



AS CIANOBACTÉRIAS NA ÁGUA E A MORBILIDADE E MORTALIDADE NA REGIÃO DO ALENTEJO

Fernando Nuno Campos da Cunha-Bellém

Tese apresentada à Universidade de Évora
para obtenção do Grau de Doutor em Biologia

ORIENTADORES: *Maria Manuela Queiroz Martins Mantero Morais*
Carlos José Pereira da Silva Santos

ÉVORA, SETEMBRO DE 2014



AS CIANOBACTÉRIAS NA ÁGUA E A MORBILIDADE E MORTALIDADE NA REGIÃO DO ALENTEJO

Fernando Nuno Campos da Cunha-Bellém

Tese apresentada à Universidade de Évora
para obtenção do Grau de Doutor em Biologia

ORIENTADORES: *Maria Manuela Queiroz Martins Mantero Morais*
Carlos José Pereira da Silva Santos

ÉVORA, SETEMBRO DE 2014



Epígrafe

É sempre prudente olhar em frente,
mas é difícil olhar para mais longe do
que se pode ver

(Winston Churchill)

Dedicatória

Dedico este trabalho em primeiro lugar à memória daquele, que desde o primeiro momento me apoiou, e que partiu antes de poder presenciar a sua conclusão. Ao meu pai.

À minha família que ficou privada da minha companhia em muitos momentos, para que eu pudesse desenvolver e concluir este estudo. O vosso incentivo e apoio permanentes, foram essenciais neste percurso.

Agradecimentos

À Prof.^a Doutora Maria Manuela Queiroz Martins Mantero Moraes pelo apoio na seleção do tema, na cedência de dados, na orientação da produção científica e na realização da presente tese;

Ao Prof. Doutor Carlos José Pereira da Silva Santos pelo imprescindível acompanhamento e orientação durante a realização da presente tese;

À Sr.^a Engenheira Sílvia Guerreiro pela disponibilidade que sempre manifestou no apoio à recolha de informação junto de entidades gestoras da Região do Alentejo;

À Dr.^a Filomena Araújo pela manifesta receptividade na cedência de dados e esclarecimento de dúvidas relativas à informação de saúde das populações avaliadas;

À Dr.^a Alexandra Mayer do Registo Oncológico da Região Sul pela informação dispensada sobre a ocorrência da doença oncológica na Região em estudo;

Aos Patologistas Clínicos Dr.^a Rosa Bento e Dr. Rodrigo Gusmão, pela pronta colaboração na produção deste trabalho, autorizando o acesso à informação laboratorial;

Às Bibliotecárias Dr.^a Maria da Luz Antunes e Dr.^a Paula Carvalho pelo indispensável apoio na preparação desta tese, nomeadamente na pela revisão textual e adequação das normas de formatação;

À amiga Elisa Machado Caria, que nunca deixou de acreditar na concretização deste trabalho;

A todos os colegas e amigos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização desta dissertação.

Decorrente do estudo que ora se apresenta foi possível desenvolver e publicar dois artigos científicos:

- a) Bellém, F., Nunes, S., Morais, M., Fonseca, R. (2012). Cianobactérias e toxicidade: Impacte na saúde pública em Portugal e no Brasil. *Revista Brasileira de Geografia Física*, 6, 1374-1389. (Qualis : B3)
- b) Bellém, F., Nunes, S., Morais, M. (2013). Cyanobacteria toxicity: Potential public health impact in south Portugal populations. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 76(4-5), 263-271. doi: 10.1080/15287394.2013.757204. 2012 Impact Fator 1.733

Encontra-se em preparação um terceiro artigo, intitulado “Cyanobacteria in Alentejo’s freshwater and liver disease in exposed population”, para submissão ao *Journal of Toxicology and Environmental Health*.

Resumo

Entre 2000 e 2008 foram registados diversos episódios de florescências fitoplanctónicas em oito albufeiras do Alentejo utilizadas para produção de água para consumo humano. Caracterizadas nas suas propriedades físicas, químicas e fitoplanctónicas, identificaram-se situações eutróficas e géneros de cianobactérias produtores de toxinas.

Para avaliar se a exposição continuada das populações às cianotoxinas produziu impacto na morbilidade e na mortalidade hepática e colorretal, desenvolveu-se um estudo prospetivo histórico (2000 – 2010), em que duas coortes (uma exposta e outra não exposta) foram comparadas, relativamente aos indicadores laboratoriais de patologia hepática, à incidência de oncologia hepática e colorretal e analisados os riscos relativo e atribuível associados ao fator em análise.

Concluiu-se que a exposição às cianotoxinas produziu impacto na saúde das populações ao nível da doença hepática, atestado pelos valores elevados das transaminases, pela incidência da doença oncológica e pelos valores do risco relativo e risco atribuível, das regiões expostas relativamente às não expostas.

Cyanobacteria in freshwater: Influence in morbidity and mortality in Alentejo's Region

Abstract

Between 2000 and 2008, several phytoplankton blooms were recorded in eight Alentejo reservoirs, used to produce water for human consumption. Physical, chemical and phytoplankton properties were established, such as eutrophic status and toxin producer cyanobacteria genders.

To evaluate if there was an impact related to systematic cyanotoxins exposition and liver, colon and rectum morbidity and mortality, one historic prospective study was made and two cohorts (exposed and non-exposed) were compared between 2000 and 2010, concerning laboratory data for hepatic disease, liver, colon and rectum cancer incidence, relative and attributable risks.

It was concluded that cyanotoxins exposition produced health impact in exposed population, attested by high level of liver enzymes, cancer disease incidence and relative and attributable risks values, compared with non-exposed populations' values.

Siglas e Abreviaturas

µg – Microgramas

µS/cm – Microsiemens por centímetro

AIPC - Agência Internacional de Pesquisa do Cancro

ALT - Alanina Amino Transferase

ARHA - Administração Região Hidrográfica do Alentejo

AST - Aspartato Amino Transferases

CBO₅ – Carência Bioquímica de Oxigénio

CID – Carbono Inorgânico Dissolvido

COD – Carbono Orgânico Dissolvido

CQO – Carência Química de Oxigénio

CYN - Cyindrospermopsin

dc-GTXs - Decarbamoil Goniatóxicas

DDO – Doenças de Declaração Obrigatória

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DRAOT - Direção Regional do Ambiente e Ordenamento do Território

EE -Estado Ecológico

ERSAR - Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos

ETA - Estação de Tratamento de Águas

FA - Fosfatase Alcalina

FT – Fósforo Total

GAC – Carvão Ativado Granular

GGT – Gama Glutamil Transpeptidase

GOT - Transaminase Glutâmico Oxalacética

GPT-Transaminase Glutâmica Pirúvica

GTXs - Goniatóxicas

GWRC - Global Water Research Coalition – Coligação Global de Pesquisa na Água

INE – Instituto Nacional de Estatística

LPS - Lipopolissacáridos

MC – LR –Microcistina-LR

MC - Microcistina

MC/L – Microcistina por Litro

mg/L – Miligrama por Litro

mm³/L - Milímetros Cúbicos por Litro

Mn - Manganês

N - Azoto

NH₄ - Azoto Amoniacal

NO₃ - Nitratos

NOD - Nodularina

NT – Azoto Total

NUTS - Unidades Territoriais Estatísticas de Portugal

OMS – Organização Mundial de Saúde

P - Fósforo

P₂O₅ - Fosfatos

PAC - Carvão Ativado em Pó

PCQA - Planos de Controlo de Qualidade da Água

PP1 - Fosfatases Proteicas 1

PP2A - Fosfatases Proteicas 2A

PT – Fósforo Total

PTAO - Polipéptidos Transportadores de Aniões Orgânicos

RA - Risco Atribuível

RAP – Risco Atribuível na População

RH6 - Região Hidrográfica do Sado e Mira

RH7 - Região Hidrográfica do Guadiana

RNA - Ácido Ribonucleico

RR – Risco Relativo

SD – Desvio Padrão

SNIRH – Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos

SPSS - Statistical Package for Social Sciences

STX - Saxitoxinas

U/L – Unidades por Litro

UV - Radiação Ultravioleta

VMA – Valor Máximo Admissível

VMR – Valor Máximo Recomendado

YGT/GGT - Gama Glutamil Transpeptidase

Índice Geral

Resumo	vi
Abstract.....	vii
Siglas e Abreviaturas	viii
Introdução	1
1. Fundamentação da opção	3
2. Objetivos do Estudo	4
3. Questão de Investigação; Hipótese básica e secundária	5
Parte I – Fundamentação teórica	7
1. Fitoplâncton e Cianobactérias.....	7
2. O fenómeno da eutrofização e fatores de potenciação	9
3. Florescências fitoplanctónicas	12
4. Dinâmica temporal das florescências a cianobactérias	13
5. Florescências tóxicas	14
6. Cianotoxinas e fatores de risco associados.....	15
7. Classificação das Cianotoxinas	17
7.1 Perfil Toxicológico	17
7.2 Estrutura química das Cianotoxinas	19
7. 3 Lipopolissacáridos	23
7.4 Formação e estabilidade das cianotoxinas em ambiente aquático	23
7.5 Remoção de cianobactérias e cianotoxinas	26
8. As cianotoxinas e a avaliação do impacte em Saúde	29
8.1 Cianotoxinas e Carcinogénese.....	33
8.2. Cancro hepático	36
8.3 Cancro colorretal.....	37
8.4 Perfil das cianotoxinas em águas de superfície portuguesas.....	37
9. Qualidade da água em Portugal: enquadramento legal	39
10. Programa de Monitorização de Cianobactérias.....	40
Parte II – Caracterização da região estudada.....	46
1.Enquadramento geográfico e identificação de pressões antropogénicas	46
2. Origem da água utilizada na produção de água de consumo	48
3. Entidades gestoras dos Distritos de Beja e Évora	49
3.1. Entidades Gestoras em Baixa (Municipais)	49
3.2. Entidades gestoras multimunicipais.....	52

4. Planos de monitorização	55
Parte III – Abordagem ao estudo	57
1. Desenho do estudo	57
2. Material e Métodos	58
2.1. População	58
2.2. Estratégia de amostragem	59
2.3. Método de abordagem/geral	60
2.4. Método de procedimento/específico	60
2.5. Variáveis consideradas	61
2.6. Escalas de Medição	61
2.7. Fontes de dados	62
2.8. Instrumentos de recolha de dados	63
2.9. Procedimento na recolha de dados	65
2.10. Análise estatística	65
3. Considerações éticas	66
Parte IV – Apresentação de resultados	68
1. Caracterização físico-química das albufeiras objeto de estudo (2000 – 2008)	68
1.1. Parâmetros Físicos	68
1.2. Parâmetros Químicos	70
2. Condição trófica das albufeiras objeto de estudo (2000 - 2008)	72
3. Caracterização fitoplanctónica (2000 - 2008)	75
3.1. Bacia Hidrográfica do Sado	75
3.2. Bacia Hidrográfica do Guadiana	76
4. Florescências mais expressivas por albufeira (2000 - 2008)	77
4.1. Bacia Hidrográfica do Sado	77
5. Evolução demográfica da população em estudo na Região do Alentejo (2001 - 2010)	84
6. Consumo de água por habitante (2001 - 2009)	87
7. Morbilidade hepática (2004 - 2010)	88
8. Morbilidade crónica de origem infecciosa (Hepatite A, B e C) (2000 – 2008)	92
9. Incidência dos carcinomas hepatocelular, cólon e reto nas populações expostas e não expostas (2001 - 2010)	95
10. Mortalidade por cancro hepático, cólon e reto, nas populações em estudo (2001 – 2011)	99
11. Risco relativo associado à exposição continuada a cianotoxinas (2001 – 2010)	102
12. Risco atribuível associado à exposição continuada a cianotoxinas (2001 – 2010)	103

Parte V - Discussão	104
1. Caracterização físico-química das albufeiras selecionadas.....	104
2. Aspetos fitoplanctónicos.....	105
3. Saúde da população exposta e não exposta	106
3.1. Etilismo e ingestão de aflotoxinas.....	106
3.2. Infecções virais.....	107
4. Consumo de água contaminada <i>versus</i> doença hepática e colorretal.....	108
Parte VI - Conclusões e Recomendações	111
Referências Bibliográficas.....	115
APÊNDICES	127

Índice de Tabelas

Tabela 1: <i>Cianobactérias fixadoras e não fixadoras de Azoto atmosférico</i>	8
Tabela 2: <i>Apreciação da condição trófica</i>	11
Tabela 3: <i>Fatores ambientais com impacte no crescimento de cianobactérias</i>	14
Tabela 4: <i>Valores guia para águas doces superficiais</i>	15
Tabela 5: <i>Acidentes reportados pela utilização de água contaminada com cianobacterias e cianotoxinas</i>	30
Tabela 6: <i>Géneros de cianobactérias, toxinas produzidas e efeitos biológicos</i>	31
Tabela 7: <i>Ações propostas para avaliação de reservatórios destinados a águas de consumo</i>	33
Tabela 8: <i>Principais toxinas e géneros responsáveis pela sua produção nas águas doces superficiais em Portugal</i>	39
Tabela 9: <i>Frequência de avaliação fitoplanctónica em programas de monitorização de alguns países da UE</i>	42
Tabela 10: <i>Parâmetros relevantes na monitorização da eutrofização</i>	43
Tabela 11: <i>Programas de monitorização de qualidade</i>	44
Tabela 12: <i>Avaliação de potencial ecológico</i>	45
Tabela 13: <i>Fontes poluidoras de carácter pontual nas albufeiras objeto de estudo, em 1999</i>	48
Tabela 14: <i>Pesquisa de cianotoxinas na rede de abastecimento por rotina</i>	50
Tabela 15: <i>Pesquisa de cianotoxinas na rede de abastecimento após florescências</i>	50
Tabela 16: <i>Aplicação de tratamentos para remoção de cianotoxinas por entidades municipais</i>	51
Tabela 17: <i>Gestão de resíduos sólidos por entidades municipais</i>	51
Tabela 18: <i>Utilização de Fontes alternativas</i>	52
Tabela 19: <i>Gestão de águas residuais por entidades multimunicipais</i>	52
Tabela 20: <i>Ações desenvolvidas pelas entidades gestoras na ocorrência de florescências nas albufeiras</i>	53
Tabela 21: <i>Pesquisa de cianotoxinas pelas entidades gestoras</i>	53
Tabela 22: <i>Tratamento para remoção de células e toxinas</i>	55
Tabela 23: <i>Níveis de alerta e planos de monitorização das entidades gestoras multimunicipais</i>	56
Tabela 24: <i>Níveis de alerta sequenciais implementados e ações a desenvolver pelas entidades gestoras multimunicipais</i>	56
Tabela 25: <i>Concelhos abastecidos pelas albufeiras objeto de estudo</i>	59

Tabela 26: <i>Concelhos não abastecidos pelas albufeiras objeto de estudo</i>	60
Tabela 27: <i>Valores médios, desvios padrão e número de observações considerados nos parâmetros físicos avaliados</i>	68
Tabela 28: <i>Concentrações médias, desvios padrão (SD) e número de observações consideradas (N) para os parâmetros químicos avaliados</i>	71
Tabela 29: <i>Florescências mais expressivas na albufeira do Roxo no período avaliado</i>	78
Tabela 30: <i>Cianobactérias com contagens superiores a (2000cels/ml) no verão de 2005</i>	78
Tabela 31: <i>Florescências mais expressivas na albufeira do Alvito no período avaliado</i>	79
Tabela 32: <i>Cianobactérias com contagens superiores a (2000cels/ml) no inverno de 2004</i>	79
Tabela 33: <i>Florescências mais expressivas na albufeira do Monte da Rocha no período avaliado</i>	79
Tabela 34: <i>Cianobactérias com contagens superiores a (2000cels/ml) no outono de 2004</i>	80
Tabela 35: <i>Florescências mais expressivas na albufeira do Enxoé no período avaliado</i>	80
Tabela 36: <i>Cianobactérias com contagens superiores a (2.000cels/ml) no outono de 2003</i>	80
Tabela 37: <i>Florescências mais expressivas na albufeira da Boavista no período avaliado</i>	81
Tabela 38: <i>Cianobactérias com contagens superiores a (2.000cels/ml) no outono de 2007</i>	81
Tabela 39: <i>Florescências mais expressivas na albufeira da Enxoé no período avaliado</i>	82
Tabela 40: <i>Cianobactérias com contagens superiores a (2000cels/ml) na primavera de 2006</i>	82
Tabela 41: <i>Florescências mais expressivas na albufeira da Vigia no período avaliado</i>	83
Tabela 42: <i>Cianobactérias com contagens superiores a (2.000cels/ml) na primavera de 2007</i>	83
Tabela 43: <i>Cianobactérias responsáveis por florescências mais expressivas, propriedades tóxicas e órgãos alvo</i>	84
Tabela 44: <i>Valores médios de GGT e AST entre 2004 e 2010</i>	88
Tabela 45: <i>Valores médios de GGT e AST entre 2004 e 2010 por género</i>	89
Tabela 46: <i>Valores médios de ALT em 2009 e 2010</i>	91
Tabela 47: <i>Resultados do teste de Mann-Whitney para a comparação dos níveis enzimáticos entre a população exposta e não exposta</i>	91

Tabela 48: <i>Percentagem de utentes com idades entre 20 e 50 anos, com alteração exclusiva de GGT</i>	92
Tabela 49: <i>Casuística de hepatite A nos distritos de Beja e Évora entre 2000 e 2008..</i>	92
Tabela 50: <i>Casuística de hepatite B nos distritos de Beja e Évora entre 2000 e 2008..</i>	93
Tabela 51: <i>Casuística de hepatite C nos distritos de Beja e Évora entre 2000 e 2008..</i>	94
Tabela 52: <i>Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma hepático/100.000 habitantes do género feminino, em Beja e Évora</i>	99
Tabela 53: <i>Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma hepático/100.000 habitantes do género masculino, em Beja e Évora</i>	100
Tabela 54: <i>Risco relativo associado aos carcinomas do fígado, cólon e reto entre 2001 e 2010</i>	102
Tabela 55: <i>Risco atribuível associado ao carcinoma hepático entre 2001 e 2010.....</i>	103

Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura celular de cianobactérias	7
Figura 2: Eutrofização natural <i>versus</i> Eutrofização artificial.....	10
7.2 Estrutura química das Cianotoxinas	19
Figura 3: Estrutura molecular da microcistina e nodularina.....	20
Figura 4: Estrutura molecular da Cylindrospermopsina.....	21
Figura 5: Estrutura molecular da anatoxina-a e homoanatoxina-a.	21
Figura 7: Estrutura molecular das Saxitoxinas.....	23
Figura 8: Esquema representativo de eventuais mecanismos de genotoxicidade induzidos pela MC-LR	36
Figura 9: Enquadramento administrativo da RH6.....	47
Figura 10: Enquadramento administrativo da RH7.....	47
Figura 11: Caracterização das regiões hidrográficas em Portugal	58
Figura 12: Evolução temporal da abundância relativa nas albufeiras objeto de estudo da bacia hidrográfica do Sado entre os anos de 2000 a 2008.....	76
Figura 13: Evolução temporal da abundância relativa dos principais grupos fitoplanctónicos nas albufeiras da bacia hidrográfica do Guadiana entre 2000 e 2007.	77

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Origem da água de consumo nos distritos de Évora e Beja	49
Gráfico 2: Valores médios anuais de temperatura registados nas albufeiras objeto de estudo.....	69
Gráfico 3: Valores médios de clorofila- <i>a</i> (µg/L) das albufeiras das bacias hidrográficas do Sado e do Guadiana.	73
Gráfico 4: Valores médios de fósforo total das albufeiras objeto de estudo.	73
Gráfico 5: Valores médios de oxigénio dissolvido das albufeiras objeto de estudo.	74
Gráfico 6: Evolução da população dos 5 aos 44 anos no distrito de Beja.....	85
Gráfico 7: Evolução da população dos 45 a mais de 77 anos no distrito de Beja.....	85
Gráfico 8: Evolução da população dos 5 aos 44 anos no distrito de Évora.....	86
Gráfico 9: Evolução da população dos 45 a mais de 75 anos no distrito de Évora.....	87
Gráfico 10: Evolução do consumo de água entre 2001 e 2009.	87
Gráfico 11: Valores médios de GGT e AST por tipo de exposição.	89
Gráfico 12: Valores médios de GGT e AST no género feminino por tipo de exposição.	90
Gráfico 13: Valores médios de GGT e AST no género masculino por tipo de exposição.	90
Gráfico 14. Percentual das notificações de Hepatite A da região do Alentejo em território continental.	93
Gráfico 15: valor percentual das notificações de Hepatite B da região do Alentejo em território continental.	94
Gráfico 16: Percentual das notificações de Hepatite C da região do Alentejo em território continental.	95
Gráfico 17: Evolução da taxa de incidência de carcinoma hepático/100.000 habitantes.	96
Gráfico 18: Percentagem de diagnósticos de carcinoma hepático em doentes expostos e não expostos.	96
Gráfico 19: Evolução da taxa de Incidência de carcinoma do cólon/100.000 habitantes.	97
Gráfico 20: Percentagem de diagnósticos de carcinoma do cólon em doentes expostos e não expostos.	97
Gráfico 21: Evolução da taxa de incidência de carcinoma do reto/100.000 habitantes.	98
Gráfico 22: Percentagem de diagnósticos de carcinoma do reto em doentes expostos e não expostos.	98

Gráfico 23: Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma hepático/100.000 habitantes nos distritos de Beja e Évora.	99
Gráfico 24. Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma do cólon/100.000 habitantes em Beja e Évora.	100
Gráfico 25: Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma do cólon por género em Beja e Évora.....	101
Gráfico 26: Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma do reto/100.000 habitantes em Beja e Évora.....	101
Gráfico 27: Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma do reto por género em Beja e Évora.....	102

Introdução

Dos cerca de 1.3 biliões de quilómetros cúbicos de água existentes à superfície da terra, 97,5% encontra-se sob a forma de água salgada e apenas 0,01% está disponível em rios e lagos (Thompson & Turk, 2007). Além da circulação subterrânea, esta água atravessa a superfície do território através de percursos determinados por depressões mais ou menos pronunciadas, que são inicialmente áreas de receção e acumulação e que passam a linhas de escoamento quando o declive o permite (Fadigas, 2007).

Enquanto recurso móvel, escasso e desigualmente distribuído, a água condiciona a ocupação, a sobrevivência e o desenvolvimento das comunidades humanas através de atividades agrícolas, florestais, urbanas, industriais ou de recreio, sendo a sua ausência uma das causas de desertificação e empobrecimento territorial por perda de produtividade dos solos (Fadigas, 2007).

A sobre exploração dos aquíferos subterrâneos, a poluição, a má utilização das águas superficiais e as alterações climáticas acompanhadas de ausência de chuvas em muitas regiões levaram à escassez de água, que foi colmatada com a construção de albufeiras e grandes barragens cujo número subiu de 5.700, em 1950, para 50.000 em 2005 (Thompson & Turk, 2007).

Contrariamente aos lagos de origem natural que apresentam características de maior estabilidade nas propriedades físicas, maior sedimentação de lodo no fundo e maior superfície de evaporação (Straskraba & Tundisi, 2000), os lagos artificiais apresentam um estágio intermédio entre ambientes lênticos e lóticos habitualmente relacionado com o baixo tempo de residência de água (Esteves, 1998, citado por Lopes, 2007; Tundisi, 1990, citado por Lopes, 2007).

Apesar de motivada pelas necessidades das populações, a construção destes lagos artificiais ou reservatórios acarreta modificações de carácter positivo (obtenção de fontes de água potável para sistemas de abastecimento, armazenamento de água para períodos de seca, criação de áreas de lazer ou aumento do potencial de irrigação) e modificações de carácter negativo (deslocação das populações das áreas de enchimento, perda de terras férteis, alteração da biodiversidade local com a deslocação de animais e a excessiva

emigração humana para as regiões do reservatório) (Straskraba & Tundisi, 2000). Os aumentos populacionais e as atividades humanas geram acréscimos nas descargas de matéria residual de natureza doméstica, industrial e agrícola, contaminando os corpos de água e potenciando problemas de saúde pública pela propagação de enfermidades associadas ao meio hídrico, como as doenças diarreicas (cólera, febre tifoide, shigellose, disenteria amebiana), causadas por microrganismos patogénicos fecais ou doenças de natureza parasitária, derivadas do contacto direto com o agente (shistosomiase e filariase linfática) ou com o vetor (malária, dengue) (WHO, 2006; WHO, 1996).

Como recurso natural indispensável à vida, a água utilizada pelo Homem deve possuir características de potabilidade, que se definem pela possibilidade de ser bebida sem que daí resulte perigo para a saúde de quem a consome (Boavida, 2011; WHO, 2008; Mendes & Oliveira, 2004), obrigando a uma avaliação continuada no que se reporta às suas qualidades físicas, químicas e microbiológicas, por forma a evitar a exposição humana a entidades patogénicas químicas (e.g., fosfatos, nitratos, nitritos) ou microbiológicas (e.g., *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, *Vibrio Cholerae* ou enterovírus) (Déoux & Déoux, s.d.).

A avaliação da qualidade da água deve ser feita em função da sua utilização, uma vez que nenhuma água é boa para todos os fins (Mendes & Oliveira, 2004), podendo ser exigidos determinados padrões de qualidade para fins específicos, como a diálise renal ou para utilização farmacêutica (WHO, 2008).

Segundo WHO & UNICEF (2005), cerca de 1.1 biliões de pessoas não consegue aceder a qualquer tipo de água potável e populações residentes nas proximidades de rios, lagoas e albufeiras utilizam estas águas para a satisfação das suas necessidades básicas de consumo (beber, cozinhar, higiene pessoal) ou para recreio, aumentando o risco de transmissão de doenças.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu e divulgou valores guia de indicadores de qualidade da água (físicos, químicos e biológicos) para consumo humano, com o objetivo de sustentar o desenvolvimento e a implementação de estratégias de gestão do risco com padrões regionais ou nacionais desenvolvidos pelas autoridades locais, em função das condições de saúde pública e do contributo da qualidade da água para o quadro de doenças de origem hídrica (de natureza microbiana

ou química) (WHO, 2008). No entanto, ao nível da região europeia, fatores como a industrialização, a intensificação da agricultura e o aumento demográfico conduziram ao incremento de efluentes domésticos e industriais que constituíram fontes de poluição pontuais ou difusas de águas superficiais ou profundas. Este contributo para o enriquecimento de nutrientes (Fósforo e Azoto) afeta o balanço ecológico aquático, uma vez que promove o crescimento da atividade biológica primária (European Environment Agency & World Health Organization, 2002).

Enquanto fontes primárias de matéria orgânica no suporte das cadeias alimentares dos ecossistemas de águas doces superficiais (Paerl, Fulton, Moisander & Dyble, 2001), o fitoplâncton obtém os nutrientes diretamente da coluna de água, podendo registar taxas de crescimento elevadas se, para além das condições ambientais favoráveis (luz, temperatura), se associar um aumento da concentração de nutrientes como o Fósforo e o Azoto (Karadžić, Subakov-Simić, Krizmanić & Natić, 2010), originando as florescências.

Uma das preocupações relacionadas com estas florescências fitoplanctónicas nas águas doces superficiais prende-se com o facto de alguns géneros de cianobactérias (e.g., *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Nodularia*, *Microcystis*, *Cylindrospermopsis*) serem produtores de toxinas e, se estiverem presentes na comunidade fitoplanctónica, poderem atuar sobre órgãos e sistemas de animais e humanos após exposição direta ou indireta, tornando-se fatores de doença e de mortalidade (Bláha et al., 2009; Paerl et al., 2001).

1. Fundamentação da opção

Segundo (Haider, Naithani, Viswanathan & Kakkar, 2003), registos de intoxicações humanas associadas a cianotoxinas, como aqueles que reportaram a trágica morte de 60 doentes de diálise em Caruaru no Brasil ou a elevada incidência de cancro hepático em determinadas regiões da China, vieram sustentar o desenvolvimento de vários estudos como os de Araújo (1995), ou de Vasconcelos (1999), onde ficou conhecida a presença de cianobactérias produtoras de toxinas em reservatórios e lagos em Portugal e a forma como estas se distribuíam nestes sistemas de água.

A partir de exposições documentadas, sabe-se que na primeira década de 2000 alguns destes reservatórios serviram para a produção de água de consumo humano, sem que

tivessem sido adotados tratamentos adequados para promover a qualidade da água, nomeadamente no que respeita à presença de cianobactérias e respetivas toxinas.

Face à possibilidade de a população abastecida ter estado exposta às cianotoxinas entre 2000 e 2008, optou-se por estudar a caracterização dos grupos de cianobactérias que naquele período apresentaram episódios de crescimento anormalmente elevados em algumas albufeiras no Alentejo e avaliar se a exposição continuada da população teve implicações ao nível da doença hepática e colorretal.

2. Objetivos do Estudo

De modo a entender, num contexto epidemiológico, a associação entre a exposição a cianotoxinas e os efeitos na saúde da população exposta, o estudo deve objetivar a perceção das características do hospedeiro, do agente e das condições ambientais para estabelecer a interação entre eles (Backer, 2002).

Assim, para o presente estudo, foi estabelecido o seguinte objetivo geral:

- Avaliar se a ocorrência de florescências a cianobactérias potencialmente tóxicas em albufeiras da região do Alentejo, produziu impacte na morbilidade crónica e mortalidade por doença hepática e colorretal nas populações humanas expostas, devido ao consumo continuado direto ou indirecto dessas águas.

Como objetivos específicos poderão enunciar-se:

- Efetuar a caracterização física, química e fitoplanctónica da água dos reservatórios objeto de estudo no Alentejo, no período selecionado, identificando os níveis de toxicidade produzida por cianobactérias e elaborando um mapa que identifique os períodos do ano com níveis críticos de contaminação ($> 10,0\mu\text{g/L}$);
- Descrever a evolução demográfica das populações residentes nas regiões onde se localizam as albufeiras objeto de estudo;
- Comparar índices de consumo de água por habitante entre populações expostas e não expostas;
- Comparar indicadores de morbilidade hepática entre populações expostas e não expostas;

- Caracterizar indicadores de morbidade crónica de origem infecciosa (Hepatite A, B e C), nomeadamente nas infeções precedentes à patologia hepática oncológica nas populações em estudo;
- Comparar taxas de incidência de carcinomas hepático, do cólon e do reto entre populações expostas e não expostas;
- Caracterizar indicadores de mortalidade por cancro hepático, cólon e reto nas populações em estudo;
- Calcular e avaliar o risco relativo associado à exposição continuada a cianotoxinas, através da água de consumo na população exposta;
- Calcular e avaliar o risco atribuível à exposição continuada da população a cianotoxinas, através da água de consumo.

3. Questão de Investigação; Hipótese básica e secundária

Identificado o problema de uma provável associação entre a ocorrência de florescências e riscos potenciais para a saúde das populações expostas através do consumo direto ou indireto de águas, importa definir questões e proposições que permitam proceder à verificação empírica da resposta à problemática (Marconi & Lakatos, 2002).

Deste modo coloca-se a seguinte questão de investigação central:

- **Haverá relação de causalidade entre o consumo continuado de água contaminada por cianotoxinas e a morbidade e mortalidade por doença oncológica hepática e colorretal na população exposta?**

Tendo em vista a necessidade de coordenar os aspetos já conhecidos sobre a problemática (pela organização dos materiais acumulados na observação e orientação do trabalho de pesquisa), para permitir a produção de manifestações empíricas específicas (Marconi & Lakatos, 2003) que admitam esclarecer a associação entre a exposição continuada a cianotoxinas e alterações em indicadores de saúde propõe-se, de acordo com Prodanov & Freitas (2013), a seguinte hipótese básica:

- **Em populações humanas expostas, verifica-se uma associação entre o consumo continuado de água contaminada com cianotoxinas e alterações na morbidade e na mortalidade hepática e colorretal.**

Como hipóteses secundárias, poderão nomear-se:

- a) Em populações humanas expostas verificam-se alterações ao nível das transaminases, na sequência de exposição continuada a cianotoxinas através do consumo de água contaminada;
- b) Em populações humanas expostas verifica-se um aumento ao nível das incidências na patologia oncológica hepática, como consequência de exposição continuada a cianotoxinas através do consumo de água contaminada;
- c) Em populações humanas expostas verifica-se um aumento ao nível das incidências na patologia oncológica colorretal, como consequência de exposição continuada a cianotoxinas através do consumo de água contaminada.

