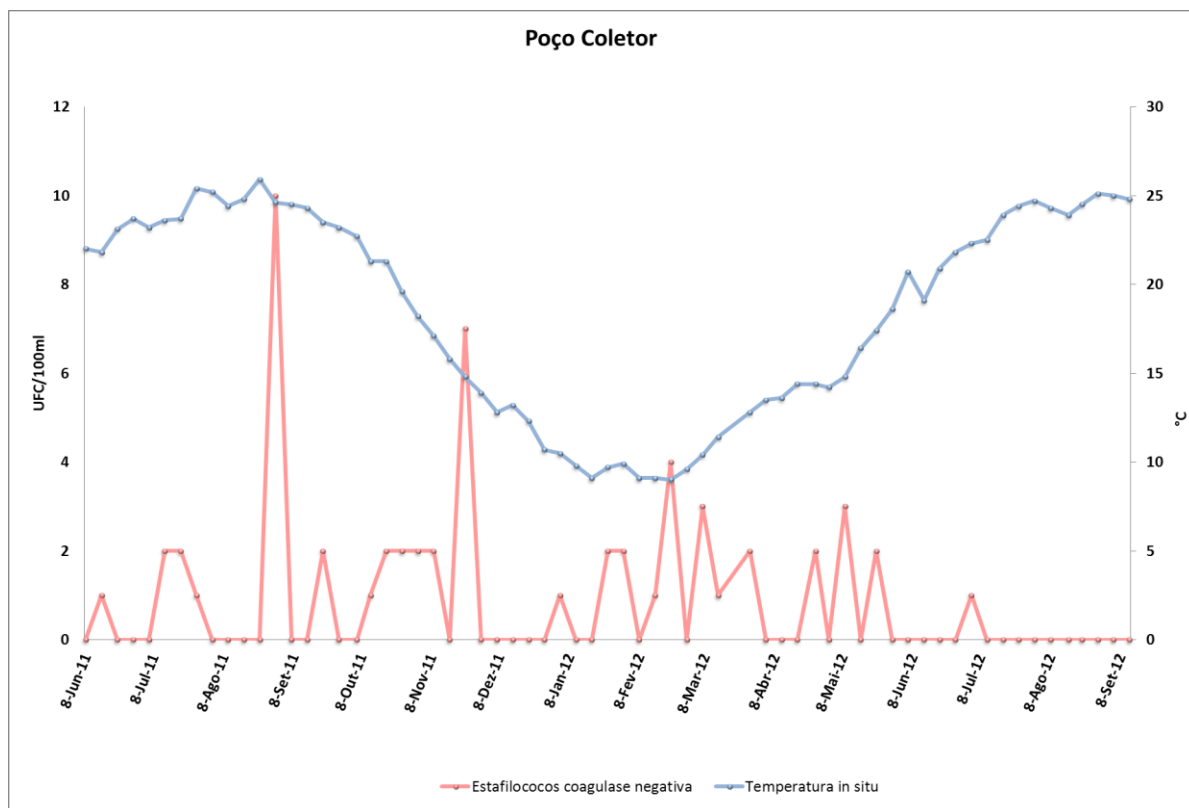


Gráfico 20 - Estafilococos coagulase negativa e Temperatura da água no Poço Coletor.

### 3.2.2 Dados meteorológicos e Estafilococos coagulase negativa

Para comparação dos dados meteorológicos foram utilizados resultados com um intervalo até 5 dias antes de cada determinação de Estafilococos. Os dados são referentes à Estação Meteorológica de Pedras Rubras situada no aeroporto Francisco Sá Carneiro.

Após a recolha dos dados relativos a precipitação e temperatura atmosférica mínima e máxima (Anexo C-2), foram realizadas comparações entre estes e a presença de Ecn, no Rio Douro e no Poço Coletor (Gráficos 21 a 24).

Pode observar-se nos Gráficos 21 e 22, relativamente à presença de Ecn no Rio Douro e no Poço Coletor e a ocorrência de precipitação, que não foi identificada qualquer relação. No entanto também neste caso, tal como nos gráficos anteriores, o número de datas com informação relativa aos parâmetros a comparar era diferente nos dois locais, nomeadamente, no Rio Douro havia 22 valores, em aproximadamente 5 anos e no Poço Coletor de 61 valores em 1 ano.

Quanto aos Gráficos 23 e 24, relativos à temperatura atmosférica não se observa qualquer relação com a presença de Ecn. Tal como no caso da precipitação, os valores eram reduzidos para o Rio Douro (22 valores) enquanto no Poço coletor existiam 61 valores.

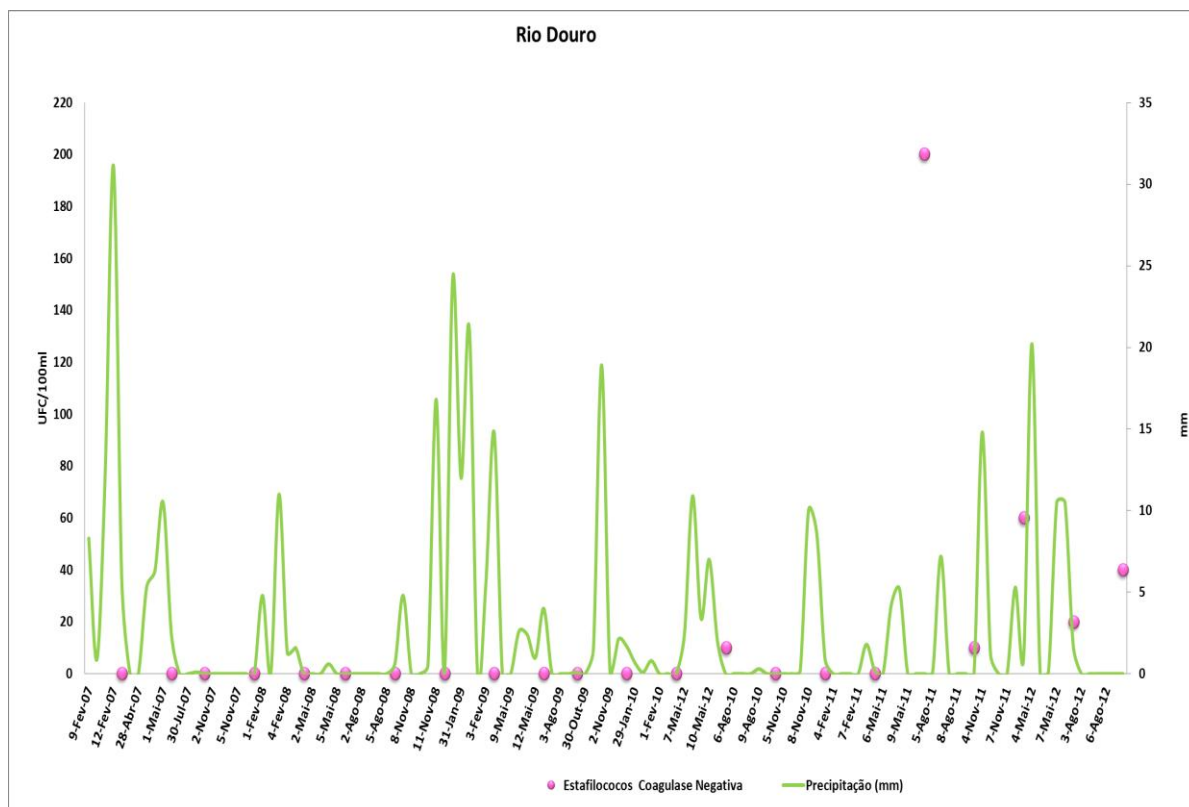


Gráfico 21 - Estafilococos coagulase negativa presentes no Rio Douro e Precipitação.

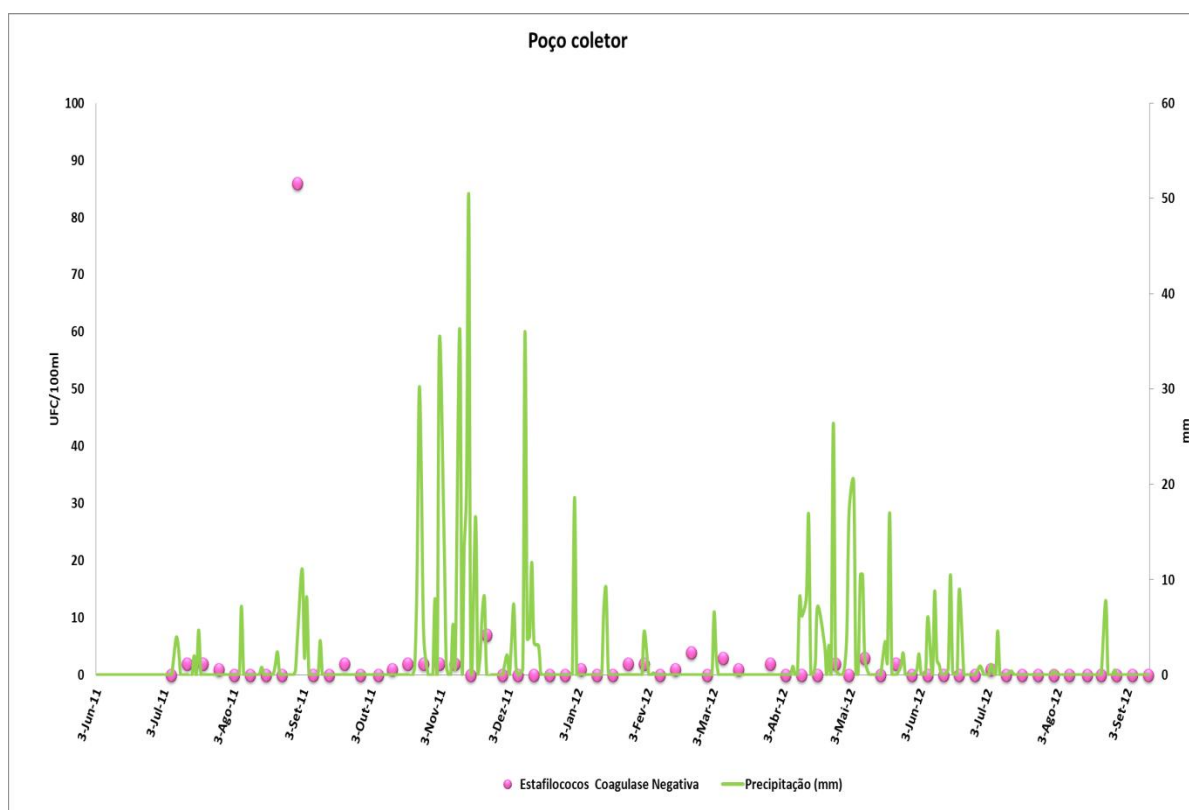


Gráfico 22 - Estafilococos coagulase negativa presentes no Poço Coletor e Precipitação.

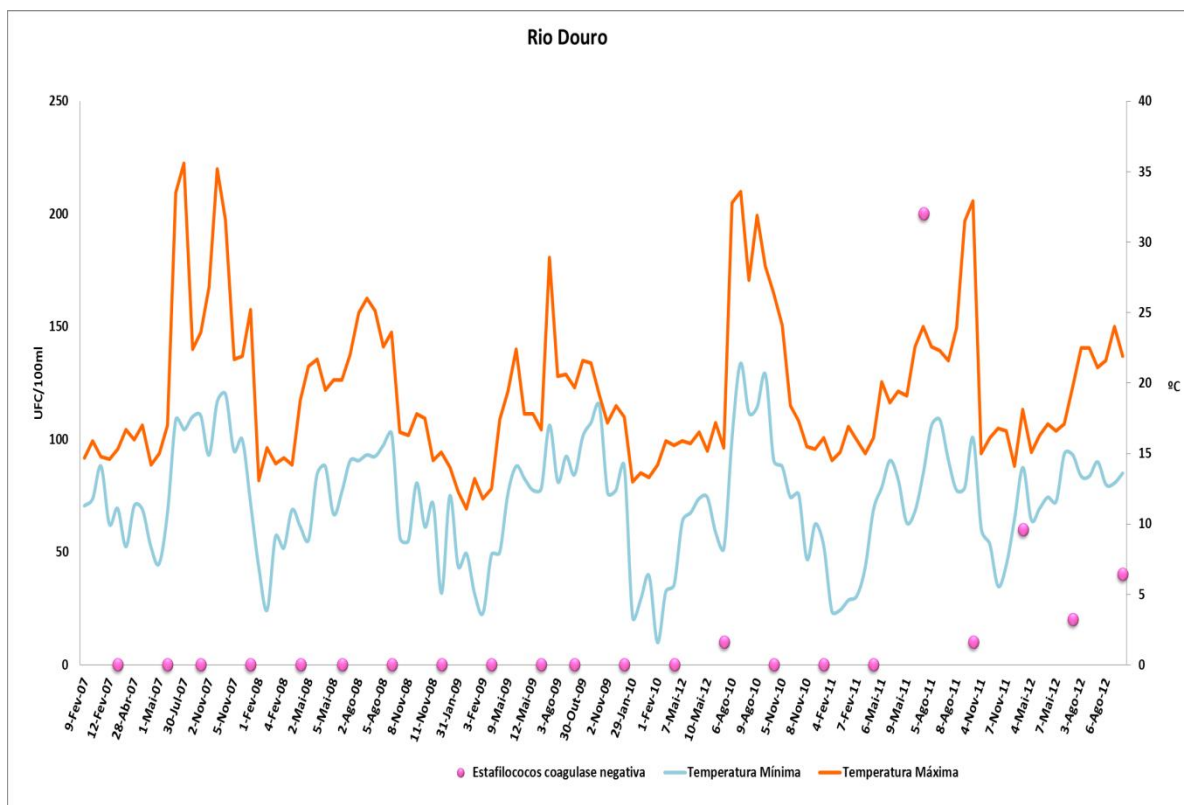


Gráfico 23 - Estafilococos coagulase negativa presentes no Rio Douro e Temperaturas atmosféricas máximas e mínimas.

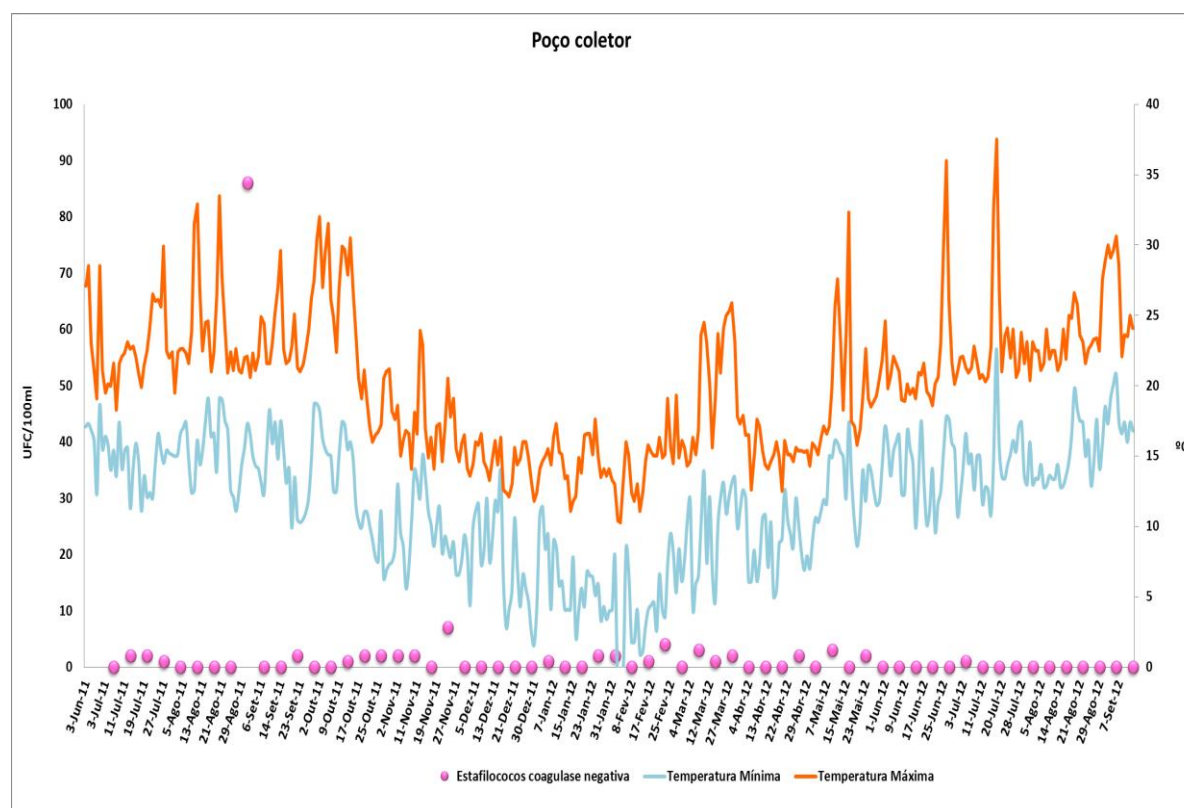


Gráfico 24 - Estafilococos coagulase negativa no Poço Coletor e as Temperaturas atmosféricas máximas e mínimas.

### 3.2.3 Dados da atividade da ETA

Quanto à atividade da ETA foi estudada a relação entre a atividade de bombagem do Poço Coletor e a presença de Ecn (Anexo C3).

O Poço Coletor possui 2 conjuntos de bombas, como se pode verificar na Figura 29, um grupo situado aos 4m e um segundo grupo aos 7m (em relação ao fundo).

Pode observar-se nos Gráficos 25 a 27, que o aumento de Ecn ocorre independentemente do caudal e conjuntos de bombas em utilização, sendo esse aumento umas vezes acompanhado por uma diminuição do caudal extraído e outras vezes pelo seu aumento.