Dividindo-se em 6 partes, este trabalho apresenta:

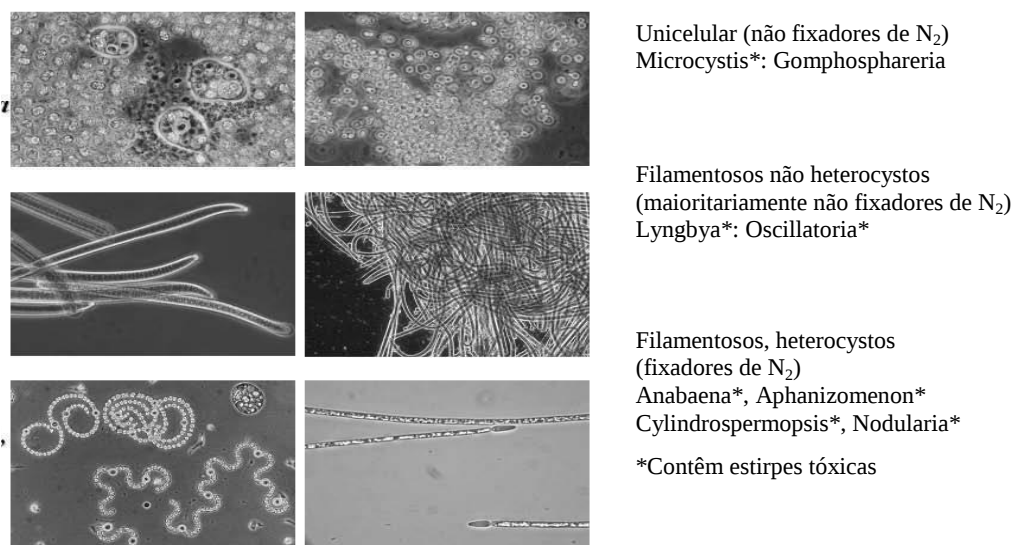
- I) **Fundamentação teórica** – Apresentação de conceitos e definição da problemática associada à exposição a cianotoxinas;
- II) **Caracterização da região estudada** – Enquadramento geográfico das albufeiras objeto de estudo, identificação das pressões antropogénicas e intervenção atual das entidades gestoras;
- III) **Abordagem ao estudo** – Opções metodológicas adotadas, caracterização da população exposta, instrumentos utilizados na colheita de dados e respetivo tratamento estatístico;
- IV) **Apresentação de resultados** – Apresentação de resultados ambientais e de saúde;
- V) **Discussão dos resultados** – Discussão de resultados no âmbito do objetivo geral do trabalho;
- VI) **Conclusões** – Síntese e realce dos resultados mais significativos e recomendações.

Parte I – Fundamentação teórica

1. Fitoplâncton e Cianobactérias

Na coluna de água vive, em suspensão, a comunidade fitoplanctónica constituída por algas microscópicas que suportam a produtividade dos ecossistemas aquáticos e que utilizam a luz, o dióxido de carbono e nutrientes orgânicos e inorgânicos para produzir biomassa, que fornece energia e materiais que estão na base da cadeia alimentar (Paerl et al., 2001).

Estes organismos fotossintéticos apresentam, segundo a espécie, uma estrutura unicelular ou pluricelular (Figura 1) e diferentes requisitos e respostas a parâmetros físicos e químicos, como a luz, a temperatura, a alcalinidade e a concentração de nutrientes.



Fonte: Paerl (2008).

Figura 1: Estrutura celular de cianobactérias

Com taxonomia complexa, podem destacar-se no fitoplâncton os seguintes grupos: Cyanobacteria (cianobactérias), Chlorophyceae (algas verdes), Chrysophyceae (crisofíceas), Bacillariophyceae (diatomáceas), Cryptophyceae (criptofíceas), Dinophyceae (dinoflagelados), Euglenophyceae (euglenófitas) e Conjugatophyceae (e.g., desmidiáceas) (Lee, 2008).

As cianobactérias, igualmente designadas por algas azuis, são organismos procariotas, fotossintéticos, tipicamente maiores que as bactérias. Em ambientes aquáticos podem apresentar três grupos morfológicos básicos: unicelulares isolados ou agrupados em colónias, filamentos indiferenciados (não heterocistos) e filamentos contendo células diferenciadas denominadas heterocistos (Paerl et al., 2001). As células agrupadas em colónias apresentam por vezes uma capa mucilagínosa, envolvendo e protegendo a colónia (Haider et al., 2003). Muitas espécies de cianobactérias possuem versículos de gaz que são inclusões citoplasmáticas capazes de permitir uma regulação da flutuação, facultando às espécies planctónicas um mecanismo ecológico capaz de ajustar a sua posição vertical na coluna de água (Campinas, Teixeira, Lucas, & Rosa, 2002).

Para além das substâncias lipossolúveis (clorofila e carotenoides), as cianobactérias possuem um pigmento característico que é solúvel em água, designado ficocianina, responsável pela coloração azul-esverdeada característica (Crayton, 1993). São o único grupo fitoplanctónico (procariota) capaz de fixar o Azoto atmosférico em circunstâncias de baixos teores de Azoto no ambiente (Tabela 1), bem como de armazenar fósforo para o utilizar posteriormente em condições de depleção de fósforo. Estas características fisiológicas permitem às cianobactérias explorar ambientes pobres ou abundantes em nutrientes (Paerl et al., 2001).

Tabela 1

Cianobactérias fixadoras e não fixadoras de Azoto atmosférico

Filo	Género
Cianobactéria (fixadores N₂)	<i>Anabaena</i>
	<i>Aphanizomenon</i>
	<i>Cylindrospermopsis</i>
	<i>Gloeotrichia</i>
	<i>Nodularia</i>
Cianobactéria (não fixadores N₂)	<i>Microcystis</i>
	<i>Oscillatoria</i>
	<i>Gomphosphaeria</i>

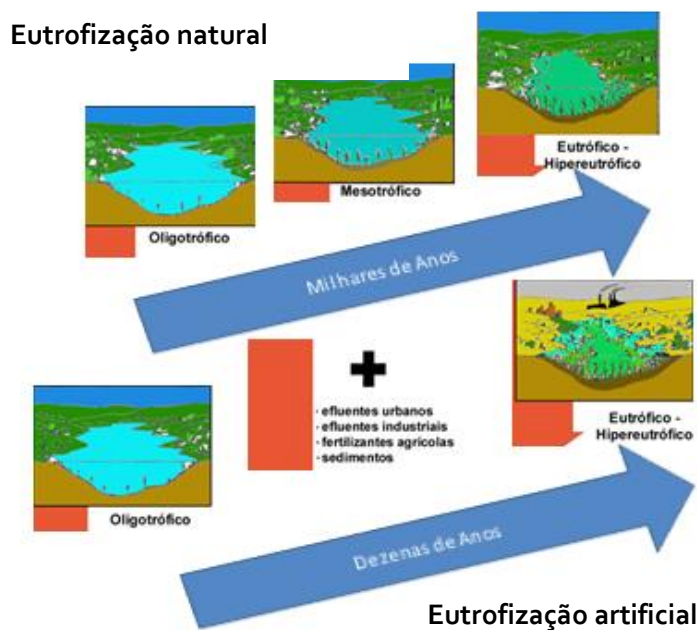
Adaptado de: Pearl et al. (2001).

2. O fenómeno da eutrofização e fatores de potenciação

O termo eutrofização está associado a uma condição qualitativa que descreve o estado de alteração de um ambiente aquático, traduzindo uma potenciação de produção biológica em rios, lagos e reservatórios causada pelo aumento do nível de nutrientes, nomeadamente os compostos de fósforo e azoto (Chorus & Bartram, 1999).

Enquanto processo natural de envelhecimento de albufeiras e lagos, a eutrofização resulta da deposição de matéria mineral ou orgânica que afluí a estes corpos de água, trazida por águas drenantes ao longo de centenas ou milhares de anos. Como consequência, estas albufeiras e lagos evoluem para um estado eutrófico, que se caracteriza pela elevada capacidade de produção biológica (Viegas, 2010). A eutrofização natural encontra-se muitas vezes associada a processos de evolução dos ecossistemas, uma vez que os sucessivos depósitos vão assoreando e os lagos ou albufeiras transformam-se em pântanos e evoluem para um ecossistema terrestre (Patronilho, 2008; Viegas, 2010).

Por oposição à eutrofização natural, a eutrofização artificial, cultural ou antrópica é despoletada pela ação humana (Figura 2), uma vez que diversas atividades agrícolas, industriais e urbanas poderão intensificar consideravelmente fenómenos naturais de enriquecimento de águas em elementos nutritivos (nomeadamente fósforo e azoto), levando a um aumento da produtividade nesses corpos de água.



Adaptado de: Viegas (2010).

Figura 2: Eutrofização natural versus Eutrofização artificial.

Esse aporte de nutrientes sustenta o aumento da abundância e biomassa dos produtores primários (fitoplâncton), originando alterações a nível da cadeia alimentar, uma vez que poderão potenciar o crescimento de determinados grupos algais que, por sua vez, provocam alterações na qualidade da água (Karadžić et al., 2010).

A classificação trófica permite avaliar o grau de eutrofização dos corpos de água, que se traduz na definição da qualidade e consequente utilização dos reservatórios, podendo estas ser condicionadas pelos patamares tróficos. Segundo Witzel (2001, citado por Viegas, 2010), são habitualmente considerados os seguintes níveis tróficos:

- a) Oligotrófico: lagos ou albufeiras de águas límpidas, com baixa produtividade primária devido às baixas concentrações de nutrientes e sem interferências indesejáveis na utilização das águas;
- b) Mesotrófico: lagos ou albufeiras com produtividade intermédia que poderá eventualmente afetar a qualidade da água;
- c) Eutrófico: lagos ou albufeiras com águas turvas, com elevada produtividade primária devido à elevada concentração de nutrientes geralmente associada a

atividades antropogénicas, com alterações indesejáveis na qualidade e consequente utilização das águas.

A condição trófica que permite classificar lagos ou albufeiras como zonas eutróficas ou em vias de eutrofização é feita através da determinação de componentes químicos e biológicos. Os componentes químicos envolvem a determinação quantitativa de parâmetros como o Fósforo, a clorofila-*a* e o Oxigénio dissolvido (Tabela 2), que é complementada com a componente biológica pelo estudo da estrutura das comunidades.

Esta avaliação é fundamental na apreciação científica do reservatório de água e permite tecer algumas previsões através das relações bióticas e abióticas (Karadžić et al., 2010).

Tabela 2

Apreciação da condição trófica

Parâmetros	Oligotrófica	Mesotrófica	Eutrófica
Fósforo Total (mg P/m³) ou (µg P/L)	< 10	10 - 35	> 35
clorofila-<i>a</i> (mg/m³) ou (µg P/L)	< 2.5	2.5 – 10	> 10
Oxigénio Dissolvido (% Saturação)	-----	-----	< 40

Adaptado de: Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional (2005).

Classificações tróficas mais pormenorizadas poderão ser feitas através da utilização de níveis como: ultraoligotrófico, oligotrófico, oligomesotrófico, mesotrófico, meso-eutrófico, eutrófico, eupolitrófico, hipereutrófico (listados da menor para a maior produtividade) (Patronilho, 2008).

Taxas de crescimento do fitoplâncton com densidades superiores a 2.000 células/ml e o domínio de cianobactérias são alguns dos sintomas mais visíveis da eutrofização de lagos e reservatórios, tendo a causa desse domínio ocupado grande espaço na pesquisa limnológica contemporânea. Várias pesquisas apontaram as elevadas concentrações de Fósforo (P) e os baixos rácios Azoto (N): Fósforo (P) como sendo favoráveis à ocorrência de florescências a cianobactérias, concluindo-se mesmo pelo rácio N:P de 29:1 como aquele que poderia diferenciar entre o domínio de cianobactérias (N:P <29:1) e outras massas de água que não apresentariam esse domínio (N:P > 29:1) (Havens, James, East & Smith, 2003). Segundo Smith (1983, citado por Havens et al., 2003), a ligação entre o domínio das cianobactérias e os baixos rácios Azoto Total (TN): Fósforo Total (TP) deve-se ao facto das cianobactérias competirem melhor para o

N do que outro fitoplâncton quando este se apresenta escasso. Assim, na presença de um aumento substancial da concentração de P numa massa de água, o N torna-se escasso, criando condições para um domínio das cianobactérias.

Apesar de o P ser frequentemente identificado como nutriente limitante do crescimento algal em reservatórios, o N poderá ter um papel importante na produção primária em várias circunstâncias (Camargo & Alonso, 2006). Ao longo das últimas décadas, tem-se verificado um aumento dos fluxos de N (principalmente Nitratos) resultantes de atividades humanas em várias partes do mundo, permitindo relacionar esses fluxos com o aumento da ocorrência de florescências algais.

Apesar de a monitorização e avaliação do estado de eutrofização se basear tradicionalmente nos teores de P e clorofila-*a*, recentes critérios relacionados com nutrientes incluem o P e o N, devido à crescente ligação entre poluição por N e eutrofização (Camargo & Alonso, 2006).

3. Florescências fitoplanctónicas

O fitoplâncton é fundamental no suporte à produtividade dos ecossistemas aquáticos, uma vez que utiliza luz, dióxido de carbono e uma variedade de nutrientes orgânicos e inorgânicos, para produzir biomassa através da fotossíntese, a qual fornece energia e outros materiais à base da cadeia alimentar (Paerl et al., 2001). Obtendo nutrientes diretamente da coluna de água, esta comunidade fitoplanctónica pode registar elevados índices de crescimento e quando as taxas de crescimento apresentam densidades superiores a 2.000 células/ml), originam as florescências fitoplanctónicas (algas/cianobactérias).

Estas florescências correlacionadas positivamente com os níveis de Fósforo Total e Azoto Total (Havens, 2008) são monitorizadas utilizando medidas de biomassa – contagens (células/ml) e cálculo do bio-volume celular (mm^3/l) - associadas à avaliação das espécies presentes. Um dos parâmetros largamente utilizado na avaliação da biomassa de algas e cianobactérias é a clorofila-*a* que, num lago eutrofizado, poderá atingir os 300 $\mu\text{g/L}$ (Chorus & Bartram, 1999).

Geralmente o domínio potencial de cianobactérias aumenta quando o Fósforo Total (FT) aumenta de 30 para 100 $\mu\text{g/L}$; no entanto, a resposta padrão depende de outros

fatores como a profundidade média, fluxos e temperatura da água. A ocorrência de florescências conduz a alterações da cor da água, apresentando frequentemente uma cor amarelada, avermelhada, verde, azul-esverdeada ou castanha (Paerl et al., 2001).

4. Dinâmica temporal das florescências a cianobactérias

As florescências a cianobactérias apresentam dinâmicas em intervalos temporais variados, uma vez que determinados corpos de água manifestam florescências sazonais que começam no verão e terminam no outono; outros apresentam florescências que atravessam todas as estações e, em alguns casos, as florescências a cianobactérias duram apenas uns dias (Havens, 2008).

Esta dinâmica variável depende de circunstâncias ambientais como os teores de Fósforo e Azoto, matéria orgânica, condutividade e salinidade, turbulência e tempo de residência da água, interação com outros microrganismos competidores e consumidores e condições climáticas que afetam as taxas de crescimento e domínio das cianobactérias em ecossistemas aquáticos (Tabela 3) (Paerl et al., 2001).

Esta forte influência dos fatores ambientais pode levar a que em regiões de clima mediterrânico, como Portugal, as florescências a cianobactérias se estendam da primavera ao princípio do outono e, nos anos secos das regiões tropicais e subtropicais, como o Brasil, estas florescências permaneçam durante todo o ano (van Apeldoorn, van Egmond, Speijers & Bakker, 2007).

Tabela 3

Fatores ambientais com impacto no crescimento de cianobactérias

Fator			Impacte e resposta de cianobactérias
Físico	Químico	Biológico	
Temperatura			Temperaturas > 15°C favorecem o crescimento.
Luz			Muitos géneros associados a florescências preferem/toleram luzes mais intensas.
Turbulência			Muitos géneros preferem baixas turbulências e baixas condições de mistura.
Tempo de residência da água			Longos períodos de residência são preferidos por todos os géneros.
	Nutrientes Macro (N,P)		Enriquecimento de N e P favorecem o crescimento de géneros não fixadores de N ₂ ; Baixos rácios de N:P favorecem os géneros fixadores de N ₂
	Nutrientes Micro-Fe/metais		Fe necessário para fotossíntese, utilização de NO ₃ e fixação de N ₂ . Outros metais como Cu, Mn, Zn são necessários mas não limitantes.
	Carbono Inorgânico Dissolvido (CID)		CID pode limitar o crescimento do fitoplâncton.
	Carbono Inorgânico Dissolvido (COD)		Muitos grupos podem utilizar o COD. As florescências decorrem habitualmente em ambientes ricos em COD.
		Interações microbianas	Estas interações podem promover o crescimento de cianobactérias e a formação/persistência das florescências.
		Simbiose com plantas e animais superiores	Cianobactérias são epifíticas e formam endossimbioses com outros organismos.

Adaptado de: Pearl (2001).

5. Florescências tóxicas

Uma das principais preocupações relacionadas com as florescências prende-se com o facto de alguns grupos algais, como as cianobactérias, dinoflagelados e diatomáceas, poderem causar toxicidade em animais aquáticos e terrestres (incluindo o Homem), uma vez que são produtores de toxinas. Estas poderão permanecer no interior das células ou

serem libertadas para o ambiente exterior durante o crescimento algal ativo ou na ocorrência de lise celular (Camargo & Alonso, 2006).

A exposição animal direta decorre da ingestão ou contacto cutâneo com água contendo toxinas ou ainda pela ingestão de células através da alimentação. No que concerne à exposição indireta, esta poderá ocorrer através da cadeia alimentar, uma vez que as toxinas algais poderão ser bio-acumuladas, bio-transferidas ou bio-potencializadas (Camargo & Alonso, 2006). De entre os grupos algais produtores de toxinas, as cianobactérias são o mais notório nas águas doces superficiais, incluindo géneros fixadores de Azoto (*Anabaena*, *Aphazinomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Gloetrichia* e *Nodularia*) e géneros não fixadores de Azoto (*Microcystis*, *Oscillatoria* e *Lyngbya*) (Paerl et al., 2001). Deste modo, as florescências a cianobactérias nas águas doces superficiais são suscetíveis de constituir um fator de risco para a saúde, podendo este ser avaliado através do número de células ou teor de clorofila-*a* presentes (Tabela 4).

Tabela 4

Valores guia para águas doces superficiais

Risco	Valores guia (cels/ml) de cianobacterias	clorofila- <i>a</i> (quando as cianobactérias são dominantes)
Relativamente baixo	20.000	10 µg/L
Moderado	100.000	50 µg/L
Elevado	Florescência	-----

Adaptado de: WHO (2003b).

Longe de ser um problema recente, as florescências a cianobactérias têm acompanhado as modificações provocadas pelo homem em bacias hidrográficas no decorrer dos séculos, tendo sido retratadas por pinturas holandesas do século XVII (Paerl, 2008).

6. Cianotoxinas e fatores de risco associados

As cianotoxinas são metabolitos secundários à formação de fotopigmentos (Santos & Bracarense, 2008) e constituem um grupo diversificado de toxinas que, depois de produzidos, poderão ficar ligados à membrana ou libertos no interior da célula (Svircev et al., 2009). Apesar da falta de evidência sobre a razão pela qual as cianobactérias produzem toxinas, estimam-se que 40 dos 150 géneros que constituem o *Phylum* das

cianobactérias possam estar envolvidos na produção e envenenamento por cianotoxinas (van Apeldoorn et al., 2007).

Embora possam afetar organismos do zooplâncton, as cianotoxinas apresentam baixa toxicidade nos moluscos e crustáceos, afetando sobretudo organismos que não competem diretamente com as cianobactérias pelo habitat e que, não sendo seus predadores diretos, estão muito distantes na escala evolutiva (Dias, 2009).

A libertação da toxina para o meio extra celular pode ocorrer durante a vida da célula, provavelmente associada à competição entre os organismos fitoplanctónicos e à inibição da predação por consumidores primários (FUNASA, 2003) ou depois da morte celular, quando o conteúdo intracelular é libertado no ambiente (Svircev et al., 2009).

A epidemiologia das cianobactérias provenientes de vários continentes aponta as cianotoxinas como causa de envenenamento de animais, uma vez que estes acedem à água contaminada, de lagos e reservatórios, após florescências com cianobactérias.

As intoxicações em humanos resultam essencialmente da ingestão accidental de água contaminada durante a prática de atividades recreativas ou através do consumo de água indevidamente tratada (Dias, 2009). Por outro lado, estas intoxicações encontram-se menos documentadas, uma vez que muitos dos indícios coincidem com sintomas provocados por outros organismos infecciosos (Falconer & Humpage, 2005) e, em situação de doença entérica, os patogénicos são pesquisados em primeiro lugar como causas mais prováveis e só depois se avaliam vários agentes tóxicos.

A maior parte dos registos de intoxicação humana relacionam-se com intoxicações agudas, embora já estejam descritos alguns efeitos a longo termo (cancro hepático e do cólon) em populações expostas cronicamente a água não tratada e frequentemente contaminada com cianobactérias (Yu, 1995; Ueno et al., 1996; Zhou, Yu & Chen, 2002).

De entre os dados epidemiológicos de toxicidade humana, o melhor caracterizado foi o que decorreu em 1996, no Brasil, em que doentes hemodialisados tratados durante uma semana com água contaminada com duas cianotoxinas sofreram doença severa com falência hepática, tendo falecido 50 pacientes (Falconer & Humpage, 2005). Segundo Svircev et al. (2009), foram observadas situações de intoxicação que não estão

relacionadas com as cianotoxinas identificadas, o que pressupõe a existência de outras cianotoxinas ainda não identificadas e que atuam de forma direta ou com efeito sinérgico relativamente a substâncias químicas presentes durante as florescências. Este facto enfatiza a importância da deteção de florescências, relativamente à pesquisa e identificação de cianotoxinas já caracterizadas.

Cada cianotoxina pode ser produzida por mais do que uma espécie de cianobactérias e a mesma espécie pode produzir mais de que um tipo de toxina. Sabendo-se que em 50 a 70% das florescências a cianobactérias a toxicidade está associada à produção simultânea de diversas toxinas, conclui-se que a toxicidade de uma florescência está relacionada com espécies que a compõem (Funari & Testai, 2008).

7. Classificação das Cianotoxinas

As cianotoxinas poderão ser classificadas em categorias que refletem os seus efeitos biológicos em órgãos ou sistemas ou de acordo com a sua estrutura química.

7.1 Perfil Toxicológico

No que se refere ao perfil toxicológico, as cianotoxinas agrupam-se em hepatotóxicas, neurotóxicas, citotóxicas, toxinas gastrointestinais e irritantes, para além de outras, cujo perfil toxicológico e ecotoxicológico é conhecido apenas parcialmente como a microviridin J e β -N-methylamino-L-alanine (Funari & Testai, 2008).

Cianotoxinas Hépto-tóxicas

Microcistinas

Constituem o grupo que requer mais atenção, uma vez que são o maior risco para o consumidor. Os géneros predominantes que produzem este péptido tóxico designado microcistina são: *Microcystis*; *Planktothrix* e *Anabaena*, sendo as espécies destes géneros comuns em África, Europa, América e Ásia (Falconer & Humpage, 2005). Resistente à digestão no trato gastrointestinal dos eucariotas, esta toxina concentra-se no fígado por transporte ativo e inibe as fosfatases 1 e 2A (PP1 e PP2A) que tem um papel fundamental no controlo e estrutura intracelular do hepatócito. Estas enzimas regulam variados processos celulares, como a divisão e crescimento celular, metabolismo, controlo hormonal em respostas a sinais do ambiente, pelo que a sua inativação poderá

conduzir a uma divisão celular desordenada que está na génese da formação de tumores (Barbosa, 2009).

Se a exposição aguda pode conduzir a alterações na estrutura do fígado, originando hemorragia hepática eventualmente fatal por destruição massiva de hepatócitos, a exposição crónica conduz a ferimentos hepáticos em ratos com alguma evidência experimental enquanto promotores de tumores no fígado, pele e cólon e carcinogénicos em roedores (Falconer & Humpage, 2005).

A lesão hepática com destruição de hepatócitos é avaliada através das enzimas designadas transaminases: Aspartato Amino Transferases (AST) e Alanina Amino Transferase (ALT) que podem elevar o seu nível sanguíneo dezenas de vezes acima do normal (Pádua, 2009). Para uma melhor avaliação da gravidade da lesão hepática, interessa estudar outras enzimas como a Gama Glutamil Transpeptidase (YGT/GGT) ou a fosfatase alcalina (FA) (Pádua, 2009). A YGT é a enzima mais sensível como indicador de doença hepato-biliar, apresentando também níveis elevados em situações associadas ao consumo de álcool ou em pacientes com cirrose alcoólica (Moss & Henderson, 1987).

Nodularina

Cianotoxina produzida pela espécie *Nodularia spumigen* apresenta-se como hepato-tóxica, atuando de forma idêntica à microcistina. Uma vez libertada para o ambiente, a sua elevada estabilidade química e solubilidade em meio aquático contribui para a sua persistência ambiental (Chorus & Bartram, 1999).

Cylindrospermopsina

Esta toxina apresenta uma estrutura alcaloide e foi encontrada em águas tropicais e subtropicais australianas onde foi responsável por episódios de toxicidade devido à contaminação do reservatório de água. É produzida essencialmente pelas cianobactérias *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Aphanisomenon ovalisporume* e *Umezakia natans* (Haider et al., 2003), manifestando forte toxicidade para células hepáticas, renais, suprarrenais e linfóides em roedores, atuando por inibição de síntese proteica (Falconer & Humpage, 2005). A avaliação da estrutura molecular desta toxina indicou a

capacidade de interagir com a molécula de DNA e RNA através do grupo Uracilo, sendo necessária a avaliação da carcinogenicidade (Falconer & Humpage, 2005).

Cianotoxinas Neurotóxicas

Apesar dos diferentes mecanismos, todas as neurotoxinas atuam no sistema neuromuscular bloqueando os músculos esqueléticos e respiratórios, levando à morte por insuficiência respiratória, sendo as anatoxinas e saxitoxinas os grupos mais importantes (Funari & Testai, 2008). Segundo Hitzfeld, Hoger, e Dietrich (2000), as neurotoxinas podem ser classificadas em três grupos: a) anatoxina-a e homoanatoxina-a; b) anatoxina-a(s) que estruturalmente é diferente da anatoxina; c) saxitoxinas.

Enquanto a anatoxina-a foi descrita a partir da *Anabaena flos-aquae*, outras *Anabaena* spp, *Oscillatoria* sp., *Aphanizomenon* sp., *Cylindrospermum* sp. e *Microcystis* sp., a anatoxin-a(s) foi obtida a partir da *Anabaena flos-aquae* e *Anabaena lemmermannii*. Apesar de serem melhor conhecidas nos dinoflagelados marinhos, as saxitoxinas também foram detetadas a partir de cianobactérias de águas doces como *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena circinalis*, *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Lyngbya wollei* (Hitzfeld et al., 2000).

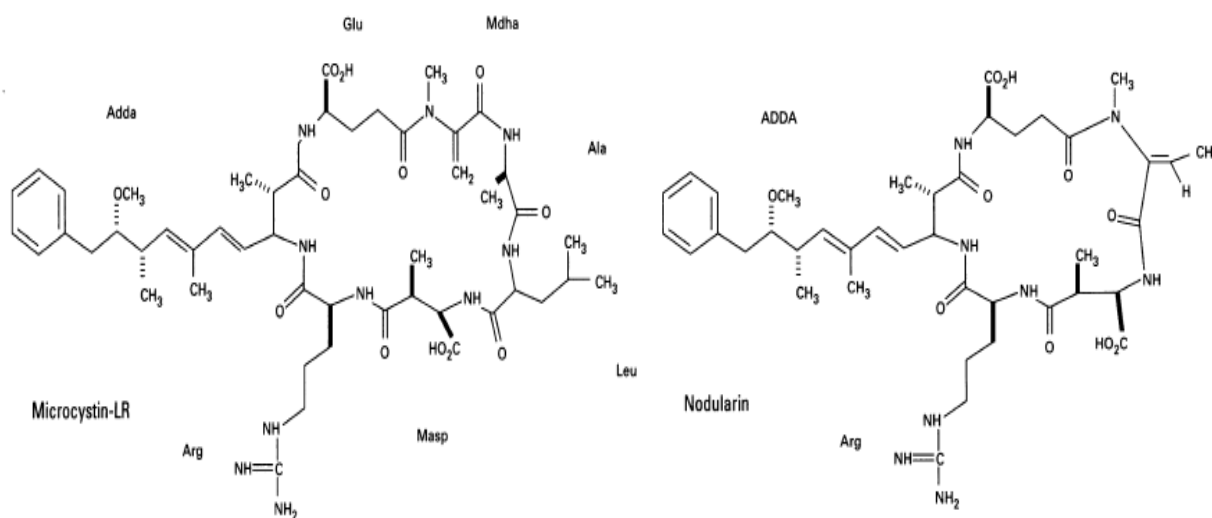
7.2 Estrutura química das Cianotoxinas

Tendo em conta a estrutura química, as toxinas dividem-se em 3 grupos: péptidos cíclicos (microcistinas e nodularinas); alcaloides (neurotoxinas e cylindrospermopsina); e lipopolissacáridos. Atualmente a atenção dos investigadores tem-se centrado mais nos péptidos cíclicos, uma vez que se considera que a presença de alcaloides e lipopolissacáridos não é generalizada em águas de abastecimento e que, de entre as hepatotoxinas, as microcistinas e nodularinas são as mais frequentes (Chorus & Bartram, 1999).

Péptidos Cíclicos: Microcistinas e Nodularinas

As microcistinas (MC) e nodularinas (NOD) (Figura 3) são constituídas por sete e cinco aminoácidos, respetivamente (Paerl, et al., 2001), tendo como característica comum o aminoácido b-hidrofóbico, 3-amino9-methoxy2-6, 8-trimetil10-fenildeca4, 6-ácido dienóico (Adda), essencial para a expressão da sua atividade biológica (Pocock, 2008).

As variações devidas a alterações de aminoácidos, principalmente nos dois L-aminoácidos das posições 2 e 4 (Pocock, 2008), originaram mais de 70 variantes de MC e cerca de 6 variantes de NOD. Com base na sua toxicidade aguda, a MC – LR é considerada a hepatotoxina mais potente (Funari & Testai, 2008). As microcistinas têm sido caracterizadas nos géneros *Anabaena*, *Microcystis*, *Oscillatoria/Planktothryx*, *Nostoc* e *Anabaenopsis*, enquanto a *Nodularina* é apenas caracterizada na *Nodularina spumigena* (Paerl et al., 2001). No caso das microcistinas, estas são sintetizadas por uma enzima complexa não ribossomal, codificada pelo gene cluster *myc* (Pocock, 2008).



Fonte: Hitzfeld (2000).

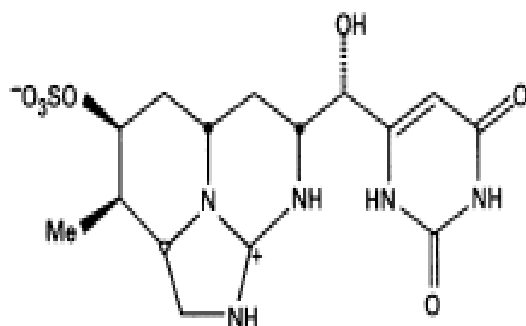
Figura 3: Estrutura molecular da microcistina e nodularina.

Alcaloides: Cylindrospermopsina e Neurotoxinas

Cylindrospermopsina

A molécula da Cylindrospermopsina (Figura 4) é formada por um grupo tricíclica guanidina combinada com hidroximetil-uracil, sendo considerada uma citotoxina uma vez que produz efeitos hepato-tóxicos e nefrotóxicos, para além de afetar outros órgãos quando expostos.

Sendo altamente hidrofílica, a absorção intestinal necessita de sistemas de transporte ativo, como a sua entrada nos hepatócitos, utilizando o sistema de transporte dos ácidos biliares (Chong et al, 2002, citado por Funari & Testai, 2008).

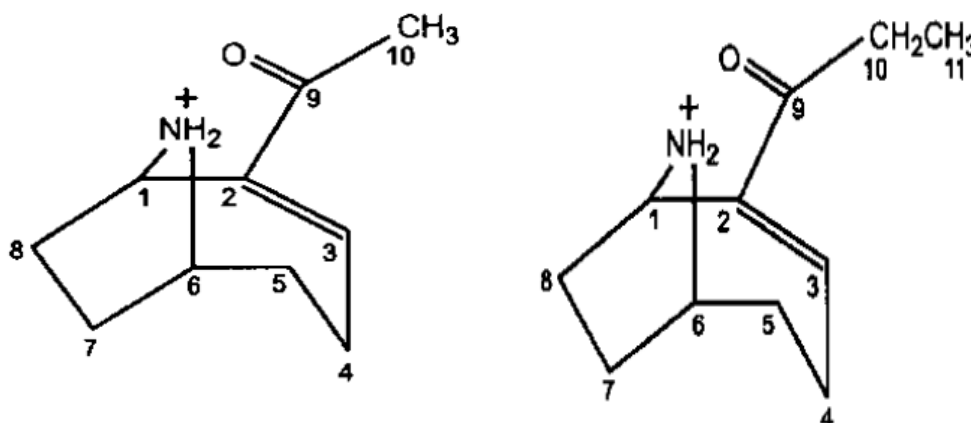


Fonte: Hitzfeld (2000).