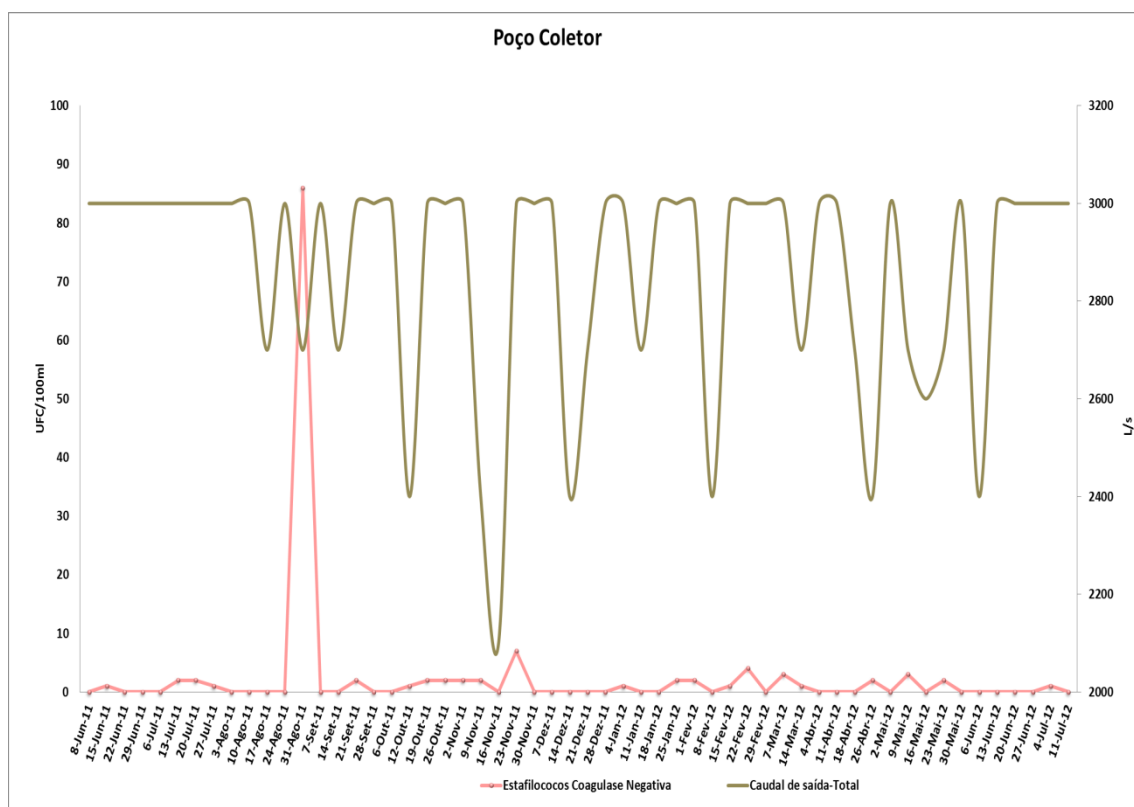


Gráfico 25 - Estafilococos coagulase negativa e o caudal total de saída das bombas do Poço Coletor.

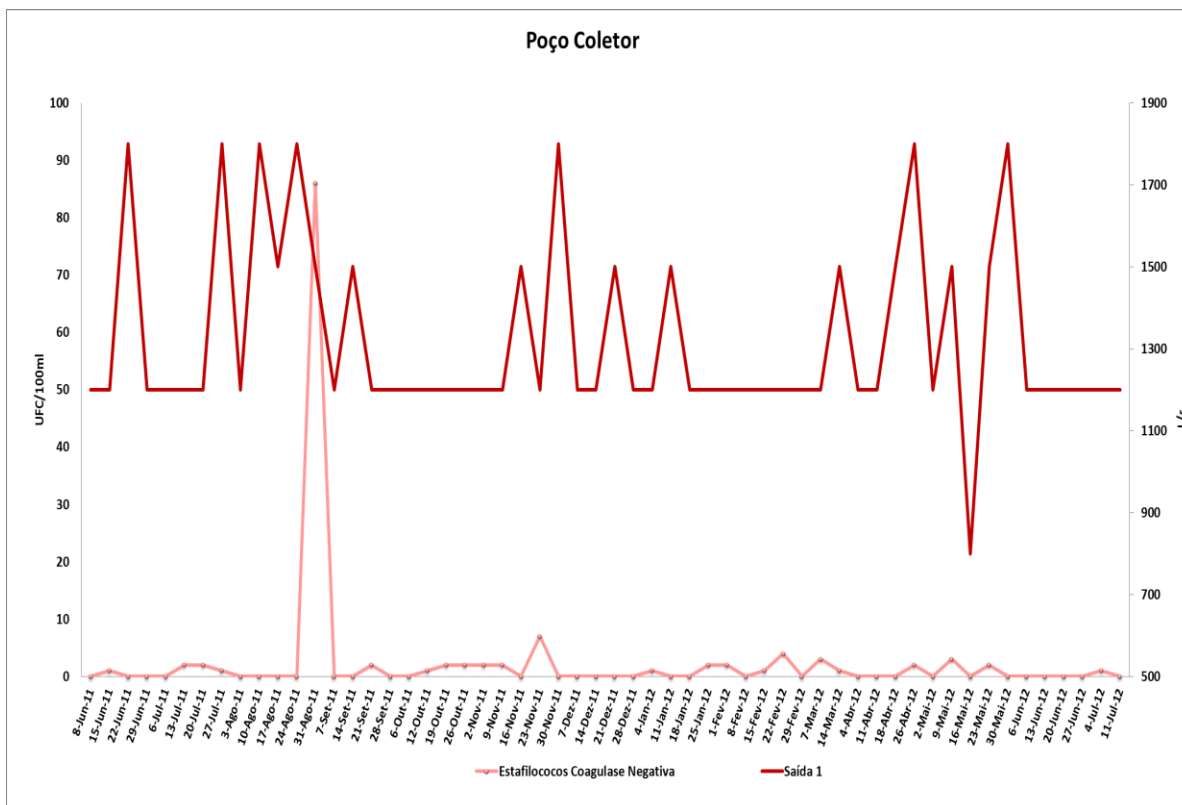


Gráfico 26 - Estafilococos coagulase negativa e o caudal da saída 1 das bombas do Poço Coletor.

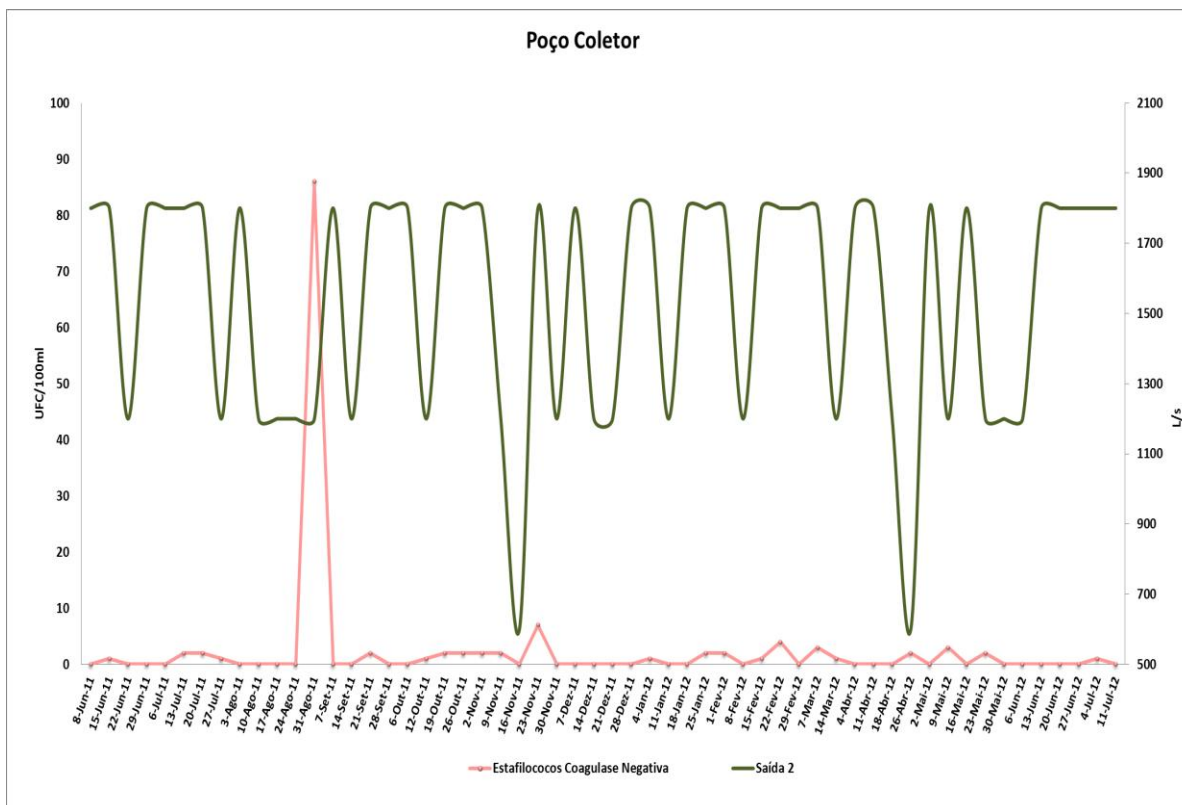


Gráfico 27 - Estafilococos coagulase negativa e o caudal da saída 2 das bombas do Poço Coletor.



## Capítulo 4

### 4 Discussão de resultados

#### 4.1 Caracterização da população microbiana dos Poços de Captação e do Poço Coletor

Com o objetivo de caracterizar a população microbiana nos Poços de Captação e no Poço Coletor, foram realizadas colheitas nos diversos poços a diferentes níveis de profundidade, para avaliar a sua homogeneidade.

Nos Gráficos 1 e 2, relativos aos dois Poços de Captação verifica-se que existe uma variação na população microbiana nos diferentes níveis. No Poço Montante 1 pode observar-se que o número de Ecn decresce com a profundidade, enquanto que no Poço Montante 2 isto não acontece, sendo observado um valor menor de Ecn no local de saída para o Poço Coletor.

Por sua vez, o Poço Coletor, apresenta uma homogeneidade bacteriana nos diferentes níveis, como se pode observar no Gráfico 3, provavelmente devido à intensa atividade de bombagem do sistema, que mantém o poço bastante uniforme.

Quando se compara o mesmo período de amostragem, as espécies de Ecn presentes nos diferentes poços (Gráfico 4), verifica-se que existem em maior número nos Poços de Captação em relação ao Poço Coletor.

Alargou-se então o período de amostragem para o Poço Coletor, estudando a variação ao longo do tempo de alguns parâmetros considerados de interesse (*Estafilococos*, *Enterococos* e Nº de colónias a 22°C e 37°C) (Gráficos 6, 7 e 8). Neste caso constata-se que a contaminação microbiana é relativamente constante existindo por vezes alguns surtos, que quando surgem se verificam em todos os níveis (superfície, entrada e saída de água). Os Ecn identificados neste período de amostragem apresentam uma maior diversidade ao nível da espécie do que no Gráfico 4, aparecendo espécies que apenas apareciam nos poços de captação.

## 4.2 Dados de histórico da qualidade da água

Foram reunidos os diferentes dados da qualidade da água obtidos ao longo dos últimos anos, tendo sido selecionados alguns parâmetros físico-químicos, pela sua potencial relação com a presença de microrganismos. Para alguns parâmetros, a existência de dados insuficientes para relacionar com os resultados de *Estafilococos* na água limitou a referida seleção.

Neste ponto surgiram algumas dificuldades, relativamente à obtenção de dados em simultâneo para os diferentes parâmetros. Esta limitação deve-se a inexistência de obrigatoriedade legal para a análise de *Estafilococos* em água bruta e às alterações de frequência que esta determinação foi sofrendo na empresa.

No que diz respeito à Captação de Superfície (Rio Douro) a análise de *Estafilococos* tinha periodicidade mensal até o segundo semestre de 2005, altura em que passou a ser apenas efetuada trimestralmente, o que reduziu consideravelmente a quantidade de dados disponíveis.

Quanto à Captação em Profundidade, Poço Coletor, o parâmetro em estudo não era analisado em rotina até junho de 2011 (antes disso só em estudos pontuais), quando passou a ter uma periodicidade semanal, o que forneceu um grande número de dados, no entanto desfasados dos resultados existentes para o Rio Douro.

Esta limitação impediu o cruzamento de resultados sobre a presença de Ecn no Rio Douro e no Poço Coletor, devido à inexistência de valores em número representativo para ambos os pontos em datas coincidentes.

Ao observar a distribuição dos Ecn ao longo do tempo no Rio Douro e no Poço Coletor, verifica-se que no Rio Douro esta presença é pontual, sendo no entanto, nestes casos, observados valores muito elevados (máximo observado 1100 UFC/100ml). Por outro lado, no Poço Coletor a presença de Ecn é frequente ao longo do ano, mas num número reduzido, variando entre 1 e 2 UFC/100ml, ocorrendo por vezes um aumento no número de Ecn (máximo observado 86 UFC/100ml).

De seguida, compararam-se os dados referentes à presença de Ecn no Rio Douro e no Poço Coletor com os resultados físico-químicos da qualidade da água. Ao observar a relação dos Ecn com os níveis de COT presentes (Gráficos 11 e 12), verifica-se que no Rio Douro, apesar da ocorrência de alguns surtos de Ecn, mantêm-se níveis elevados de COT, variando entre 1,3 e 4,2 mg/L, mas nem sempre acompanhando a variação da presença de Ecn na água. No Poço Coletor o aumento dos níveis de COT nem sempre acompanham um aumento dos Ecn, logo este parâmetro não poderá ser indicativo da potencial presença de Ecn.

O COT é o resultado de diferentes frações de carbono, nem todas biodisponíveis, pelo que a diferença da existência de níveis de carbono e a presença de Ecn no Poço Coletor e no Rio Douro pode dever-se ao tipo de frações de carbono constituintes do COT nos diferentes casos. Nem sempre um maior valor de COT corresponde a um maior valor de Carbono Orgânico Assimilável (COA), a fração mais rapidamente degradável e biodisponível, sendo esta relação de cerca de 0,1 a 9 % de COA. No entanto foi realizado nas Águas do Douro e Paiva, entre setembro de 2010 e junho de 2011, um estudo de caracterização de COA “Caracterização de Carbono Orgânico Assimilável na ETA de Lever” no qual se verificou existir frequentemente uma maior fração de COA no Poço Coletor (48%) em relação à presente no Rio Douro (19%), nível este muito superior ao descrito na literatura [29, 30].

Quanto aos níveis de Alcalinidade da água no Poço Coletor e no Rio Douro (Gráficos 13 e 14), verifica-se que não existe relação com a presença de Ecn. A Alcalinidade total, indica a concentração de  $\text{CaCO}_3$ , medindo a capacidade da água em resistir a alterações de pH, por neutralização dos ácidos. Os microrganismos, nomeadamente os Estafilococos são sensíveis a alterações de pH, no entanto, dependendo da espécie de Estafilococos, existe uma variedade de gamas onde podem existir diferentes espécies [31].

Ao observar a variação de Ecn com a Condutividade da água (Gráficos 15 e 16), isto é, a medida das concentrações iónicas, verifica-se no caso do Rio Douro um aumento dos Ecn quando ocorre uma diminuição da Condutividade. Esse facto também se verifica em alguns pontos do Poço Coletor, no entanto este parâmetro não poderá ser indicador de um possível surto uma vez que também se constata descida da Condutividade sem qualquer relação com a presença de Ecn.

Outro dos parâmetros analisados foi a Turvação, a qual é causada por diversos materiais em suspensão. Ao comparar os valores de Turvação com a presença de Ecn (Gráficos 17 e 18), verifica-se não existir qualquer relação. Dependendo dos materiais em suspensão, estes poderão ser inibidores do crescimento bacteriano, por exemplo certos metais [32, 33].

Por último, ainda relativamente aos parâmetros de qualidade da água, foi comparada a Temperatura *in situ*, isto é, a temperatura da água no momento de colheita. Não foi observada qualquer relação entre a Temperatura *in situ* e a presença de Ecn, tanto no Rio Douro como no Poço Coletor (Gráficos 19 e 20).

Após este estudo de comparação dos parâmetros de controlo de qualidade da água com a presença de Ecn, onde não foi encontrada nenhuma relação, foram estudadas as condições meteorológicas no período das análises. Foi estabelecido um intervalo de 5 dias antes de cada determinação de Ecn, para ser representativo das condições meteorológicas. Os parâmetros estudados foram as temperaturas máximas e mínimas registadas e os níveis de precipitação. No entanto, os dados disponíveis das condições meteorológicas na região do Porto dizem

respeito ao período de 2007 até 2012 o que faz com que muitos dos dados recolhidos de Ecn para o Rio Douro desde 2003 não possam ser usados, passando assim a existir um número muito reduzido de dados e pouco representativo.

Quanto aos dados da precipitação, em relação ao Rio Douro (Gráfico 21), em algumas épocas pode verificar-se um ligeiro aumento dos *Estafilococos* quando ocorre precipitação, no entanto uma vez que os dados são pouco representativos, nada se pode concluir. Ao observar a precipitação e os Ecn no Poço Coletor, a conclusão é semelhante, sendo de salientar que 2012 foi um ano atípico em termos de precipitação nos meses de inverno.

Em relação à comparação do número de Ecn com a variação das temperaturas mínimas e máximas registadas (Gráficos 23 e 24), pode referir-se que o aumento de Ecn não apresenta qualquer relação com as referidas variações.

Foi também estudada a atividade no Poço, isto é verificar se os caudais de saída das bombas, poderiam provocar agitação na água e promover a libertação dos Ecn que se encontrassem no biofilme ou nos sedimentos. Quando se observam os gráficos das bombas, tanto o do caudal total (Gráfico 25), como o do caudal das bombas em separado (Gráficos 26 e 27), verifica-se que não existe qualquer relação.

## Capítulo 5

### 5 Conclusões

Quanto à caracterização microbiana inicial pode referir-se que o Poço Coletor apresenta uma distribuição da população microbiana relativamente homogénea, quando comparado com a população dos Poços de Captação, nomeadamente no que diz respeito ao número de *Estafilococos coagulase negativa*, que é menor que nos Poços de Captação. No entanto, quando monitorizado ao longo do tempo, detetaram-se espécies no Poço Coletor que inicialmente apenas apareciam nos Poços de Captação em níveis diferentes da saída.

Não foi encontrada qualquer relação entre o número de *Estafilococos coagulase negativa* e os diferentes parâmetros de qualidade da água avaliados, nomeadamente, Carbono Orgânico Total, Alcalinidade, Condutividade a 25°C, Turvação e Temperatura *in situ* (temperatura da água).

Relativamente à relação das condições meteorológicas com o aumento de *Estafilococos coagulase negativa*, não existem dados suficientes que permitam concluir com segurança a existência de uma relação entre essa precipitação e o aumento de *Estafilococos* na água. Este facto dever-se-á à quantidade limitada de dados e ao elevado espaçamento temporal entre as análises de *Estafilococos*, o que poderá fazer com que não seja representativo do ciclo de vida destes microrganismos.

A atividade de bombagem do Poço Coletor também não evidenciou qualquer relação com a presença de *Estafilococos coagulase negativa*. Verifica-se assim que a distribuição de Ecn é uniforme ao longo do Poço, o que se deve provavelmente à intensa atividade de bombagem.