Figura 4: Estrutura molecular da Cylindrospermopsina.

Anatoxina-a e Homoanatoxina-a

Alcaloides homólogos de baixo peso molecular (Figura 5), diferenciando-se entre si pelo facto da Homo-anatoxina-a possuir um grupo propionyl na localização C-2, em vez do grupo acetil como possui a anatoxina-a (Chorus & Bartram, 1999). Atuam como bloqueadores neuro musculares (Falconer & Humpage, 2005).

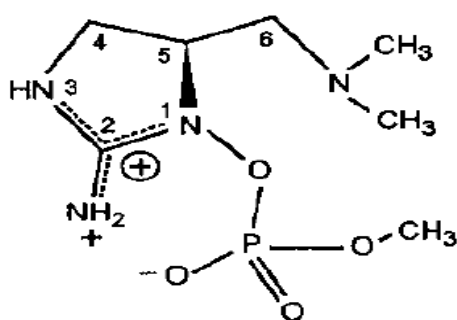


Fonte: Chorus e Bartram (1999).

Figura 5: Estrutura molecular da anatoxina-a e homoanatoxina-a.

Anatoxina-a(s)

Alcaloide muito próximo de um inseticida organofosforado (Falconer & Humpage, 2005) (Figura 6) é o único éster de fosfato do cíclico N-hydroxyguanine (Chorus & Bartram, 1999). A principal característica do envenenamento por esta toxina é a salivação excessiva, razão pela qual tem a designação (s) e atua como anticolinesterase (Falconer & Humpage, 2005).



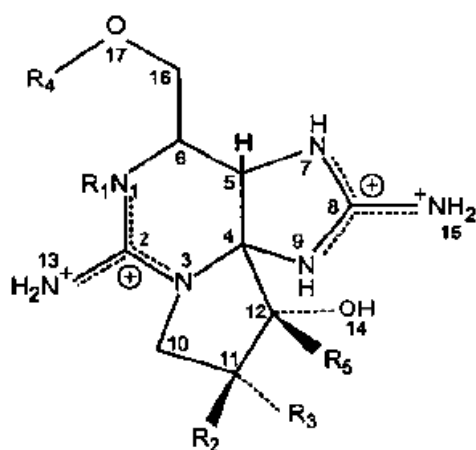
Fonte: Chorus e Bartram (1999).

Figura 6: Estrutura molecular da Anatoxina-a(s).

Saxitoxinas

As Saxitoxinas e as Neo-Saxitoxinas possuem uma estrutura tricíclica única com um anel de hidropurina (Figura 7) (van Apeldoorn et al., 2007). O nome Saxitoxina deriva de um molusco onde foi identificada pela primeira vez (*Saxidomus giganteus*) e são um grupo de alcaloides carbamatos que poderão ser não sulfatados (saxitoxinas – STX), sulfatados simples (gonyautoxinas – GTX) ou duplamente sulfatados (C-toxinas) (Chorus & Bartram, 1999) que, por sua vez, estão relacionados com a toxicidade específica de cada toxina. Deste modo, a classe dos componentes não sulfatados inclui as toxinas mais potentes, como as saxitoxinas, a classe dos sulfatados simples ou gonyautoxinas apresentam toxicidade alta ou moderada e as duplamente sulfatadas ou C-toxinas representam a classe menos tóxica (Batoréu, Dias, Pereira & Franca, 2005).

Com 21 variantes identificadas, as Saxitoxinas são igualmente conhecidas como agentes de intoxicação paralisante de marisco (Falconer & Humpage, 2005) e atuam por ligação reversível aos canais de sódio das membranas das células nervosas, bloqueando a neuro transmissão e provocando uma disfunção generalizada do nervo (Batoréu et al., 2005)



Fonte: Chorus e Bartram (1999).

Figura 7: Estrutura molecular das Saxitoxinas.

7.3 Lipopolissacáridos

Os Lipopolissacáridos (LPS) encontram-se na membrana externa da parede celular das cianobactérias onde formam complexos com as proteínas e fosfolípidos, apresentando propriedades pirogénicas e tóxicas. Geralmente são produtos condensados de um açúcar, habitualmente uma hexose e um lípido, normalmente um hidroxy $C_{14} - C_{18}$ (Chorus & Bartram, 1999). Os lipopolissacáridos consistem num lípido A com um núcleo de polissacáridos e uma parte exterior constituída por uma cadeia polissacarídea conhecida como antígeno O. Contêm uma grande variedade de ácidos gordos insaturados na longa cadeia, incluindo o pouco habitual ácido β -hidroxipalmítico (Pocock, 2008).

As variadas estruturas dos LPS são geralmente conservadas em termos filogenéticos, sendo habitualmente o ácido gordo o responsável pela resposta irritante ou alérgica, manifestada pelos humanos e restantes mamíferos.

7.4 Formação e estabilidade das cianotoxinas em ambiente aquático

Apesar do relativo desconhecimento sobre as condições ambientais que promovem a formação de toxinas, o mecanismo utilizado tem sido paulatinamente descoberto.

O pequeno tamanho da estrutura cíclica e a presença de aminoácidos invulgares apontam para uma formação não ribossomal destes péptidos, envolvendo enzimas

designadas péptido sintetases modulares, em que cada módulo contém informação sobre a síntese de cada péptido (Haider et al., 2003).

Os dois principais fatores que parecem afetar a produção de toxina são a luz e a temperatura, estando a temperatura ótima entre os 20 e 25° C, sugerindo que as cianobactérias produzem mais toxinas em períodos de tempo quente ou em climas quentes (WHO, 1998). No que se refere à intensidade de luz, a toxicidade das cianobactérias parece aumentar com um aumento da intensidade luminosa (abaixo dos 40 micro einsteins/m² por segundo), diminuindo consequentemente com a profundidade (WHO, 1998). A produção de toxinas varia substancialmente entre diferentes cepas da mesma espécie, assumindo igualmente as diferenças genéticas e processos metabólicos um papel importante.

Microcistinas e toxinas alcaloides

São naturalmente degradadas em ambiente aquático, podendo, no entanto, ter uma fase de latência antes de ocorrer uma degradação mais acentuada. Quanto à microcistina, estudos apontam para uma fase de latência com duração média de 9 a 10 dias (WHO, 1998). Quer microcistinas quer nodularinas permanecem ativas após fervura e, num ambiente de águas naturais sem claridade, as microcistinas poderão persistir meses ou anos (Chorus & Bartram, 1999). Perante elevadas temperaturas (40° C) e a pH baixo ou elevado verificam-se baixos índices de degradação, podendo levar 10 a 12 semanas para que ocorra 90% da degradação (van Apeldoorn et al., 2007).

As microcistinas podem ser oxidadas pelo ozono ou outro agente oxidante potente, podendo também ser degradadas pela intensa radiação ultravioleta (Chorus & Bartram, 1999).

Anatoxina-a

É relativamente estável em ambientes de fraca luminosidade. No entanto, numa solução com ausência de pigmentos é alvo de uma rápida degradação fotoquímica quando exposta à radiação solar. Este fenómeno será acelerado em condições de alcalinidade (van Apeldoorn et al., 2007). Segundo os mesmos autores, em situação de fluorescência, esta toxina está presente na água de forma livre ou dissolvida e na forma intracelular. A semivida para a degradação fotoquímica é de 1 a 2 horas. Porém, em condições de

luminosidade normal, com pH compreendido entre 8 e 10 e uma concentração inicial baixa (10µg/L), a semivida é de cerca de 14 dias (van Apeldoorn et al., 2007).

Anatoxina-a(S)

Decompõe-se rapidamente em soluções básicas. No entanto, apresenta estabilidade relativa em condições de neutralidade e acidez, sendo inativada a temperaturas elevadas (>40° C) (van Apeldoorn et al., 2007).

Cylindrospermopsin (CYN)

Em condições laboratoriais, a CYN apresenta boa estabilidade com luminosidade reduzida ou em intervalos específicos de intensidade luminosa, temperatura e pH. Águas com suspeitas de estarem contaminadas por CYN não serão consideradas inócuas após 15' de fervura. Porém, este tratamento promove a conversão da CYN em componentes de estrutura relacionados. A luz ultravioleta promove a decomposição da CYN (van Apeldoorn et al., 2007). Segundo Pocock (2008), temperaturas elevadas (50° C) poderão diminuir a velocidade de decomposição, enquanto a presença de pigmentos celulares poderá acelerar o processo, com cerca de 90% da toxina a ser degradada em 2 a 3 dias.

Saxitoxinas (STX)

Toxinas com boa estabilidade em soluções aquosas podem manter-se ativas vários meses em soluções ácidas diluídas (van Apeldoorn et al., 2007). À temperatura ambiente e em condições de fraca luminosidade, estas toxinas (nomeadamente as C-toxinas) vão sendo convertidas através de sucessivas e lentas reações de hidrólise. Estas alterações decorrem da perda do grupo N-carbamoisulfato, o que transforma as C-toxinas em decarbamoil goniautoxinas (dc-GTXs), provocando um aumento da toxicidade após a fluorescência, uma vez que estes compostos são mais tóxicos do que as C-toxinas (Jones & Negri, 1997).

A 90° C e em condições de pH neutro, estas reações (que parecem ser de natureza química) podem decorrer de forma rápida e espontânea. No entanto, a 25° C decorrem de forma lenta (Jones & Negri, 1997).

As dc-GTXs, GTXs e STXs são, por seu lado, lentamente degradadas em produtos não tóxicos, sendo geralmente necessárias entre 1 a 10 semanas para degradar 50% do total dessas toxinas e cerca de três meses para que decorra a degradação de cerca de 90% dessas moléculas (Barbosa, 2009).

Sendo os processos de degradação bacteriana desta toxina menos difundidos nas águas naturais do que aqueles que foram encontrados para a microcistina, devem continuar os estudos na utilização de técnicas como a do carvão ativado ou a de métodos oxidativos para assegurar a qualidade da água a fornecer às populações (Jones & Negri, 1997). A fervura da água parece eficaz para eliminar esta toxina sendo, no entanto, necessário estabelecer condições de padronização de fervura, como o tempo e o pH.

7.5 Remoção de cianobactérias e cianotoxinas

Os problemas dos reservatórios de águas associados a cianobactérias incluem, para além de sabores e odores desagradáveis, a possibilidade destas serem produtoras de toxinas com efeitos nocivos para a saúde pública, implicando a aplicação de um conjunto de medidas para conseguir manter a boa qualidade da água para consumo direto ou indireto.

Estando estes efeitos nocivos relacionados com a saúde a uma escala global, a OMS estabeleceu valores guia para águas de consumo direto na ordem de 1.0µg de MC-LR/L, tendo ainda publicado um valor de alerta relativamente às microcistinas de 10 µg de MC/L, mesmo que esta concentração se verifique por breves períodos (Pocock, 2008). De um modo geral, é necessário que os processos de tratamento adotados sejam capazes de remover a biomassa de cianobactérias e a fração dissolvida das cianotoxinas sem promoverem a rotura de células que fomentariam concentrações de metabolitos tóxicos (Barbosa, 2009).

Até ao colapso da fluorescência, a maioria das cianotoxinas ficarão retidas dentro das células, tornando a remoção de células intactas altamente prioritária, sendo utilizados para o efeito processos de filtração direta e rápida para remover a matéria suspensa e processos de filtração lenta com areia.

A variabilidade no tamanho e forma das cianobactérias tem implicações no que respeita à resposta obtida nos processos físicos e químicos utilizados para a remoção das células

(Newcombe, House, Ho, Baker, & Burch, 2010). Porém, sob determinadas condições, é expectável que uma porção substancial de toxina seja libertada para a coluna de água, pelo que a remoção das toxinas torna-se uma preocupação incontornável (Pocock, 2008).

Uma vez que as toxinas são solúveis em água, os processos de tratamento a implementar para remoção de toxinas envolvem procedimentos químicos (Hitzfeld et al., 2000) e, segundo Palus et al. (2007) e Hoeger (2005), a eficiência do tratamento convencional para a sua eliminação é baixa, representando um risco elevado para as populações abastecidas com água potável produzida a partir de reservatórios eutróficos. No entanto, e de acordo com Barbosa (2009), o tratamento convencional (coagulação/floculação, sedimentação e filtração) está largamente difundido, uma vez que a coagulação e sedimentação combinadas com a utilização do carvão ativado revelaram grande eficácia para a remoção da toxicidade (Hitzfeld et al., 2000).

A coagulação e subsequente sedimentação envolvem a agregação de pequenas partículas com a utilização de substâncias químicas como o sulfato de alumínio (Hitzfeld et al., 2000), estando a eficácia da remoção dependente do correto ajustamento das doses químicas. Apesar de a evidência demonstrar que a degradação celular durante a coagulação depende do estágio e do crescimento da florescência, a otimização da coagulação numa florescência natural continua a ser a barreira mais efetiva para evitar os metabolitos algais (cianotoxinas) durante o processo de tratamento (Newcombe et al., 2010).

Segundo Pocock (2008), os três processos habitualmente empregues no tratamento de águas para a remoção de microcistinas das águas de consumo direto incluem:

- a) A ozonização (pré ou pós-tratamento) é apresentada como o método mais eficiente para a destruição total das microcistinas intra e extracelulares, como das nodularinas e anatoxina-a, removendo igualmente alguns componentes responsáveis pelo odor. Uma vez que a efetividade do ozono depende do pH utilizado (otimizado a pH baixos) e das elevadas doses necessárias (com custos elevados), a sua utilização torna-se por vezes inviável nos tratamentos de água (Pocock, 2008).

- b) A cloração (fase final do tratamento) é igualmente eficiente na eliminação da microcistina e nodularina, mas apenas sob determinadas condições, ou seja, o cloro livre residual deve ser 0,5mg/l após 30 minutos de contacto, com um pH abaixo de 8 (Pocock, 2008).
- c) O carvão ativado em pó (PAC) (agente filtrante) consegue remover com eficácia microcistinas e nodularinas, sendo recomendada a utilização conjunta com outra técnica como um tratamento de pré-ozonização, uma vez que serão necessárias grandes quantidades de (PAC) para remover grandes quantidades de toxina.

Segundo a Global Water Research Coalition (2009), os processos de remoção de cianotoxinas dividem-se em três categorias:

Processos físicos: Filtração por membranas; Carvão ativado – granular (GAC) ou em pó (PAC);

Processos químicos: Cloração; Ozonização; Permanganato de Potássio (informação ainda insuficiente); Radiação Ultravioleta (UV)/Peróxido de Hidrogénio (potencia a capacidade oxidante do tratamento UV);

Processos biológicos: Filtros biológicos (microrganismos) que, associados a processos como a filtração lenta com areia, poderão apresentar resultados favoráveis na remoção de cianotoxinas. No entanto, ainda não se podem considerar uma barreira eficaz.

Uma vez que a presença de matéria orgânica na água interfere com a remoção da cianotoxina e sendo o carvão granular ativado (GAC) mais efetivo nestas condições, seria desejável a utilização conjunta de PAC e GAC, uma vez que este último é mais eficaz na adsorção da anatoxina-a do que na da microcistina – LR (MC-LR) (Pocock, 2008).

O tratamento da água deveria ser apenas uma opção após outras técnicas, como a seleção da profundidade da recolha de água, a utilização prévia de bancos de filtração e a utilização de barreiras para restringir o movimento das florescências.

No que se refere a outras hépato-toxinas como nodularinas e cylindrospermopepsina, neurotoxinas como as saxitoxinas e lipopolissacáridos endotóxicos, não está definido nenhum valor guia para as concentrações, dada a ausência de dados (Hoeger, Shaw, Bettina & Dietricha, 2004 ; Pocock, 2008).

8. As cianotoxinas e a avaliação do impacto em Saúde

As cianotoxinas são metabolitos secundários produzidos por cianobactérias (nomeadamente em águas superficiais) que estão inseridas no grupo dos microrganismos patogénicos emergentes, apesar de não colonizarem e invadirem o hospedeiro (Funari & Testai, 2008).

Agrupadas de acordo com a sua estrutura química, identificam-se três grupos de cianotoxinas com mecanismos específicos de toxicidade: as **neurotoxinas** (anatoxina-a, anatoxina-a(s), saxitoxinas) que bloqueiam o sinal de transmissão neurológico; as **hepatotoxinas** (microcistinas, nodularina e cylindrospermopsina) que inibem as fosfatases proteicas e síntese proteica; os **lipopolissacáridos**, associados a danos para a saúde como as gastroenterites (Chorus & Bartram, 1999), sendo as hepato-toxinas (microcistinas) as mais difundidas em termos geográficos.

Excetuando a intoxicação massiva verificada em pacientes hemodialisados em 1996, no Brasil, que resultou em mortes devido a falência hepática aguda, o internamento de 140 crianças após consumo de água proveniente de uma barragem contaminada com *Cylindrospermopsis raciborskii* na Austrália (Chorus & Bartram, 1999) e a morte de 88 dos 2.000 doentes no Brasil, em 1988, com sintomatologia de gastroenterite associada à ingestão de espécies pertencentes aos géneros *Anabaena* e *Microcystis*, não se verificaram grandes fatalidades em humanos por exposição a estas toxinas.

O primeiro episódio reportado de intoxicação algal data de 1878 e ocorreu no lago Alexandria no Sul da Austrália, tendo sido esporadicamente referidos vários outros episódios de surto de doença humana associados a florescências de cianobactérias durante décadas (Tabela 5).

Tabela 5

Acidentes reportados pela utilização de água contaminada com cianobactérias e cianotoxinas

Data/Local	Episódio de doença
1931: USA	Florescência de <i>Microcystis intensa</i> nos rios Ohio e Potomac causaram doença a cerca de 8000 pessoas que consumiram água proveniente desses rios
1959: Canada: Saskatchewan	13 Pessoas que nadaram num lago infestado de cianobactérias adoeceram, apresentando sintomas como dores de cabeça, náuseas, dores musculares e diarreias
1977 – 1996: China	Incidência de cancro colorretal e mortes
1979: Austrália	Tentando eliminar uma fluorescência com sulfato de cobre, as células libertaram toxinas para a água, causando doença e hospitalização a 149 pessoas
1989: Inglaterra	10 Soldados adoeceram após nadarem em águas com fluorescência a <i>Microcystis</i> spp durante um treino de canoa
1993: China	A incidência de cancro hepático reporta claramente para a utilização de águas superficiais contaminadas com cianobactérias
1994: Suécia próximo de Malmoe)	A utilização ilegal de águas não tratadas (contendo microcistinas) numa fábrica de açúcar levou a uma ligação cruzada accidental com água de consumo e provocou doença a 121 pessoas das 304 habitantes de uma aldeia

Adaptado de: Chorus e Salas (1996) e Bláha, Babica, e Marsálek (2009).

Quando classificadas de acordo com o seu efeito biológico em sistemas e órgãos de forma mais proeminente verifica-se, como já foi referido, que uma toxina pode ser produzida por várias espécies de cianobactérias e que a mesma espécie pode produzir vários tipos de toxinas (Tabela 6). A concentração destas toxinas nas massas de água depende das densidades celulares, tendo-se registado no mesmo corpo de água concentrações de microcistinas num intervalo de 0,01 a 0,035mg/L (na presença de células dispersas) a 24mg/L (em situação de fluorescências) (Chorus, Salas, Bartram & Falconer, 2000).

Tabela 6

Géneros de cianobactérias, toxinas produzidas e efeitos biológicos

Efeitos biológicos (Grupo de toxinas)	Toxinas	Género de Cianobactéria produtora
Hepatotóxicas	Mycrocistinas	<i>Microcystis, Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Nostoc, Hapalosiphon, Anabaenopsis</i>
	Nodularinas	<i>Nodularia</i>
	Cylindrospermopsina	<i>Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Umezakia</i>
Neurotóxicas	Anatoxina-a	<i>Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Aphanizomenon</i>
	Anatoxina-a(S)	<i>Anabaena</i>
	Saxitoxinas	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Lyngbya, Cylindrospermopsis</i>
Dermotóxicas	Apysiatoxinas	<i>Lyngbya, Schizothrix, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
	Lyngbyatoxina-a	<i>Lyngbya</i>
Trato Gastrointestinal	Lyngbyatoxina-a	<i>Lyngbya</i>
Qualquer tecido exposto	Lipopolyssacáridos	Todos
Cérebro (Doença neurodegenerativa)	β -N-methylamino-L- alanine	Várias espécies

Adaptado de: Chorus e Salas (1996), Bláha et al. (2009) e (Bellém, Nunes, Morais, & Fonseca, 2012)

De acordo com a WHO (1998), a maior via de exposição dos humanos às cianotoxinas é através da ingestão de água contaminada (decorrente do consumo ou durante atividades recreativas), sendo a menor via de exposição aquela que resulta do contacto direto de partes expostas do corpo com a água (prática de atividades recreativas).

Enquanto que a exposição por contacto direto se traduz em irritações cutâneas (com graus de severidade variável), irritação dos olhos, náuseas, enjoos e gastroenterites agudas, a exposição aguda por ingestão decorrente do consumo apresenta sintomatologia mais diversificada, como cefaleias, náuseas, enjoos ou alterações gastrointestinais, sendo esta via a mais documentada no que respeita à doença humana associada a cianobactérias (Chorus et al., 2000). Segundo Moreno, Reppeto & Cameán

(2003), após a ingestão acidental de microcistinas, os sintomas mais comuns são dor abdominal, vômitos, diarreias, cefaleias, pneumonia atípica, registando-se também um aumento dos níveis séricos de enzimas hepáticas, como a Gama Glutamil Transpeptidase (GGT), além da ação imunomodulatória dos leucócitos polimorfonucleares provocada pela microcistina –LR, que poderá induzir a uma diminuição da resistência a infeções.

Enquanto a exposição aguda revela a face mais visível da intoxicação por cianotoxinas, a exposição prolongada a baixas concentrações poderá igualmente comportar riscos para a saúde humana, nomeadamente a nível hepático após ingestão continuada de microcistinas.

A toxicidade das microcistinas revelou caráter cumulativo, devido às ligações covalentes irreversíveis que estabelece com as fosfatases proteicas, promovendo uma lesão hepática progressiva (Chorus et al., 2000), para além de terem revelado atividade carcinogénica, consequentemente promotora de tumores, designadamente a nível hepático (Arnette, 2009; Moreno et al., 2003) e colorretal (Chen, Yu, Ma, Yao, Zheng & Jiang, 2004) por mecanismos que passam pela interferência na estrutura e nas mitoses celulares (Chorus et al., 2000).

A microcistina –LR *in vitro* é um potente inibidor das proteínas fosfatases 1 e 2A com ação importante na regulação da homeostase celular e cuja inibição conduz a elevada fosforilação das proteínas alvo. Esta alteração poderá resultar numa sinalização excessiva que conduz à proliferação celular, à transformação celular e promoção tumoral (Fujiki & Suganuma, 1993, citado por Chorus & Bartram, 1999).

Devido à severidade dos sintomas e à probabilidade do impacte das cianobactérias/cianotoxinas na saúde humana, a OMS considerou apropriado definir vários valores guia, propondo de forma generalizada, segundo Chorus & Bartram (1999), a análise a cianotoxinas numa das seguintes circunstâncias:

- Nível 1 de ação (> 2000 cels/ml), com dominância de *Microcystis aeruginosa* ou com uma concentração de um género potencialmente tóxico > 15 000 cels/ml;
- Nível 2 de ação (> 100 000 cels/ml) de qualquer género que não esteja registado como tóxico (sendo recomendada a análise de toxicidade por bioensaio com ratos).

No que se refere às águas superficiais para produção de águas de abastecimento foram igualmente propostas várias ações preventivas (Tabela 7).

Tabela 7

Ações propostas para avaliação de reservatórios destinados a águas de consumo

	Densidade (n.º células/ml) Microcistina- LR	Risco	Ação a desenvolver
Nível de vigilância	< 2.000 cels/ml	-	Programa de monitorização de rotina; Inspeção visual da água; Amostragem regular; Alerta sobre toxicidade animal ou humana relacionada com a água
Alerta	> 2.000 cels/ml	Baixo	Análise conteúdo cianotoxinas;
nível 1	Microcistina LR <1µg/L		Reportar a outras entidades;
	<100.000cells/ml	Moderado	Implementar medidas preventivas;
	Microcistina LR >1µg/L		Aumento da amostragem
Alerta	> 100.000cells/ml	Risco elevado	Monitorização constante;
nível 2	Microcistina LR >1µg/L		Avaliação do tratamento da água; Alertar a população local; Restringir o contacto primário e atividades recreativas

Adaptado de: Churro, Dias, e Valério (2012).

8.1 Cianotoxinas e Carcinogénese

Nos últimos anos, estudos de proveniência variada têm referido um aumento de casos de doença e intoxicações agudas em humanos induzidas por cianobactérias, corroborando a evidência relativa à responsabilidade das florescências a cianobactérias no aparecimento de doenças em animais e humanos, associada ao consumo direto das cianobactérias ou de água contendo cianotoxinas. Enquanto o impacto dessa exposição depende do tipo de cianotoxina, espécie de cianobactérias, idade, género e peso do organismo exposto (Palus et al., 2007), os mecanismos através dos quais as cianotoxinas atuam e os efeitos tóxicos manifestados diferem devido às desigualdades químicas estruturais que estes metabolitos apresentam.

De entre as cianotoxinas, as microcistinas (nomeadamente as microcistinas-LR), as nodularinas (NOD) e a cylindrospermopsina são as mais frequentes em águas superficiais e de consumo e, conseqüentemente, as mais estudadas no que respeita aos mecanismos de toxicidade e carcinogenicidade (Zegura, Straser & Filipic, 2011). Designadas por hepato-toxinas, estas toxinas apresentam especial tropismo para o órgão hepático, provocando efeitos adversos para a saúde humana em situação de intoxicação

aguda, podendo, em situação de exposição prolongada (em pequenas doses), ser responsáveis por alterações hepáticas crônicas conducentes a situações de sangramento e a necrose dos hepatócitos (Palus et al., 2007). Além das afetações hepáticas associadas a alterações das transaminases (Araújo, 1995), estudos epidemiológicos têm sugerido que estas cianotoxinas são um dos fatores de risco para as elevadas incidências de cancro hepático primário e colorretal registadas nas populações estudadas (Barros, Souza, Tavares, & Amaral, 2009; Damjana et al., 2011; Hernández, López-Rodas & Costas, 2009; Palus et al., 2007; Zegura et al., 2011).

Segundo Palus et al. (2007), as microcistinas apresentam uma atividade superior ao benzeno no que se reporta à genotoxicidade. No entanto, sendo hidrofílicas, apresentam dificuldades em atravessar passivamente as membranas celulares dos vertebrados, utilizando para o efeito vias de transporte ativo como os polipéptidos transportadores de aniões orgânicos (PTAO) (Zegura et al., 2011). Inibidoras específicas das fosfatases proteicas PP1 e PP2A in vivo e in vitro, as toxinas MC-LR e NOD conduzem a uma hiperfosforilação das proteínas do citosqueleto e consequente rutura de inúmeros processos celulares, alteração e rearranjo do citosqueleto, perda de adesão intercelular e, por fim, à rutura da arquitetura hepática (Dias, 2009).

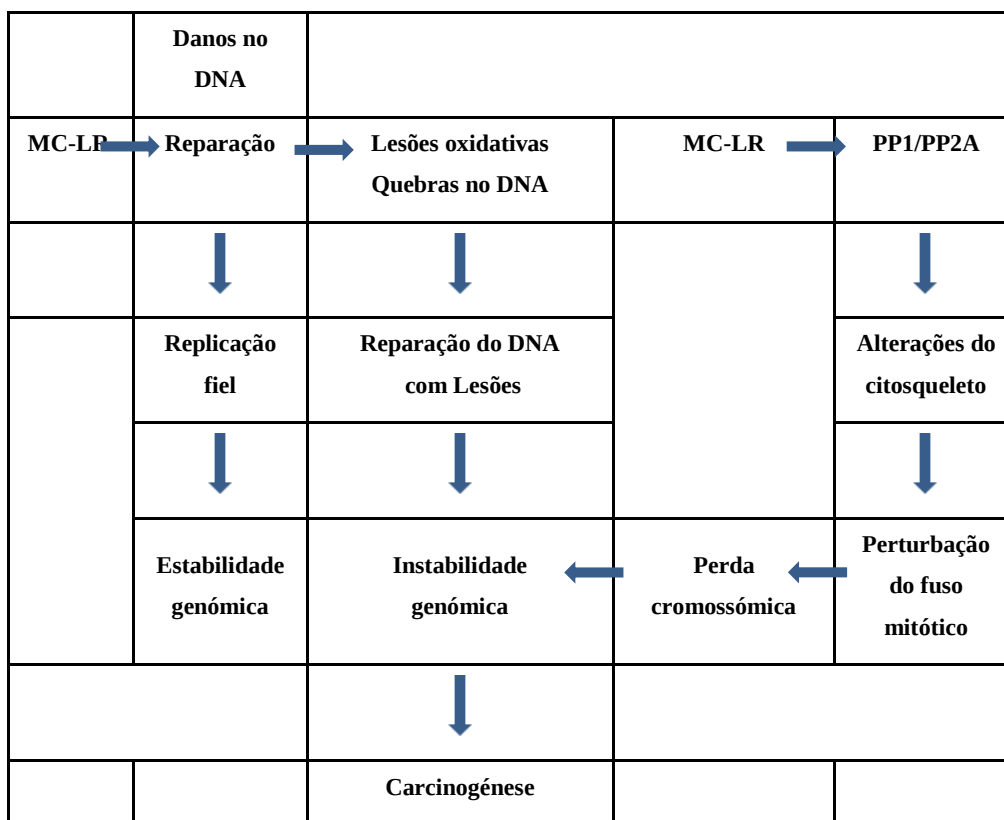
Segundo Zegura et al., (2011), tem-se demonstrado que as microcistinas induzem a alterações do DNA, revelando propriedades genotóxicas e de iniciador tumoral, nomeadamente a partir de testes desenvolvidos com linhas celulares de hepatoma humano (Células HepG2) em que a presença de MC-LR induziu à oxidação das purinas e pirimidinas, bem como a quebras nas cadeias de DNA após exposição a 0,01, 0,1 e 1 mg/ml. Além destes efeitos, foram ainda descritas outras consequências em hepatócitos humanos a nível subcelular, nomeadamente através de processos associados à apoptose, como o retraimento celular e a formação de projeções membranares (blebs) (Dias, 2009).

No que se refere a células humanas de adenocarcinoma do colon (células 2-CaCo), para além do aumento de quebras nas cadeias de DNA, verifica-se igualmente um aumento da formação de espécies reativas de oxigénio (Zegura et al., 2011).

Recentemente, a Agência Internacional de Pesquisa do Cancro (AIPC) classificou a MC-LR como possível carcinogénico humano (Grupo 2B), não havendo, no entanto, informação suficiente para classificar outras microcistinas.

Segundo Dias (2009), apesar dos estudos apontarem para a efetiva propriedade genotóxica da MC-LR pela capacidade de induzir alterações genéticas que poderão estar na origem da carcinogénese, esta é uma questão que ainda gera algumas controvérsias, uma vez que alguns estudos, utilizando estirpes produtoras de microcistinas, obtiveram resultados não concordantes. Assim, enquanto alguns autores atribuíram as quebras de DNA à degradação do núcleo decorrente da apoptose ou necrose e não a um efeito genotóxico, outros mostraram que as lesões de DNA induzidas por doses sub-citotóxicas de MC-LR nas células estariam provavelmente associadas ao stress oxidativo induzido pela MC-LR e, portanto, decorrentes de um efeito genotóxico indireto (Dias, 2009).

Por outro lado, tem sido demonstrado que a presença da MC-LR inibe duas vias de reparação do DNA, colocando ênfase em experiências que têm comprovado que a inibição das fosfatases PP1 e PP2A diminui substancialmente a atividade dos sistemas reparadores de DNA e, se houver comprometimento deste processo ou se a lesão for reparada por um mecanismo alterado, o DNA modificado poderá originar uma mutação, contribuindo em último caso para uma transformação neoplásica (Zegura et al., 2011). A inibição da reparação de danos no DNA é, segundo Dias (2009), outro mecanismo indireto de genotoxicidade (Figura 8) que poderá estar ligado à MC-LR.