Em conclusão, pode referir-se que não foi identificada qualquer relação entre os parâmetros de qualidade da água, as condições meteorológicas e a atividade de bombagem da ETA com a presença de *Estafilococos Coagulase negativa* no Rio Douro e no Poço Coletor, o que não permitiu atingir o objetivo de identificar um ou vários parâmetros de medida indireta que pudessem alertar para a ocorrência de surtos de *Estafilococos coagulase negativa* na água de entrada na ETA.

#### 5.1 Linhas futuras de investigação

Como trabalho futuro sugere-se a caracterização da curva de crescimento de Ecn nas matrizes em estudo, de forma a ajustar a frequência de amostragem para esta população.

Seria importante efetuar uma caracterização da população microbiana nos Poços de Captação, em época de elevada precipitação.

Com o objetivo de estabelecer uma relação entre os Ecn presentes nos dois tipos de água (superficial e de profundidade), com o Carbono Orgânico Assimilável presente na água, seria também de interesse estudar os microrganismos presentes, no Poço Coletor e no Rio Douro, em simultâneo.

## Capítulo 6

### 6 Bibliografia

1. **Europeu, Conselho.** *Carta Europeia da água.* 1968.
2. **WHO.** *Guidelines for drinking water quality.* 4ª edição. 2004.
3. **WHO.** *Safer water, better Health. Costs, benefits and sustainability of interventions to protect and promote health.* 2008.
4. **Ersar.** Qualidade da água. [www.ersar.pt](http://www.ersar.pt). [Online]
5. **Anderson, K. L., Whitlock, J. E., Harwood, V. J.** Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. s.l. : Applied and Environmental Microbiology, 2005, Vol. 71:6, pp. 3041-3048.
6. **Barrel, R. A. E., Hunter, P. R., Nichols, G.** Microbiological standards for water and their relationship to health risk. s.l. : Communicable Disease and Public Health, 2000, Vol. 3:1, pp. 8-13.
7. **Ashbolt, N. J., Grabow, W. O. K. e Snozzi, M.** *Indicators of microbial water quality.* In. London : IWA Publishing, 2001. pp. 289-317.
8. **Amaral, L. A. , Nader, F.A., Junior, O. Ferreira, F., Barros, L.** Drinking water in rural farms as a risk factor to human health. s.l. : Revista de Saúde Pública, 2003, Vol. 37:4, pp. 510-514.
9. **Nogueira, G., Nakamura, C.V., Togmin, M., Abreu, F.B., Dias, F.B.** *Qualidade microbiológica de água potável de comunidades urbanas e rurais, Paraná.* s.l. : Rev Saúde Pública, 2003. pp. 232-6.
10. **Health, Canada.** *Bacterial Waterborne Pathogens. Current and Emerging Organisms of Concern.* s.l. : Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document, 2006.
11. **Payment, P., Waite, M., Dufour, A.** Assessing Microbial Safety of Drinking Water. s.l. : OECD Publishing, 2003.
12. **Nogueira, A., Cardoso, M., Delgadinho, I., Almeida, A.** Qualidade microbiológica e química das águas de consumo humano do distrito de Bragança. s.l. : Revista Portuguesa de Saúde Pública, 2009, Vol. 27.
13. **Diário da Republica, Série I.** Decreto-Lei nº306/2007 de 27 de Agosto,. Vol. 164, pp. 5747-5765.

14. Águas do Douro e Paiva, SA. *Relatório e contas 2011*. Porto : s.n., 2011.
15. Águas do Douro e Paiva, SA. [www.addp.pt](http://www.addp.pt). [Online] junho de 2012.
16. Águas do Douro e Paiva, SA. *Estação de tratamento de Água de Lever*. Porto : s.n., 2004.
17. Águas do Douro e Paiva, SA. *Sistema Multimunicipal de Abastecimento de Água à área sul do grande Porto*. Porto : s.n., 2009.
18. Carmouze, J.P. *O metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas*. s.l. : São Paulo: Edgard Blücher - FAPESP, 1996.
19. Europeu, Conselho. *British Pharmacopoea*. Estrasburgo : s.n.
20. Faria, C., Moreira, I.V., Serapicos, E., Nunes, O., Manaia, C. Antibiotic resistance in coagulase negative staphylococci isolated from wastewater. s.l. : Science of The Total Environment, 2009, Vol. 407, pp. 3876-3882.
21. Norton, D.C., LeChevallier W.M. A Pilot Study of Bacteriological Population Changes through Potable Water Treatment and Distribution. s.l. : Appl Environ Microbiol, 2000, Vol. 66, pp. 268-76.
22. Brooks, F., Butel, S., Morse, A. *Medical Microbiology*. 22. s.l. : Mc Graw Hill, 2001.
23. Kloos, W.E., Schleifer, K.H. Simplified scheme for routine identification of human Staphylococcus species. s.l. : J Clin Microbiol, 1975, Vol. 1, pp. 82-8.
24. Kloos W.E., Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. s.l. : Clin Microbiol Rev, 1994, Vol. 7, pp. 117-40.
25. Cunha, M., Lopes C., Rugolo, L., Chalita, L. Significância clínica de estafilococos coagulase-negativa isolados de recém-nascidos. s.l. : Arch. Pediatr. Urug., 2004, Vol. 75 (2), pp. 183-194.
26. Dowd, S.E., Sun, Y., Secor, P.R., Rhoads, D.D., Wolcott, B.M., James, G.A., et al. Survey of bacterial diversity in chronic wounds using pyrosequencing, DGGE, and full ribosome shotgun sequencing. s.l. : BMC Microbiol, 2008, Vol. 8.
27. Irlinger, F. Safety assessment of dairy microorganisms: Coagulase-negative staphylococci. s.l. : Int J Food Microbiol, 2008, pp. 302-10.
28. ISO, International Standard Organization. *ISO 8199:2005 - Water quality - General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture*. s.l. : ISO, 2005.



29. Valente, M., Tavares, C., Solheiro, V., Berenguel, A., Vilaça, J. Caracterização de Carbono Orgânico Assimilável na ETA de Lever. s.l. : Encontro Nacional de Entidades Gestoras de Água, 2011.
30. Van Der Kooij, D. Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth. s.l. : J. Am. Water Works, 1982, Vol. 84.
31. Peterson, A. C., Black, J. J., Gunderson, M. F. Staphylococci in Competition- III. Influence of pH and Salt on Staphylococcal Growth in Mixed Populations. New Jersey : Applied Microbiology, 1963, Vol. 12, pp. 70-76.
32. Chiang, W.C, Hilbert, L.R., Schroll, C., Tolker-Nielsen, T., Moller, P. Bacterial inhibiting surfaces caused by the effects of silver release and/or electrical field. Dinamarca : Elsevier, 2008, Vols. 54, Issue 1, pp. Pag. 108-115.
33. Chiang, W.C., Tseng, I.S., Moller, P., Hilbert, L.R., Tolker-Nielsen, T., Wu, J.K. Influence of silver additions to type 316 stainless steels on bacterial inhibition, mechanical properties, and corrosion resistance. Dinamarca : Elsevier, 2010, Vols. 119, Issues 1-2, pp. Pág. 123-130.
34. ISO, International Standard Organization. *ISO 6222:1999- water quality- Enumeration of culturable micro-organisms- Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium.* s.l. : ISO, 1999.
35. ISO, International Standard Organization. *ISO 7899-2:2000- water quality- Detection and enumeration of intestinal enterococci - Part 2: Membrane filtration method.* s.l. : ISO, 2000.
36. ISO, International Standard Organization. *ISO 9308-1:2000 - Water quality - Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria- Part 1: Membrane filtration method.* s.l. : ISO, 2000.
37. IPAC, Instituto Português da Qualidade. *NP 4343:1998 - Qualidade da água- Pesquisa e quantificação de Estafilococos.* s.l. : IPAC, 1998.
38. ISO, International Standard Organization. *EN ISO 16266:2008 - Water quality- Detection and enumeration of Pseudomonas aeruginosa - Method by membrane filtration .* s.l. : CEN-Comité europeu de normalização, 2008.
39. ISO, International Standard Organization. *ISO 19250:2010 - Water Quality - Detection of Salmonella spp.* s.l. : ISO, 2010.
40. EA, Environment Agency. *The microbiology os drinking water - Part 6 - Methods for the isolation and enumeration of sulphite-reducing clostridia and Clostridium perfringens by membrane filtration.* s.l. : EA- Blue book 230, 2010.





## Anexos





**Anexo A**

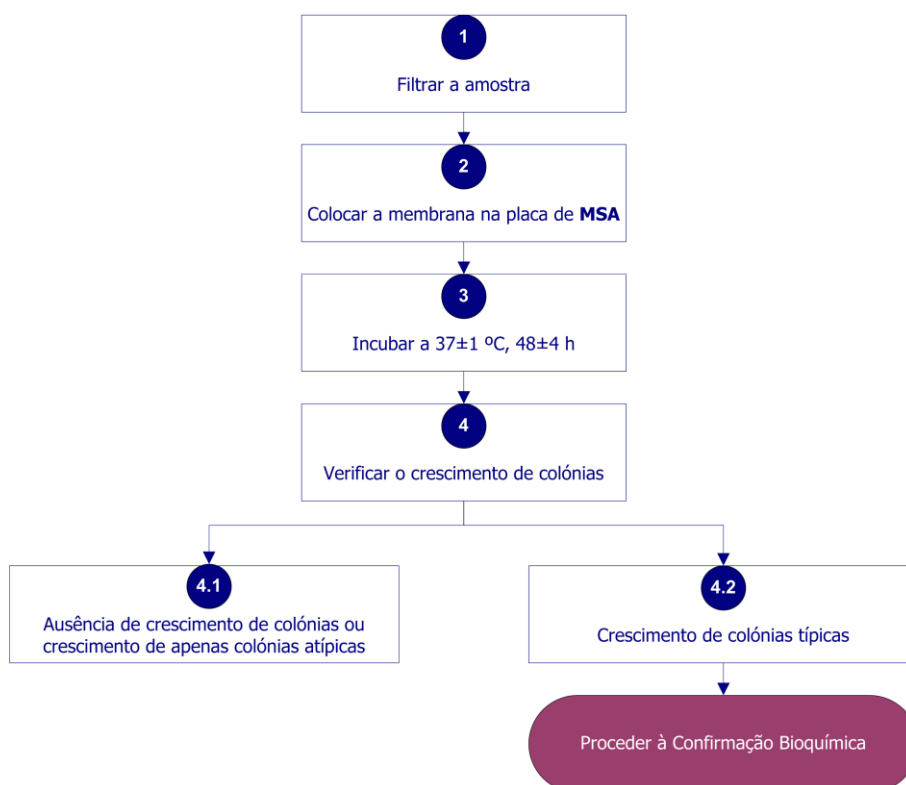
# Anexo A

## Anexo A 1- Pesquisa e Quantificação de Estafilococos- Método de filtração por membrana

### Descrição Geral do Método Analítico

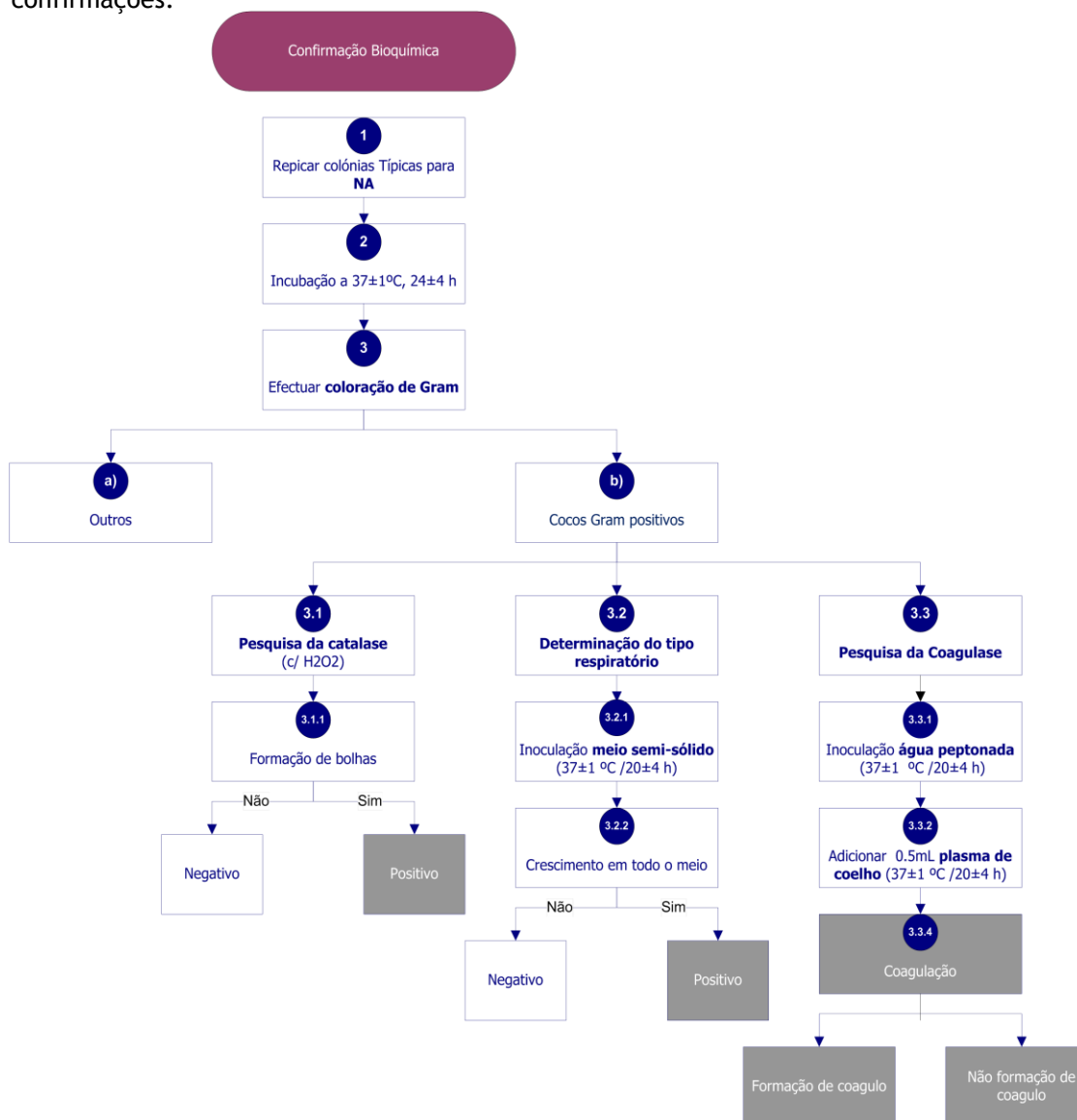
#### 1.1. Quantificação de Estafilococos

Para a pesquisa e quantificação de Estafilococos na amostra, procedeu-se de acordo com as seguintes tarefas:



## 1.2. Confirmação Bioquímica de Estafilococos

Antes de proceder à confirmação bioquímica, selecionou-se as diluições onde se efetuou as confirmações.

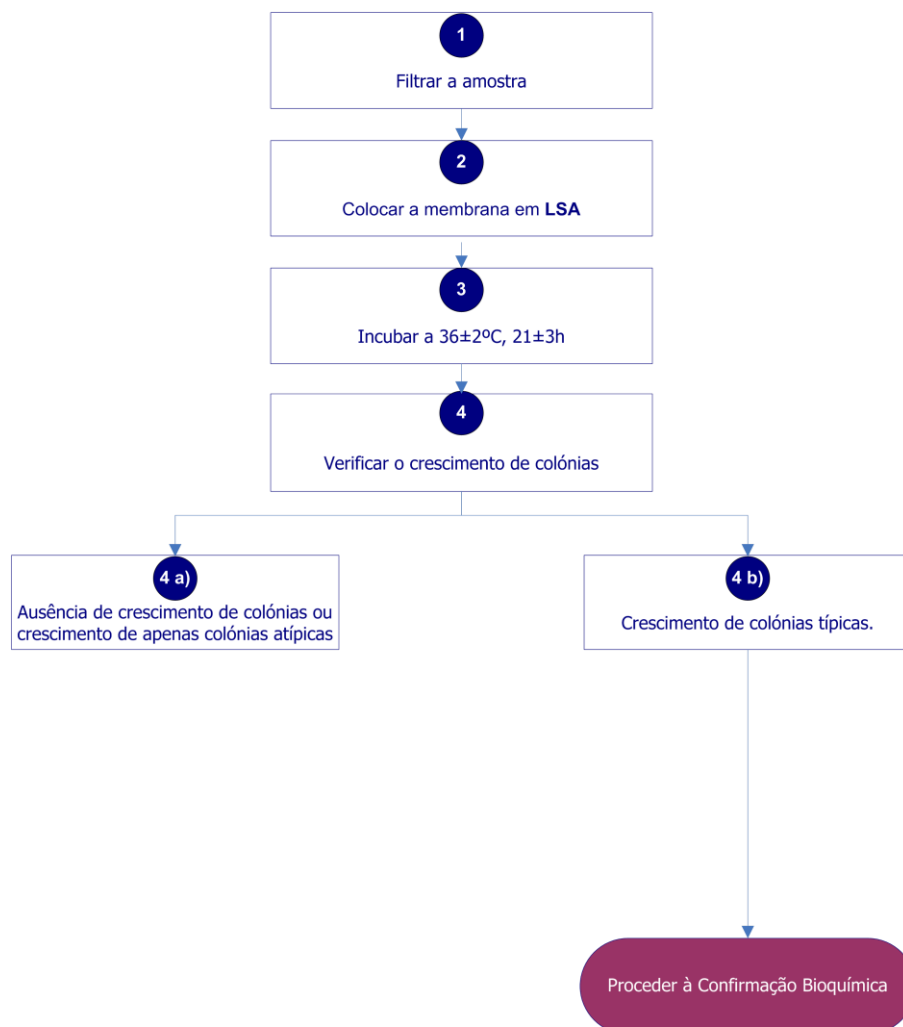


## Anexo A 2- Pesquisa e Quantificação de Bactérias Coliformes e *Escherichia coli*- Método de filtração por membrana

### Descrição Geral do Método Analítico

#### 2.1. Quantificação de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*

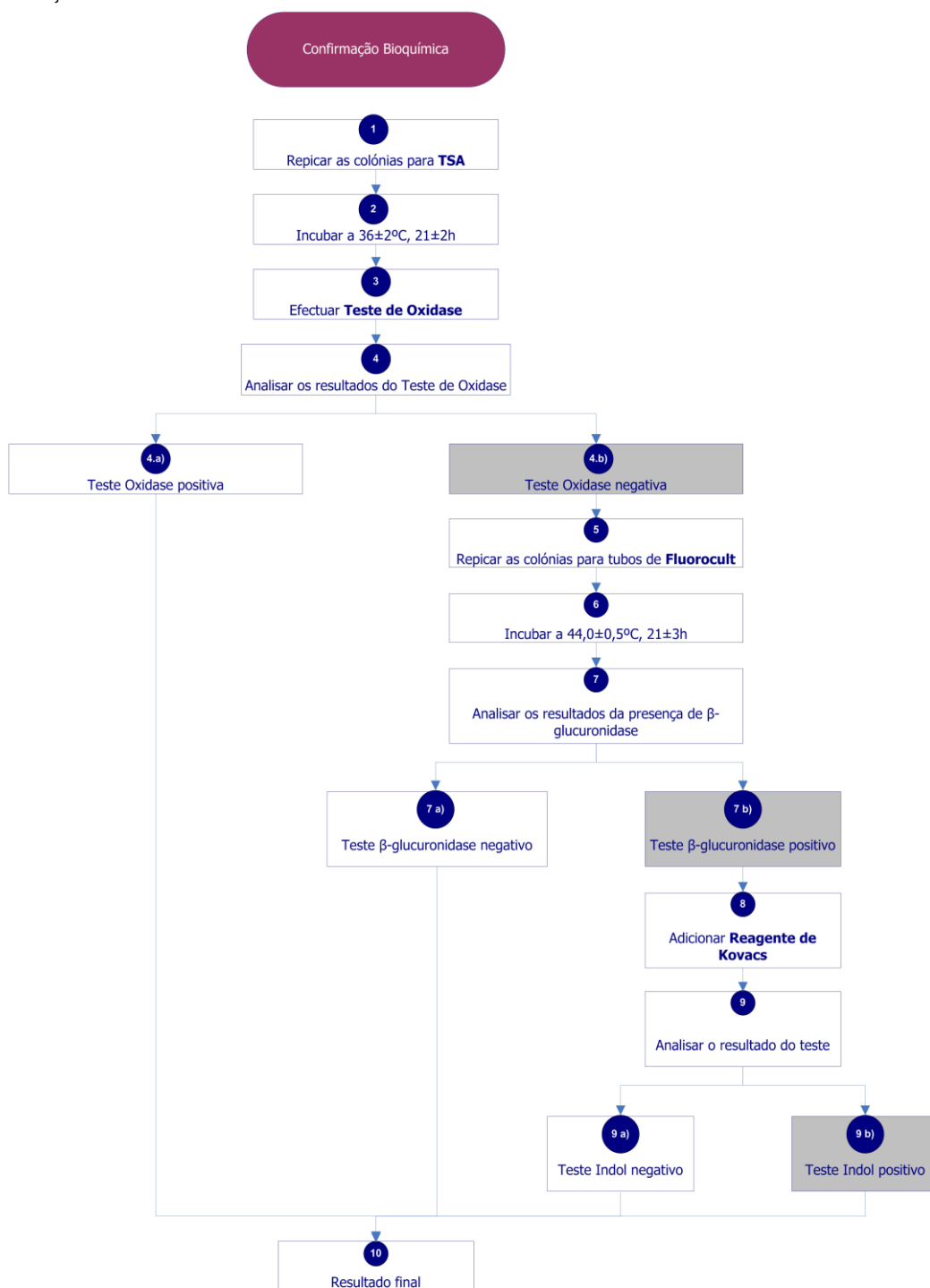
Para a pesquisa e quantificação de Bactérias Coliformes e *Escherichia coli* na amostra, procedeu-se de acordo com as seguintes tarefas:





## 2.2. Confirmação Bioquímica de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*

Antes de proceder à confirmação bioquímica, selecionou-se as diluições onde se efetuou as confirmações.

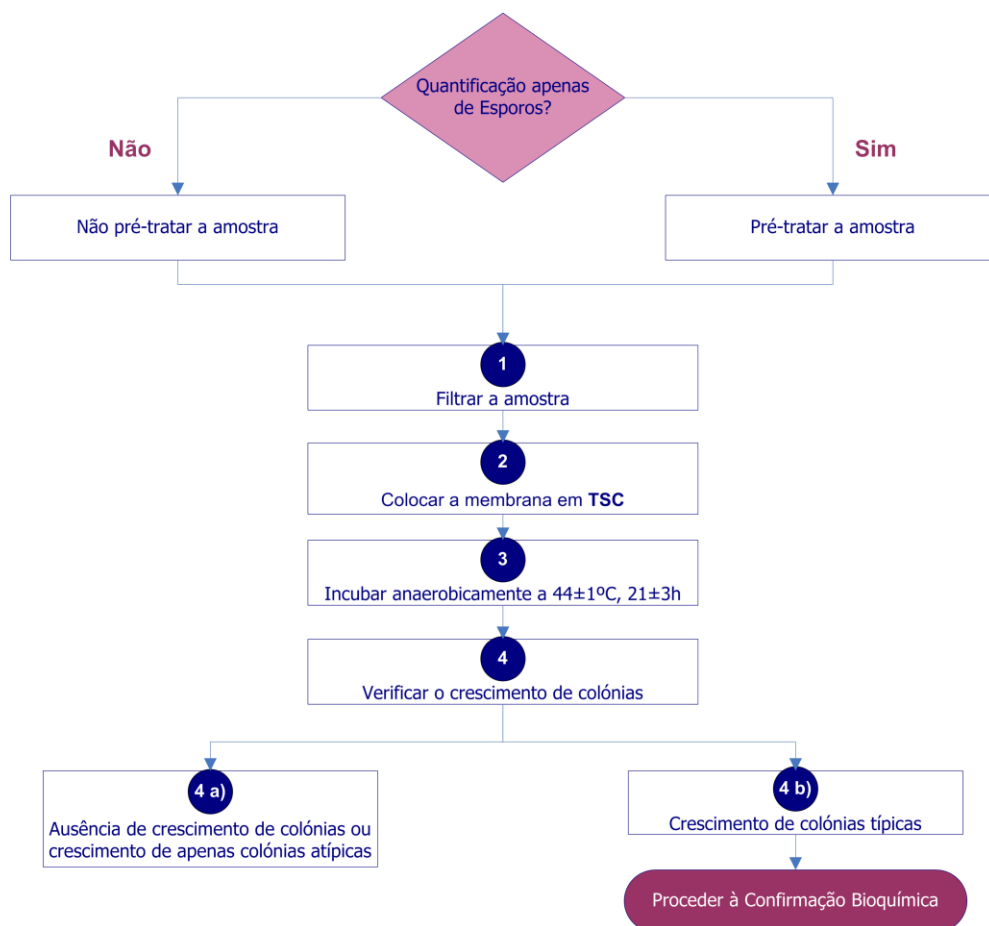


## Anexo A 3- Pesquisa e Quantificação de *Clostridium perfringens* - Método de filtração por membrana

### Descrição Geral do Método Analítico

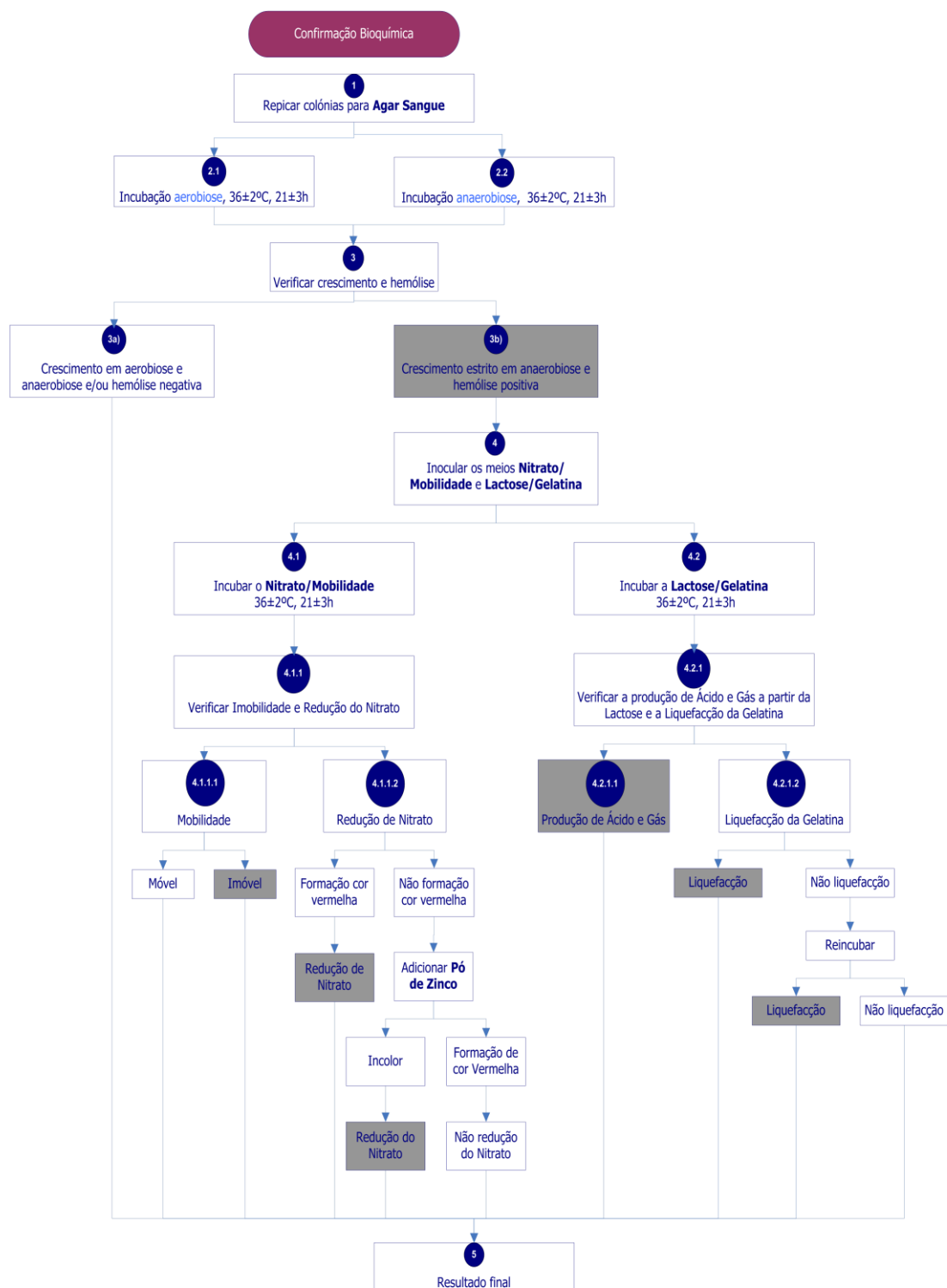
#### 3.1. Quantificação de Esporos e Células Vegetativas de *Clostridium perfringens*

Para a pesquisa e quantificação de *Clostridium perfringens* na amostra, procedeu-se de acordo com as seguintes tarefas:



### 3.2. Confirmação Bioquímica de *Clostridium perfringens*

Antes de proceder à confirmação bioquímica, selecionou-se as diluições onde se efetuou as confirmações.

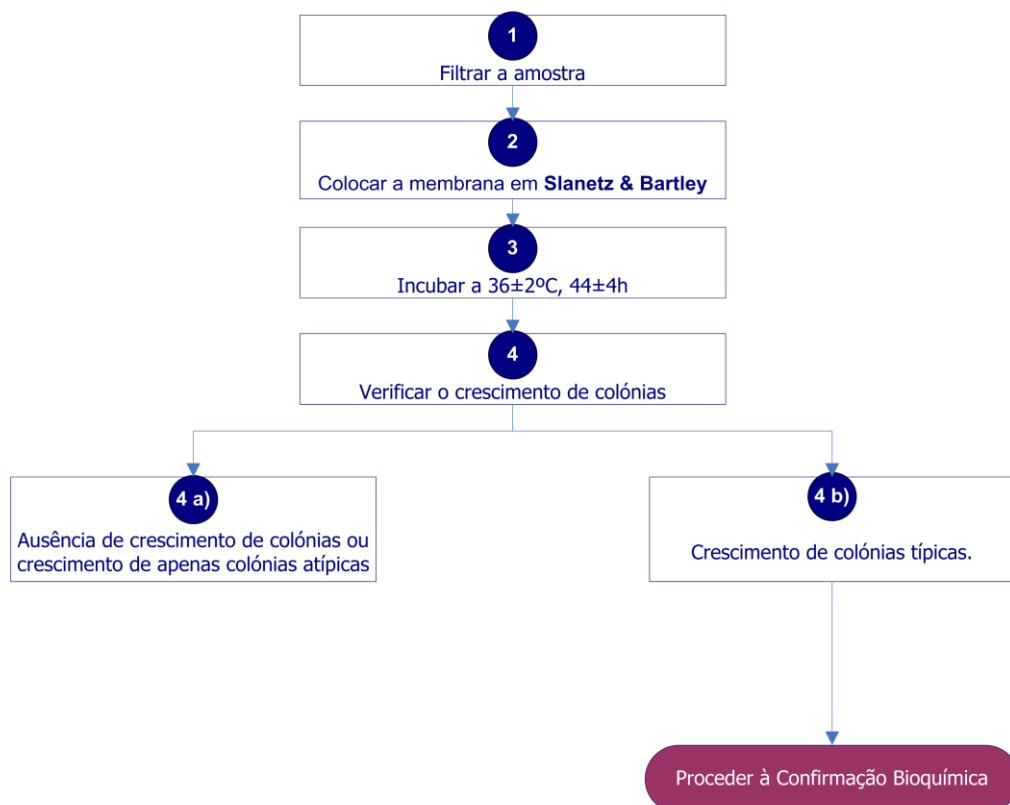


## Anexo A 4- Pesquisa e quantificação de Enterococos fecais - Método de filtração por membrana

### Descrição Geral do Método Analítico

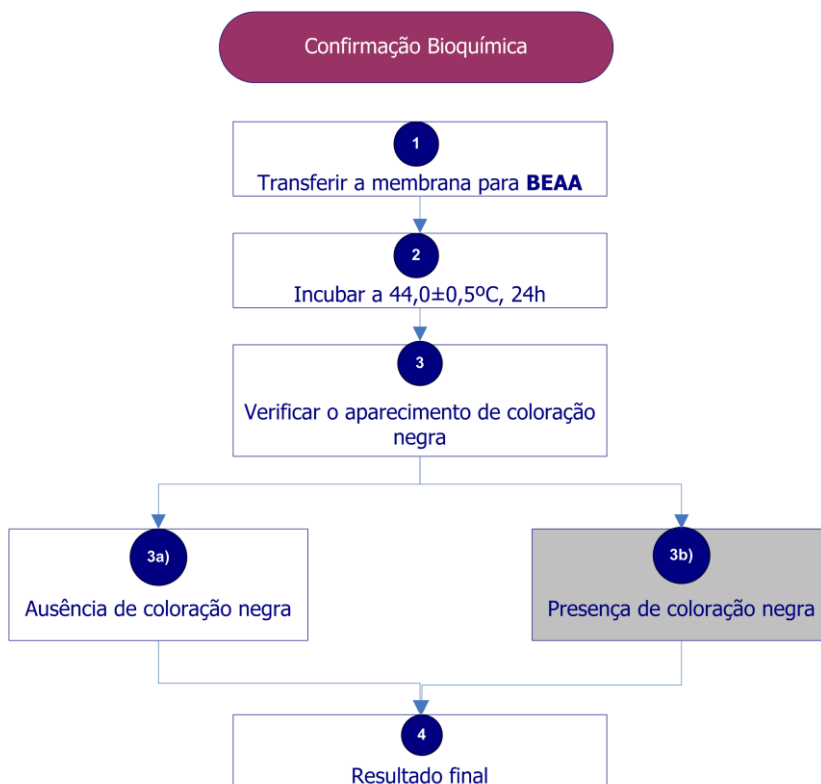
#### 4.1. Quantificação de Enterococos fecais

Para a pesquisa e quantificação de Enterococos fecais na amostra, proceder de acordo com as seguintes tarefas:



#### 4.2. Confirmação Bioquímica de Enterococos fecais

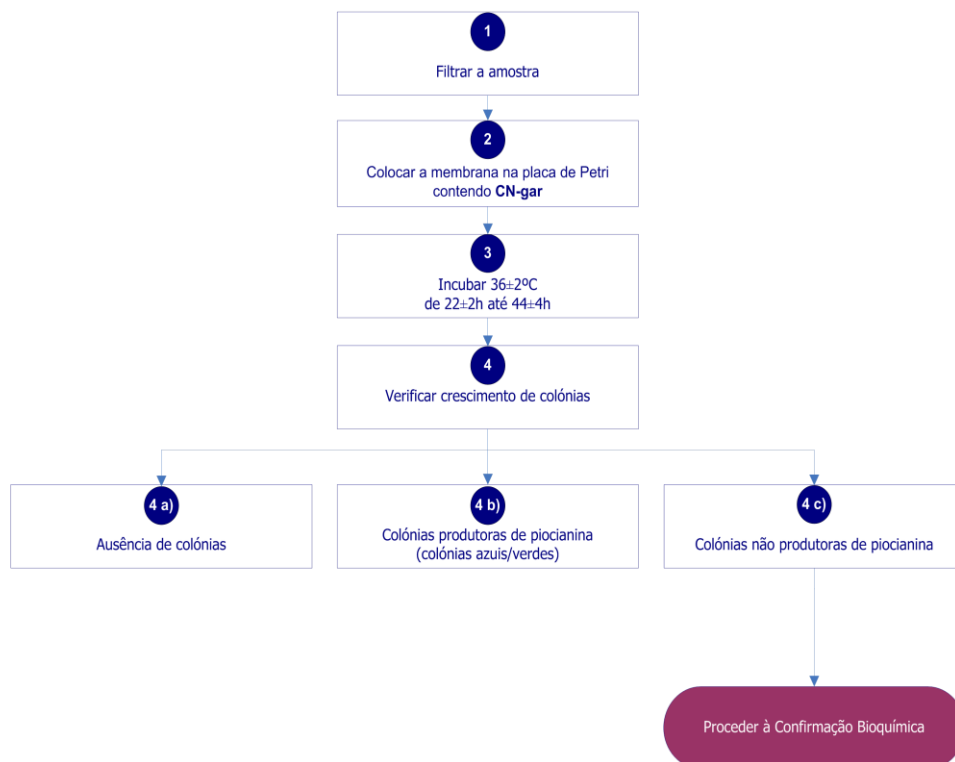
Antes de proceder à confirmação bioquímica, selecionou-se as diluições onde se efetuou as confirmações.