Adaptado de: Dias (2009).

Figura 8: Esquema representativo de eventuais mecanismos de genotoxicidade induzidos pela MC-LR

8.2. Cancro hepático

O carcinoma hepatocelular (hepatoma) é a neoplasia hepática mais comum, nomeadamente em doentes com cirrose e, em áreas com elevada prevalência de infeções virais, a hepatite B e C (Herrine, 2012). Geralmente considera-se que a irritação frequente dos hepatócitos (células hepáticas) pela ação de agentes químicos, infeções digestivas crónicas ou frequentes, cirrose e dietas pouco saudáveis estão entre os principais fatores de risco para a carcinogénese hepática (Svircev et al., 2009). Além da ingestão de alimentos com aflotoxina fúngica que, segundo Beers, Porter, Jones, Justin, & Berkwits (2008), poderá contribuir para o aumento da incidência do hepatoma em regiões subtropicais, o consumo de álcool tem sido igualmente documentado enquanto fator de risco para o cancro hepático, uma vez que, segundo Pádua (2009), promove a fibrinogénese hepática, que evolui para a cirrose a partir da qual se pode desenvolver o carcinoma hepatocelular. O cancro hepático com maior prevalência a nível mundial é o carcinoma hepatocelular primário, contando-se entre 250.000 e 1.000.000 de óbitos anuais (Fleming et al., 2002).

8.3 Cancro colorretal

O cancro colorretal é a terceira causa de cancro mais comum no mundo e, segundo Taylor (2012), a sua prevalência é mais elevada nos homens do que nas mulheres, com um rácio de 11:10, com uma distribuição que ronda os 35% ao nível do reto, 20% no sigmoide, 20-25% no cólon ascendente, 5-10% no cólon transversal e 5% ao nível do colon descendente. Habitualmente associado a transformações de pólipos adenomatosos, o adenocarcinoma é o tipo de cancro do intestino mais comum (Taylor, 2012), estimando-se que 2,6-5,6% dos adenomas colorretais evoluem para cancros colorretais invasivos (Kuipers, Rösch & Bretthauer, 2013). Além dos riscos associados à idade e a fatores hereditários, podem referir-se, como fatores de risco, um elevado consumo de carne e gorduras, para além de outros fatores como hábitos tabágicos, elevado consumo de álcool, falta de atividade física, elevado índice de massa corporal (Taylor, 2012) e entendendo-se como mais provável que os agentes carcinogénicos sejam produzidos por ação bacteriana sobre substâncias da dieta, secreções biliares ou intestinais (Beers et al., 2008).

A incidência deste carcinoma é igualmente elevada, afetando aproximadamente 1,23 milhões de pacientes no mundo por ano, contribuindo com cerca de 10% relativamente a todos os tipos de cancro (Kuipers et al., 2013).

8.4 Perfil das cianotoxinas em águas de superfície portuguesas

As cianotoxinas poderão ser encontradas em diversos tipos de sistemas aquáticos. Porém, por apresentarem preferências por ambientes sem grandes perturbações, tendem a formar florescências em rios e lagos com pouca turbulência. Em Portugal, as cianobactérias estão reportadas em lagos naturais, reservatórios e rios com baixas turbulências de água desde o início dos anos 30. No entanto, a pesquisa relativa à forma como se distribuíam as cianobactérias tóxicas nestes sistemas de água iniciou-se em 1989 (Vasconcelos, 1999).

Entre 1989 e 1992, 30 lagos, rios e reservatórios foram estudados, tendo sido analisados 30 amostras de florescências. Dezoito das 30 amostras revelaram-se hépato-tóxicas em bioensaios com ratos, tendo-se registado como espécies dominantes a *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis wesenbergii*, *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena scheremetievi* e *Aphanizomenon flosaquae* e a microcistina LR a cianotoxina mais comum,

representando 43,9% de todas as microcistinas detetadas (Vasconcelos, 1999). Por outro lado, das amostras obtidas em 29 lagoas e reservatórios portugueses, 28 revelaram-se positivas para microcistinas com concentrações entre 102 a 37.000 pg/ml, sendo que alguns desses corpos de água seriam utilizados para produção de águas de consumo e outros seriam usados para atividades recreativas (Vasconcelos, 1999).

Segundo Araújo (1995), vários resultados apontavam para a existência de florescências a cianobactérias em reservatórios que abasteciam uma cidade da região do Alentejo e que estas estariam presentes na água de consumo produzida, uma vez que os sistemas de tratamento utilizados não eram capazes de removê-las de forma eficaz, constituindo tal facto um problema ambiental e um perigo potencial para a saúde pública. A ocorrência e significância de cianobactérias tóxicas em águas doces superficiais portuguesas e a ausência de sistemas adequados de tratamento de águas para a remoção de cianobactérias e cianotoxinas em vários locais promoveu o desenvolvimento de um programa de monitorização (Vasconcelos, 1999).

Devido à escassez de dados relativamente a outras toxinas, só o valor guia provisório de 1µg/litro para a microcistina-LR nas águas de consumo estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1998) foi importado para a legislação portuguesa em 2007, através do Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto. De acordo com Barros et al. (2009), a principal razão para o estabelecimento deste valor guia esteve relacionada com o perigo de desencadear o aparecimento de tumores em situação de exposição crónica a cianotoxinas através das águas de abastecimento.

Em 2006, Vasconcelos refere o registo de florescências a cianobactérias durante vários meses do ano em rios como o Minho, Douro, Tejo ou Guadiana, lagos naturais como Mira e Quiaios e reservatórios usados para produção de água de consumo, registando as principais toxinas e géneros responsáveis pela sua produção (Tabela 8). Apela ainda à necessidade de implementar programas de monitorização para cianobactérias tóxicas em corpos de água utilizados para produção de águas de abastecimento e para fins recreativos, referindo ainda serem as microcistinas as toxinas mais frequentes em Portugal, constituindo o principal problema na relação saúde humana e acumulação de cianotoxinas em corpos de água superficiais.

Tabela 8:

Principais toxinas e géneros responsáveis pela sua produção nas águas doces superficiais em Portugal

Cianotoxinas	Género
Microcistinas	
MC-LA, MC-LR, MC-AR, MC-YR, MC-RR, [D-Asp3]MC-LR, [Dha7]MC-LR, [L-MeSer7]MC-LR MC-HilR, [D] MC-LR, MC-FR, MC(H4)-YR, MC-WR	<i>Microcystis</i>
Anatoxin-a	<i>Anabaena</i>
Saxitoxins	<i>Aphanizomenon</i>
GTX5, GTX6, neoSTX, dcSTX, STX, GTX1, GTX3, GTX4	

Adaptado de: Vasconcelos (2006).

9. Qualidade da água em Portugal: enquadramento legal

Em 2001, o Decreto-Lei n.º 243/01 de 5 de setembro, relativo à qualidade da água, veio transpor para a ordem jurídica nacional a diretiva comunitária 98/83/CE, de 3 de novembro, relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano, mantendo alguns aspetos essenciais anteriormente definidos, como a obrigatoriedade das entidades gestoras apresentarem programas de controlo de qualidade da água para consumo humano, frequência da amostragem, recurso a laboratórios credenciados com recurso a técnicas analíticas de referência e a comunicação de incumprimentos de valores paramétricos que comportassem risco para a saúde humana.

A implementação do Decreto-Lei n.º 243/01 de 5 de setembro traduziu aspetos globalmente positivos relativos à qualidade da água, havendo, no entanto, a necessidade de rever algumas matérias, como a necessidade de garantir processos de tratamento para redução de incumprimentos paramétricos (nomeadamente microbiológicos) e a definição e implementação de programas de controlo operacional para controlar e regular frequentemente todos os componentes do sistema de abastecimento devido à existência de zonas com águas agressivas ou com aparecimento frequente de florescências a cianobactérias. Com o objetivo de rever o Decreto n.º 243/01, foi publicado o Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto, tentando assegurar a disponibilidade universal de água salubre, limpa e desejavelmente equilibrada na sua composição, devendo esta qualidade ser garantida pelas entidades gestoras,

nomeadamente através da implementação de planos de controlo de qualidade da água (PCQA), aprovados pela autoridade competente e fornecidos às autoridades de saúde.

A autoridade de saúde é responsável pelas ações de vigilância sanitária. Poderão incluir análises complementares ao PCQA para avaliar a qualidade da água e o risco para a saúde humana. Refira-se ainda a importância atribuída à qualidade de resultados analíticos que o Decreto-Lei impõe, limitando a análise técnica a laboratórios de ensaio considerados aptos pela autoridade competente.

As entidades gestoras deverão ainda assegurar a melhoria contínua da qualidade da água fornecida, sendo responsáveis por programas de controlo operacional para todos os sistemas de abastecimento.

Para efeitos de controlo de qualidade da água destinada ao consumo humano, o Decreto-Lei nº 306/2007, de 27 de agosto, introduz nos parâmetros indicadores as Microcistinas – LR com um valor paramétrico de 1µg/L, ditando a sua determinação à saída da estação de tratamento de água quando há suspeitas de eutrofização da massa de água superficial. Nas situações em que se confirme a presença de cianobactérias potencialmente produtoras de microcistinas em número superior a 2.000cels/ml, sugere-se um aumento da vigilância através do aumento da frequência da amostragem no âmbito do controlo operacional.

10. Programa de Monitorização de Cianobactérias

Definida como sendo um processo programado de amostragem e avaliação paramétrica de características de uma água, com vista a avaliar a conformidade da sua natureza com objetivos previamente estabelecidos (Chorus & Bartram, 1999), a monitorização é um instrumento fundamental na gestão do risco decorrente da exposição a cianotoxinas. A elaboração e a implementação de programas de monitorização de cianobactérias envolvem, segundo Churro et al. (2012), uma compreensão da ecofisiologia da bactéria, a dinâmica das florescências e das condições que promovem esses crescimentos, a produção de cianotoxinas e o impacto que estas poderão ter na saúde humana e animal.

Em países como a Bélgica, a Holanda e o Luxemburgo, foram por vezes implementadas várias medidas de proteção da saúde pública relativamente a cianobactérias que passavam por combinar programas de monitorização de fitoplâncton e/ou

cianobactérias, programas de investigação de cianotoxinas, informação ao público ou programas para redução da eutrofização das massas de água.

O objetivo dos programas de monitorização de cianobactérias/cianotoxinas é permitir a gestão do risco em três perspetivas:

1º Medir as concentrações das cianobactérias no reservatório e nas águas de consumo produzidas;

2º Medir as concentrações das cianotoxinas no reservatório e nas águas de consumo produzidas;

3º Medir nos reservatórios os constituintes e as condições que promovem ou inibem o crescimento de cianobactérias. A obtenção de dados precisos nestas três perspetivas permite às autoridades responsáveis uma diminuição substancial do risco (Backer, 2002; Global Water Research Coalition, 2009).

Quando corpos de água eutrofizados são utilizados para produção de água de consumo poderão representar consequências graves para a saúde humana, pelo que a monitorização de corpos de água relativamente à eutrofização permitirá entre outros propósitos:

- Prevenir a ocorrência da eutrofização;
- Obter avisos prévios sobre a ocorrência de estados eutróficos, permitindo ações preventivas por parte das autoridades de saúde;
- Conhecer o grau de desenvolvimento do processo trófico, ficando com uma ideia mais precisa sobre a qualidade da água (WHO, 2002).

Segundo Arnette (2009), a mitigação de condições promotoras do crescimento de cianobactérias e, consequentemente, da síntese de cianotoxinas pode reduzir substancialmente a necessidade de intervir para solucionar problemas associados às florescências.

Em Portugal, como em vários países, foram desenvolvidos programas nacionais de monitorização da qualidade da água, com frequência variável na avaliação fitoplanctónica (Tabela 9) e que envolvem parâmetros que poderão servir de indicadores no estado de eutrofização ou de crescimento de cianobactérias (Tabela 10), uma vez que não se deve avaliar o estado trófico apenas com um parâmetro.

Tabela 9

Frequência de avaliação fitoplanctónica em programas de monitorização de alguns países da UE

País	Frequência de Monitorização
França	Duas vezes por mês de setembro a abril
	Uma vez por semana de maio a agosto
	Uma vez por semana em presença de alertas
Alemanha	Monitorização contínua
Irlanda	Uma vez por mês de dezembro a abril
	Duas vezes por mês em maio
	Uma vez por semana de junho a setembro
Portugal	Uma vez por mês de dezembro a abril
	Duas vezes por mês de maio a novembro
	Uma vez por semana em presença de alertas
Espanha	Uma vez por mês de dezembro a março
	Duas vezes por mês de abril a junho
	Uma vez por semana de < julho a novembro

Fonte: WHO (2002).

Na monitorização, enquanto a amostragem do reservatório e respetivas análises fornecem informações que permitem prevenir e rastrear o desenvolvimento de florescências, a inspeção visual do reservatório poderá ser uma das formas mais simples de monitorizar as alterações de cor e de formação de espumas/escórias superficiais de cianobactérias.

Este tipo de avaliação adquire especial importância em termos qualitativos em circunstâncias de florescência, nomeadamente em locais recônditos e na ausência de meios adequados (Global Water Research Coalition, 2009).

Tabela 10

Parâmetros relevantes na monitorização da eutrofização

Parâmetros	Relevância na Monitorização
Azoto e Fósforo	Indicadores de eutrofização e potencial ocorrência de fluorescência
Oxigénio Dissolvido	- Informação essencial no que respeita aos efeitos da eutrofização. - É um indicador chave para detetar o início de um processo de eutrofização
Biomassa de cianobactérias e algas	- O aumento da biomassa algal e de cianobactérias é característico da eutrofização; - Informação importante para avaliar os efeitos da eutrofização no ecossistema; - Informação importante para os gestores responsáveis pela produção de água para consumo.
Desenvolvimento de algumas espécies de macrófitos	Efeitos maioritariamente relacionados com a utilização recreativa dos corpos de água, por alteração do aspeto, aparecimento de odores e reações alérgicas.

Fonte: WHO (2002).

Além de desenvolverem programas de monitorização de fluorescências através de agências locais, em países como os Estados Unidos da América ou a Austrália reúne-se informação técnica para as autoridades de saúde pública e divulga-se informação prática, como panfletos informativos, junto de populações que possam vir a utilizar águas contaminadas para consumo ou atividades recreativas (Backer, 2002).

Tal como os restantes países da União Europeia, em Portugal os programas de Monitorização das massas de água superficiais têm como finalidade a avaliação do estado/potencial ecológico e do estado químico.

Enquanto o Estado Ecológico (EE) traduz a qualidade estrutural e funcional dos ecossistemas aquáticos associados às águas de superfície (expresso com base no desvio relativamente às condições de referência e com ausência de pressões antropogénicas significativas), o conceito de Potencial Ecológico permite classificar massas de água fortemente modificadas pela atividade humana ou criadas pelo Homem e representa o desvio de qualidade que a massa de água apresenta relativamente ao máximo que pode atingir. Quanto ao Estado Químico, traduz a presença de substâncias químicas que não

deveriam estar presentes ou estariam presentes em concentrações reduzidas (Administração Região Hidrográfica do Alentejo, 2012).

A classificação do Estado Ecológico depende de diferentes indicadores de qualidade, como:

- Elementos de qualidade biológica (macrófitos: fauna piscícola; fitoplâncton);
- Elementos físico-químicos de suporte dos elementos biológicos (incluindo poluentes específicos) – condições de oxigenação, salinidade, estado de acidificação, nutrientes;
- Elementos hidro-morfológicos de suporte dos elementos biológicos (Instituto da Água, IP, 2008; Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território & Administração Região Hidrográfica do Alentejo, 2012).

Para as águas superficiais estão previstos três tipos de programas de monitorização de qualidade: programa de vigilância, operacional e de investigação (Tabela 11).

Tabela 11

Programas de monitorização de qualidade

Programa de Monitorização	Objetivos
Vigilância	Vigiar evolução do estado das massas de água Obter informação para a compreensão dos estados ecológicos e químico das massas de água
Operacional	Avaliar a eficácia dos programas de medidas a implementar nas massas de água em risco
Investigação	Investigar fontes de problemas cujas causas não estão identificadas

Adaptado de: Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional & Instituto da Água (2005).

No que se refere às albufeiras e açudes, estão igualmente definidas as frequências de monitorização para a avaliação do potencial ecológico (Tabela 12).

Tabela 12

Avaliação de potencial ecológico

Indicadores de Qualidade		Frequência de monitorização anual
Biológica	Fitoplâncton: Identificação e	
	Contagem	2 X
	clorofila- <i>a</i>	
	Macroinvertebrados Bentónicos	
	Peixes	1X
Hidromorfológica	Hidrologia e Morfologia	Hidrologia (mensal)
Físico-químicos	Profundidade Secchi: SST: Cor	
	Turbidez	
	Saturação O ₂ :O ₂ :CBO ₂ :CQO	
	Temperatura	
	Condutividade a 20°	4 X
	Alcalinidade: Dureza e pH	
	NO ₃ :NO ₂ :NH ₄ :Nt:PO ₄ :Pt	
	Poluentes específicos	

Adaptado de: Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional & Instituto da Água (2005).

Em Portugal, por força das obrigações legislativas (Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto), são as entidades responsáveis pela gestão e exploração de sistemas de água para consumo humano que elaboram os programas de controlo de qualidade da água, devendo reportar às autoridades de saúde os incumprimentos paramétricos detetados que poderão determinar a cessação do abastecimento de água se esses incumprimentos constituírem risco para a saúde humana.

A determinação da microcistina-LR (MC-LR) (à saída da estação de tratamento de água quando há suspeitas de eutrofização da massa de água superficial) é parte integrante dos parâmetros indicadores (valores guia) para efeitos do controlo de qualidade da água destinada ao consumo humano (Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto) e avaliados pelas entidades gestoras, nomeadamente as responsáveis pelo represamento, captação, elevação e tratamento da água para consumo.

Parte II – Caracterização da região estudada

1. Enquadramento geográfico e identificação de pressões antropogénicas

As sete albufeiras selecionadas localizam-se na região do Alentejo, integradas nas regiões hidrográficas do Sado e Mira (RH6) e do Guadiana (RH7).

A RH6 abrange as bacias hidrográficas do Sado e Mira (Figura 9) com uma área total de 12.149km², engloba 23 concelhos (7 totalmente integrados nesta região hidrográfica e 16 parcialmente abrangidos) (Administração Região Hidrográfica do Alentejo, 2012), sendo que a bacia hidrográfica do Sado cobre uma área de 7.692km² e engloba as albufeiras do Alvito, Roxo e Monte da Rocha, referenciadas em 2003 para fins de rega e abastecimento público (Rasga, 2003).

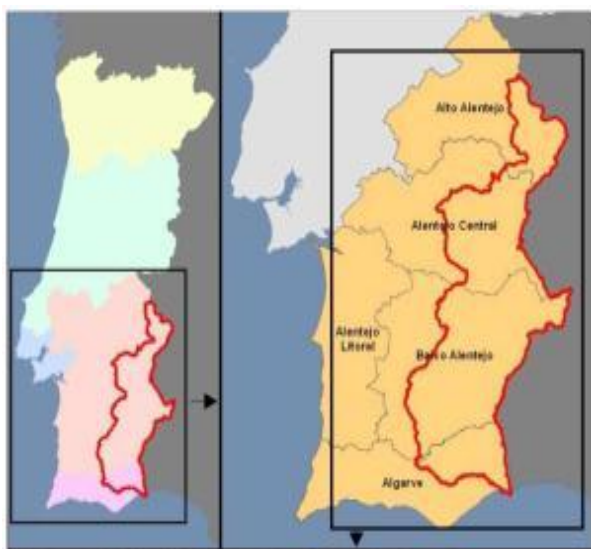
A região hidrográfica do Guadiana (RH7) (Figura 10) engloba 32 concelhos (10 totalmente englobados nessa região hidrográfica e 23 parcialmente abrangidos) e integra a bacia hidrográfica do Guadiana com uma área de 66.800km², dos quais 11.580Km² (17%) estão em território português (ARH do Alentejo – Administração da Região Hidrográfica do Alentejo, I.P, 2011), onde se enquadram as albufeiras de Boavista, Enxoé, Monte Novo e Vigia, igualmente referenciadas por Rasga (2003) para fins de rega e abastecimento público, para além de servirem a indústria (excetuando a albufeira da Boavista).

O clima desta região apresenta-se como mediterrânico, caracterizado por verões quentes e invernos chuvosos (Csa) (Morais, Pinto, Saúde, Caeiro & Pinto, 2003).



Fonte: Administração Região Hidrográfica do Alentejo (2012b).

Figura 9: Enquadramento administrativo da RH6.



Fonte: ARH do Alentejo – Administração da Região Hidrográfica do Alentejo, I.P. (2011).

Figura 10: Enquadramento administrativo da RH7.

No que se reporta às pressões antropogénicas/fontes poluidoras nas regiões hidrográficas objeto de estudo, refira-se que, em 1999, a Direção Regional do Ambiente e Ordenamento do Território – Alentejo (DRAOT – Alentejo) caracterizou as principais fontes poluidoras das albufeiras objeto de estudo (Tabela 13), sendo que a maioria apresentava tratamentos insuficientes ou inexistentes.

Tabela 13

Fontes poluidoras de carácter pontual nas albufeiras objeto de estudo, em 1999

	Albufeiras	Fontes Poluidoras de carácter pontual
Região Hidrográfica 6	Alvito	Suicultura, bovinicultura, urbana
	Monte da Rocha	Suicultura, bovinicultura, urbana, lagar
	Roxo	Suicultura, bovinicultura, urbana
Região Hidrográfica 7	Boavista	Não foram descritas fontes pontuais
	Enxoé	Bovicultura, urbana, lagar
	Monte Novo	Suicultura, bovinicultura, urbana, lagar
	Vigia	Suicultura, bovinicultura, urbana, lagar

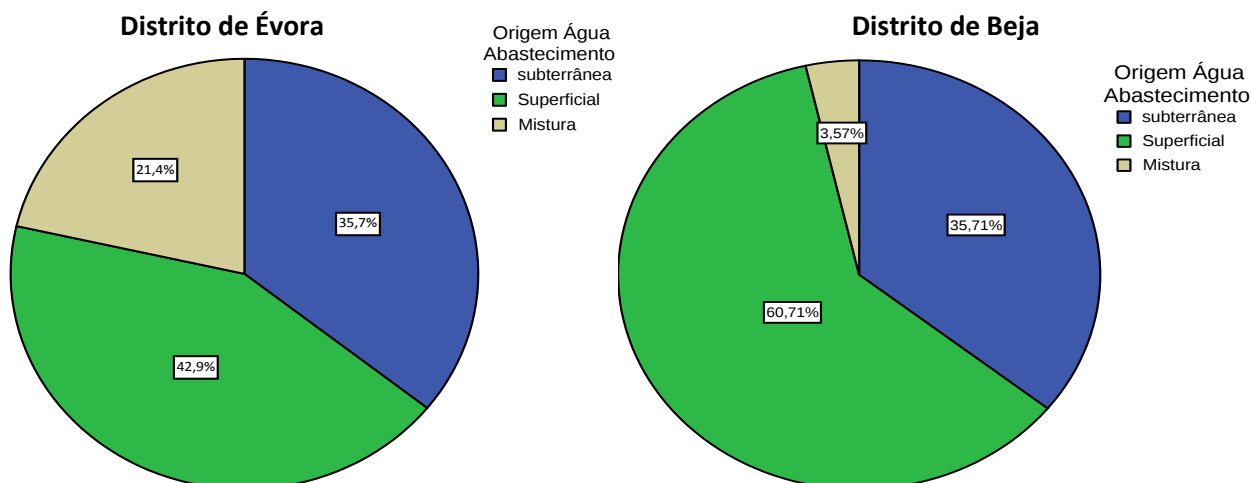
Adaptado de: Direção Regional do Ambiente e Ordenamento do Território do Alentejo (1999).

Em 2012, de acordo com os planos de gestão das bacias hidrográficas integradas nas regiões hidrográficas 6 e 7, foi possível identificar pressões com origem pontual e difusa, como:

- a) Região hidrográfica 6: rejeições de águas residuais domésticas; rejeições agropecuárias; escorrências de terrenos agrícolas; escorrências de pastagens; pressões urbanas na envolvente;
- b) Região hidrográfica 7: rejeições de águas residuais domésticas (estações de tratamento de águas residuais inadequadas ou com funcionamento deficiente); rejeições de indústrias agroalimentares; rejeições de agropecuárias; atividades recreativas desenvolvidas nas albufeiras; escorrências de terrenos agrícolas e de pastagens; escorrências de explorações mineiras.

2. Origem da água utilizada na produção de água de consumo

De acordo com o relatório anual de águas e resíduos (Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos, 2012), a água de consumo produzida em Portugal é maioritariamente de origem superficial (Gráfico 1) e esta condição mantém-se nos distritos em estudo, com uma percentagem de utilização de água superficial de 60% no distrito de Beja e de 43% no distrito de Évora (APÊNDICE XIII-Tabela5;Tabela12). Constata-se igualmente que no Distrito de Évora se utiliza uma maior percentagem de água de mistura (21,4%), relativamente a Beja (3,6%).



Adaptado: Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos, (2012).

Gráfico 1: Origem da água de consumo nos distritos de Évora e Beja

3. Entidades gestoras dos Distritos de Beja e Évora

A repartição de responsabilidades na gestão dos sistemas de abastecimento foi regulada por via legislativa, dividindo-se entre entidades gestoras em alta, responsáveis desde o represamento até à adução da água para consumo público, e entidades gestoras em baixa, com responsabilidades no armazenamento, na distribuição de água para consumo público (Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto).

3.1. Entidades Gestoras em Baixa (Municipais)

Pesquisa e remoção de cianotoxinas

Ao nível das entidades gestoras em baixa (responsáveis pela qualidade da água desde os pontos de entrega até à torneira dos consumidores), verifica-se que 77% destas entidades no Distrito de Beja não faz, por rotina, pesquisa de cianotoxinas na água da rede, independentemente de esta ser de proveniência superficial ou mista. No distrito de Évora apenas 14% destas entidades municipais refere fazer essa pesquisa nas águas de consumo, quando estas têm origem superficial ou mista (Tabela 14) (APÊNDICE XIII-Tabela3;Tabela10).

Tabela 14

Pesquisa de cianotoxinas na rede de abastecimento por rotina

	Entidades Gestoras em Baixa (Municipais)				
	Pesquisa de Cianotoxinas na rede (Rotina)				
	Sim	Não	Resposta em branco	Sim	Não
	Águas de origem Superficial /Mistas			Águas de origem subterrânea	
Distrito de Beja	-	77%	23%		100%
N(respondentes)		10	3		10
Distrito de Évora	14%	71,5%	14%		100%
N(respondentes)	1	5	1		5

Caso sejam reportadas situações de florescências na origem, 23% das entidades municipais do distrito de Beja assume pesquisar cianotoxinas na água da rede de origem superficial ou mista, enquanto no distrito de Évora apenas 14% das entidades respondentes referiu fazer essa pesquisa. Mesmo após a comunicação da ocorrência de florescências nas albufeiras de origem, 31% das entidades gestoras em baixa do distrito de Beja e 57% do distrito de Évora revelaram não fazer essa pesquisa (Tabela 15) (APÊNDICE XIII-Tabela 4; Tabela 11), contrariando a orientação defendida por Campinas et al. (2002), que refere que a monitorização de cianobactérias e cianotoxinas deve ser efetuada ao longo de pontos críticos do sistema de abastecimento de água sempre que se constate a presença de cianobactérias nas águas de origem.

Tabela 15

Pesquisa de cianotoxinas na rede de abastecimento após florescências

	Entidades Gestoras em Baixa (Municipais)		
	Pesquisa de Cianotoxinas na rede (após florescência na origem)		
	Águas de origem Superficial/Mistas		
	Sim	Não	Resposta em branco
Distrito de Beja	23%	31%	46%
N(respondentes)	3	4	6
Distrito de Évora	14%	57%	28%
N(respondentes)	1	4	2

Independentemente da água de abastecimento ser de origem superficial ou mista, 85% das entidades municipais do distrito de Beja não procede a qualquer tratamento para remoção de cianotoxinas, enquanto no distrito de Évora essa percentagem é de 72% (Tabela 16) (APÊNDICE XIII-Tabela 6; Tabela 13).

Tabela 16

Aplicação de tratamentos para remoção de cianotoxinas por entidades municipais

	Entidades Gestoras em Baixa (Municipais)				
	Tratamento para remoção toxinas				
	Sim	Não	Não responderam	Sim	Não
	Águas de origem Superficial /Mistas			Águas de origem subterrânea	
Distrito de Beja	-	85%	15%		100%
N(respondentes)	-	11	2		11
Distrito de Évora	-	72%	28%		100%
N(respondentes)	-	5	2		5

Gestão de resíduos sólidos

A avaliação da gestão de resíduos sólidos nos concelhos estudados permitiu concluir que, tanto no distrito de Beja quanto no distrito de Évora, as entidades gestoras municipais utilizam estratégias semelhantes para a eliminação dos resíduos sólidos que, por fenómenos associados à lixiviação, poderão contaminar massas de água. As ações passam por encaminhar diretamente os resíduos para aterros sanitários ou depositá-los em estações de transferência para posterior transporte e entrega em aterros sanitários (Tabela 17) (APÊNDICE XIII-Tabela 15,Tabela 17).

Tabela 17

Gestão de resíduos sólidos por entidades municipais

Gestão Municipal Resíduos Sólidos	Distrito de Beja		Distrito de Évora	
	Entidade Gestora Municipal	Valor percentual	Entidade Gestora Municipal	Valor percentual
Aterro Sanitário	4	31	3	25
Outro (Estação Transferência)	7	54	7	58
Valores em falta	2	15	2	17
	13	100	12	100

Ação em situação de florescências

Apesar do elevado valor percentual de entidades municipais que, num e noutro distrito, declararam não proceder a tratamentos para remoção de cianotoxinas, a utilização de fontes alternativas para água de consumo (após florescência na origem) foi apenas referida no distrito de Évora (Tabela 18) (APÊNDICE XIII-Tabela 7,Tabela 14).

Tabela 18

Utilização de Fontes alternativas

	Entidades Gestoras em Baixa (Municipais)		
	<i>Fontes alternativas (após florescência na origem)</i>		
	Sim	Não	Respostas em branco
Distrito de Beja	0	46%	54%
N(respondentes)		6	7
Distrito de Évora	14%	43%	43%
N(respondentes)	1	3	3

3.2. Entidades gestoras multimunicipais

Gestão de Águas Residuais

Nos distritos estudados, a utilização de fossas sépticas, lamas ativadas e sistemas mistos são as estratégias mais utilizadas no que se refere à gestão e tratamento das águas residuais rurais, com especial enfoque na utilização de fossas sépticas, indicadas em 25% dos concelhos de Beja e em 21% dos concelhos de Évora (Tabela 19) (APÊNDICE XIII-Tabela 21;Tabela 25).

No que respeita ao tratamento de águas residuais urbanas, 29% das entidades gestoras do distrito de Beja e de Évora referiu a aplicação de um tratamento secundário com envolvimento biológico para remoção da matéria orgânica (Tabela 19) (APÊNDICE XIII-Tabela 22;Tabela 26).

Por outro lado, a aplicação de processos terciários (adição de cloro ou carvão para desinfecção de águas tratadas por remoção de organismos patogénicos) em lagoas de maturação é referida por 7% das entidades gestoras do distrito de Évora contra 4% do distrito de Beja (Tabela 19) (APÊNDICE XIII-Tabela26).

Tabela 19

Gestão de águas residuais por entidades multimunicipais

Tratamento de Águas Residuais		Distrito Beja	Valor percentual	Distrito Évora	Valor percentual
Gestão Águas Residuais Urbanas	Tratamento Primário	2	7		
	Tratamento Secundário	8	29	4	29
	Secundário e Terciário	1	4	1	7
Gestão Águas Residuais Rurais	Fossas sépticas	7	25	3	21
	Lamas Ativadas	1	4	1	7
	Outro (mais do que 1 dos processos)	2	7		

Ações em situação de florescências: utilização de fontes alternativas, manipulação na recolha e alternativas de tratamento

De entre as entidades gestoras em alta (responsáveis pela qualidade da água desde a origem até aos pontos de entrega), a única que referiu utilizar fontes alternativas de água em situação de florescência foi a entidade responsável pela albufeira da Boavista. Nas albufeiras do Monte da Rocha e Roxo, a estratégia utilizada para minimizar o impacto da exposição às cianotoxinas é a manipulação de recolha de água na fonte (Tabela 20), para além dos tratamentos para remoção de células e cianotoxinas que todas referiram utilizar nestas circunstâncias.