## Anexo A 5- Pesquisa e quantificação de Pseudomonas - Método de filtração por membrana

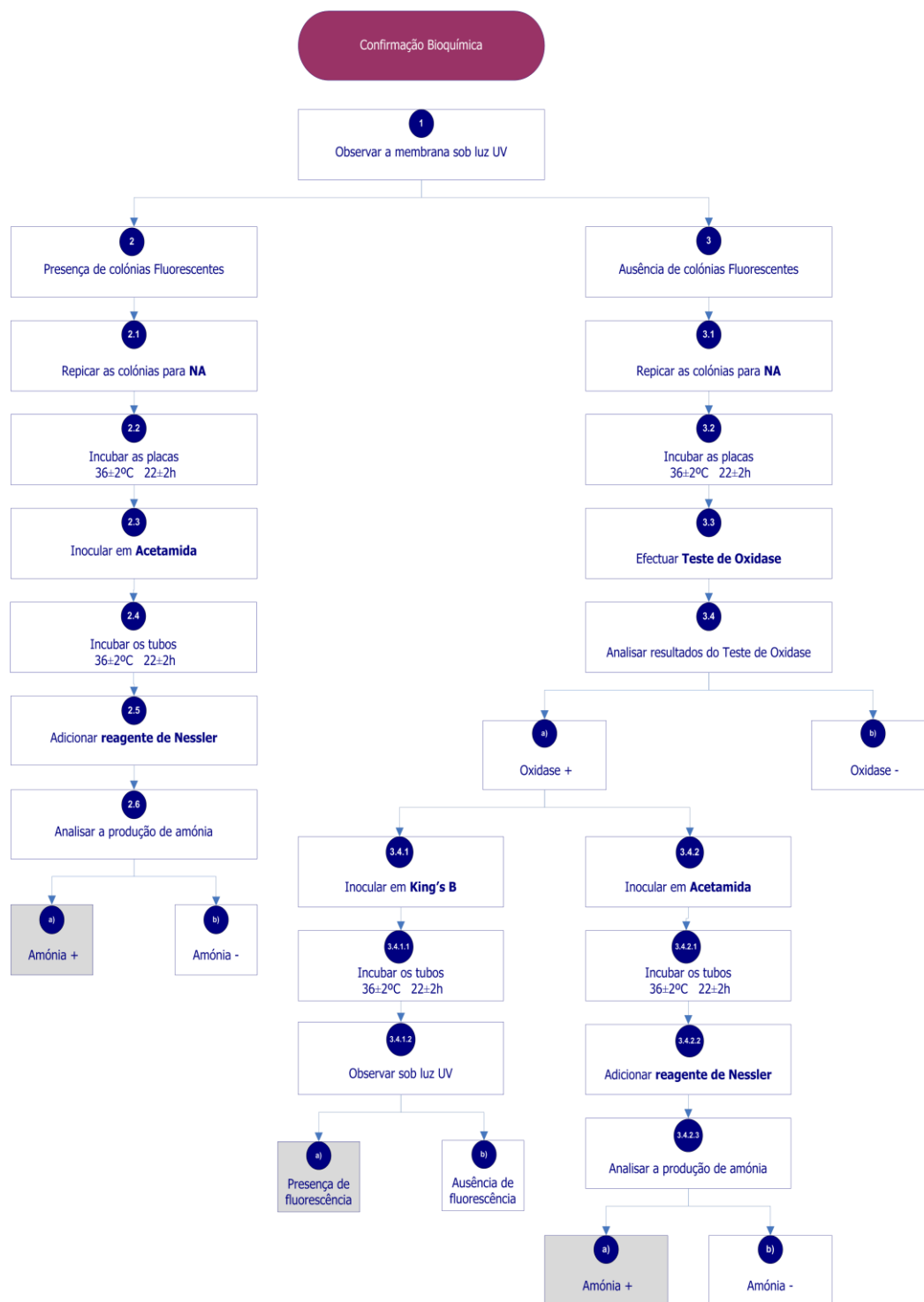
### Descrição Geral do Método Analítico

#### 5.1. Quantificação de Pseudomonas



## 5.2. Confirmação Bioquímica de *Pseudomonas aeruginosa*

Antes de proceder à confirmação bioquímica, selecionou-se as diluições onde se efetuou as confirmações.



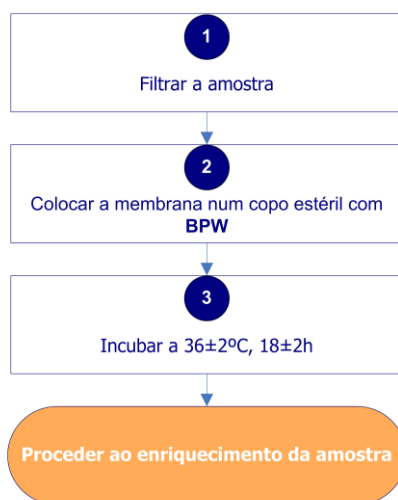
## Anexo A 6- Pesquisa de *Salmonella* spp.- Método de filtração por membrana

### Descrição Geral do Método Analítico

A detecção de *Salmonella* spp. requer quatro etapas sucessivas descritas nas seguintes tarefas:

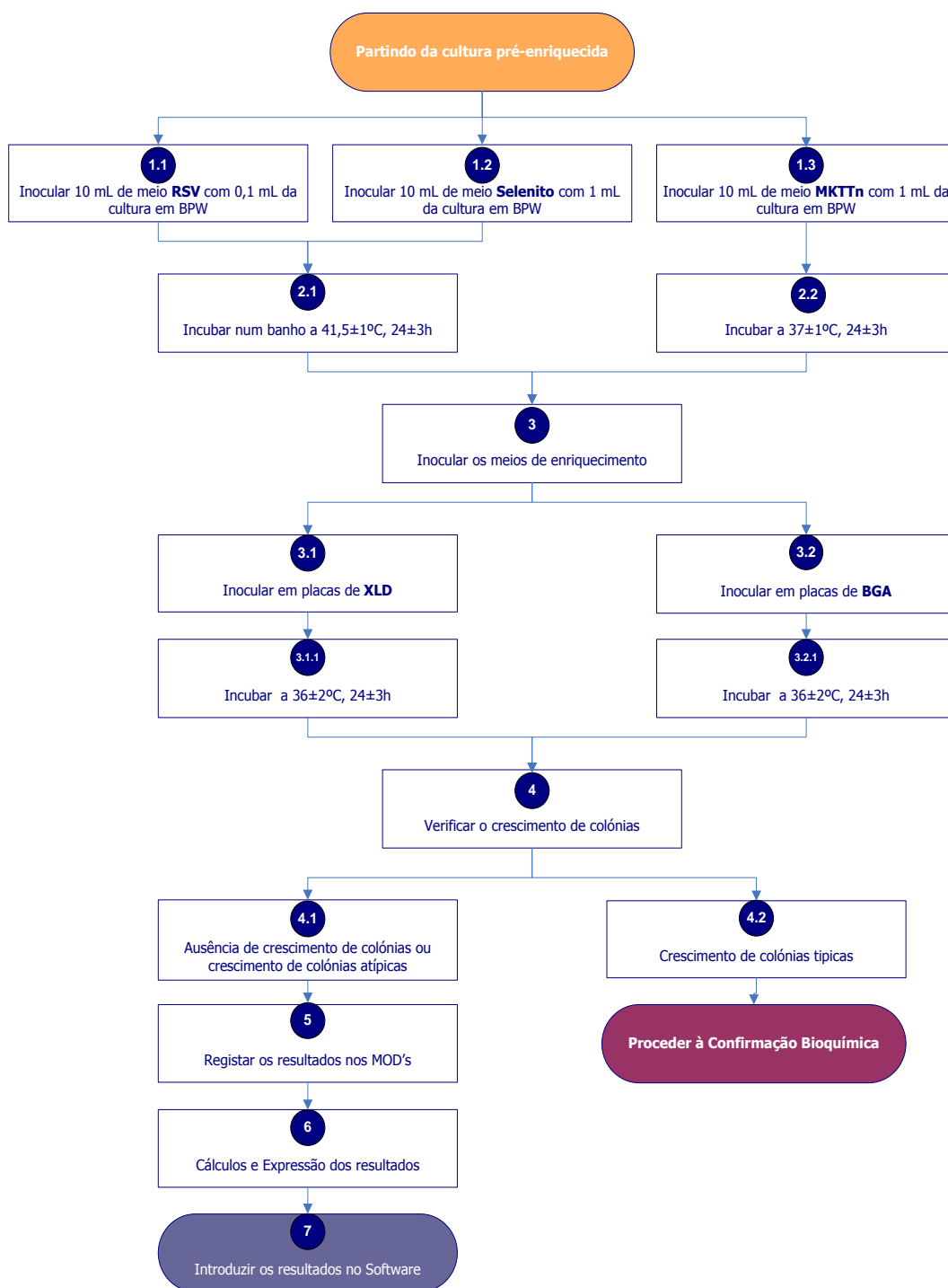
#### 6.1. Fase de pré-enriquecimento

Proceder de acordo com as seguintes tarefas:



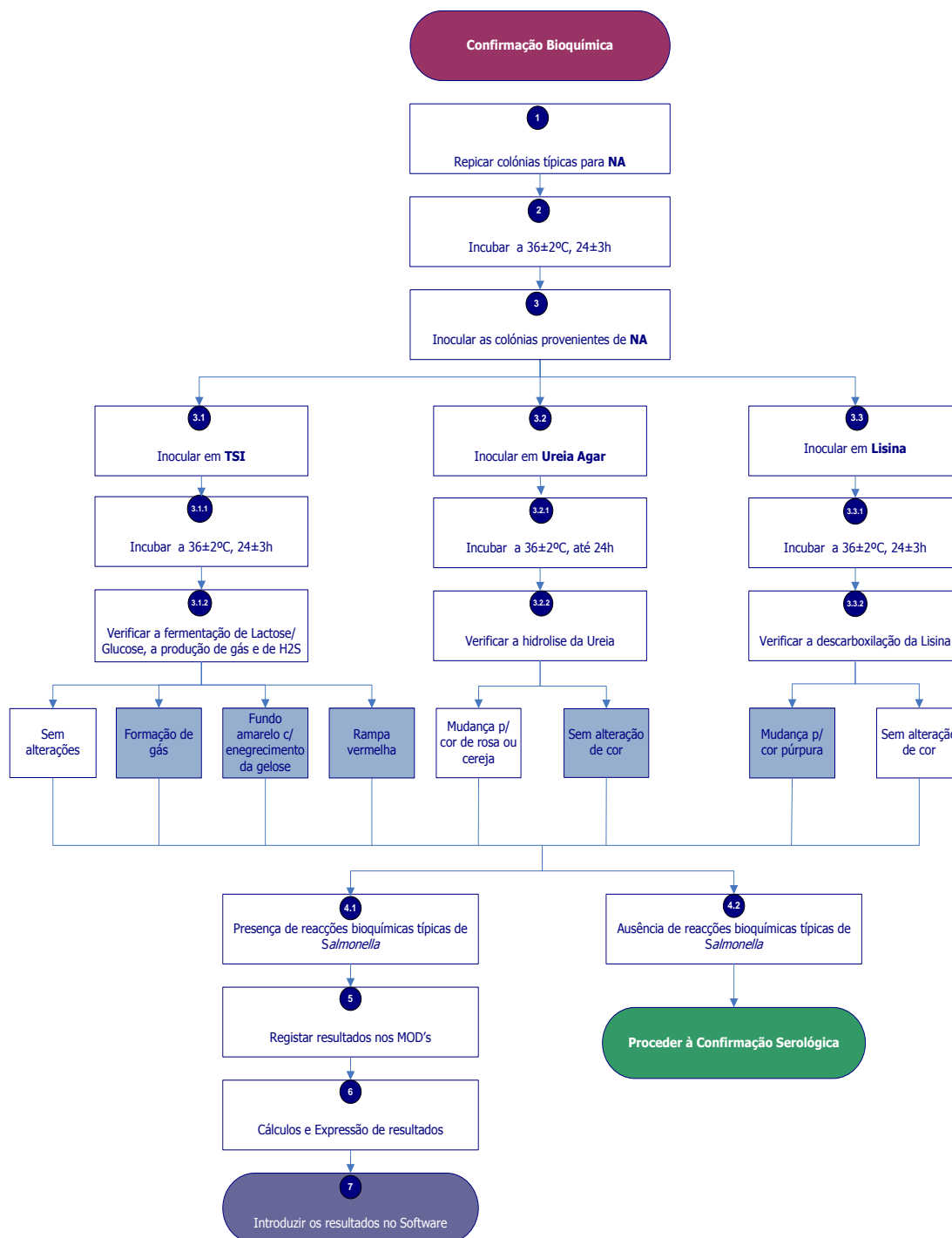


## 6.2. Enriquecimento seletivo



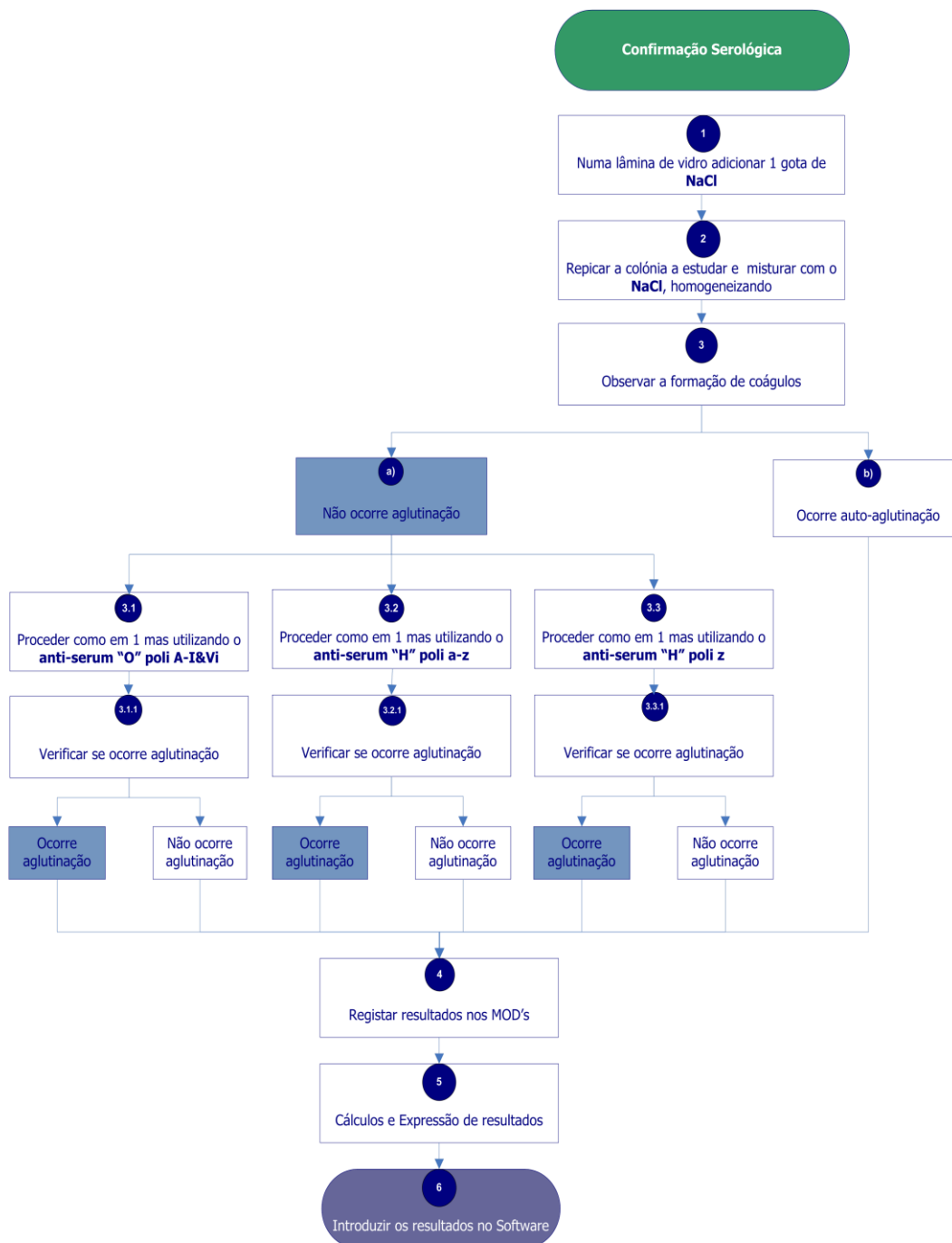
### 6.3. Confirmação Bioquímica de *Salmonella*

Antes de proceder à confirmação bioquímica, selecionar as colónias típicas para repicar.



#### 6.4. Confirmação Serológica de *Salmonella*

A detecção da presença de antígenos *Salmonella* O-, Vi- e H- é testada por aglutinação em lâmina com o soro apropriado a partir de colônias puras e após terem sido eliminadas as estirpes Auto aglutináveis.

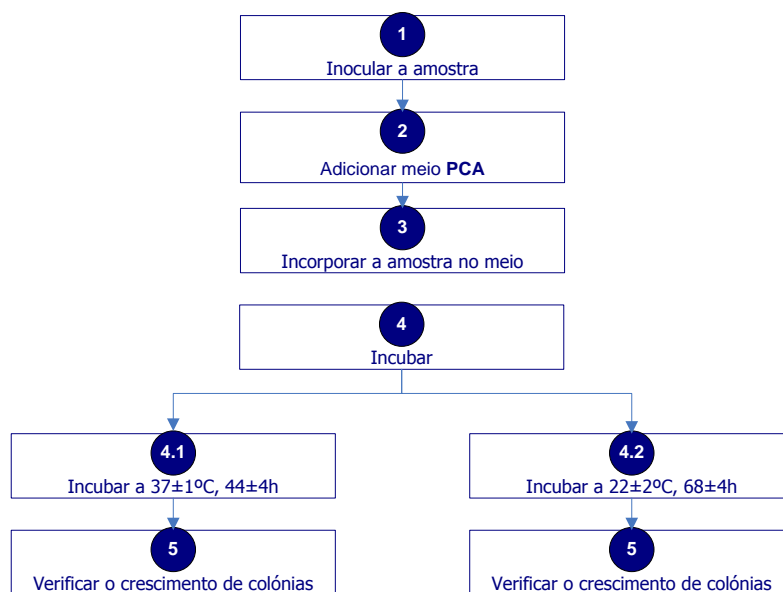


## Anexo A 7- Pesquisa de microrganismos cultiváveis- Método de incorporação

### Descrição Geral do Método Analítico

#### 7.1. Quantificação de microrganismos cultiváveis

Para a quantificação de microrganismos cultiváveis na amostra, procedeu-se de acordo com as seguintes tarefas:



**Anexo B**

## B1. Caracterização microbiológica dos Poços de Captação e do Poço Coletor, em simultâneo.

Tabela 1- Resultados da caracterização microbiológica do Poço Montante 1.

Data	Ponto de amostragem		Parâmetros analisados										
	Código	Nível de colheita (m)	Bactérias coliformes	<i>E. coli</i>	Enterococos	Atípicas de Enterococos	nº colónias 37°C	nº colónias 22°C	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Estafilococos coagulase</i>	<i>Estafilococos coagulase -</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i>
15-Mar-12	Mont 1	33	5	0	10	0	0	10	0	0	8	0	0
15-Mar-12	Mont 1	28	1	0	4	0	2	24	0	0	4	0	0
15-Mar-12	Mont 1	18	3	0	3	0	23	99	0	6	3	0	0
15-Mar-12	Mont 1	8	0	0	0	0	9	30	0	0	1	0	0
15-Mar-12	Mont 1	0	0	0	0	0	1	20	0	0	2	0	0
20-Mar-12	Mont 1	película superfície	0	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0
20-Mar-12	Mont 1	31	0	0	0	7	2	129	0	0	2	0	0
20-Mar-12	Mont 1	26	0	0	0	5	2	19	0	0	0	0	0
20-Mar-12	Mont 1	16	0	0	0	0	1	22	0	0	0	0	0
20-Mar-12	Mont 1	6	0	0	0	0	2	26	0	0	0	0	0
20-Mar-12	Mont 1	0	0	0	0	0	2	11	0	0	0	0	0
29-Mar-12	Mont 1	30	0	0	2	0	10	88	0	0	73	0	0
29-Mar-12	Mont 1	25	0	0	0	0	6	108	0	0	3	0	0
29-Mar-12	Mont 1	15	0	0	0	0	0	85	0	0	4	0	0
29-Mar-12	Mont 1	5	0	0	0	0	1	98	0	0	0	0	0
29-Mar-12	Mont 1	0	0	0	0	0	4	89	0	0	1	0	0

Tabela 2- Resultados da caracterização microbiológica do Poço Montante 2.

Data	Ponto de amostragem		Parâmetros analisados										
	Código	Nível de colheita (m)	Bactérias coliformes	<i>E. coli</i>	Enterococos	Atípicas de Enterococos	nº colónias 37°C	nº colónias 22°C	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Estafilococos coagulase</i>	<i>Estafilococos coagulase -</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i>
15-Mar-12	Mont 2	38	1	0	5	0	45	8	0	0	10	0	0
15-Mar-12	Mont 2	33	0	0	0	0	3	6	0	0	2	0	0
15-Mar-12	Mont 2	23	0	0	0	3	1	13	0	0	1	0	0
15-Mar-12	Mont 2	13	0	0	0	0	1	15	0	0	0	0	0
15-Mar-12	Mont 2	0	0	0	0	0	208	7	0	0	1	0	0
20-Mar-12	Mont 2	36	1	0	0	3	36	186	0	0	10	0	0
20-Mar-12	Mont 2	31	1	0	0	0	39	194	0	0	0	0	0
20-Mar-12	Mont 2	21	0	0	0	0	4	24	0	0	0	0	0
20-Mar-12	Mont 2	11	0	0	0	0	2	19	0	0	1	0	0
20-Mar-12	Mont 2	0	0	0	0	0	1	5	0	0	1	0	0
29-Mar-12	Mont 2	35	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0
29-Mar-12	Mont 2	30	0	0	0	0	0	36	0	0	4	0	0
29-Mar-12	Mont 2	20	0	0	0	0	0	54	0	0	0	0	0
29-Mar-12	Mont 2	10	0	0	0	0	0	8	0	0	3	0	0
29-Mar-12	Mont 2	0	0	0	0	0	0	28	0	0	4	0	0

Tabela 3- Resultados da caracterização microbiológica do Poço Coletor.

Data	Ponto de amostragem		Parâmetros analisados										
	Código	Nível de colheita (m)	Bactérias coliformes	<i>E. coli</i>	Enterococos	Atípicas de Enterococos	n° colônias 37°C	n° colônias 22°C	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Estafilococcus coagulase</i>	<i>Estafilococcus coagulase -</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i>
15-Mar-12	Coletor	17	0	0	0	0	0	77	0	0	0	0	0
15-Mar-12	Coletor	12	0	0	0	0	2	336	0	0	0	0	0
15-Mar-12	Coletor	7	0	0	0	0	2	194	0	0	0	0	0
15-Mar-12	Coletor	0	0	0	0	0	2	116	0	0	0	0	0
20-Mar-12	Coletor	12	0	0	0	0	2	298	1	NDTR	NDTR	0	0
20-Mar-12	Coletor	7	0	0	0	0	1	81	0	0	2	0	0
20-Mar-12	Coletor	2	0	0	0	0	0	83	0	0	2	0	0
20-Mar-12	Coletor	0	0	0	0	0	0	31	0	0	0	0	0
29-Mar-12	Coletor	12	0	0	0	0	6	>300	0	0	1	0	0
29-Mar-12	Coletor	7	0	0	0	0	0	204	0	0	0	0	0
29-Mar-12	Coletor	2	0	0	0	0	1	188	0	0	1	0	0
29-Mar-12	Coletor	0	0	0	0	0	2	236	0	0	1	0	0

NDTR- Não determinado, parâmetro não determinado no volume analisado (impossibilidade de obter colônias isoladas para contagem e /ou posterior identificação)

Tabela 4- Identificações bioquímicas ao nível da espécie dos Ecn do Poço Montante 1.

Data	Ponto de amostragem		Coagulase negativa											<i>S. aureus</i>							
	Código	Nível de colheita (m)	n° SCN	SCN = <i>Staphylococcus coag. Negativa</i>																	
				<i>chromogenes</i>	<i>cohnii</i>	<i>epidermidis</i>	<i>haemolyticus</i>	<i>hominis</i>	<i>hyicus</i>	<i>intermedius</i>	<i>lentus</i>	<i>saprophyticus</i>	<i>warneri</i>		<i>xylosus</i>	<i>saccharolyticus</i>	<i>K. rosea</i>	<i>M. Lylae</i>	<i>K. carniphila</i>		
15-Mar-12	Mont 1	33	8				3								5						
15-Mar-12	Mont 1	28	4			2	2														
15-Mar-12	Mont 1	18	3																		1
15-Mar-12	Mont 1	8	1												1						
15-Mar-12	Mont 1	0	2							1						1					
20-Mar-12	Mont 1	31	2			1				1					1						
29-Mar-12	Mont 1	30	73				49						24								
29-Mar-12	Mont 1	25	3												3					3	
29-Mar-12	Mont 1	15	4					1							1	1					
29-Mar-12	Mont 1	0	1		1																

Valor alterado, para mais fácil interpretação gráfica, igualado a 10

Tabela 5- Identificações bioquímicas ao nível da espécie dos Ecn do Poço Montante 2.

Data	Ponto de amostragem		Coagulase negativa																	
	Código	Nível de colheita (m)	nº SCN	SCN = Staphylococcus coag. negativa												K. rosea	M. Lylae	K. carniphila		
				chromogenes	cohnii	epidermidis	haemolyticus	hominis	hyicus	intermedius	lentus	saprophyticus	warneri	xylosus	saccharolyticus					
15-Mar-12	Mont 2	38	10									3				3		3		
15-Mar-12	Mont 2	33	2									1				1				
15-Mar-12	Mont 2	23	1							1										
15-Mar-12	Mont 2	0	1				1													
20-Mar-12	Mont 2	36	10									3								3
20-Mar-12	Mont 2	11	1																	
20-Mar-12	Mont 2	0	1							1										
29-Mar-12	Mont 2	35	2		1											1				
29-Mar-12	Mont 2	30	4		3			1												
29-Mar-12	Mont 2	10	3																1	
29-Mar-12	Mont 2	0	4					3											1	

Tabela 6- Identificações bioquímicas ao nível da espécie dos Ecn do Poço Coletor

Data	Ponto de amostragem		Coagulase negativa																	
	Código	Nível de colheita (m)	nº SCN	SCN = Staphylococcus coag. negativa												K. rosea	M. Lylae	K. carniphila		
				chromogenes	cohnii	epidermidis	haemolyticus	hominis	hyicus	intermedius	lentus	saprophyticus	warneri	xylosus	saccharolyticus					
20-Mar-12	Coletor	7	2			1						1								
20-Mar-12	Coletor	2	1													1				
29-Mar-12	Coletor	2	1							1										
29-Mar-12	Coletor	0	1												1					



## B2. Poço Coletor

Tabela 7- Resultados da caracterização microbiológica do Poço Coletor.

Data	Ponto de amostragem		Parâmetros analisados										
	Código	Nível de colheita (m)	Bactérias coliformes	<i>E. coli</i>	Enterococos	Atípicas de Enterococos	nº colônias 37°C	nº colônias 22°C	<i>Clostridium perfringens</i>	Estafilococos coagulase	Estafilococos coagulase -	<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i>
20-Dez-11	Coletor	22	0	0	0	0	1	0	0	0	15	0	0
20-Dez-11	Coletor	17	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0
20-Dez-11	Coletor	12	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
20-Dez-11	Coletor	7	0	0	0	0	0	3	0	0	58	2	0
20-Dez-11	Coletor	0	0	0	0	0	8	0	0	0	31	0	0
7-Mar-12	Coletor	17	0	0	0	2	0	2	0	0	92	0	0
7-Mar-12	Coletor	12	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0
7-Mar-12	Coletor	7	0	0	0	0	0	4	0	0	19	0	0
7-Mar-12	Coletor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
15-Mar-12	Coletor	17	0	0	0	0	0	77	0	0	0	0	0
15-Mar-12	Coletor	12	0	0	0	0	2	336	0	0	0	0	0
15-Mar-12	Coletor	7	0	0	0	0	2	194	0	0	0	0	0
15-Mar-12	Coletor	0	0	0	0	0	2	116	0	0	0	0	0
20-Mar-12	Coletor	12	0	0	0	0	2	298	1	NDTR	NDTR	0	0
20-Mar-12	Coletor	7	0	0	0	0	1	81	0	0	2	0	0
20-Mar-12	Coletor	2	0	0	0	0	0	83	0	0	2	0	0
20-Mar-12	Coletor	0	0	0	0	0	0	31	0	0	0	0	0
29-Mar-12	Coletor	12	0	0	0	0	6	>300	0	0	1	0	0
29-Mar-12	Coletor	7	0	0	0	0	0	204	0	0	0	0	0
29-Mar-12	Coletor	2	0	0	0	0	1	188	0	0	1	0	0
29-Mar-12	Coletor	0	0	0	0	0	2	236	0	0	1	0	0
5-Abr-12	Coletor	8			0	36	9	>300		NDTR	NDTR		
5-Abr-12	Coletor	3			0	0	1	>300		NDTR	NDTR		
5-Abr-12	Coletor	0			0	0	0	136		NDTR	NDTR		
13-Abr-12	Coletor	15			0	0	1	>300		0	0		
13-Abr-12	Coletor	10			0	0	3	129		0	0		
13-Abr-12	Coletor	5			0	0	0	77		0	3		
13-Abr-12	Coletor	0			0	0	1	50		0	1		
19-Abr-12	Coletor	12			0	0	0	361		0	0		
19-Abr-12	Coletor	7			0	0	0	268		0	0		
19-Abr-12	Coletor	2			0	0	1	131		0	0		
19-Abr-12	Coletor	0			0	0	0	95		0	0		
27-Abr-12	Coletor	12			0	0	18	>300		0	0		
27-Abr-12	Coletor	7			0	0	18	>300		0	0		
27-Abr-12	Coletor	2			0	0	6	111		0	0		
27-Abr-12	Coletor	0			0	0	1	121		0	0		
3-Mai-12	Coletor	12			0	0	0	126		0	2		
3-Mai-12	Coletor	7			0	5	0	153		0	2		
3-Mai-12	Coletor	2			0	0	0	82		0	0		
3-Mai-12	Coletor	0			0	0	1	44		0	2		
15-Mai-12	Coletor	10			0	0	0	14		0	2		
15-Mai-12	Coletor	5			0	0	0	135		0	3		
15-Mai-12	Coletor	0			0	0	0	236		0	1		
22-Mai-12	Coletor	12			0	0	1	74		0	0		
22-Mai-12	Coletor	7			0	0	0	77		0	3		
22-Mai-12	Coletor	2			0	0	0	92		0	11		
22-Mai-12	Coletor	0			0	0	0	105		0	16		
30-Mai-12	Coletor	11			0	0	0	112		0	0		
30-Mai-12	Coletor	6			0	0	0	94		0	0		
30-Mai-12	Coletor	1			0	0	3	56		0	2		
30-Mai-12	Coletor	0			0	0	2	46		0	0		

NDTR- Não determinado, parâmetro não determinado no volume analisado (impossibilidade de obter colônias isoladas para contagem e /ou posterior identificação

■ Não foi efetuada a determinação desse parâmetro.

Tabela 8- Resultados da identificação ao nível da espécie dos Ecn do Poço Coletor

Data	Ponto de amostragem		Coagulase negativa															
	Código	Nível de colheita (m)	nº SCN	Scn= Staphylococcus coag. negativa											K. rosea	M. Lylæe		
				<i>chromogenes</i>	<i>epidermidis</i>	<i>haemolyticus</i>	<i>hominis</i>	<i>hyicus</i>	<i>intermedius</i>	<i>saprophyticus</i>	<i>lentus</i>	<i>warneri</i>	<i>xylosus</i>	<i>saccharolyticus</i>				
30-Nov-11	Coletor	0	39				26									13		
20-Dez-11	Coletor	22	15			5		5						5				
20-Dez-11	Coletor	17	5											5				
20-Dez-11	Coletor	12	2												2			
20-Dez-11	Coletor	7	58					19						39				
20-Dez-11	Coletor	0	31											31				
7-Mar-12	Coletor	17	92												92			
7-Mar-12	Coletor	12	19											13	6			
7-Mar-12	Coletor	7	19											13			6	
7-Mar-12	Coletor	0	4											4				
20-Mar-12	Coletor	7	2		1									1				
20-Mar-12	Coletor	2	1											1				
29-Mar-12	Coletor	2	1						1									
29-Mar-12	Coletor	0	1												1			
13-Abr-12	Coletor	5	3			1	1											1
13-Abr-12	Coletor	0	1											1				
3-Mai-12	Coletor	12	2					2										
3-Mai-12	Coletor	7	2											2				
3-Mai-12	Coletor	0	2					1							1			
15-Mai-12	Coletor	10	2	1					1									
15-Mai-12	Coletor	5	3											1				
15-Mai-12	Coletor	0	1												1			
22-Mai-12	Coletor	7	3		1		2											
22-Mai-12	Coletor	0	16				5			5		5						

Nota: Alguns dos Estafilococos identificados como coagulase negativa, não foram identificados ao nível da espécie, devido ao não crescimento do isolado.



## Anexo C

## C1. Qualidade da água

Tabela 9- Parâmetros relativos à qualidade da água do Rio Douro.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Carbono Orgânico Total	Alcalinidade total	Condutividade a 25 °C	Turvação	Temperatura in situ
2-Jul-03	Rio Douro	0		80,0	267,0	4,0	22,7
6-Ago-03	Rio Douro	0		75,7	256,0	3,7	24,4
3-Set-03	Rio Douro	0		74,1	283,0	4,7	25,2
1-Out-03	Rio Douro	0		84,9	288,0	3,2	22,2
5-Nov-03	Rio Douro	0		75,0	271,0	6,8	15,7
3-Dez-03	Rio Douro	0		46,9	185,6	8,3	12,0
7-Jan-04	Rio Douro	0		60,8	262,0	6,3	10,3
4-Fev-04	Rio Douro	0	1,3	60,4	170,4	5,1	13,9
3-Mar-04	Rio Douro	0		68,5	202,0	3,4	13,0
7-Abr-04	Rio Douro	0		73,2	245,0	3,1	14,7
7-Jul-04	Rio Douro	30		89,4	272,0	1,6	23,0
4-Ago-04	Rio Douro	30	2,1	77,5	283,0	2,4	24,7
1-Set-04	Rio Douro	90		86,7	263,0	1,5	23,7
6-Out-04	Rio Douro	30		86,9	257,0	3,2	21,5
3-Nov-04	Rio Douro	1100	2,1	45,8	178,4	4,1	15,9
2-Dez-04	Rio Douro	0		77,6	257,0	3,6	12,4
5-Jan-05	Rio Douro	0		60,0	221,0	2,4	9,1
2-Fev-05	Rio Douro	0	0,0	63,6	213,0	1,9	9,5
2-Mar-05	Rio Douro	0		77,3	262,0	2,5	8,7
7-Abr-05	Rio Douro	0		89,7	322,0	2,4	12,1
4-Mai-05	Rio Douro	0	2,3	73,5	262,0	2,8	16,6
3-Ago-05	Rio Douro	28	2,6	89,6	308,0	2,7	25,5
1-Fev-06	Rio Douro	0	2,1	74,5	284,0	2,4	8,3
3-Mai-06	Rio Douro	0	1,8	56,0	187,0	2,9	16,9
2-Ago-06	Rio Douro	0	0,0	88,0	289,0	2,0	25,8
16-Ago-06	Rio Douro	0	2,0	84,0	273,0	3,2	25,3
2-Nov-06	Rio Douro	0	3,6	42,0	153,0	15,0	18,1
14-Fev-07	Rio Douro	0	1,8	45,0	156,0	8,1	10,0
2-Mai-07	Rio Douro	0	2,9	73,0	221,0	3,6	15,4
1-Ago-07	Rio Douro	0	2,3	98,0	332,0	3,0	23,3
7-Nov-07	Rio Douro	0	2,3	85,0	272,0	3,1	16,8
6-Fev-08	Rio Douro	0	2,7	58,0	208,0	2,7	11,3
7-Mai-08	Rio Douro	0	2,6	73,0	282,0	3,1	14,7
6-Ago-08	Rio Douro	0	4,2	117,0	356,0	1,7	25,9
12-Nov-08	Rio Douro	0	2,5	105,0	340,0	1,1	17,4
4-Fev-09	Rio Douro	0	3,4	62,0	232,0	3,8	12,6
13-Mai-09	Rio Douro	0	2,6	98,0	320,0	2,6	17,0
5-Ago-09	Rio Douro	0	2,5	98,0	334,0	1,8	24,2
4-Nov-09	Rio Douro	0	3,7	88,0	301,0	2,4	20,5
3-Fev-10	Rio Douro	0	2,9	57,0	200,0	52,0	8,6
12-Mai-10	Rio Douro	10	2,1	68,0	230,0	2,8	15,9
11-Ago-10	Rio Douro	0	2,4	99,0	296,0	2,6	24,3
10-Nov-10	Rio Douro	0	1,9	77,0	256,0	2,7	17,1
9-Fev-11	Rio Douro	0	2,1	76,0	243,0	4,0	8,5
11-Mai-11	Rio Douro	300	1,9	63,0	211,0	3,8	18,3
10-Ago-11	Rio Douro	10	2,2	89,0	283,0	1,9	24,4
9-Nov-11	Rio Douro	60	2,0	84,0	275,0	3,3	17,1
9-Mai-12	Rio Douro	20	1,9	45,0	197,0	4,3	14,8
8-Ago-12	Rio Douro	40	2,5	82,0	316,0	4,4	24,3

Valores alterados, para mais fácil interpretação gráfica, igualados a 200.