Tabela 20

Ações desenvolvidas pelas entidades gestoras na ocorrência de florescências nas albufeiras

Ações em Situação de Florescência			
Albufeira	Utilização Fonte alternativa de água	Manipulação da recolha de água na Fonte	Tratamento para remoção de células e toxinas
Alvito			X
Boavista	X		X
Enxoé			X
Monte da Rocha		X	X
Monte Novo			X
Roxo		X	X
Vigia			X

Por outro lado, todas as entidades multimunicipais envolvidas indicaram proceder à pesquisa de cianotoxinas nas albufeiras e à saída das estações de tratamento (Tabela 21) em situações de rotina, ou em períodos de florescência.

Tabela 21

Pesquisa de cianotoxinas pelas entidades gestoras

Albufeiras	Em situação de rotina		Em situação de florescência	
	Pesquisa de ciatoxina na Albufeira	Pesquisa de ciatoxina à saída da ETA	Pesquisa de ciatoxina na Albufeira	Pesquisa de ciatoxina à saída da ETA
Alvito, Monte da Rocha, Roxo	SIM	SIM	SIM	SIM
Boavista, Enxoé, Monte Novo, Vigia	SIM	SIM	SIM	SIM

À exceção das entidades multimunicipais responsáveis pelas albufeiras de Monte Novo e Vigia, todas apresentam, como tratamentos para remoção de células, a pré-oxidação, bancos de filtração e tratamentos convencionais (Tabela 22).

Apesar do perigo de rebentamento celular em situação de florescência tóxica, a utilização da pré-oxidação no início do tratamento pode melhorar a performance da coagulação de células algais. Os bancos de filtração promovem, por seu lado, a remoção de células de forma simples e eficaz, em que a água pode ser filtrada através da areia, cascalho ou pedras (Global Water Research Coalition, 2009).

A utilização de tratamentos convencionais permite que as cianobactérias respondam de forma positiva aos processos de coagulação/floculação, principalmente se forem mantidas as condições de otimização, revelando-se eficaz na remoção de células e, consequentemente, de toxinas intracelulares.

No que respeita ao tratamento utilizado para a remoção de toxinas, à exceção da entidade responsável pela albufeira da Boavista, que indicou não proceder a qualquer tratamento em situação de rotina, todas apontaram processos físicos; e, no caso da albufeira do Alvito, estes seriam complementados pela aplicação da ozonização (Tabela 22).

Segundo a Global Water Research Coalition (2009), os tratamentos físicos e químicos aplicados nestas albufeiras são adequados para promover uma remoção efetiva destes compostos (cianotoxinas), melhorando a qualidade da água, contrariamente aos tratamentos convencionais anteriormente utilizados. Efetivamente, em 2012, o estado potencial/ecológico de todas as albufeiras objeto deste estudo esteve entre bom e razoável, complementado por um bom estado químico (Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território & Administração Região Hidrográfica do Alentejo, 2012).

Tabela 22

Tratamento para remoção de cianobactérias e toxinas

Albufeira	Início de atividade da atual Entidade gestora Multimunicipal	Tratamento para remoção de cianobactérias	Tratamento para remoção de toxinas
Alvito	2010	Pré-oxidação Bancos Filtração Tratamento convencional	Processos físicos Processos químicos (ozonização)
Boavista	2011	Pré-oxidação Bancos Filtração Tratamento convencional	--
Enxoé	2010	Pré-oxidação Bancos Filtração Tratamento convencional	Processos físicos
Mte da Rocha	2011	Pré-oxidação Bancos Filtração Tratamento convencional	Processos físicos
Mte Novo	2003	Pré-oxidação Tratamento convencional	Processos físicos
Roxo	2011	Pré-oxidação Bancos Filtração Tratamento convencional	Processos físicos
Vigia	2003	Pré-oxidação Tratamento convencional	Processos físicos

4. Planos de monitorização

Todas as entidades gestoras multimunicipais referiram ter implementado um plano de monitorização para controlo operacional das albufeiras objeto de estudo (Tabela 23) e estabelecido níveis de alerta para produção de águas de consumo que passam, não só pela contagem e identificação de cianobactérias presentes, como pela determinação de concentrações de clorofila-*a* (não referida pela entidade gestora para a albufeira da Vigia).

Tabela 23

Níveis de alerta e planos de monitorização das entidades gestoras multimunicipais

Albufeira	Níveis de alerta na produção de águas de consumo	Plano Monitorização controlo operacional
Alvito	Contagem e identificação de cianobactérias Determinação de clorofila- <i>a</i>	SIM
Boavista	Contagem e identificação de cianobactérias Determinação de clorofila- <i>a</i>	SIM
Enxoé	Contagem e identificação de cianobactérias Determinação de clorofila- <i>a</i>	SIM
Monte da Rocha	Contagem e identificação de cianobactérias Determinação de clorofila- <i>a</i>	SIM
Monte Novo	Contagem e identificação de cianobactérias Determinação de clorofila- <i>a</i>	SIM
Roxo	Contagem e identificação de cianobactérias Determinação de clorofila- <i>a</i>	SIM
Vigia	Contagem e identificação de cianobactérias	SIM

A adoção de níveis de alerta sequenciais nestas albufeiras permite atualmente simplificar a monitorização e gestão ao nível das estações de tratamento de água, adequando as respostas ao potencial de florescência a cianobactérias, e minimizar o risco de exposição às cianotoxinas, uma vez que, se forem registadas contagens idênticas às mais expressivas verificadas no período entre 2000 e 2008, as ações a desenvolver serão enquadradas nos níveis de alerta nº 2 (Tabela 24).

Tabela 24

Níveis de alerta sequenciais implementados e ações a desenvolver pelas entidades gestoras multimunicipais

Níveis de Alerta	Valores indicativos	Ações a desenvolver
Nível de Alerta 1	2000 células/ml ou 1 µg/l clorofila- <i>a</i> (cianobactérias dominantes)	Consulta das autoridades de saúde Acompanhamento do desenvolvimento da florescência Acompanhamento da adequação da água tratada para consumo humano
Nível de Alerta 2 (risco acrescido para a saúde)	100 000 células/ml ou 50 µg/l clorofila- <i>a</i> (cianobactérias dominantes) -	Adequar o tratamento de água (remoção de células e cianotoxinas) Estabelecer sistema alternativo de abastecimento Monitorizar a florescência para acompanhar decréscimo do risco e desativação do nível de alerta

Adaptado de: Chorus & Bartram (1999).

Parte III – Abordagem ao estudo

1. Desenho do estudo

A incidência do objetivo deste estudo na área da saúde pública aponta para uma natureza médico-clínica, uma vez que centra este tipo de investigação na pesquisa de uma relação causa-efeito (exposição continuada a cianotoxinas *versus* morbilidade hepática e colorretal) foi estabelecida de forma prévia e gradual através de estudos de natureza investigativa desenvolvidos em países como a China ou a Sérvia.

No que se refere ao tipo de análise, o estudo desenvolvido assume contornos observacionais, uma vez que toda a informação que foi produzida sobre as populações e reservatórios em estudo, durante 8 anos, não teve intervenção direta do investigador, limitando-se este a recolher dados de morbilidade e de mortalidade relativos às comunidades expostas e não expostas ao agente cianotóxico numa mesma região (Alentejo).

Pelo facto de pretender comparar indicadores de saúde (de morbilidade e mortalidade) entre grupos populacionais expostos de forma continuada ao agente cianotóxico e grupos populacionais não expostos, além de observacional e ecológico, o estudo adota uma natureza analítica.

Segundo Pearce (2003), o estudo poderá classificar-se como sendo um estudo de incidência, uma vez que pretende medir a exposição a um fator tóxico e efeitos decorrentes em todos os membros da população exposta numa janela temporal (8 anos), tendo em conta os fatores de confundimento. Segundo o mesmo autor, a adequação desta classificação é aferida pelo facto de ter sido definida a população em estudo (participantes selecionados com base na presença ou ausência do fator exposição) sem que tenha sido formalmente enumerada pelo investigador uma coorte.

Esta tipologia de estudo permite não só avaliar a ocorrência de doença através de medidas, como a taxa de incidência entre a população exposta e não exposta da região do Alentejo no período que decorre de 2000 a 2008, como também permite determinar riscos relativos e riscos atribuíveis à exposição (Gordis, 2004; Pearce, 2003).

Segundo Mausner & Kramer (2007), este estudo é designado por **prospetivo histórico**, uma vez que combina características retrospectivas e prospetivas, acompanhando grupos de indivíduos expostos e não expostos constituídos retrospectivamente com auxílio de registos que permitam uma classificação do estado de exposição dos indivíduos. Apesar de utilizar dados já produzidos e previamente colhidos, este estudo é essencialmente longitudinal, cobrindo um intervalo de tempo que se estende do passado ao presente.

2. Material e Métodos

2.1. População

Devendo em investigação clínica a população ser definida em termos de doença, exposição ao fator em estudo ou condição de saúde reconhecida, poderá, neste caso concreto, caracterizar-se pela população exposta e não exposta residente na província do Alentejo (região Centro-Sul de Portugal), nomeadamente a que envolve os distritos de Beja e Évora onde se localizam as albufeiras selecionadas para o estudo e que geograficamente se enquadram nas bacias hidrográficas do Sado – Região Hidrográfica 6 (Albufeira do Alvito, Albufeira do Roxo e Monte da Rocha) e Guadiana – Região Hidrográfica 7 (Albufeiras de Boavista, Enxoé, Monte Novo e Vigia) (Figura 11).



Fonte: Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional & Instituto da Água, (2005).

Figura 11: Caracterização das regiões hidrográficas em Portugal

2.2. Estratégia de amostragem

O processo de amostragem adotado é não probabilístico por conveniência, tendo as albufeiras e as populações em estudo sido selecionadas pela disponibilidade e acessibilidade à informação. No caso das albufeiras, os dados reportam-se às características físicas, químicas e fitoplancónicas, nomeadamente em situação de florescências e, no que às populações diz respeito, os dados referem-se às características demográficas e indicadores de saúde.

Assim, como população exposta, foram selecionadas na região do Alentejo as populações dos distritos de Évora e Beja abastecidas pelas albufeiras do Alvito, Boavista, Enxoé, Monte Novo, Monte da Rocha, Roxo, e Vigia (Tabela 25), (APÊNDICE XII), com zonas protegidas para captação de águas para consumo humano.

Tabela 25

Concelhos abastecidos pelas albufeiras objeto de estudo

Albufeira	Distrito	Concelho Servido
Alvito	Beja	III; VII; XIV
	Évora	I; N
Boavista	Beja	II
Enxoé	Beja	IX; XIII
Monte Novo	Évora	E; H; L
Monte da Rocha	Beja	V; VI; XI
Roxo	Beja	I, V
Vigia	Évora	J

Como população não exposta foram selecionadas, nos mesmos distritos, as populações que não são abastecidas pelas albufeiras selecionadas no estudo ou que são abastecidas em simultâneo a partir de captações subterrâneas e superficiais (Tabela 26), (APÊNDICE XII).

Tabela 26

Concelhos não abastecidos pelas albufeiras objeto de estudo

Distrito	Concelho	Distrito	Concelho
Beja	IV	Évora	A
	VIII		B
	X		C
	XII		D
			F
			G
			M
			O

Crítérios de inclusão

População da Região do Alentejo residente nos concelhos dos distritos de Beja e Évora, onde se localizam as albufeiras selecionadas para o estudo.

Crítérios de exclusão

População da Região do Alentejo não residente nos distritos de Beja e Évora.

2.3. Método de abordagem/geral

O método selecionado para abordar a problemática em estudo enquadra-se num contexto hipotético-dedutivo uma vez que, a ausência de conhecimento efetivo entre morbilidade e mortalidade em humanos devido à exposição continuada a cianotoxinas em águas superficiais, levou ao estabelecimento de hipóteses de associação que se tentam verificar neste estudo (Marconi & Lakatos, 2003).

2.4. Método de procedimento/específico

Uma vez que o método de procedimento pressupõe a aplicação de técnicas mais concretas na investigação, para se chegar à explicação dos fenómenos de modo menos abstrato entendeu-se melhor aplicar um método de procedimento epidemiológico, permitindo assim a observação por parte do investigador, de forma a definir e a identificar o objeto de estudo numa abordagem mais focalizada (Filho & Rouquayrol, 2007).

2.5. Variáveis consideradas

As características consideradas no delineamento do estudo devem ser suscetíveis de interferir ou afetar o objeto de estudo (Marconi & Lakatos, 2002), contribuindo para a descrição das propriedades físico-químicas das águas objeto de estudo, das características demográficas e indicadores de saúde das populações em estudo, bem como das atividades das entidades gestoras por forma salvaguardar a qualidade da água. De acordo com os objetivos, foram selecionadas as seguintes variáveis:

- a) **Caracterização das albufeiras objeto de estudo:** pH, Condutividade; Oxigénio dissolvido; Azoto Amoniacal; Nitratos; Fosfatos; Manganês; Demanda Bioquímica de Oxigénio; Azoto Total; clorofila-*a*; Fitoplâncton.
- b) **Evolução demográfica das populações em estudo:** Sexo; Idade.
- c) **Indicadores de morbilidade e mortalidade:** Incidência de Infecções por Vírus Hepatite B; Incidência de Infecções por Vírus Hepatite C; Incidência de Carcinoma Hepático; Incidência de Carcinoma Colorretal; AST; ALT; YGT.
- d) **Descrição das atividades das entidades gestoras:** Tipo de Tratamento de Águas Brutas; Tipo de Tratamento de Águas Residuais; Tipo de Tratamento de Resíduos Sólidos; Pesquisa de Cianobactérias; Pesquisa de cianotoxinas; Medidas de prevenção; Medidas de mitigação;
- e) **Descrição dos fatores de pressão antropogénicos das regiões hidrográficas em estudo:** Atividades humanas.

2.6. Escalas de Medição

Utilizando a classificação de Oliveira (2009), para a medição das características enunciadas foram utilizadas as seguintes escalas de medição:

- a) **Escala binária** (em que se contabilizam duas categorias): Sexo; Pesquisa de cianobactérias; Pesquisa de cianotoxinas.
- b) **Escala categorial** (em que se contabilizam mais de duas categorias): Tipo de Tratamento de Águas Brutas; Tipo de Tratamento de Águas Residuais; Tipo de Tratamento de Resíduos Sólidos; Atividades humanas; Medidas de prevenção; Medidas de mitigação.
- c) **Escala numérica:** pH, Condutividade; Oxigénio dissolvido; Azoto Amoniacal; Nitratos; Fosfatos; Manganês; Demanda Bioquímica de Oxigénio; Azoto Total;

clorofila-*a*; Incidência de Infecções por Vírus Hepatite B; Incidência de Infecções por Vírus Hepatite C; Incidência de Carcinoma Hepático; Incidência de Carcinoma Colorretal; AST; ALT; YGT; Idade.

2.7. Fontes de dados

O levantamento de dados foi efetuado com recurso a técnicas de documentação direta e indireta. Relativamente às técnicas indiretas, fez-se recurso à pesquisa documental primária e secundária, ambas numa dimensão temporal retrospectiva, segundo Marconi e Lakatos (2002), uma vez que os dados foram obtidos através de censos e outras publicações administrativas, no que se refere aos dados primários, e com base em relatórios de trabalho de campo, no que se reporta aos dados secundários. Em ambos os casos, os dados foram recolhidos após a ocorrência dos factos.

Na obtenção de dados através da documentação direta foram utilizados instrumentos de pesquisa de campo do tipo quantitativo-descritivas, uma vez que permitem, através de análise empírica, avaliar as características deste fenómeno, com vista a associar as variáveis em estudo.

Dados populacionais

A globalidade da informação demográfica dos concelhos em estudo foi obtida a partir dos dados do último censo populacional realizado em Portugal, em 2011, e que foram selecionados e disponibilizados pelo Instituto Nacional de Estatística.

Relativamente aos dados de saúde da população (indicadores da função hepática, incidência de infeção hepática viral, incidência de doença hepática de origem alcoólica, incidência de doença oncológica hepática e colorretal e mortalidade por causa), estes foram recolhidos junto de organismos públicos regionais que registam e reportam às entidades centrais a ocorrência de patologias aditivas, clínicas e oncológicas.

Dados das albufeiras objeto de estudo

Caracterização da região

A informação relativa à caracterização geográfica das regiões estudadas foi obtida a partir de documentos oficiais produzidos no âmbito do planeamento, gestão, proteção e valorização ambiental das bacias hidrográficas a que pertencem as albufeiras objeto de

estudo, tendo as pressões antropogénicas sido baseadas em relatórios emitidos por entidades regionais que caracterizaram as principais fontes poluidoras das albufeiras selecionadas.

Caracterização físico-química

Os valores dos parâmetros físicos e químicos dos reservatórios estudados, necessários para a caracterização físico-química [a Temperatura, o pH, a Condutividade, a Saturação de Oxigénio (%), o Azoto Amoniacal, os Nitratos, o Fósforo Total, o Manganês, a Carência Bioquímica de Oxigénio e Azoto Total], foram obtidos a partir de uma matriz de dados disponibilizada pelo Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos (SNIRH). O período considerado para a avaliação dos reservatórios objeto de estudo foi o que decorreu entre os anos 2000 e 2008: Roxo (2000 a 2008), Monte Novo e Vigia (2000 a 2007), Alvito (2000 a 2005), Boavista (2006/2007), Enxoé (2003/2004) e Monte da Rocha (2003 a 2005).

Caracterização fitoplanctónica

A avaliação fitoplanctónica dos reservatórios selecionados neste estudo baseou-se em dados fornecidos pelo Laboratório da Água da Universidade de Évora, obtidos a partir da identificação e quantificação pelo Método de Utermöhl e do cálculo do bio volume dos organismos pertencentes a cada *táxon*. Complementarmente foi determinada a concentração da clorofila-*a* com recurso à espectrofotometria de absorção molecular e equação de Lorenzen.

2.8. Instrumentos de recolha de dados

A observação, os questionários e as fontes documentais são os três métodos de recolha indicados por Abramson (1997) para a colheita de informação. A observação direta e estruturada e as fontes documentais, foram utilizadas para o preenchimento de listas de observação com vista a:

- Proceder à caracterização física e química das albufeiras objeto de estudo (APÊNDICE I);
- Proceder à caracterização fitoplanctónica das albufeiras objeto de estudo (APÊNDICE II);

- Proceder à caracterização demográfica da população exposta e não exposta (APÊNDICE III; APÊNDICE IV);
- Proceder à caracterização da morbilidade e mortalidade associadas a doença oncológica hepática e colorretal da população em estudo (APÊNDICE V);
- Caracterizar o consumo de água por habitante na região exposta e não exposta APÊNDICE VI; APÊNDICE VII);
- Comparar os níveis das transaminases e da enzima gama glutamil transpeptidase na população exposta relativamente à não exposta (APÊNDICE VIII);
- Caracterizar a incidência das infeções pelos vírus das hepatites A, B e C na população em estudo (APÊNDICE IX);

A utilização de questionários em tabela com questões direcionadas e linguagem adequada à qualificação dos entrevistados (APÊNDICE X; APÊNDICE XI), permitiu caracterizar fatores diretos ou indiretos associados à doença (igualmente designados como determinantes em saúde), tais como os tipos de tratamento das águas superficiais, a pesquisa e quantificação de cianobactérias e cianotoxinas, os tipos de tratamento de águas residuais e a gestão de resíduos sólidos utilizados.

Validade e fiabilidade dos instrumentos de medida

A validade permite perceber a adequação do instrumento utilizado relativamente ao tipo de informação a medir. De entre os modelos de validação apontados por Abramson (1997), foram selecionados para este estudo: a validação de conteúdo, a validação lógica e a validação consensual.

Ao serem produzidos com base na bibliografia consultada, os instrumentos de medida utilizados apresentam-se validados relativamente ao conteúdo. Uma vez elaborados, foram apresentados a especialistas na área da avaliação da qualidade das águas, da saúde e do ambiente para a obtenção da validação lógica no que se refere aos critérios de qualidade da água, aos indicadores de saúde e aos determinantes em saúde. Em termos globais, é possível referir uma validação consensual, uma vez que se configurou a utilização de um painel Delphi.

Traduzindo-se a fiabilidade dos instrumentos de medida utilizados (nomeadamente os questionários) na consistência da informação produzida, entendeu-se que esta estaria de

algum modo assegurada, uma vez que a tipologia de perguntas utilizadas é, na sua maioria, fechada por ser conhecida a natureza das variáveis relevantes no estudo (Hill & Hill, 2000), permitindo não apenas uma consistência interna das respostas, como a concordância de respostas interobservador. Assume-se como irrelevante avaliar a estabilidade temporal, devido ao número reduzido de respondentes a nível das entidades gestoras municipais e intermunicipais.

2.9. Procedimento na recolha de dados

Após a elaboração das listas de observação procedeu-se à recolha documental dos dados relativos às características físicas, químicas e fitoplanctónicas das albufeiras objeto de estudo, através da consulta das bases de dados disponibilizadas pelo Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos e dos registos disponibilizados pelo Laboratório da Água da Universidade de Évora.

Foram de seguida preenchidas as listas de observação relativas às características demográficas e indicadores de saúde seleccionados dos concelhos dos distritos de Évora e Beja, a partir das bases de dados disponibilizadas pelo Instituto Nacional de Estatística, dados disponibilizados pelo Registo Oncológico Regional-Sul e Unidades Hospitalares. Finalmente foram enviados os questionários às entidades gestoras municipais e multimunicipais para aferir os determinantes em saúde.

2.10. Análise estatística

Caracterização física, química e fitoplanctónica

Para cada vetor de dados foi feita uma análise de estatística descritiva de modo a identificar medidas de tendência central e de dispersão. Com o objetivo de avaliar gradientes temporais foram efetuadas representações gráficas com indicação do valor médio e do desvio padrão para os parâmetros nitrogénio total, fósforo total e clorofila-*a*; nos dois primeiros casos, por serem considerados nutrientes essenciais para o desenvolvimento fitoplanctónico e no caso da clorofila-*a*, por ser considerado o indicador universal de biomassa algal e indicador do estado trófico (Felip & Catalan, 2000). As análises foram feitas com base na interpretação gráfica das abundâncias relativas dos principais grupos fitoplanctónicos identificados.

Indicadores de saúde

Na caracterização da população em estudo, indicadores de morbidade crónica de origem infecciosa (hepatite A, B e C), indicadores de mortalidade por cancro hepático, cólon e reto, do risco relativo e do risco atribuível à exposição continuada da população a cianotoxinas, utilizou-se a estatística descritiva com recurso a médias, desvios padrão e representações gráficas adequadas. Para a comparação da população exposta e não exposta, a nível de indicadores de afetação hepática (AST, ALT e GGT), dos índices de consumo de água por habitante, dos indicadores de morbidade hepática e das taxas de incidência de carcinomas hepático, do cólon e do reto, recorreu-se às médias, desvios padrão, representações gráficas adequadas e ao teste de Mann-Whitney para comparação dos grupos exposto e não exposto às cianotoxinas.

Para o cálculo dos riscos relativos e atribuíveis à exposição em estudo foram aplicadas as seguintes fórmulas:

- Risco Relativo $RR = \frac{\text{Incidência na população exposta}}{\text{Incidência na população não exposta}}$
- Risco atribuível à exposição, no grupo dos indivíduos expostos (RA) = (Incidência na população exposta) - (Incidência na população não exposta)
- Risco atribuível à população total (RAP) = (Incidência na população total) - (Incidência na população não exposta)

As análises e representações gráficas apresentadas foram efetuadas através do programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 21 e da folha de cálculo EXCEL, versão 2010.

3. Considerações éticas

A mentalidade científica e tecnológica leva à formulação de questões que são determinantes no avanço do conhecimento. No entanto, esta vivência integra-se num tecido científico, cultural e social, devendo o investigador estabelecer um enquadramento ético das suas atividades. Não tendo a ética por função estabelecer limites no progresso científico, permite propor regras ou limites em nome de bens como

a integridade e autonomia dos sujeitos da investigação ou os interesses globais da sociedade (Santos, 2004). Neste contexto, e porque a investigação não deve imiscuir-se na vida das pessoas e das instituições sem o seu conhecimento e consentimento livre e consciente, foi solicitada a autorização prévia para colheita de dados relativos aos indicadores de saúde nos laboratórios de patologia clínica, junto dos respetivos conselhos de administração e direções de serviço.

Os pedidos foram elaborados tendo por condição a informação aos inquiridos relativamente à origem e objetivos da recolha de dados, o respeito pela liberdade de participar ou não no estudo e a garantia da salvaguarda do anonimato dos participantes e respetivas instituições.

Parte IV – Apresentação de resultados

1. Caracterização físico-química das albufeiras objeto de estudo (2000 – 2008)

Em função da sua natureza, os dados foram agrupados em tabelas que representam características físicas e características químicas. Quando comparados em termos globais, os parâmetros físicos apresentam médias inferiores aos valores máximos legalmente recomendados ou admitidos.

1.1. Parâmetros Físicos

Temperatura

As albufeiras da bacia hidrográfica do Sado apresentaram globalmente valores médios de temperatura que variaram entre 18,1° C e 20,1° C, enquanto nas albufeiras da bacia hidrográfica do Guadiana estes valores oscilaram entre 18,8° C e 19,3° C (Tabela 27).

Tabela 27

Valores médios, desvios padrão e número de observações considerados nos parâmetros físicos avaliados

Bacia hidrográfica		Sado				Guadiana		
Reservatório		Alvito	Mt ^e Rocha	Roxo	Boavista	Enxoé	M ^{te} Novo	Vigia
Período avaliado (2000/2008)		2000/05	2000/05	2000/08	2006/07	2003/04	2000/07	2000/07
Parâmetros avaliados	VMR* VMA**							
Temperatura (° C)	22*	18.6	20.11	18.1	19.3	19	18.8	18.7
		SD 4.7	SD4.8	SD 4.2	SD 4.8	SD 4.8	SD 5.1	SD 5.4
	25**	N = 72	N=66	N= 120	N=23	N=25	N=92	N=98
pH (25° C)		8.1	7.8	8.1	8.2	8.1	8.2	7.8
	5.5 – 9.0*	SD 0.2	SD 0.9	SD 0.2	SD 0.2	SD 0.2	SD 0.4	SD 0.5
		N=72	N=19	N= 106	N=24	N=25	N=94	N=96
Conductividade (µS/cm, 20° C)		302.7	266.5	1064.	239.3	467.0	350.8	275.4
	1000 **	SD 36.3	SD 46.9	SD 182.3	SD 34.7	SD 55.6	SD 56.0	SD 63.2
		N=71	N=69	N=107	N=24	N=25	N=94	N=95

Fonte: Bellém, Nunes, & Morais,(2013)

Quando avaliada anualmente (Gráfico 2), verificaram-se situações em que a temperatura foi igual ou superior a 21° C (Albufeira do Monte da Rocha), chegando a atingir um máximo de 23° C (Albufeira da Vigia).

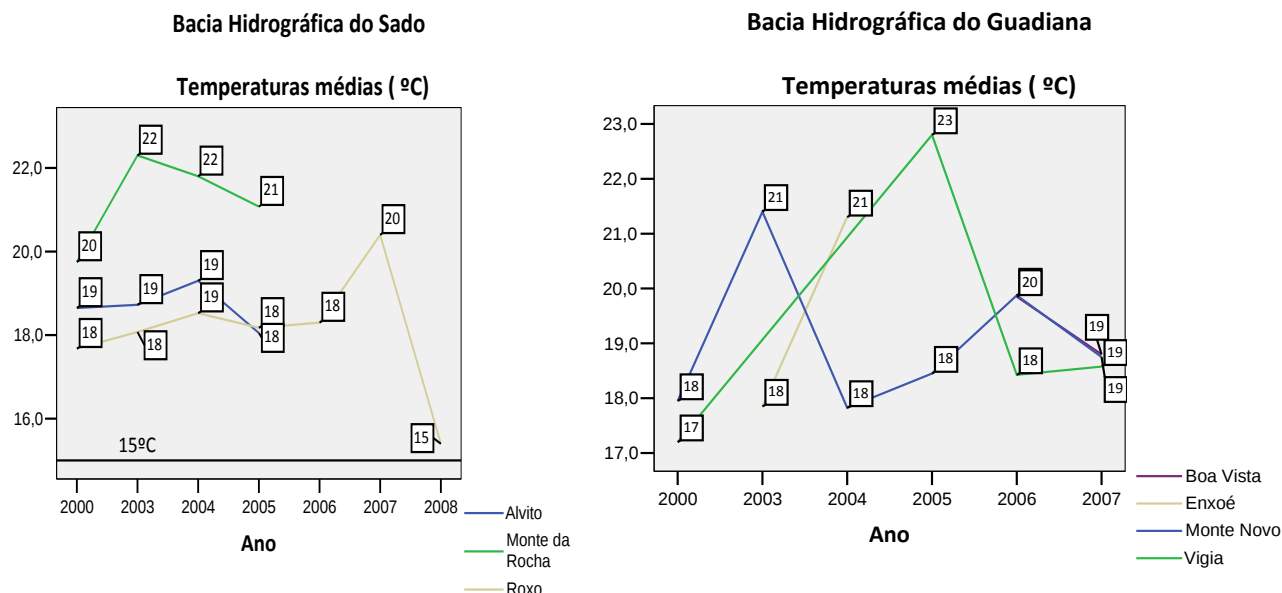


Gráfico 2: Valores médios anuais de temperatura registados nas albufeiras objeto de estudo

pH

As albufeiras da Boavista e Monte Novo, pertencentes à Bacia Hidrográfica do Guadiana, foram as que apresentaram os valores de pH mais elevados, tendo-se registado, nas outras, valores médios superiores a 7.

Condutividade

A massa de água com condutividade média mais elevada foi a albufeira do Roxo, com um valor que excede o máximo admissível (VMA) legalmente estabelecido (1000 $\mu\text{S/cm}$, 20° C) (Tabela 27), provavelmente influenciado pela contaminação de sais provenientes de efluentes e resíduos agrícolas e/ou industriais. Apesar deste valor elevado, nas restantes albufeiras este parâmetro não ultrapassou os 470 $\mu\text{S/cm}$ (20° C), o que por si só não constituiu um risco para a saúde do consumidor. No entanto, permitiu avaliar o grau de mineralização das águas, caracterizando-a entre fraca a pouco acentuada (100 – 400 $\mu\text{S/cm}$) e excessiva (Mendes & Oliveira, 2004). A temperatura poderá também ter estado na origem de algum aumento de condutividade, uma vez que,

segundo Carvalho, Schlittler, e Tornisiello (2000), o aumento da temperatura da água e dos sólidos suspensos (alguns provenientes dos solos) são situações que favorecem a condutividade elétrica no meio.

1.2. Parâmetros Químicos

Relativamente aos parâmetros químicos avaliados, alguns registaram valores médios acima dos legalmente recomendados (oxigénio dissolvido, azoto amoniacal e manganês), enquanto outros se mantiveram em níveis particularmente baixos (nitratos, fosfatos) (Tabela 28).

Componentes Azotados

Todos os componentes azotados avaliados situam-se abaixo dos valores máximos admissíveis (VMA) pela legislação nacional em vigor (Azoto Amoniacal 1,5mg/L e Nitratos 50mg/L), sendo a albufeira do Monte da Rocha a que apresenta valores mais elevados de Azoto Amoniacal (acima do valor máximo recomendado-VMR) e a albufeira do Alvito a que apresenta o valor mais baixo (Tabela 28).