Tabela 10- Parâmetros relativos à qualidade da água do Poço Coletor - 2011.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Carbono Orgânico Total	Alcalinidade total	Condutividade a 25 °C	Temperatura in situ	Turvação
8-Jun-11	Poço Coletor	0	0,9	75,0	278,0	22,0	0,0
15-Jun-11	Poço Coletor	1	0,9		278,0	21,8	0,0
22-Jun-11	Poço Coletor	0	0,9		284,0	23,1	0,0
29-Jun-11	Poço Coletor	0	0,9		266,0	23,7	0,0
6-Jul-11	Poço Coletor	0	0,9		265,0	23,2	0,0
13-Jul-11	Poço Coletor	2	1,0	78,0	273,0	23,6	0,0
20-Jul-11	Poço Coletor	2	1,0		276,0	23,7	0,0
27-Jul-11	Poço Coletor	1	1,6		276,0	25,4	0,0
3-Ago-11	Poço Coletor	0	0,0		272,0	25,2	0,0
10-Ago-11	Poço Coletor	0	1,0	91,0	276,0	24,4	0,0
17-Ago-11	Poço Coletor	0	1,0		300,0	24,8	0,0
24-Ago-11	Poço Coletor	0	1,0		304,0	25,9	0,0
31-Ago-11	Poço Coletor	86	1,5		311,0	24,6	0,0
7-Set-11	Poço Coletor	0	1,0		327,0	24,5	0,0
14-Set-11	Poço Coletor	0	1,1	72,0	334,0	24,3	0,0
21-Set-11	Poço Coletor	2	1,0		342,0	23,5	0,0
28-Set-11	Poço Coletor	0	1,1		327,0	23,2	0,0
6-Out-11	Poço Coletor	0	1,0		327,0	22,7	0,0
12-Out-11	Poço Coletor	1	1,2	86,0	321,0	21,3	0,0
19-Out-11	Poço Coletor	2	0,9		308,0	21,3	0,0
26-Out-11	Poço Coletor	2	0,9		308,0	19,6	0,0
2-Nov-11	Poço Coletor	2	1,1		304,0	18,2	0,0
9-Nov-11	Poço Coletor	2	1,0	84,0	293,0	17,1	0,0
16-Nov-11	Poço Coletor	0	1,0		286,0	15,8	0,0
23-Nov-11	Poço Coletor	7	1,2		251,0	14,8	0,3
30-Nov-11	Poço Coletor	0	1,0		231,0	13,9	0,0
7-Dez-11	Poço Coletor	0	1,0		236,0	12,8	0,0
14-Dez-11	Poço Coletor	0	1,2	66,0	227,0	13,2	0,0
21-Dez-11	Poço Coletor	0	1,0		222,0	12,3	0,0
28-Dez-11	Poço Coletor	0	1,1		218,0	10,7	0,0

Valor alterado, para mais fácil interpretação gráfica, igualado a 10.

Tabela 11- Parâmetros relativos à qualidade da água do Poço Coletor - 2012.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Carbono Orgânico Total	Alcalinidade total	Condutividade a 25 °C	Temperatura in situ	Turvação
4-Jan-12	Poço Coletor	1	2,1		222,0	10,5	0,0
11-Jan-12	Poço Coletor	0	1,0	63,0	218,0	9,8	0,0
18-Jan-12	Poço Coletor	0	1,0		215,0	9,1	0,0
25-Jan-12	Poço Coletor	2	1,1		220,0	9,7	0,0
1-Fev-12	Poço Coletor	2	1,0		219,0	9,9	0,0
8-Fev-12	Poço Coletor	0	1,0	69,0	233,0	9,1	0,3
15-Fev-12	Poço Coletor	1	1,1		224,0	9,1	0,2
22-Fev-12	Poço Coletor	4	1,0		226,0	9	0,0
29-Fev-12	Poço Coletor	0	1,0		219,0	9,6	0,4
7-Mar-12	Poço Coletor	3	1,1		224,0	10,4	0,0
14-Mar-12	Poço Coletor	1	1,1	66,0	228,0	11,4	0,0
28-Mar-12	Poço Coletor	2	1,3		235,0	12,8	0,0
4-Abr-12	Poço Coletor	0	1,2		239,0	13,5	0,0
11-Abr-12	Poço Coletor	0	1,2	72,0	240,0	13,6	0,0
18-Abr-12	Poço Coletor	0	1,9		252,0	14,4	0,0
26-Abr-12	Poço Coletor	2	1,1		252,0	14,4	0,3
2-Mai-12	Poço Coletor	0	1,6		238,0	14,2	0,0
9-Mai-12	Poço Coletor	3	1,1	61,0	226,0	14,8	0,0
16-Mai-12	Poço Coletor	0	0,9		215,0	16,4	0,0
23-Mai-12	Poço Coletor	2	0,9		221,0	17,4	0,0
30-Mai-12	Poço Coletor	0	0,9		213,0	18,6	0,0
6-Jun-12	Poço Coletor	0	0,8		207,0	20,7	0,0
13-Jun-12	Poço Coletor	0	0,9	58,0	221,0	19,1	0,0
20-Jun-12	Poço Coletor	0	0,8		219,0	20,9	0,0
27-Jun-12	Poço Coletor	0	1,0		240,0	21,8	0,0
4-Jul-12	Poço Coletor	1	1,5		268,0	22,3	0,0
11-Jul-12	Poço Coletor	0	0,8	84,0	288,0	22,5	0,0
18-Jul-12	Poço Coletor	0	1,2		307,0	23,9	0,0
25-Jul-12	Poço Coletor	0	0,9		312,0	24,4	0,0
1-Ago-12	Poço Coletor	0	1,8		318,0	24,7	0,0
8-Ago-12	Poço Coletor	0	1,0	76,0	309,0	24,3	0,0
16-Ago-12	Poço Coletor	0	1,1		315,0	23,9	0,0
22-Ago-12	Poço Coletor	0	1,3		317,0	24,5	0,0
29-Ago-12	Poço Coletor	0	2,0		316,0	25,1	0,0
5-Set-12	Poço Coletor	0	2,2		315,0	25	0,0
12-Set-12	Poço Coletor	0		87,0	318,0	24,8	0,0

## C2. Condições meteorológicas

Tabela 12- Condições meteorológicas na região do Porto e Ecn presentes no Rio Douro.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
09-Fev-07			8,3	11,3	14,7
10-Fev-07			0,9	11,8	15,9
11-Fev-07			12,4	14,1	14,8
12-Fev-07			31,1	10,0	14,6
14-Fev-07	Rio Douro	0	5,7	11,1	15,3
27-Abr-07			0,0	8,4	16,7
28-Abr-07			0,0	11,3	16,0
29-Abr-07			5,3	11,0	17,0
30-Abr-07			6,3	8,4	14,2
01-Mai-07			10,5	7,2	15,0
02-Mai-07	Rio Douro	0	2,4	10,8	17,0
29-Jul-07			0,0	17,4	33,5
30-Jul-07			0,0	16,7	35,6
31-Jul-07			0,1	17,6	22,4
01-Ago-07	Rio Douro	0	0,0	17,7	23,6
02-Nov-07			0,0	14,9	26,8
03-Nov-07			0,0	18,7	35,2
04-Nov-07			0,0	19,2	31,6
05-Nov-07			0,0	15,2	21,7
06-Nov-07			0,0	16,0	21,9
07-Nov-07	Rio Douro	0	0,0	11,5	25,2
01-Fev-08			4,8	6,9	13,1
02-Fev-08			0,0	3,9	15,4
03-Fev-08			11,0	9,1	14,3
04-Fev-08			1,3	8,3	14,7
05-Fev-08			1,6	11,0	14,2
06-Fev-08	Rio Douro	0	0,0	9,8	18,8
02-Mai-08			0,0	8,9	21,2
03-Mai-08			0,0	13,5	21,7
04-Mai-08			0,6	14,1	19,5
05-Mai-08			0,0	10,7	20,2
07-Mai-08	Rio Douro	0	0,0	12,3	20,2
01-Ago-08			0,0	14,5	22,0
02-Ago-08			0,0	14,5	25,0
03-Ago-08			0,0	14,9	26,0
04-Ago-08			0,0	14,8	25,1
05-Ago-08			0,0	15,6	22,6
06-Ago-08	Rio Douro	0	0,6	16,4	23,6
07-Nov-08			4,8	9,0	16,5
08-Nov-08			0,0	8,8	16,3
09-Nov-08			0,0	12,9	17,8
10-Nov-08			0,5	9,8	17,5
11-Nov-08			16,8	11,4	14,5

Tabela 13- Continuação - Condições meteorológicas na região do Porto e Ecn presentes no Rio Douro.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
12-Nov-08	Rio Douro	0	0,1	5,1	15,1
30-Jan-09			24,3	12,0	14,0
31-Jan-09			12,0	7,0	12,3
01-Fev-09			21,2	7,9	11,1
02-Fev-09			0,0	5,0	13,2
03-Fev-09			5,5	3,7	11,8
04-Fev-09	Rio Douro	0	14,8	7,8	12,5
08-Mai-09			0,0	8,0	17,4
09-Mai-09			0,0	12,2	19,4
10-Mai-09			2,6	14,1	22,4
11-Mai-09			2,4	13,2	17,8
12-Mai-09			1,0	12,4	17,8
13-Mai-09	Rio Douro	0	4,0	12,5	16,7
31-Jul-09			0,0	17,0	28,9
03-Ago-09			0,0		20,5
04-Ago-09			0,0	14,8	20,6
05-Ago-09	Rio Douro	0	0,1	13,5	19,7
30-Out-09			0,0	16,2	21,6
31-Out-09			1,5	17,2	21,4
01-Nov-09			18,9	18,4	19,2
02-Nov-09			0,2	12,2	17,2
03-Nov-09			2,1	12,4	18,4
04-Nov-09	Rio Douro	0	1,7	14,1	17,6
29-Jan-10			0,7	3,4	13,0
30-Jan-10			0,1	4,7	13,6
31-Jan-10			0,8	6,3	13,3
01-Fev-10			0,0	1,6	14,2
02-Fev-10			0,0	5,2	15,9
03-Fev-10	Rio Douro	0	0,0	5,7	15,6
07-Mai-12			2,4	10,2	15,9
08-Mai-12			10,9	10,8	15,7
09-Mai-12			3,4	11,8	16,5
10-Mai-12			7,0	11,9	15,2
11-Mai-12			2,0	9,4	17,2
12-Mai-10	Rio Douro	10	0,0	8,3	15,4
06-Ago-10			0,0	16,3	32,8
07-Ago-10			0,0	21,4	33,6
08-Ago-10			0,0	17,9	27,3
09-Ago-10			0,3	18,3	31,9
10-Ago-10			0,0	20,6	28,3
11-Ago-10	Rio Douro	0	0,0	14,5	26,4



Tabela 14- Continuação - Condições meteorológicas na região do Porto e Ecn presentes no Rio Douro.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
05-Nov-10			0,0	14,1	24,1
06-Nov-10			0,0	11,9	18,4
07-Nov-10			0,2	12,1	17,3
08-Nov-10			10,0	7,5	15,5
09-Nov-10			8,6	10,0	15,3
10-Nov-10	Rio Douro	0	0,9	8,5	16,1
04-Fev-11			0,0	3,8	14,5
05-Fev-11			0,0	3,9	15,1
06-Fev-11			0,0	4,6	16,9
07-Fev-11			0,0	4,9	16,0
08-Fev-11			1,8	6,9	15,0
09-Fev-11	Rio Douro	0	0,2	11,0	16,1
06-Mai-11			0,0	12,6	20,1
07-Mai-11			4,2	14,5	18,6
08-Mai-11			5,2	13,1	19,4
09-Mai-11			0,0	10,1	19,1
10-Mai-11			0,0	10,9	22,6
11-Mai-11	Rio Douro	300	0,0	13,6	24,0
05-Ago-11			0,1	17,0	22,6
06-Ago-11			7,2	17,4	22,3
07-Ago-11			0,0	14,6	21,6
08-Ago-11			0,0	12,4	23,9
09-Ago-11			0,0	12,6	31,5
10-Ago-11	Rio Douro	10	0,0	16,1	32,9
04-Nov-11			14,8	9,6	15,0
05-Nov-11			1,2	8,6	16,1
06-Nov-11			0,0	5,6	16,8
07-Nov-11			0,0	7,1	16,6
08-Nov-11			5,3	10,4	14,1
09-Nov-11	Rio Douro	60	1,0	14,0	18,1
04-Mai-12			20,2	10,3	15,1
05-Mai-12			0,0	11,1	16,3
06-Mai-12			0,1	11,9	17,1
07-Mai-12			10,5	11,6	16,6
08-Mai-12			10,5	15,0	17,1
09-Mai-12	Rio Douro	20	1,7	14,9	19,8
03-Ago-12			0,0	13,4	22,5
04-Ago-12			0,0	13,4	22,5
05-Ago-12			0,0	14,4	21,1
06-Ago-12			0,0	12,8	21,6
07-Ago-12			0,0	12,9	24,0
08-Ago-12	Rio Douro	40	0,0	13,6	21,9

Tabela 15- Condições meteorológicas s na região do Porto e Ecn presentes no Poço Coletor.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
03-Jun-11			0,0	17,1	27,1
04-Jun-11			0,0	17,3	28,5
05-Jun-11			0,0	16,8	23,0
06-Jun-11			0,0	16,1	21,0
07-Jun-11			0,0	12,3	19,1
01-Jul-11			0,0	18,6	28,5
02-Jul-11			0,0	15,5	21,1
03-Jul-11			0,0	16,4	19,5
04-Jul-11			0,0	15,8	20,1
05-Jul-11			0,0	14,0	20,0
06-Jul-11	Poço Coletor	0	0,0	15,4	21,6
08-Jul-11			3,9	13,6	18,3
09-Jul-11			2,9	17,4	21,6
10-Jul-11			0,0	14,1	22,1
11-Jul-11			0,0	15,4	22,3
12-Jul-11			0,0	15,6	23,1
13-Jul-11	Poço Coletor	2	0,0	11,3	22,6
15-Jul-11			0,0	14,1	22,8
16-Jul-11			2,0	15,9	22,1
17-Jul-11			0,0	14,6	20,8
18-Jul-11			4,7	11,1	19,9
19-Jul-11			0,0	13,6	21,4
20-Jul-11	Poço Coletor	2	0,0	12,1	22,5
22-Jul-11			0,0	12,4	24,0
23-Jul-11			0,0	12,0	26,5
24-Jul-11			0,0	14,5	26,0
25-Jul-11			0,0	16,6	26,1
26-Jul-11			0,0	15,4	25,6
27-Jul-11	Poço Coletor	1	0,0	14,5	29,9
29-Jul-11			0,0	15,4	22,5
30-Jul-11			0,0	15,2	22,0
31-Jul-11			0,0	15,1	22,4
01-Ago-11			0,0	15,0	19,5
02-Ago-11			0,0	15,1	22,4
03-Ago-11	Poço Coletor	0	0,0	16,6	22,6
05-Ago-11			0,1	17,0	22,6
06-Ago-11			7,2	17,4	22,3
07-Ago-11			0,0	14,6	21,6
08-Ago-11			0,0	12,4	23,9
09-Ago-11			0,0	12,6	31,5
10-Ago-11	Poço Coletor	0	0,0	16,1	32,9
12-Ago-11			0,0	14,4	26,6
13-Ago-11			0,0	15,5	22,5
14-Ago-11			0,1	17,5	24,5
15-Ago-11			0,8	19,1	24,6
16-Ago-11			0,0	16,4	21,0
17-Ago-11	Poço Coletor	0	0,0	16,6	22,3
19-Ago-11			0,0	13,9	26,6

Tabela 16- Continuação - Condições meteorológicas s na região do Porto e Ecn presentes no Poço Coletor.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
20-Ago-11			0,0	19,1	33,5
21-Ago-11			1,0	19,0	27,7
22-Ago-11			2,4	17,5	24,0
23-Ago-11			0,0	16,8	20,9
24-Ago-11	Poço Coletor	0	0,0	12,6	22,4
26-Ago-11			0,0	12,1	21,1
27-Ago-11			0,0	11,1	22,6
28-Ago-11			0,0	12,5	21,1
29-Ago-11			0,0	14,4	20,9
30-Ago-11			0,5	15,6	22,0
31-Ago-11	Poço Coletor	86	4,4	17,3	22,1
02-Set-11			11,1	16,6	20,6
03-Set-11			1,8	15,0	22,3
04-Set-11			8,2	14,3	21,1
05-Set-11			0,0	14,1	22,1
06-Set-11			0,0	13,1	24,9
07-Set-11	Poço Coletor	0	0,0	12,3	24,4
09-Set-11			0,0	15,5	21,6
10-Set-11			3,6	18,3	21,6
11-Set-11			0,0	15,9	23,0
12-Set-11			0,0	17,4	25,1
13-Set-11			0,0	14,8	27,0
14-Set-11	Poço Coletor	0	0,0	17,5	29,6
16-Set-11			0,0	15,5	22,6
17-Set-11			0,0	13,1	21,6
18-Set-11			0,0	14,1	21,8
19-Set-11			0,0	9,9	22,8
20-Set-11			0,0	13,5	25,1
21-Set-11	Poço Coletor	2	0,0	10,5	21,3
23-Set-11			0,0	10,3	21,0
24-Set-11			0,0	10,5	21,5
25-Set-11			0,0	11,0	22,5
26-Set-11			0,0	12,0	24,0
27-Set-11			0,0	14,7	26,2
28-Set-11	Poço Coletor	0	0,1	18,7	27,4
01-Out-11			0,0	18,7	30,5
02-Out-11			0,0	18,2	32,0
03-Out-11			0,0	16,3	27,0
04-Out-11			0,0	15,5	29,5
05-Out-11			0,0	15,1	31,5
06-Out-11	Poço Coletor	0	0,0	15,0	26,1
07-Out-11			0,0	12,5	24,9
08-Out-11			0,0	12,5	22,4
09-Out-11			0,0	15,2	26,9
10-Out-11			0,0	17,4	29,9
11-Out-11			0,0	17,2	29,7
12-Out-11	Poço Coletor	1	0,0	15,5	27,9
14-Out-11			0,0	16,0	30,5

Tabela 17- Continuação - Condições meteorológicas s na região do Porto e Ecn presentes no Poço Coletor.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
15-Out-11			0,0	14,8	27,0
16-Out-11			0,0	11,5	23,5
17-Out-11			0,0	10,3	20,5
18-Out-11			0,0	9,9	19,1
19-Out-11	Poço Coletor	2	0,0	11,0	21,1
21-Out-11			0,0	11,0	19,1
22-Out-11			1,0	10,0	17,0
23-Out-11			10,0	9,0	16,0
24-Out-11			30,0	7,8	16,5
25-Out-11			20,0	7,5	16,7
26-Out-11	Poço Coletor	2	4,0	11,1	17,2
28-Out-11			0,0	6,3	20,5
29-Out-11			0,0	6,9	21,0
30-Out-11			0,0	7,3	21,2
31-Out-11			8,0	7,5	18,2
01-Nov-11			0,1	8,4	17,6
02-Nov-11	Poço Coletor	2	35,3	13,0	18,6
04-Nov-11			14,8	9,6	15,0
05-Nov-11			1,2	8,6	16,1
06-Nov-11			0,0	5,6	16,8
07-Nov-11			0,0	7,1	16,6
08-Nov-11			5,3	10,4	14,1
09-Nov-11	Poço Coletor	2	1,0	14,0	18,1
11-Nov-11			36,3	13,3	16,6
12-Nov-11			0,7	12,0	23,9
13-Nov-11			13,4	15,1	22,9
14-Nov-11			19,7	13,4	17,0
15-Nov-11			50,2	11,1	14,9
16-Nov-11	Poço Coletor	0	0,1	10,1	16,3
18-Nov-11			16,6	8,6	14,1
19-Nov-11			0,3	10,1	17,1
20-Nov-11			1,9	11,4	17,3
21-Nov-11			6,5	8,1	14,6
22-Nov-11			8,1	9,3	16,9
23-Nov-11	Poço Coletor	7	0,0	8,5	20,5
25-Nov-11			0,0	7,8	17,8
26-Nov-11			0,0	8,9	19,1
27-Nov-11			0,0	6,6	15,5
28-Nov-11			0,0	6,6	14,6
29-Nov-11			0,0	7,6	15,9
30-Nov-11	Poço Coletor	0	0,0	9,4	16,5
02-Dez-11			2,1	8,1	14,1
03-Dez-11			0,0	4,4	13,6
04-Dez-11			3,5	9,8	14,4
05-Dez-11			7,4	11,1	16,0
06-Dez-11			0,8	11,6	15,8
07-Dez-11	Poço Coletor	0	0,0	7,3	16,6
09-Dez-11			0,7	8,3	14,6

Tabela 18- Continuação - Condições meteorológicas s na região do Porto e Ecn presentes no Poço Coletor.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
10-Dez-11			36,0	12,0	14,1
11-Dez-11			3,8	7,5	13,3
12-Dez-11			4,0	9,1	14,9
13-Dez-11			11,8	11,8	16,1
14-Dez-11	Poço Coletor	0	3,4	11,1	14,4
16-Dez-11			3,1	13,9	16,3
17-Dez-11			0,1	6,0	12,6
18-Dez-11			0,0	2,8	12,4
19-Dez-11			0,0	4,1	12,1
20-Dez-11			0,1	5,4	13,0
21-Dez-11	Poço Coletor	0	0,0	10,6	15,6
23-Dez-11			0,0	7,0	14,4
24-Dez-11			0,0	4,3	14,8
25-Dez-11			0,0	6,6	16,0
26-Dez-11			0,0	5,6	16,0
27-Dez-11			0,0	4,6	14,9
28-Dez-11	Poço Coletor	0	0,0	2,5	13,1
30-Dez-11			0,0	1,6	11,8
31-Dez-11			0,1	4,5	12,4
01-Jan-12			18,6	10,8	14,1
02-Jan-12			0,0	11,4	14,6
03-Jan-12			0,0	8,4	15,0
04-Jan-12	Poço Coletor	1	0,0	9,4	15,5
06-Jan-12			0,0	4,1	14,4
07-Jan-12			0,0	9,0	16,4
08-Jan-12			0,0	8,5	17,3
09-Jan-12			0,0	5,8	15,3
10-Jan-12			0,0	6,1	15,1
11-Jan-12	Poço Coletor	0	0,0	4,1	13,4
13-Jan-12			0,0	4,1	13,6
14-Jan-12			7,0	4,1	11,1
15-Jan-12			9,1	7,8	11,8
16-Jan-12			0,3	2,1	12,1
17-Jan-12			0,0	4,0	14,9
18-Jan-12	Poço Coletor	0	0,0	5,6	13,8
20-Jan-12			0,0	4,3	16,5
21-Jan-12			0,0	6,8	16,6
22-Jan-12			0,0	6,5	16,6
23-Jan-12			0,0	6,4	15,1
24-Jan-12			0,0	5,1	17,6
25-Jan-12	Poço Coletor	2	0,0	5,9	14,9
27-Jan-12			0,0	3,3	13,5
28-Jan-12			0,0	4,3	14,1
29-Jan-12			0,0	3,4	13,6
30-Jan-12			0,0	4,0	14,1
31-Jan-12			0,0	4,1	13,3
01-Fev-12	Poço Coletor	2	4,6	7,9	13,0
03-Fev-12			0,0	-1,3	10,4

Tabela 19- Continuação - Condições meteorológicas s na região do Porto e Ecn presentes no Poço Coletor.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (m m)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Maxima (°C)
04-Fev-12			0,0	-0,8	10,3
05-Fev-12			0,2	-0,3	13,4
06-Fev-12			0,0	8,4	16,0
07-Fev-12			0,0	6,6	15,1
08-Fev-12	Poço Coletor	0	0,0	1,8	12,4
10-Fev-12			0,0	1,8	11,8
11-Fev-12			0,0	4,1	13,0
12-Fev-12			0,0	0,9	11,1
13-Fev-12			0,0	1,1	12,5
14-Fev-12			0,0	2,9	14,6
15-Fev-12	Poço Coletor	1	0,0	4,1	15,8
17-Fev-12			0,0	4,4	15,3
18-Fev-12			0,0	4,6	15,0
19-Fev-12			0,0	2,6	15,0
20-Fev-12			0,0	6,6	16,3
21-Fev-12			0,0	4,1	14,9
22-Fev-12	Poço Coletor	4	0,0	3,6	15,1
24-Fev-12			0,0	7,5	19,1
25-Fev-12			0,0	9,5	15,6
26-Fev-12			0,0	8,1	14,5
27-Fev-12			0,0	5,3	19,3
28-Fev-12			0,0	8,4	14,9
29-Fev-12	Poço Coletor	0	0,0	6,1	16,1
02-Mar-12			0,0	7,6	15,6
03-Mar-12			6,6	10,4	14,3
04-Mar-12			1,8	11,9	14,6
05-Mar-12			0,0	4,1	16,3
06-Mar-12			0,0	5,9	15,1
07-Mar-12	Poço Coletor	3	0,0	6,5	16,8
09-Mar-12			0,0	10,4	23,6
10-Mar-12			0,0	13,9	24,5
11-Mar-12			0,0	7,4	23,1
12-Mar-12			0,0	12,1	20,1
13-Mar-12			0,0	6,6	15,6
14-Mar-12	Poço Coletor	1	0,0	4,6	19,1
23-Mar-12			0,0	10,1	23,7
24-Mar-12			0,0	12,1	20,9
25-Mar-12			0,0	13,1	24,1
26-Mar-12			0,0	10,9	25,0
27-Mar-12			0,0	12,1	25,3
28-Mar-12	Poço Coletor	2	0,0	13,1	25,9
30-Mar-12			0,0	13,5	23,1
31-Mar-12			0,0	9,9	17,8
01-Abr-12			0,0	11,3	17,3
02-Abr-12			0,0	12,6	17,9
03-Abr-12			0,0	12,0	16,5
04-Abr-12	Poço Coletor	0	0,0	6,1	16,5
06-Abr-12			0,1	6,1	12,6

Tabela 20- Continuação - Condições meteorológicas s na região do Porto e Ecn presentes no Poço Coletor.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
07-Abr-12			0,9	8,3	15,1
08-Abr-12			0,0	6,1	17,6
09-Abr-12			0,0	7,6	17,1
10-Abr-12			8,1	10,6	15,4
11-Abr-12	Poço Coletor	0	6,2	10,8	14,4
13-Abr-12			8,2	7,1	14,1
14-Abr-12			16,8	10,3	14,6
15-Abr-12			0,0	5,0	15,1
16-Abr-12			0,0	5,4	16,0
17-Abr-12			1,3	8,8	15,0
18-Abr-12	Poço Coletor	0	7,2	9,1	12,5
21-Abr-12			3,3	12,6	16,1
22-Abr-12			0,0	10,5	15,1
23-Abr-12			3,1	9,5	15,1
24-Abr-12			0,1	8,5	14,6
25-Abr-12			26,4	12,0	15,6
26-Abr-12	Poço Coletor	2	0,6	10,1	15,4
27-Abr-12			0,2	8,1	15,4
28-Abr-12			0,0	6,9	15,3
29-Abr-12			0,0	7,9	15,4
30-Abr-12			0,9	7,0	14,3
01-Mai-12			4,5	9,1	15,9
02-Mai-12	Poço Coletor	0	17,2	10,6	15,6
04-Mai-12			20,2	10,3	15,1
05-Mai-12			0,0	11,1	16,3
06-Mai-12			0,1	11,9	17,1
07-Mai-12			10,5	11,6	16,6
08-Mai-12			10,5	15,0	17,1
09-Mai-12	Poço Coletor	3	1,7	14,9	19,8
11-Mai-12			0,0	16,1	25,6
12-Mai-12			0,0	15,9	27,6
13-Mai-12			0,0	15,3	23,1
14-Mai-12			0,0	14,9	18,3
15-Mai-12			0,0	12,0	23,9
16-Mai-12	Poço Coletor	0	0,0	17,4	32,3
18-Mai-12			3,5	13,3	17,5
19-Mai-12			1,4	10,3	17,1
20-Mai-12			17,0	8,6	15,8
21-Mai-12			0,0	10,1	16,9
22-Mai-12			0,0	14,0	19,1
23-Mai-12	Poço Coletor	2	0,0	11,8	22,6
25-Mai-12			1,0	14,3	19,1
26-Mai-12			2,3	13,9	18,5
27-Mai-12			0,0	12,5	18,9
28-Mai-12			0,0	11,5	19,3
29-Mai-12			0,0	11,8	20,6
30-Mai-12	Poço Coletor	0	0,0	14,4	21,8
01-Jun-12			0,5	17,1	24,6

Tabela 21- Continuação - Condições meteorológicas s na região do Porto e Ecn presentes no Poço Coletor.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
02-Jun-12			2,2	15,9	19,8
03-Jun-12			0,1	13,6	20,6
04-Jun-12			0,0	15,3	22,1
05-Jun-12			0,2	16,0	21,6
06-Jun-12	Poço Coletor	0	6,1	16,5	21,0
08-Jun-12			0,0	12,3	19,0
09-Jun-12			8,8	12,3	18,9
10-Jun-12			1,6	16,8	20,1
11-Jun-12			1,1	15,5	19,4
12-Jun-12			0,0	14,5	19,8
13-Jun-12	Poço Coletor	0	0,0	9,9	19,1
15-Jun-12			0,7	13,3	20,9
16-Jun-12			10,5	17,5	20,8
17-Jun-12			0,3	13,1	21,6
18-Jun-12			0,0	10,1	19,6
19-Jun-12			0,0	11,1	19,3
20-Jun-12	Poço Coletor	0	9,0	14,1	18,6
22-Jun-12			0,0	9,6	20,1
23-Jun-12			0,0	11,6	20,6
24-Jun-12			0,0	12,5	23,0
25-Jun-12			0,0	15,3	29,3
26-Jun-12			0,0	17,8	36,0
27-Jun-12	Poço Coletor	0	0,0	17,6	26,1
29-Jun-12			0,9	15,9	21,6
30-Jun-12			0,6	15,5	20,1
01-Jul-12			0,0	10,8	21,0
02-Jul-12			0,0	12,1	22,0
03-Jul-12			0,0	14,1	22,1
04-Jul-12	Poço Coletor	1	1,1	16,6	21,3
06-Jul-12			0,0	14,5	20,9
07-Jul-12			4,6	15,1	21,3
08-Jul-12			0,0	12,6	22,8
09-Jul-12			0,0	15,0	21,6
10-Jul-12			0,0	15,0	20,5
11-Jul-12	Poço Coletor	0	0,0	11,6	20,8
13-Jul-12			0,4	12,8	20,3
14-Jul-12			0,1	12,6	20,6
15-Jul-12			0,0	10,8	22,8
16-Jul-12			0,0	14,8	32,5
17-Jul-12			0,0	22,6	37,5
18-Jul-12	Poço Coletor	0	0,0	15,6	27,0
20-Jul-12			0,0	13,5	21,0
21-Jul-12			0,0	13,4	23,5
22-Jul-12			0,0	14,4	24,1
23-Jul-12			0,0	15,1	22,0
24-Jul-12			0,0	16,1	24,0
25-Jul-12	Poço Coletor	0	0,0	15,3	20,6
27-Jul-12			0,0	17,1	21,1



Tabela 22- Continuação - Condições meteorológicas s na região do Porto e Ecn presentes no Poço Coletor.

Data	Nome	Estafilococos Coagulase Negativa	Precipitação (mm)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Máxima (°C)
28-Jul-12			0,0	17,4	23,8
29-Jul-12			0,0	13,6	21,6
30-Jul-12			0,0	13,0	23,1
31-Jul-12			0,0	16,0	20,4
01-Ago-12	Poço Coletor	0	0,4	13,0	23,1
03-Ago-12			0,0	13,4	22,5
04-Ago-12			0,0	13,4	22,5
05-Ago-12			0,0	14,4	21,1
06-Ago-12			0,0	12,8	21,6
07-Ago-12			0,0	12,9	24,0
08-Ago-12	Poço Coletor	0	0,0	13,6	21,9
11-Ago-12			0,0	13,4	22,5
12-Ago-12			0,0	13,4	22,5
13-Ago-12			0,0	14,4	21,1
14-Ago-12			0,0	12,8	21,6
15-Ago-12			0,0	12,9	24,0
16-Ago-12	Poço Coletor	0	0,0	13,6	21,9
17-Ago-12			0,0	14,6	25,0
18-Ago-12			0,0	16,5	24,8
19-Ago-12			0,0	19,8	26,6
20-Ago-12			0,0	18,4	25,8
21-Ago-12			0,0	17,5	23,6
22-Ago-12	Poço Coletor	0	0,0	17,4	23,1
24-Ago-12			7,8	15,0	21,6
25-Ago-12			0,0	16,1	22,6
26-Ago-12			0,0	12,9	22,9
27-Ago-12			0,0	14,6	23,3
28-Ago-12			0,5	17,6	23,4
29-Ago-12	Poço Coletor	0	0,0	14,1	22,5
31-Ago-12			0,0	15,8	27,6
01-Set-12			0,0	18,5	28,8
02-Set-12			0,0	17,3	30,0
03-Set-12			0,0	19,1	29,1
04-Set-12			0,0	20,1	29,6
05-Set-12	Poço Coletor	0	0,0	20,8	30,6
07-Set-12			0,0	17,4	28,6
08-Set-12			0,0	16,6	22,1
09-Set-12			0,0	17,4	23,6
10-Set-12			0,0	16,0	23,5
11-Set-12			0,0	17,4	25,0
12-Set-12	Poço Coletor	0	0,0	16,8	24,1

## C3. Atividade da ETA

Tabela 23- Caudais de saída do Poço Coletor.

Data	Nome	Saída 2	Saída 1	Caudal de saída-Total	Estafilococos Coagulase Negativa
8-Jun-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
15-Jun-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	1
22-Jun-11	Poço Coletor	1200	1800	3000	0
29-Jun-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
6-Jul-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
13-Jul-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	2
20-Jul-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	2
27-Jul-11	Poço Coletor	1200	1800	3000	1
3-Ago-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
10-Ago-11	Poço Coletor	1200	1800	3000	0
17-Ago-11	Poço Coletor	1200	1500	2700	0
24-Ago-11	Poço Coletor	1200	1800	3000	0
31-Ago-11	Poço Coletor	1200	1500	2700	86
7-Set-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
14-Set-11	Poço Coletor	1200	1500	2700	0
21-Set-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	2
28-Set-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
6-Out-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
12-Out-11	Poço Coletor	1200	1200	2400	1
19-Out-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	2
26-Out-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	2
2-Nov-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	2
9-Nov-11	Poço Coletor	1200	1200	2400	2
16-Nov-11	Poço Coletor	600	1500	2100	0
23-Nov-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	7
30-Nov-11	Poço Coletor	1200	1800	3000	0
7-Dez-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
14-Dez-11	Poço Coletor	1200	1200	2400	0
21-Dez-11	Poço Coletor	1200	1500	2700	0
28-Dez-11	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
4-Jan-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	1
11-Jan-12	Poço Coletor	1200	1500	2700	0
18-Jan-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
25-Jan-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	2
1-Fev-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	2
8-Fev-12	Poço Coletor	1200	1200	2400	0
15-Fev-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	1
22-Fev-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	4
29-Fev-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
7-Mar-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	3
14-Mar-12	Poço Coletor	1200	1500	2700	1
4-Abr-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
11-Abr-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
18-Abr-12	Poço Coletor	1200	1500	2700	0
26-Abr-12	Poço Coletor	600	1800	2400	2
2-Mai-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
9-Mai-12	Poço Coletor	1200	1500	2700	3
16-Mai-12	Poço Coletor	1800	800	2600	0
23-Mai-12	Poço Coletor	1200	1500	2700	2
30-Mai-12	Poço Coletor	1200	1800	3000	0
6-Jun-12	Poço Coletor	1200	1200	2400	0
13-Jun-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
20-Jun-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
27-Jun-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	0
4-Jul-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	1
11-Jul-12	Poço Coletor	1800	1200	3000	0

Valor alterado, para mais fácil interpretação gráfica, igualado a 10.