Tabela 28

Concentrações médias, desvios padrão (SD) e número de observações consideradas (N) para os parâmetros químicos avaliados

Bacia hidrográfica		Sado			Guadiana			
Reservatório		Alvito	Mt ^e Rocha	Roxo	Boavista	Enxoé	M ^{te} Novo	Vigia
Período avaliado (2000/2008)		2000/05	2000/05	2000/08	2006/07	2003/04	2000/07	2000/07
Parâmetros avaliados	VMR* VMA**							
		99	78.9	85.1	86.1	79.8	92.2	71.7
Oxigénio dissolvido (%)	50*	SD 22.9	SD 15.9	SD 20.0	SD 14.6	SD 22	SD 19.3	SD 28.4
		N=70	N=61	N=115	N=20	N=25	N=86	N=91
Azoto amoniacal (mg/L NH ₄)	1.00 * 1.50**	0.05	1.04	0.16	0.09	0.35	0.12	0.16
		SD 0.0	SD .04	SD 0.14	SD 0.04	SD 0.5	SD 0.07	SD 0.10
		N=71	N=31	N=105	N=24	N=25	N=94	N=95
Nitratos (mg/LNO ₃)	50*	0.77	0.86	1.4	1.8	0.68	1.1	2.1
		SD 0.4	SD 1.9	SD 0.9	SD 1.3	SD 0.36	SD 0.8	SD 1.3
		N=72	N=70	N=105	N=24	N=25	N=95	N=96
Fosfatos (mg/LP ₂ O ₅)	0.7*	0.03	0.05	0.06	0.1	0.14	0.07	0.06
		SD 0.02	SD 0.04	SD 0.03	SD 0.04	SD 0.04	SD 0.03	SD 0.03
		N=71	N=69	N=107	N=24	N=25	N=95	N=85
Fosfatos (µg P/L)	700	30	50	60	100	140	70	60
Manganês (mg/L Mn)	0.10*	0.07	0.09	0.04	0.1	0.10	0.06	0.18
		SD 0.07	SD 0.13	SD 0.04	SD 0.07	SD 0.03	SD 0.04	SD 0.24
		N=37	N=34	N=50	N=12	N=12	N=48	N=49
Demanda Bioquímica Oxigénio - CBO ₅ (mg/L O ₂ , 20° C)	5*	3,0	4,4	3.8	3.0	4.6	3.6	3.9
		SD 1.0	SD 2.7	SD 1.1	SD 0.0	SD 1.2	SD 0.9	SD 1.6
		N=67	N=64	N=97	N=20	N=25	N=85	N=86
Azoto Total (mg/L) (Kjeldhal+Nitratos)		1.3		2.3	2.4	2.7	2.2	3.2
		SD 0.5	ND*	SD 0.9	SD 1.4	SD 0.6	SD 0.8	SD 1.5
		N=71		N=105	N=24	N=25	N=94	N=95
Rácio NT/PT		43	---	38	24	19	31	53

Fonte: Bellém, Nunes, & Morais,(2013).

Fósforo

Relativamente ao fósforo, todas as albufeiras apresentaram igualmente valores abaixo do VMR, registando-se na albufeira de Enxoé o valor mais elevado das albufeiras objeto de estudo (140 µg/L) e na albufeira do Alvito o valor mais baixo.

Oxigénio Dissolvido/Demanda Bioquímica de Oxigénio

Por outro lado, o valor médio da percentagem de oxigénio dissolvido apresentou-se acima dos VMR em todas as albufeiras, particularmente na albufeira do Alvito (99%), o que poderá refletir elevada produtividade primária. Embora os níveis de demanda bioquímica de oxigénio se encontrassem abaixo dos VMR, aproximaram-se dos valores limite, como a albufeira do Enxoé e a albufeira do Monte da Rocha (Tabela 28), indiciando existência de contaminação orgânica.

Manganês

O teor de manganês associado frequentemente a descargas industriais apresentou-se com valores médios iguais ou superiores aos VMR, nomeadamente nas albufeiras de Boavista, Enxoé e Vigia e com valores próximos dos VMR nas albufeiras da bacia do Sado, caso da albufeira do Monte da Rocha.

2. Condição trófica das albufeiras objeto de estudo (2000 - 2008)

Dois dos parâmetros adotados em Portugal para proceder à classificação trófica dos sistemas aquáticos (clorofila-*a* e fósforo) permitiram classificar duas albufeiras da bacia hidrográfica do Sado (Monte da Rocha e Roxo) e duas albufeiras da bacia do Guadiana (Monte Novo e Enxoé) como sistemas eutróficos, uma vez que apresentam no período avaliado médias de clorofila-*a* superiores a 10 µg/L (Gráfico 3) e de fósforo total superior a 35 µg P/L (Gráfico 4).

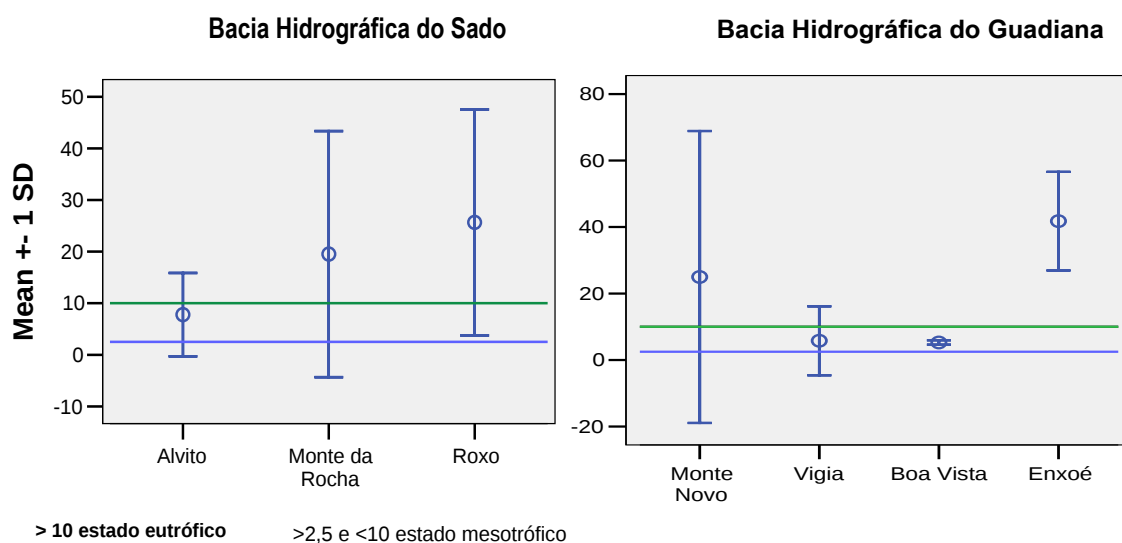


Gráfico 3: Valores médios de clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) das albufeiras das bacias hidrográficas do Sado e do Guadiana.

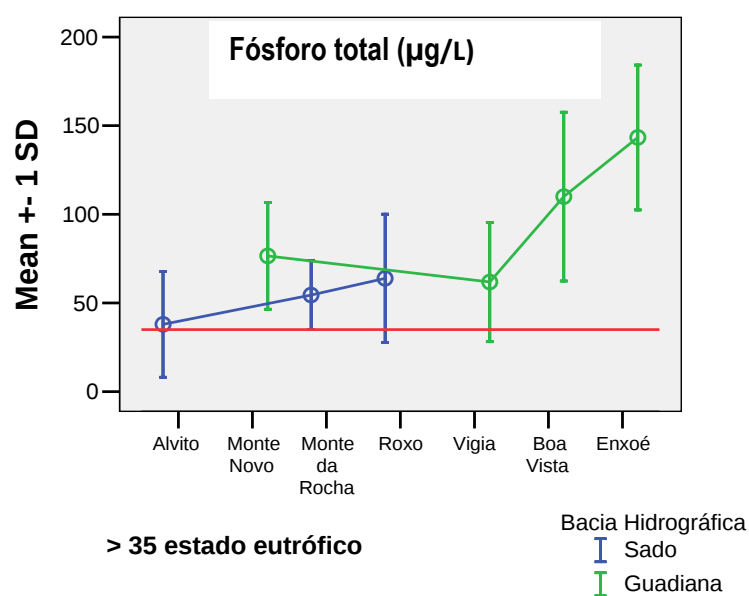


Gráfico 4: Valores médios de fósforo total das albufeiras objeto de estudo.

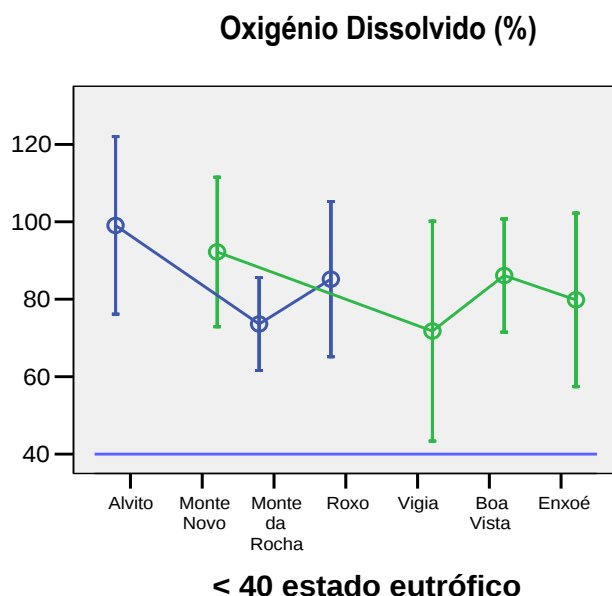


Gráfico 5: Valores médios de oxigénio dissolvido das albufeiras objeto de estudo.

As restantes albufeiras (Alvito, Vigia e Boavista) objeto de estudo, embora apresentem valores médios de clorofila-*a* que as enquadram na categoria mesotrófica, os valores médios de fósforo total indicam um estado eutrófico, uma vez que é o parâmetro mais desfavorável. Contrariamente ao estabelecido nos critérios de eutrofização, a saturação em oxigénio em todas as albufeiras em estudo apresentou valores superiores a 40%. Porém, este valor poderá traduzir elevada atividade primária, em alguns casos próxima dos 100% (Gráfico 5).

Os rácios NT/PT calculados apresentaram valores <29:1 nas albufeiras de Boavista e Enxoé, favorecendo, segundo (Havens et al., 2003), um domínio de cianobactérias, uma vez que, relativamente ao restante fitoplâncton, estas competem melhor para o azoto quando este se apresenta escasso.

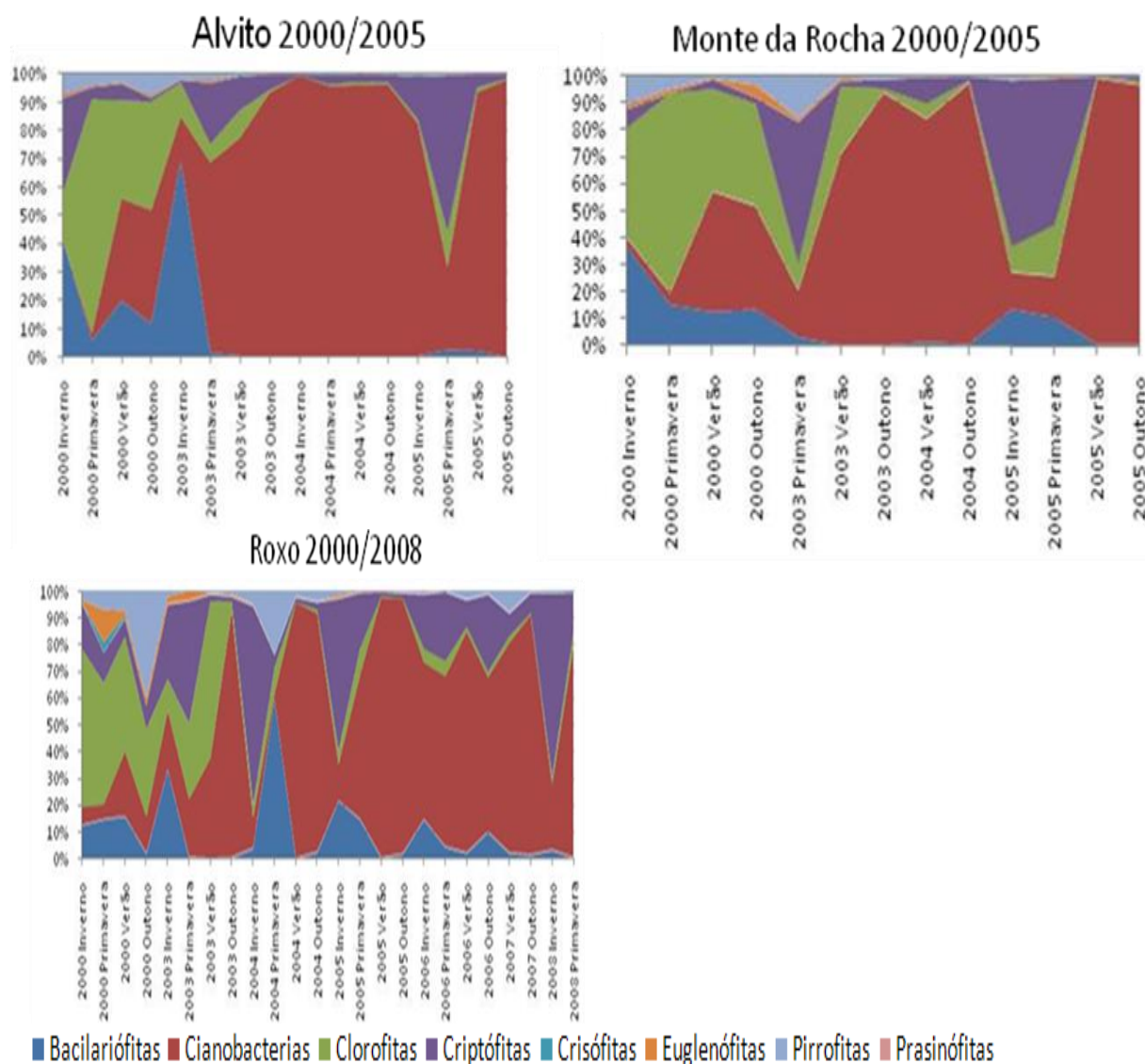
Nas albufeiras cujo rácio NT/PT > 29:1 o domínio de cianobactérias poderá ter sido menos evidente. No entanto, apesar do P ser frequentemente considerado como fator limitante, o aumento de fluxos de N (habitualmente associado a atividades humanas) tem sido relacionado com florescências.

3. Caracterização fitoplanctónica (2000 - 2008)

3.1. Bacia Hidrográfica do Sado

Após identificação e contagem da população fitoplanctónica foi possível verificar que, durante os períodos avaliados, todas as albufeiras da bacia hidrográfica do Sado apresentaram padrões de domínio de cianobactérias relativamente prolongados (Figura 12), como se constata na albufeira do Alvito, em que o grupo das cianobactérias foi dominante de forma consecutiva e em larga escala entre a primavera de 2003 e a primavera de 2005.

Nas albufeiras de Monte da Rocha e Roxo, este domínio foi mais acentuado nos meses de verão e outono, tendo-se verificado de seguida um decréscimo deste grupo fitoplanctónico com um aumento gradual de outros constituintes fitoplanctónicos, como as Clorófitas.

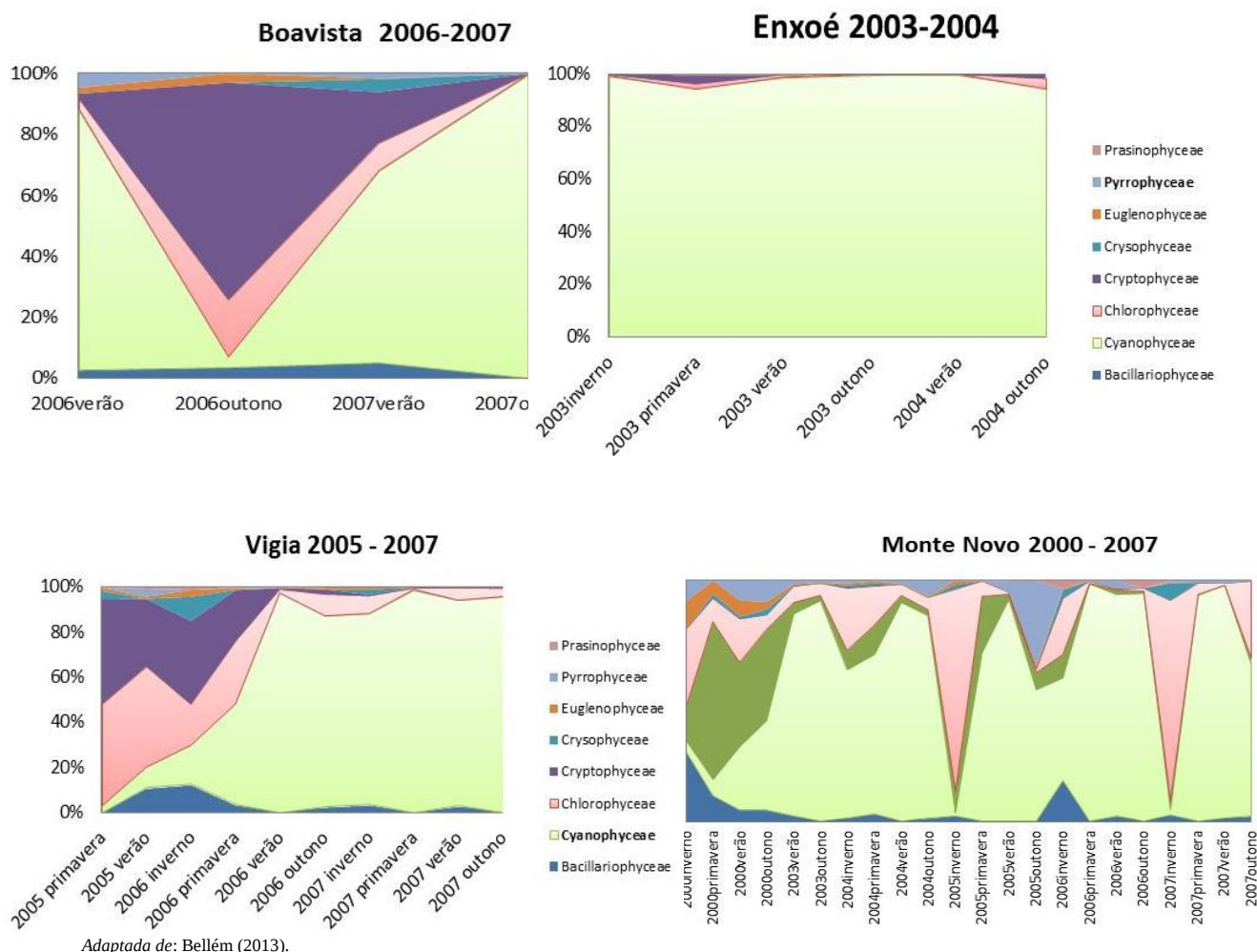


Adaptado de: Bellém (2013).

Figura 12: Evolução temporal da abundância relativa nas albufeiras objeto de estudo da bacia hidrográfica do Sado entre os anos de 2000 a 2008.

3.2. Bacia Hidrográfica do Guadiana

Apesar de algumas albufeiras da bacia do Guadiana terem apresentado períodos não muito extensos de domínio de organismos fitoplanctónicos eucariotas, como as Cryptophyceae na albufeira da Boavista ou as Chlorophyceae nas albufeiras de Monte Novo e Vigia, todas as albufeiras desta bacia apresentaram também domínios acentuados de cianobactérias, com maior expressão nos meses de verão e outono. Realça-se a particular abundância nas albufeiras de Enxoé, Monte Novo e Vigia (Figura 13) em que este domínio se aproximou da ordem do 100%.



Adaptada de: Bellém (2013).

Figura 13: Evolução temporal da abundância relativa dos principais grupos fitoplanctónicos nas albufeiras da bacia hidrográfica do Guadiana entre 2000 e 2007.

4. Florescências mais expressivas por albufeira (2000 - 2008)

4.1. Bacia Hidrográfica do Sado

Das albufeiras da bacia hidrográfica do Sado, a albufeira do Roxo foi a que apresentou a florescência a cianobactérias mais expressiva durante os períodos de avaliação, tendo sido contabilizadas **861.561cels/ml** no verão de 2005 (Tabela 29), com especial relevo para as seguintes espécies: *Oscillatoria* sp., *Aphanizomenon* sp., *Aphanocapsa* sp., *Planktothrix* sp., *Aphanothece* sp. (Tabela 30). Da restante comunidade fitoplanctónica, esta albufeira apresentou, como florescências mais expressivas, o grupo das Clorófitas (142.278cels/ml) no verão de 2003 e Criptófitas e Bacilariófitas na primavera de 2005, com 17.820cels/ml e 12.524cels/ml, respetivamente (Tabela 29).

Albufeira do Roxo

Tabela 29

Florescências mais expressivas na albufeira do Roxo no período avaliado

Albufeira	Ano	Estação	Bacilariófitas	Cianobactérias	Clorófitas	Criptófitas	Pirrófitas
Roxo	2003	inverno	5.408	3.584		4.543	
		primavera		2.220	2.919	4.727	
		verão		89.664	142.278	5.558	
		outono		54.337	2.263		
	2004	inverno				5.054	
		primavera	10.226				4.086
		verão		148.303		2.265	3.300
		outono		40.292			
	2005	inverno	4.071	2.591		10.790	
		primavera	12.524	45.570	8.671	17.820	
		verão	3.239	861.561	7.196	13.585	
		outono	2.015	108.898			
	2006	inverno	4.227	16.909		5.891	
		primavera		21.531	2.012	8.759	
		verão		39.998		4.806	
		outono	2.500	14.462		7.279	
	2007	verão		9.586			
		outono		55.015		4.542	
	2008	inverno		2.402		6.782	
		primavera		27.796		5.316	

Tabela 30

Cianobactérias com contagens superiores a (2000cels/ml) no verão de 2005

julho→setembro	agosto	setembro
<i>Aphanizomenon sp.</i> 155.414*	<i>Aphanothece sp.</i> 16.000	<i>Planktothrix sp.</i> 32.504
<i>Oscillatoria sp.</i> 617.428*		<i>Aphanocapsa sp.</i> 34.917

*Contagens mais elevadas registadas em agosto e setembro.

A contagem de 813.013cels/ml de cianobactérias caracterizou a fluorescência mais expressiva na albufeira do Alvito durante o inverno de 2004 (Tabela 31), assumindo especial relevo nesta fluorescência a *Snowella sp.* com 327.455 cels/ml (Tabela 32). Da restante comunidade fitoplanctónica, as Bacilariófitas foram as que apresentaram maior crescimento durante o inverno de 2003 com 24.117 cels/ml.

Albufeira do Alvito

Tabela 31

Florescências mais expressivas na albufeira do Alvito no período avaliado

Albufeira	Ano	Estação	Bacilariófitas	Cianobactérias	Clorofitas
Alvito	2003	inverno	24.117	5.334	4.255
	2004	inverno	2.305	813.013	
	2005	verão	2.487	92.966	

Tabela 32

Cianobactérias com contagens superiores a (2000cels/ml) no inverno de 2004

janeiro	fevereiro	janeiro→março	
<i>Microcystis sp.</i> 3.639	<i>Aphanizomenon sp.</i> 2.812	<i>Coelosphaerium sp.</i> 2.130	<i>Snowella sp.</i> 327.455*

*março registou a contagem mais elevada.

Albufeira do Monte da Rocha

Na albufeira do Monte da Rocha, a florescência mais expressiva a Cianobacterias ocorreu em 2004, no outono, onde se chegaram a contabilizar **325.721 cels/ml** (Tabela 33), com especial relevo para a *Aphanocapsa sp.*, com 253.226 cels/ml e *Microcystis sp.*, com 13.824 cels/ml (Tabela 34).

Tabela 33

Florescências mais expressivas na albufeira do Monte da Rocha no período avaliado

Albufeira	Ano	Estação	Bacilariófitas	Cianobactérias	Clorofitas	Criptófitas
Monte da Rocha	2003	primavera				2383
		verão		3.098		
		outono		26.071		
		inverno	3.011			
	2004	verão	2.200	126.640	8.804	14.822
		outono	3.207	325.721	3.033	4.780
		primavera	2182			6049
	2005	verão		215.048		
		outono		232.732	3.531	4.045
		inverno				5.276

Tabela 34

Cianobactérias com contagens superiores a (2000cels/ml) no outono de 2004

setembro		setembro → dezembro
<i>Aphanocapsa sp.</i> 253.226	<i>Coelosphaerium sp.</i> 2.463	<i>Microcystis sp.</i> 13.824*

*dezembro registou a contagem mais elevada.

Bacia Hidrográfica do Guadiana

Das albufeiras da bacia do Guadiana, a do Enxoé e a da Boavista apresentaram as florescências mais expressivas com **1.478.403 cels/ml**, no outono de 2003 e **1.273.138 cels/ml**, no outono de 2007, respetivamente (Tabelas 35 e 37). Salientam-se as presenças na albufeira do Enxoé da *Aphanizomenon sp.*, com 817.530 cels/ml e da *Oscillatoria sp.*, com 12.644 (Tabela 36) e da *Microcystis aeruginosa*, com mais de 1.000.000 cels/ml na albufeira da Boavista (Tabela 38).

Albufeira do Enxoé

Tabela 35

Florescências mais expressivas na albufeira do Enxoé no período avaliado

Albufeira	Ano	Estação	Bacilariófitas	Cianobactérias	Clorofitas	Criptófitas	Euglenófitas
Enxoé	2003	inverno	3.011	424.996	3.650		
		primavera		660.507	9.895	23.188	2.722
		verão		877.228	9.156		3.176
		outono		1.478.403	3.007	5.826	
	2004	verão		1.357.712	3.345	2.854	
		outono	3.207	1.076.628	42.682	19.510	

Tabela 36

Cianobactérias com contagens superiores a (2.000cels/ml) no outono de 2003

outubro → dezembro	novembro → dezembro
<i>Aphanizomenon sp.</i> 817.530*	<i>Oscillatoria sp.</i> 12.644

*Contagens mais elevadas registadas em dezembro.

Albufeira da Boavista

Tabela 37

Florescências mais expressivas na albufeira da Boavista no período avaliado

Albufeira	Ano	Estação	Cianobactérias
Boa Vista	2006	verão	5.097
	2007	verão	7.230
		outono	1.273.138

Tabela 38

Cianobactérias com contagens superiores a (2.000cels/ml) no outono de 2007

setembro	
<i>Microcystis aeruginosa</i> 1.270.173	<i>Woronichinia sp.</i> 2.042

As albufeiras de Monte Novo e Vigia foram as que apresentaram florescências menos expressivas de cianobactérias. Com 250.000 cels/ml, na primavera de 2006 (Tabela 39), a albufeira de Monte Novo apresentou nessa florescência os grupos *Microcystis sp.* e *Woronichinia sp.* como os mais representativos (Tabela 40). Nas cerca de 460.000 cels/ml contabilizadas durante a primavera de 2007 na albufeira da Vigia (Tabela 41), foram identificados, como grupos mais expressivos, a *Anabaena sp.*, *Aphanizomenon sp.*, *Microcystis sp.* e *Woronichinia sp.* (Tabela 42).

Albufeira do Monte Novo

Tabela 39

Florescências mais expressivas na albufeira da Enxoé no período avaliado

		Bacilariófitas	Cianobactérias	Clorofitas	Criptófitas	Pirrofitas
Monte Novo	2003	verão	2616	99.370	5.742	7.928
		outono		199.040	5.326	10.513
	2004	inverno		14.104		5943
		primavera		12.261	2.305	2.998
		verão	2131	192.270	6.054	9.913
		outono		72.980	2.443	4.152
	2005	primavera		32.730	11.035	3.077
		verão		100.069	2.329	5.362
		outono		5.694		3.732
	2006	inverno		4.228		2.290
		primavera		250.036		2.565
		verão		57.450		2.107
		outono		61.046		
	2007	inverno			7.136	
		primavera		75.512	3.940	
		verão	3.273	198.654		2.264
		outono		33.401	16.969	

Tabela 40

Cianobactérias com contagens superiores a (2000cels/ml) na primavera de 2006

junho	junho
<i>Microcystis sp.</i> 114.595	<i>Woronichinia sp.</i> 51.948

Albufeira da Vigia

Tabela 41

Florescências mais expressivas na albufeira da Vigia no período avaliado

Albufeira	Ano	Estação	Bacilariófitas	Cianobacterias	Clorofitas
Vigia	2000	verão		5019	7944
	2005	verão	3.338	3.030	14.059
		primavera		21.970	13.511
	2006	verão		240.017	4.226
		outono		9289	
		inverno		9.714	
		primavera		460.840	4.709
	2007	verão		67.626	4.128
		outono		135.452	5.271

Tabela 42

Cianobactérias com contagens superiores a (2.000cels/ml) na primavera de 2007

abril → maio	abril → maio	maio	abril → junho
<i>Anabaena sp.</i> 6.312*	<i>Aphanizomenon sp.</i> 7.950*	<i>Microcystis sp.</i> 17.095	<i>Woronichinia sp.</i> 183.593*

*Contagens mais elevadas registadas em abril e maio.

Segundo Crayton (1993), condições favoráveis poderão proporcionar florescências fitoplanctónicas sucessivas. Nas albufeiras objeto de estudo foram identificadas florescências a cianobactérias durante todo o período de avaliação, chegando a atingir valores acima de 1.400.000 cels/ml, nomeadamente na bacia hidrográfica do Guadiana. Todas as albufeiras se encontravam em estado eutrofizado, de acordo com os critérios adotados em Portugal, nomeadamente no que respeita ao fósforo em que todos os sistemas apresentaram valores que permitiram enquadrá-los na categoria de eutrofizados, sendo que o aporte de fósforo estaria provavelmente associado a fontes pontuais e/ou difusas já identificadas.

De entre as espécies/géneros identificados, referira-se o género não fixador *Microcystis* que, à exceção da albufeira do Enxóe e do Roxo, esteve entre os géneros responsáveis pelas florescências mais relevantes que decorreram nas restantes albufeiras objeto de estudo, com especial destaque para a albufeira da Boavista (Tabela 43).

Tabela 43

Cianobactérias responsáveis por florescências mais expressivas, propriedades tóxicas e órgãos alvo

Albufeira	Amostras	Cels/ml - Cyanobacteria	Propriedades tóxicas	Órgão alvo
Alvito	inverno 2004	327.455 <i>Snowella sp.</i>	Irritante	Pele + Olhos
		3.639 - <i>Microcystis sp.</i>	Hepatotóxico	Fígado
		2.812 - <i>Aphanizomenon sp.</i>	Neuro-hepatotóxico	SN* + Fígado
		2.130 - <i>Coelosphaerium sp.</i>	Irritante	
Boavista	outono 2007	1.270.173 - <i>Microcystis aeruginosa</i>	Hepatotóxico	Fígado
		2.042 - <i>Woronichinia sp.</i>	Irritante	Pele+Olhos
Enxoé	outono 2003	817.530 - <i>Aphanizomenon sp.</i>	Neuro-hepatotóxico	SN* + Fígado
		12.644 - <i>Oscillatoria sp.</i>	Neuro-hepatotóxico e dermatotóxico	SN* + Fígado + Pele
Monte da Rocha	outono 2004	253.226 <i>Aphanocapsa sp.</i>	Irritantes	Pele + olhos
		2.463 - <i>Coelosphaerium sp.</i>	Irritantes	Pele + Olhos
		13.824 - <i>Microcystis sp.</i>	Hepatotóxico	
Monte Novo	primavera 2006	114.595 <i>Microcystis sp.</i>	Hepatotóxico	Fígado
		51.948 - <i>Woronichinia sp.</i>	Irritantes	Pele+Olhos
Roxo	verão 2005	320.642 <i>Oscillatoria sp.</i>	Neuro-hepatotóxico e dermatotóxico	SN* + Fígado+ Pele
		34.976 - <i>Aphanocapsa sp.</i>	Irritante	Pele+Olhos
		16.000 - <i>Aphanotece sp.</i>	Irritante	Pele+Olhos
		32.504 - <i>Planktothrix sp.</i>	Neuro-hepatotóxico e dermatotóxico	SN* + Fígado+ Pele
Vigia	primavera 2007	183.593- <i>Woronichinia sp.</i>	Irritantes	Pele + Olhos
		6.213 - <i>Anabaena sp.</i>	Neuro-hepatotóxica	SN + Fígado
		7.950 - <i>Aphanizomenon sp.</i>	Neuro-hepatotóxica	SN + Fígado
		17.095 - <i>Microcystis sp.</i>	Hepatotóxico	Fígado

*Sistema Nervoso

Adaptado de: Chorus & Bartram (1999), Global Water Research Coalition (2009a), Bellém, Nunes & Morais, (2013).

Segundo os valores guia propostos pela WHO (2003b) para controlar o risco associado à presença de cianobactérias, todas as albufeiras objeto de estudo apresentaram (nas florescências mais expressivas) contagens de cianobactérias que permitiram referir a presença de risco potencial (moderado a elevado) para as populações expostas, com especial relevo para as populações servidas a partir das albufeiras da Boavista e de Enxoé, em que o número de células por mililitro ultrapassou 1.200.000.

5. Evolução demográfica da população em estudo na Região do Alentejo (2001 - 2010)

Independentemente do género verifica-se que a população do distrito de Beja apresenta uma tendência para a manutenção do percentual de indivíduos na faixa etária entre os 5 e os 14 anos, ao mesmo tempo que a população jovem (15 a 24 anos) diminui no período que decorre entre 2001 e 2010 (Gráfico 6).

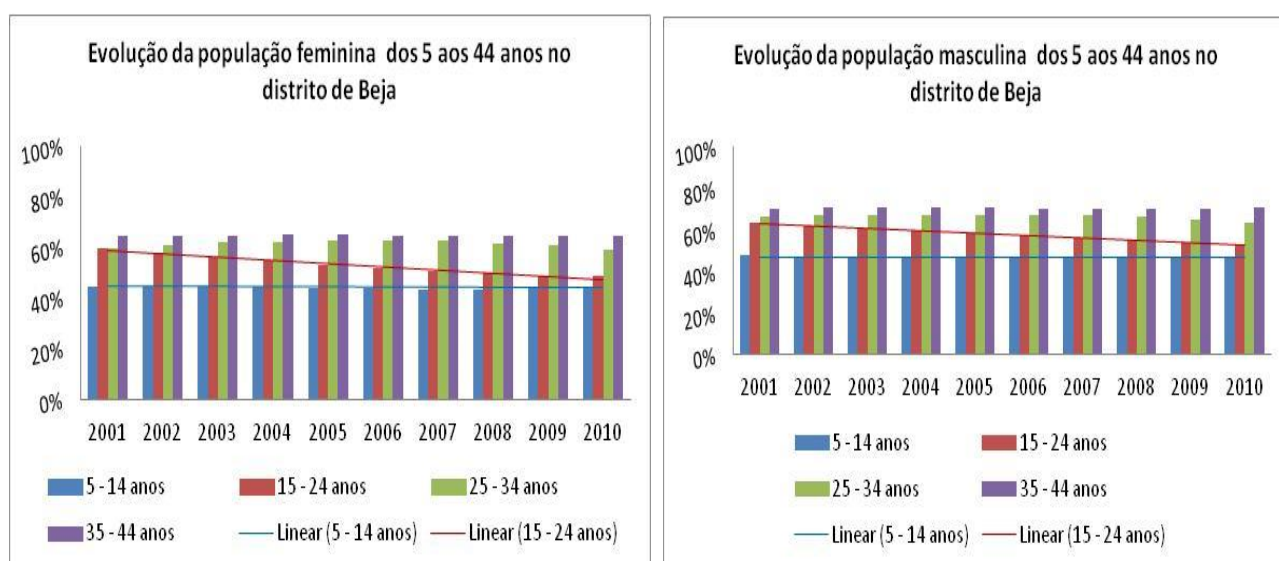


Gráfico 6: Evolução da população dos 5 aos 44 anos no distrito de Beja.

Relativamente aos habitantes do distrito de Beja com idades superiores aos 45 anos verifica-se um claro aumento da população entre os 45 e 54 anos, principalmente ao nível da população masculina, bem como um aumento do número de indivíduos acima dos 75 anos (Gráfico 7). Com uma diminuição entre jovens e um aumento percentual dos indivíduos de meia-idade e idosos, é possível concluir sobre um envelhecimento generalizado da população do distrito em estudo.

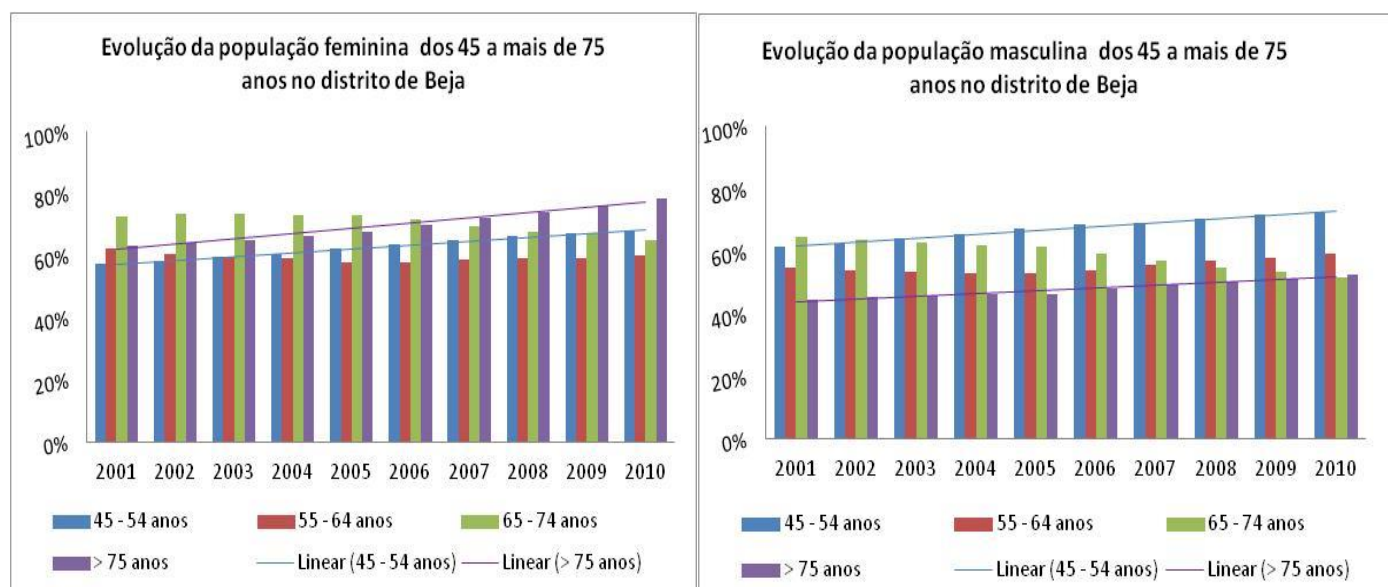


Gráfico 7: Evolução da população dos 45 a mais de 77 anos no distrito de Beja

A população do distrito de Évora apresenta uma evolução idêntica àquela que é apresentada pelo distrito de Beja, com uma diminuição gradual dos indivíduos de ambos os géneros, entre os 15 e 24 anos (Gráfico 8), sem que se verifique um aumento da população mais nova (5-14 anos), o que poderia contrariar a tendência de envelhecimento populacional deste distrito.

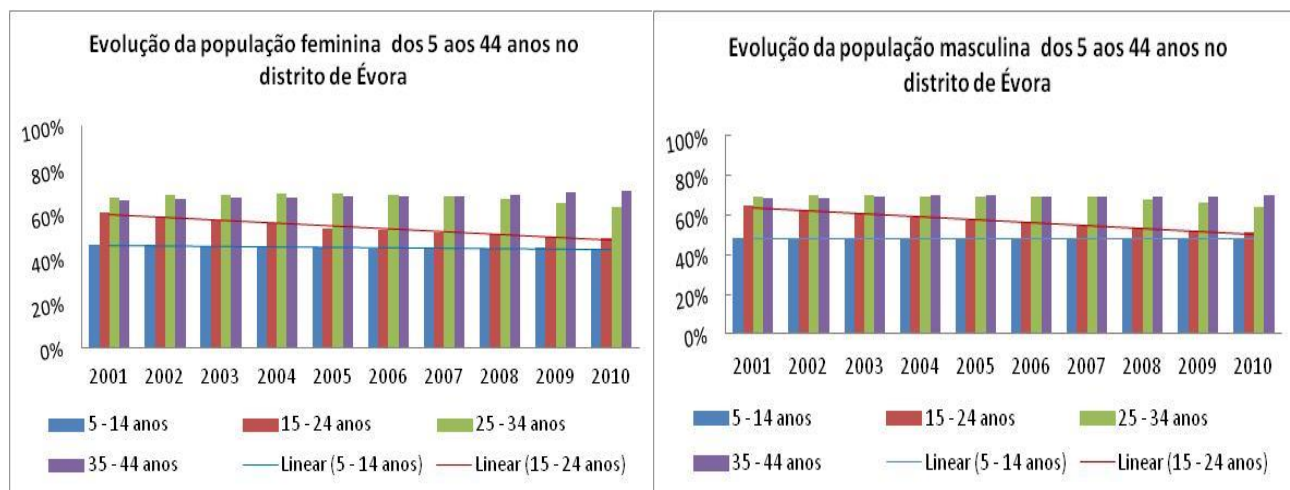


Gráfico 8: Evolução da população dos 5 aos 44 anos no distrito de Évora.

Esta tendência poderá ser verificada pelo aumento dos indivíduos das faixas etárias dos 45 aos 54 anos e acima dos 75 anos. Refira-se ainda que, enquanto no distrito de Beja a população feminina é das mais numerosas desde 2002, no distrito de Évora este fenómeno ocorre apenas desde 2005, onde ultrapassa o número de habitantes de meia-idade (45-54 anos) (Gráfico 9).

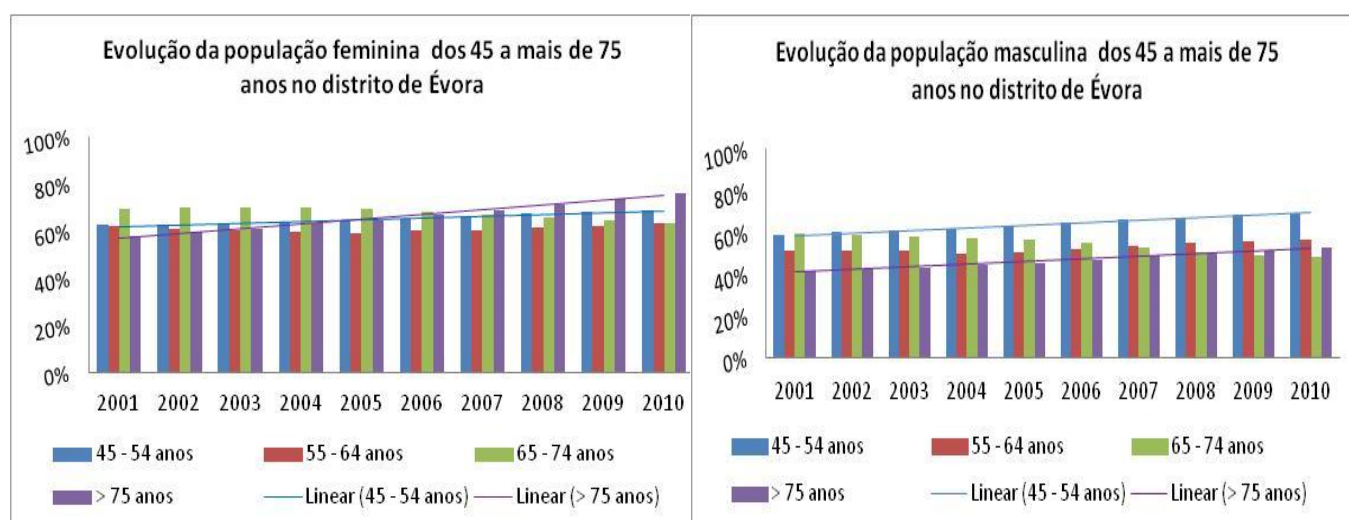


Gráfico 9: Evolução da população dos 45 a mais de 75 anos no distrito de Évora.

6. Consumo de água por habitante (2001 - 2009)

Ao longo do período 2001-2009 verificou-se um paralelismo na evolução temporal dos padrões médios de consumo de água entre ambas as populações (exposta e não exposta), com um predomínio constante dos níveis de consumo nos expostos relativamente aos não expostos (Gráfico 10).

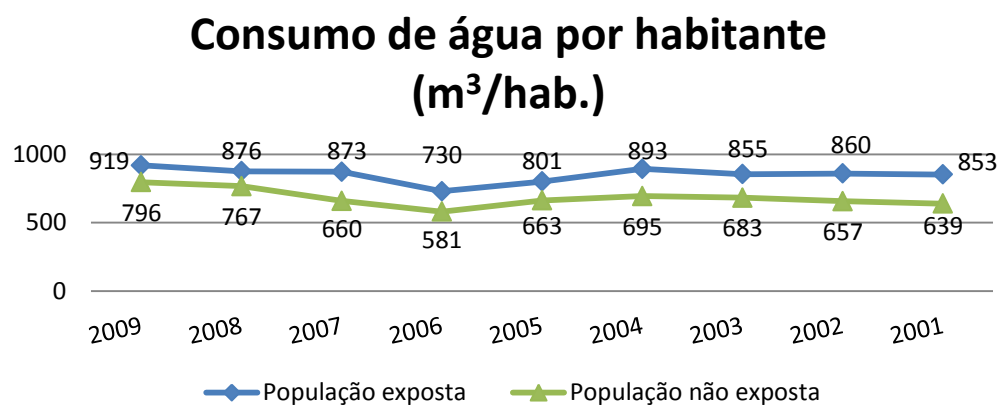


Gráfico 10: Evolução do consumo de água entre 2001 e 2009.

Entre 2004 e 2006 registou-se uma diminuição gradual dos níveis de consumo, atingindo, em 2006, os valores mais baixos no período em estudo em ambas as populações. Constata-se, a partir daí, um novo aumento que gradualmente atingiu os valores registados anteriormente, ou seja, acima dos 800m³ de água por habitante nos

expostos e 600m³ de água por ano nos não expostos. Esse aumento nos padrões de consumo manteve-se até 2009, chegando mesmo a ultrapassar os 900 m³ anuais por habitante na população exposta e os 750 m³ na população não exposta.

7. Morbidade hepática (2004 - 2010)

Em função dos dados disponibilizados, foram avaliados os níveis séricos enzimáticos da Astenina Amino Transferases (AST), Gama Glutamil Transpeptidase (GGT) e Alanina Amino Transferase (ALT), esta última somente em 2009 e 2010. À exceção do ano de 2004, todos os níveis séricos de AST e GGT avaliados no período de 2005 a 2010 apresentaram valores médios superiores na população exposta ao fator em estudo (cianotoxinas), relativamente à população não exposta (Tabela 44).

Tabela 44

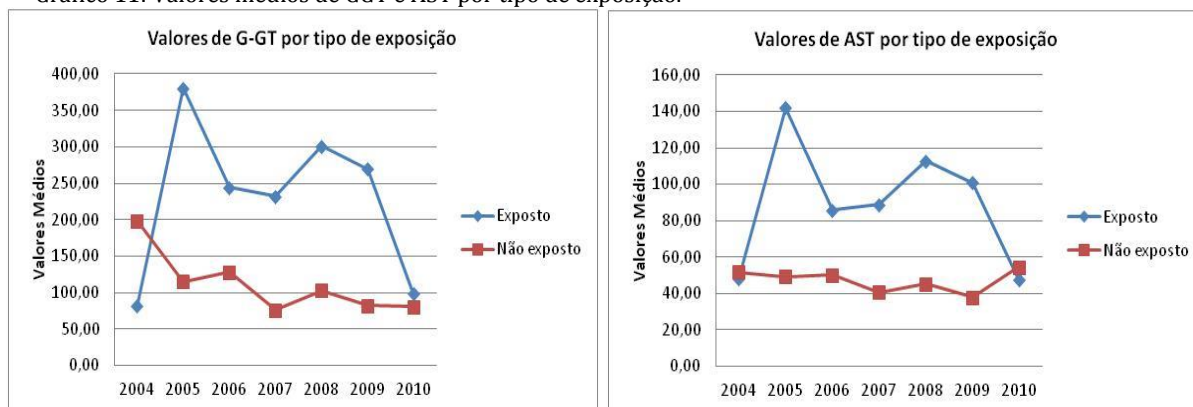
Valores médios de GGT e AST entre 2004 e 2010

População Exposta					População não Exposta			
GGT (U/L)		AST (U/L)			GGT (U/L)		AST (U/L)	
Homens -15-85*		15-37*			Homens -15-85*		15-37*	
Mulheres 5-55*					Mulheres 5-55*			
Ano	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios
2004	445	81,6	445	48,3	91	198,7	91	51,7
2005	1096	380,0	1096	141,8	2927	114,9	2927	49,0
2006	564	244,5	564	85,8	3316	127,8	3316	50,1
2007	1379	231,9	1379	88,7	1692	76,0	1692	40,6
2008	1412	300,6	1412	112,9	2826	102,6	2826	45,3
2009	1234	269,3	1234	100,8	6278	82,4	6278	37,9
2010	6938	99,1	11682	46,3	3449	80,3	5778	48,4

*Valores de referência.

A representação gráfica permite perceber as diferenças substanciais que se verificaram ao nível das enzimas avaliadas no período 2004-2010 (GGT e AST) entre a população exposta e a população não exposta. Consta-se, entre 2009 e 2010, uma descida comum às duas enzimas em ambas as populações (Gráfico 11).

Gráfico 11: Valores médios de GGT e AST por tipo de exposição.



Quando avaliados relativamente ao género (Tabela 45), os valores médios dos níveis séricos destas enzimas mantiveram-se superiores na população exposta relativamente à não exposta (entre 2005 e 2010).

Tabela 45

Valores médios de GGT e AST entre 2004 e 2010 por género

População Exposta						População não Exposta			
GGT(U/L)			AST(U/L)			GGT(U/L)		AST(U/L)	
Ano	Sexo	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios
2004	F	259	51,4	259	46,1	11	324,6	11	69,2
	M	186	117,4	186	51,4	80	172,1	80	49,1
2005	F	559	275,9	559	113,0	1547	85,1	1547	45,6
	M	537	485,6	537	171,8	1380	144,9	1380	52,9
2006	F	448	266,6	448	101,0	1591	120,1	1591	48,0
	M	116	160,4	116	27,1	1725	134,1	1725	52,1
2007	F	695	301,3	695	149,5	1679	75,0	1679	39,5
	M	684	160,8	684	26,7	13	195,4	13	171,5
2008	F	484	334,2	484	120,5	1263	58,1	1263	32,8
	M	928	283,2	928	108,9	1563	137,7	1563	55,4
2009	F	364	396,8	364	274,0	2874	56,4	2874	33,2
	M	870	216,5	870	28,4	3404	104,6	3404	41,9
2010	F	14880	78,9	14880	45,6	2953	63,8	2953	46,0
	M	15904	107,9	15904	50,4	2998	97,1	2998	50,7

A representação gráfica distribuída por género permitiu perceber que, a partir de 2004, houve uma subida gradual dos níveis enzimáticos no sexo feminino até 2009, seguindo-se uma descida de valores em 2010 (Gráfico 12).

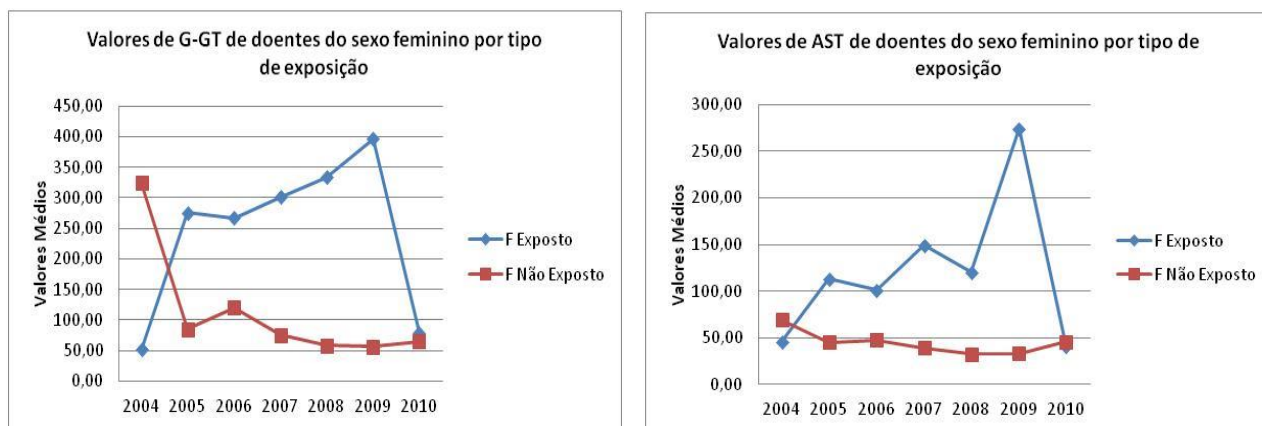


Gráfico 12: Valores médios de GGT e AST no género feminino por tipo de exposição.

No sexo masculino verificaram-se maiores variações nos padrões apresentados na população exposta relativamente à não exposta, nomeadamente ao nível da AST (Gráfico 13). Enquanto no sexo feminino se verificaram descidas nos níveis enzimáticos entre 2009 e 2010, no sexo masculino essas descidas iniciaram-se em 2008, constatando-se mesmo uma subida ligeira de AST entre 2009 e 2010.

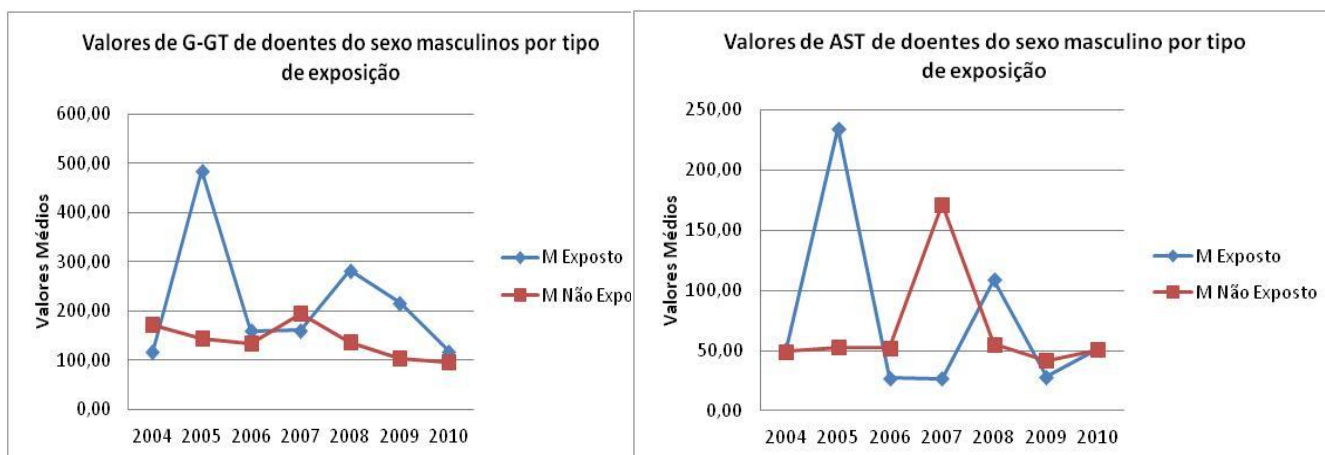


Gráfico 13: Valores médios de GGT e AST no género masculino por tipo de exposição.

Nos anos 2009 e 2010, em que foi possível avaliar os níveis serológicos da enzima ALT, verificou-se que estes apresentaram em média níveis mais elevados na população exposta relativamente à população não exposta (Tabela 46), havendo, no entanto, tal como se verificou relativamente à AST e GGT, uma descida dos valores médios entre 2009 e 2010.

Tabela 45

Valores médios de ALT em 2009 e 2010

Doentes Expostos			Doentes não Expostos	
GPT-ALT 30-65*			GPT-ALT 30-65*	
Anos	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios	Nº de avaliações laboratoriais	Valores Médios
2009	1234	104,1	6278	36,9
2010	21150	54,8	5728	50,8

Para a comparação dos níveis serológicos das enzimas AST, ALT e GGT na população exposta, relativamente à população não exposta às cianotoxinas, recorreu-se ao teste não paramétrico de Mann-Whitney (Tabela 47). Dada a discrepância entre a dimensão dos grupos (o quociente entre a maior dimensão e a menor é superior a 1.5) (APÊNDICE XIV), tendo sido encontradas diferenças estatisticamente significativas para estas enzimas ($P < 0,05$ e $P < 0,01$) em alguns dos anos avaliados.

Tabela 46

Resultados do teste de Mann-Whitney para a comparação dos níveis enzimáticos entre a população exposta e não exposta

AST			GGT		ALT	
	Mann-Whitney U	p	Mann-Whitney U	p	Mann-Whitney U	p
2004	27754,000	0,013**	6903,500	0,000*	--	--
2005	15019548,500	0,000*	4793759,500	,778	--	--
2006	4179032,000	0,000*	1276484,500	0,000*	--	--
2007	27081293,500	,683	9944927,500	0,000*	--	--
2008	13054082,000	,863	5112974,500	,060	--	--
2009	63079078,000	,349	22659231,000	,059	62447421,500	0,012**
2010	59132774,500	0,000*	20687020,500	0,000*	57433063,000	0,014**

*Diferenças estatisticamente significativas ao nível de significância de 1%

** Diferenças estatisticamente significativas ao nível de significância de 5%

Além das hepatites, os níveis da enzima GGT podem apresentar-se elevados em situações relacionadas com alcoolismo – elevação de níveis pouco específica ou reação medicamentosa (Pádua, 2009).

Relativamente à associação com o consumo de álcool e a ingestão de medicamentos (esteroides anabolizantes, hipoglicemiantes orais, medicamentos antitiroideos), verificou-se que a percentagem de indivíduos com idades compreendidas entre os 20 e

os 50 anos (mais propensos à ingestão de álcool), que apresentaram níveis elevados de GGT, diminuiu globalmente entre 2004 e 2010 (Tabela 48).

Tabela 47

Percentagem de utentes com idades entre 20 e 50 anos, com alteração exclusiva de GGT

*Homens a) 85 U/L		2004/05	2006	2007	2008	2009	2010
	Valor%	31%	23%	20%	20%	13%	12%
	Nº Total	420	446	437	414	748	638
*Mulheres b) 55 U/L		2004/05	2006	2007	2008	2009	2010
	Valor%	16%	11%	17%	18%	13%	12%
	Nº Total	459	647	601	505	770	701

*Valores de referência

8. Morbilidade crónica de origem infecciosa (Hepatite A, B e C) (2000 – 2008)

No que se refere à situação patológica de hepatites infecciosas, os concelhos estudados na região do Alentejo apresentam várias situações correspondentes a 100% da casuística regional registada. Relativamente à hepatite relacionada com a infeção pelo vírus do tipo A, os concelhos avaliados registam a totalidade dos casos nos anos 2002, 2004 e 2008, enquanto nos anos 2001, 2003 e 2007 não foi registado nenhum caso (Tabela 49).

Tabela 48

Casuística de hepatite A nos distritos de Beja e Évora entre 2000 e 2008

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Hepatite A (Distrito de Beja)	2	0	1	0	48	25	0	0	1
Hepatite A (Distrito de Évora)	0	0	1	0	24	9	1	0	0
Hepatite A (Região do Alentejo)	3	0	2	0	72	50	4	0	1
% Casuística de Beja e Évora no Alentejo	67%	0	100%	0	100%	68%	25%	0	100%

Refira-se, porém, que o peso das notificações na região do Alentejo relativamente às estatísticas nacionais (território continental) foi mais elevado nos anos de 2004 e 2005 com valores de 50% e 56%, respetivamente. Já nos anos de 2001 e 2007, a contribuição desta região foi nula (Gráfico 14).

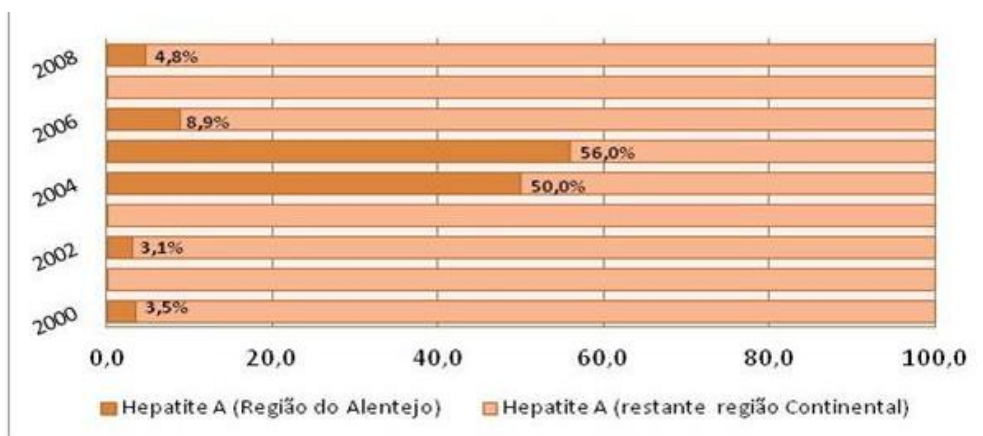


Gráfico 14. Percentual das notificações de Hepatite A da região do Alentejo em território continental.

No que concerne à hepatite infecciosa pelo vírus da hepatite B, o número de casos reportados nos concelhos em estudo correspondeu a 100% dos casos da região em 6 dos 9 anos avaliados neste estudo, com especial relevo para o ano de 2000 onde se registou o maior número de casos (Tabela 50). Apesar dos registos nos anos 2001 e 2008 corresponderem à totalidade da casuística regional, esse número corresponde apenas a 1 caso no distrito de Beja e a 1 caso no distrito de Évora.

Tabela 49

Casuística de hepatite B nos distritos de Beja e Évora entre 2000 e 2008

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Hepatite B (distrito de Beja)	4	①	1	1	1	1	0	2	0
Hepatite B (distrito de Évora)	3	0	2	1	2	0	2	0	①
Hepatite B (região do Alentejo)	7	1	3	3	3	4	2	3	1
% Casuística de Beja e Évora no Alentejo	100%	100%	100%	67%	100%	25%	100%	67%	100%

Relativamente à distribuição do número de infeções por vírus tipo B a nível nacional (território continental), a região do Alentejo apresentou o valor máximo em 2005 com um valor percentual de 5,2% e o valor mínimo de 0,5 em 2001 (Gráfico 15).

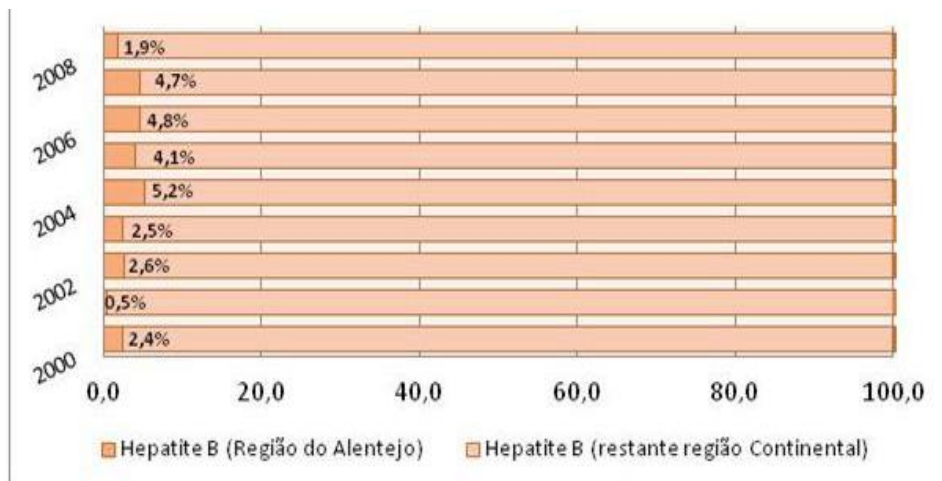


Gráfico 15: valor percentual das notificações de Hepatite B da região do Alentejo em território continental.

De todas as hepatites infecciosas estudadas, a hepatite tipo C é a que regista o maior número de casos, com especial relevo para o distrito de Évora onde se registou o valor máximo de 44 casos em 2001 e o valor mínimo, em 2007, com apenas 1 caso. Relativamente à casuística a nível da região do Alentejo, estes distritos corresponderam apenas à totalidade dos casos em dois dos 9 anos avaliados (Tabela 51).

Tabela 50

Casuística de hepatite C nos distritos de Beja e Évora entre 2000 e 2008

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Hepatite C (distrito de Beja)	2	1	0	1	0	0	10	6	0
Hepatite C (distrito de Évora)	20	44	10	5	11	2	2	①	4
Hepatite C (região do Alentejo)	22	47	10	8	18	5	15	11	6
% Casuística de Beja e Évora no Alentejo	100%	96%	100%	75%	61%	40%	80%	64%	67%

Excetuando os anos de 2002 e 2005, a percentagem de notificações de hepatite por infeção do vírus tipo C na região do Alentejo apresentou valores acima de 10%, relativamente ao resto do território continental, chegando mesmo a atingir um valor de 19% em 2007 (Gráfico 16). De todas as hepatites infecciosas aqui avaliadas, foi a que apresentou o maior valor percentual a nível nacional.

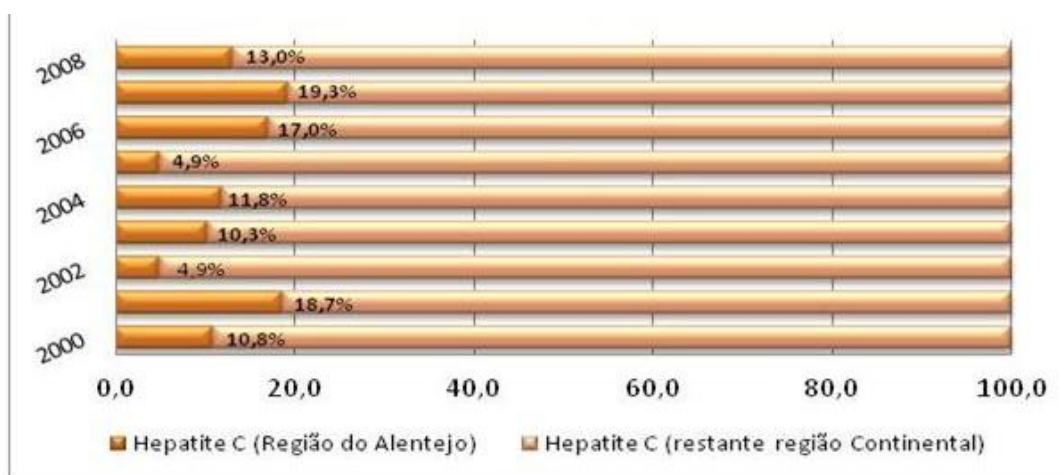


Gráfico16: Percentual das notificações de Hepatite C da região do Alentejo em território continental.

9. Incidência dos carcinomas hepatocelular, cólon e reto nas populações expostas e não expostas (2001 - 2010)

A evolução temporal da taxa de incidência do carcinoma hepático nas populações estudadas permite referir que esta patologia apresenta maior casuística na população exposta, relativamente à população não exposta. Efetivamente, à exceção dos anos 2002 e 2006, o número de novos casos de hepato-carcinoma foi igual (2008) ou superior na população exposta, acompanhando a descida registada na população não exposta em 2009 e 2010 (Gráfico 17).



Gráfico 17: Evolução da taxa de incidência de carcinoma hepático/100.000 habitantes.

É igualmente possível constatar que, em termos percentuais, os diagnósticos estabelecidos em doentes expostos apresentaram genericamente um valor superior relativamente aos doentes não expostos (Gráfico 18). Salientem-se os anos 2001, 2003, 2007, 2009 e 2010, em que esse valor relativo ultrapassou os 80%, ou seja, de todos os diagnósticos de carcinoma hepático estabelecidos nas regiões em estudo mais de 80% foi em doentes expostos ao fator em estudo (exposição a cianotoxinas).

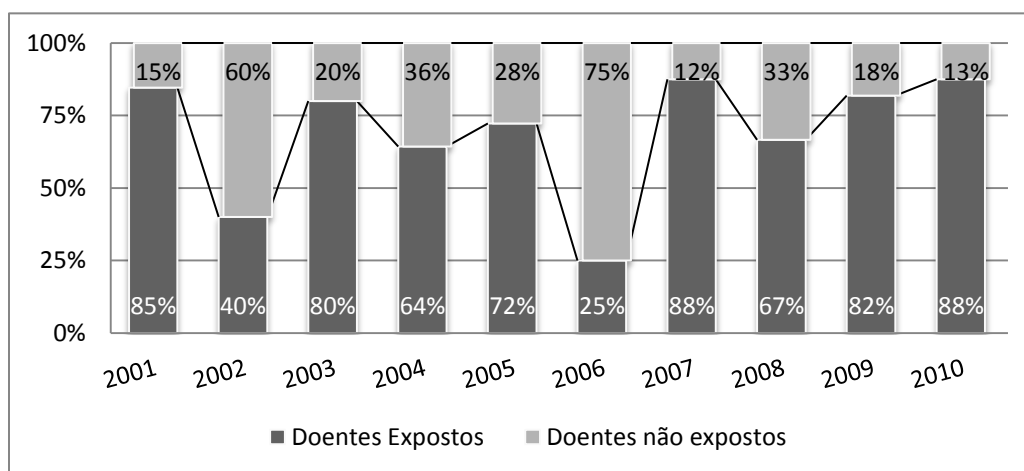


Gráfico 18: Percentagem de diagnósticos de carcinoma hepático em doentes expostos e não expostos.

Contrariamente ao carcinoma hepático, a incidência do carcinoma do cólon apresenta uma distribuição homogênea nas regiões expostas e não expostas, verificando-se nos primeiros 4 anos do período em estudo uma incidência ligeiramente superior nas regiões não expostas (Gráfico 19). Esta predominância inverte-se nos anos 2006, 2007, 2009 e 2010, em que a incidência do carcinoma do cólon é ligeiramente superior nas regiões expostas.

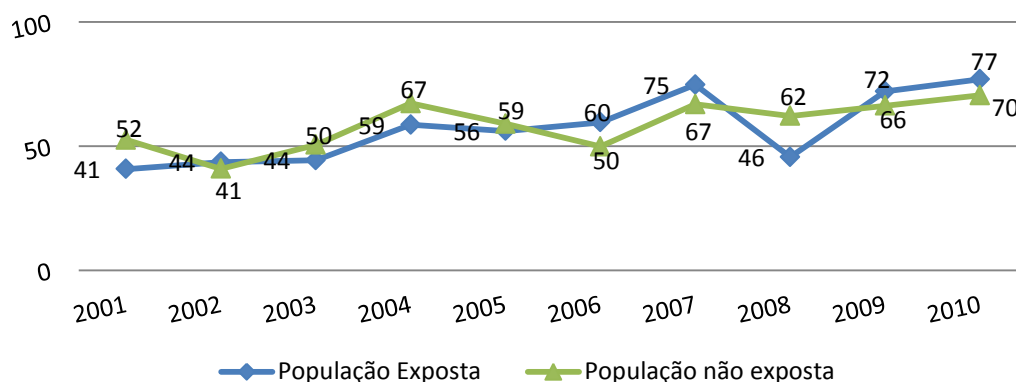


Gráfico 19: Evolução da taxa de incidência de carcinoma do cólon/100.000 habitantes.

Este equilíbrio das taxas de incidência também se traduz no percentual de diagnósticos de carcinoma do cólon estabelecidos em doentes expostos e não expostos. Apesar de o valor relativo dos diagnósticos ser superior nos doentes expostos, o valor não ultrapassa de forma expressiva o valor médio (50%), variando entre 55% e os 67% registados em 2010 (Gráfico 20).

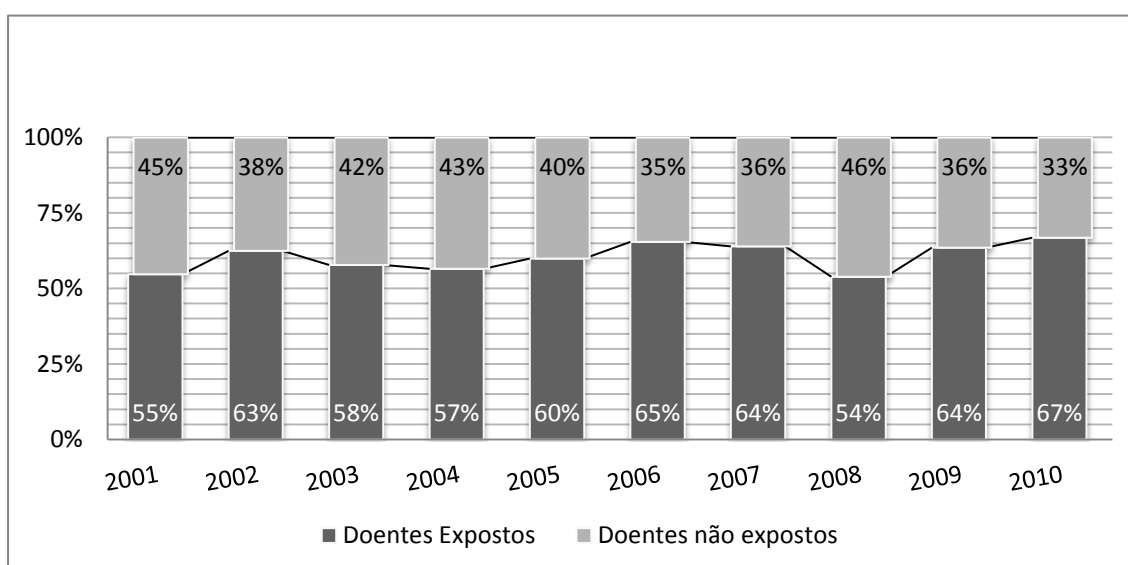


Gráfico 20: Percentagem de diagnósticos de carcinoma do cólon em doentes expostos e não expostos.

A taxa de incidência do carcinoma do reto apresentou um padrão de evolução diferente do carcinoma hepático e do cólon, uma vez que genericamente a população não exposta registou valores superiores relativamente à população exposta (Gráfico 21). No início do período avaliado, a incidência na população exposta era superior. No entanto, enquanto esta reduziu no ano seguinte, a incidência dos não expostos aumentou gradualmente até 2004 e, apesar de ter diminuído entre 2005 e 2007, voltou a ser

predominante a partir de 2008, tendo atingindo o valor máximo em 2010, com 52 casos em 100.000 habitantes.

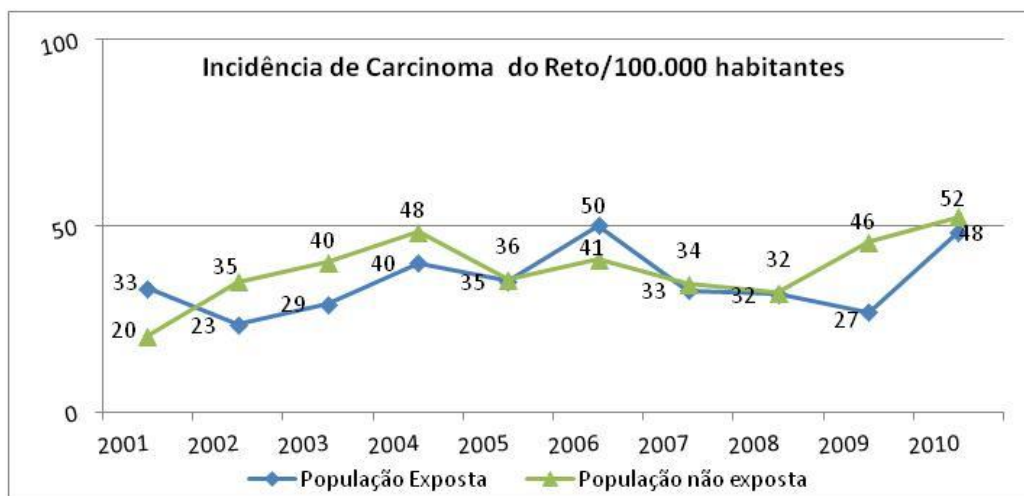


Gráfico 21: Evolução da taxa de incidência de carcinoma do reto/100.000 habitantes.

Excetuando os anos 2001 e 2006, o valor relativo do diagnóstico de carcinoma do reto dos doentes não expostos foi superior ao dos doentes expostos, tendo atingido 63% dos diagnósticos, como decorreu no ano de 2009 (Gráfico 22), espelhando o padrão das taxas de incidência apresentadas.

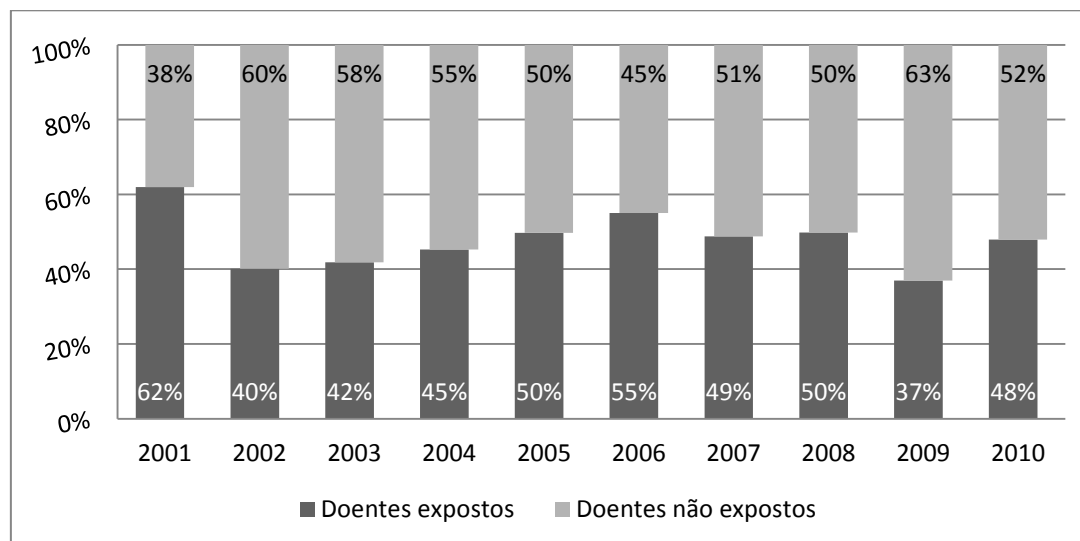


Gráfico 22: Percentagem de diagnósticos de carcinoma do reto em doentes expostos e não expostos.

10. Mortalidade por cancro hepático, cólon e reto, nas populações em estudo (2001 – 2011)

A mortalidade por hêpato-carcinoma foi mais elevada no distrito de Beja em 7 dos 11 anos estudados, tendo atingido o seu máximo em 2010 e 2011, com 9,9 mortes por cada 100.000 habitantes do distrito (Gráfico 23).

Apesar de algum paralelismo na evolução da mortalidade entre ambos os distritos, verificam-se maiores variações no distrito de Évora, nomeadamente entre 2005 e 2009, com o número de mortes a variar entre 7,6 e 3 por 100.000 habitantes.

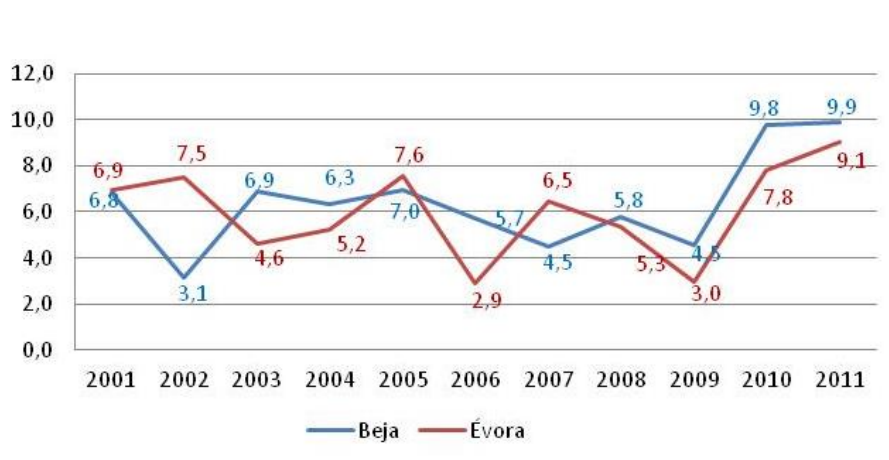


Gráfico 23: Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma hepático/100.000 habitantes nos distritos de Beja e Évora.

No que respeita à distribuição entre géneros verifica-se, pelos dados disponíveis, que o número de mortes por hepato-carcinoma foi maior entre as mulheres no distrito de Évora, com um máximo de 10,2 mortes por cada 100.000 mulheres, em 2005 (Tabela 52); e mais elevada nos homens no distrito de Beja, com o valor máximo de 16,1 mortes por cada 100.000 homens, em 2011 (Tabela 53).

Tabela 51

Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma hepático/100.000 habitantes do género feminino, em Beja e Évora

Distritos	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Beja	3,7	IC*	5,0	3,7	3,8	IC*	0,0	5,1	IC*	IC*	3,9
Évora	7,8	9	IC*	3,4	10,2	IC*	9,1	3,4	IC*	IC*	4,7

*IC – Informação Confidencial

Tabela 52

Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma hepático/100.000 habitantes do género masculino, em Beja e Évora

Distritos	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Beja	10,0	IC*	8,9	8,9	10,3	IC*	7,8	6,5	9,2	IC*	16,1
Évora	5,9	6	IC*	7,2	4,8	IC*	3,6	7,4	IC*	IC*	13,8

*IC – Informação Confidencial

Relativamente à mortalidade por carcinoma do cólon, a taxa por 100.000 habitantes continua a ser mais elevada no distrito de Beja, exceto em 2002 e 2008, em que esta mortalidade foi mais numerosa no distrito de Évora. Em Beja, o valor mais elevado foi de 49 mortes/100.000 habitantes e o mais baixo de 23,7 mortes/100.000 habitantes, enquanto no distrito de Évora a mortalidade se situou entre 24,8 e 44,4 mortes/100.000 habitantes (Gráfico 24).

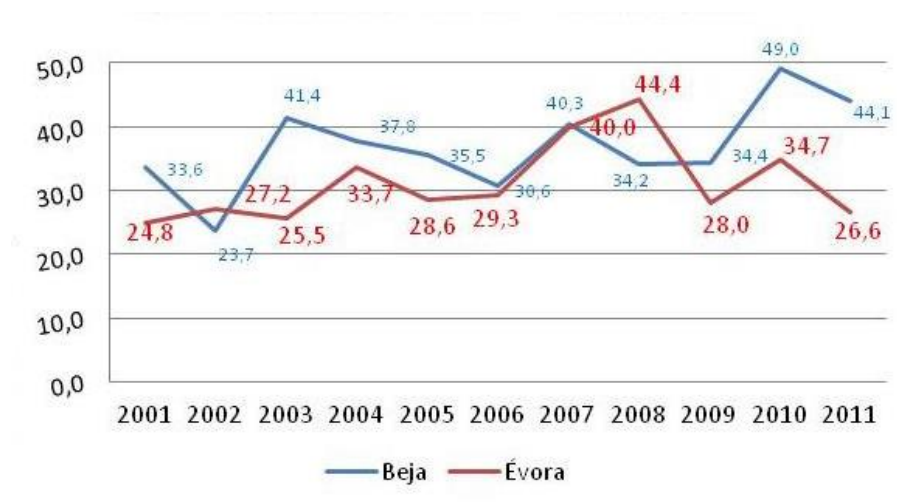


Gráfico 24. Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma do cólon/100.000 habitantes em Beja e Évora.

Quando analisada por género, a mortalidade nas mulheres por carcinoma do cólon foi mais numerosa no distrito de Beja, chegando a atingir 42,4 em cada cem mil mulheres (Gráfico 25), enquanto nos homens esta mortalidade esteve distribuída de forma mais equitativa entre o distrito de Évora e o de Beja. Na população masculina, o valor máximo da mortalidade atingiu as 57,1 mortes por cada 100.000 homens no distrito de Beja (Gráfico 25), enquanto em Évora esse valor não ultrapassou as 54,7 mortes.

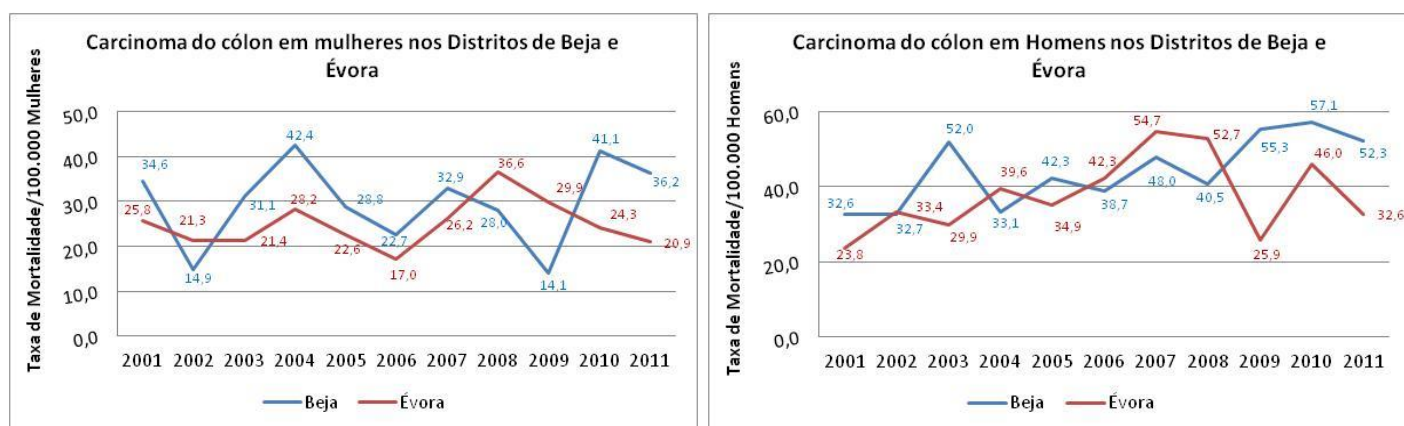


Gráfico 25: Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma do cólon por género em Beja e Évora.

A evolução da taxa de mortalidade relativa ao carcinoma do reto no distrito de Beja é acompanhada de perto pela evolução do mesmo indicador no distrito de Évora; no entanto, este distrito apresenta na maioria dos anos valores ligeiramente superiores aos de Beja, tendo o valor máximo da taxa de mortalidade por carcinoma do reto sido atingido em 2010, com 18,6 mortes por cada cem mil habitantes (Gráfico 26).

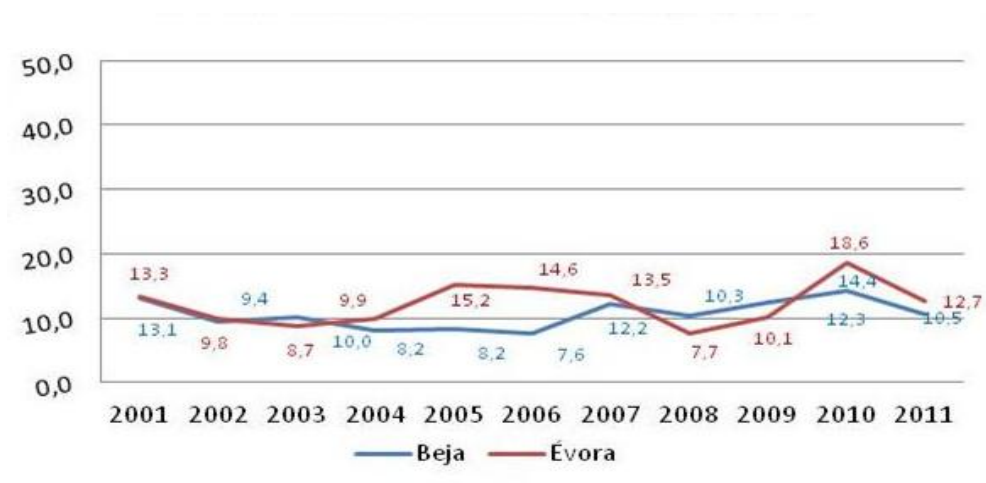


Gráfico 26: Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma do reto/100.000 habitantes em Beja e Évora.

Na distribuição por sexo, apesar da ausência de dados, é possível estimar que esta taxa de mortalidade nas mulheres tenha apresentado valores mais expressivos no distrito de Évora, principalmente nos anos 2005 e 2006 e a partir da metade de 2009 até 2011 (Gráfico 27).

Relativamente à população masculina, a ausência de dados entre 2002 e 2006 não nos permite estabelecer uma comparação entre Beja e Évora naquele período- Porém, a

partir de 2008, a taxa de mortalidade apresentou-se superior no distrito de Beja (Gráfico 27), com um valor máximo de 22,6 mortes por cada cem mil homens, em 2010.

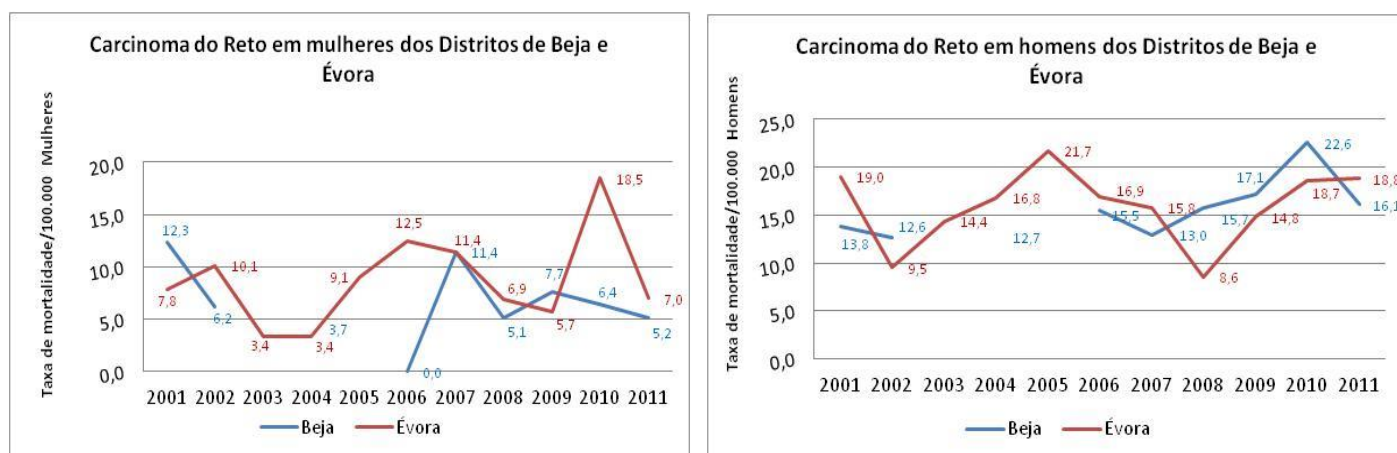


Gráfico 27: Evolução da taxa de mortalidade por carcinoma do reto por género em Beja e Évora.

11. Risco relativo associado à exposição continuada a cianotoxinas (2001 – 2010)

Sobre o risco relativo (força da associação) entre a exposição ao fator (cianotoxinas) e o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular constata-se que, em 8 dos 10 anos avaliados, apresentou valores superiores a 1, o que segundo Mausner, & Kramer, (2007), significa que existe uma associação positiva e potencialmente causadora da patologia que será tanto mais forte quanto maior for o valor expresso.

O risco relativo apresentou o seu valor máximo (4,4) em 2007 e 2010 (Tabela 54), evidenciando que, nesses anos, o risco de se ter estado exposto e de contrair a doença (carcinoma hepático) foi 4,4 vezes superior ao risco de se ter contraído a doença e não ter estado exposto ao fator em estudo, tendo esta medida de associação sido menos expressiva nos anos 2004 e 2008, com valores de 1,2 e 1,3, respetivamente.

Tabela 53

Risco relativo associado aos carcinomas do fígado, cólon e reto entre 2001 e 2010

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Carcinoma Fígado	3,5	0,3	2,6	1,2	1,6	0,2	4,4	1,3	2,8	4,4
Carcinoma Cólon	0,8	1,1	0,9	0,9	1,0	1,2	1,1	0,7	1,1	1,1
Carcinoma Reto	1,6	0,7	0,7	0,8	1,0	1,2	1,0	1,0	0,6	0,9

12. Risco atribuível associado à exposição continuada a cianotoxinas (2001 – 2010)

Quanto ao carcinoma hepático, o risco atribuível na população situou-se entre 1% (2005) e 63% em 2007 e 2010 (Tabela 55). Estas percentagens expressam os valores relativos dos casos que, de entre todos aqueles que surgiram na população (expostos e não expostos), podem ser atribuídos à exposição estudada (Aschengrau & Seage III, 2003). No caso específico do RA de 63%, significa que de todos os casos de carcinoma hepático que surgiram na população em estudo, em 2007 e 2010, 63% poderão ser atribuídos à exposição a cianotoxinas.

É igualmente possível referir que, se fosse possível eliminar a exposição ao agente em análise, poderiam ter sido evitados 63% dos casos de carcinoma hepático que surgiram na população naquele ano.

Sobre o risco atribuível na população exposta, os valores calculados para o hepatocarcinoma apresentam um aumento, situando-se entre 17% em 2004 e 77% em 2007 e 2010. Neste caso concreto significa que, de entre os casos de doença que foram declarados em 2007 e 2010 na população exposta ao fator em análise, 77% poderão ser atribuídos ao fator da exposição (Tabela 55).

Tabela 54

Risco atribuível associado ao carcinoma hepático entre 2001 e 2010

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Risco Atribuível População	53%	RR≤1	36%	RR≤1	1%	RR≤1	63%	RR≤1	42%	63%
Risco Atribuível Expostos	72%	RR≤1	39%	17%	39%	RR≤1	77%	20%	64%	77%

Pode igualmente dizer-se que, se fosse possível eliminar o fator de exposição naquela população, teriam sido evitados 77% dos carcinomas hepáticos.

O risco atribuível não foi calculado para os carcinomas do cólon e do reto, uma vez que esse cálculo é feito com base no risco relativo e este, em alguns casos, apresentou-se inferior a 1, significando que a associação é negativa ou que a exposição funciona como fator de proteção (Rothman, 2002).

Parte V - Discussão

1. Caracterização físico-química das albufeiras selecionadas

O registo de temperaturas de águas acima dos 15° C constituiu condição potenciadora de crescimento de cianobactérias, chegando mesmo a atingir-se, nas albufeiras de Monte da Rocha, Roxo, Vigia e Enxoé, as condições ótimas referidas pela GWRC, em 2009 (entre os 20° e os 25° C), para o crescimento destes microrganismos, cuja presença foi indiretamente aferida pela associação entre os valores médios de pH registados (>7) e os elevados teores de oxigénio dissolvido. A alcalinidade moderada que se registou poderá ser explicada pela diminuição do dióxido de carbono livre, provocada pela atividade fotossintética associada às florescências, também referida por Havens (2008).

Numa avaliação inicial e em termos globais, os níveis médios de Azoto e Fósforo registados neste estudo, não foram considerados particularmente elevados e favorecedores do crescimento de cianobactérias no entanto, estas condições não inibiram o crescimento destes microrganismos nas albufeiras objeto de estudo, uma vez que alguns géneros apresentam a capacidade de fixarem azoto atmosférico (*Anabaena*, *Aphanizomenon* ou *Cylindrospermopsis*) ou de armazenar fósforo, como foi referido por Havens et al. (2003) e por Chorus e Bartram (1999). Estes processos poderão ter sido favorecidos pela presença do manganês em níveis iguais ou superiores ao valor máximo recomendado (0,1mg/L) em 3 das 7 albufeiras estudadas, uma vez que tal como o zinco, cobalto, cobre e molibdenium é um dos elementos traço importantes na fotossíntese ou na fixação de Azoto (Paerl et al., 2001).

À exceção da albufeira do Alvito, as médias geométricas de fósforo total superiores a 35 µg/L que se registaram nas albufeiras estudadas, poderão ser explicadas pelas fontes pontuais (suiniculturas, boviniculturas, águas residuais urbanas) referenciadas pela DRAOT desde 1999, e difusas (escorrências de terrenos agrícolas e de pastagens) referidas posteriormente pela Administração da Região Hidrográfica do Alentejo (2012b) que contribuíram para a eutrofização destas massas de água, como citaram Coelho e Leitão (2001). Conjuntamente com os teores de clorofila-*a* superiores a 10 (µg/L) assinalados nas albufeiras do Monte da Rocha, Roxo, Monte Novo e Enxoé,

estes valores de fósforo total ajudaram à notação eutrófica destas massas de água, de acordo com os parâmetros adotados em Portugal para a classificação trófica (Ministério do Ambiente, do Território e do Desenvolvimento Regional, 2005).

Os dados (físicos, químicos e fitoplanctónicos) utilizados para caracterizar as albufeiras estudadas foram obtidos a partir de registos que apesar de institucionais, apresentaram falhas de informação nalguns parâmetros, e descontinuidade temporal nas avaliações fitoplanctónicas entre algumas albufeiras. Apesar destas circunstâncias terem impedido análises comparativas mais concertadas, a recolha anual de informação por albufeira permitiu não só caracterizá-las de forma individual relativamente às condições físicas, químicas e tróficas, como também proceder ao registo de florescências tóxicas no período selecionado.

2. Aspetos fitoplanctónicos

As florescências registadas nas albufeiras objeto de estudo apresentaram dinâmicas variadas, com padrões de sazonalidade que revelaram maior incidência nos meses de verão, indo ao encontro do que foi apontado por Galvão et al., (2008), no estudo que desenvolveu em albufeiras da região do Alentejo. Apesar do domínio por períodos não muito extensos de organismos fitoplanctónicos eucariotas (Cryptophyceae na albufeira da Boavista ou as Chlorophyceae nas albufeiras de Monte Novo e Vigia), verificou-se um domínio acentuado e relativamente prolongado das cianobactérias em todas as albufeiras, chegando a apresentar valores de abundância relativa próximos dos 100%. Esta presença de cianobactérias pode ter apresentado problemas na qualidade da água, na medida em que foram identificadas espécies produtoras de toxinas (Global Water Research Coalition, 2009; Chorus & Bartram, 1999; Paerl et al., 2001).

Os géneros produtores de hepato-toxinas foram os mais frequentes nas florescências registadas, com especial atenção para a espécie *Microcystis aeruginosa*, presente em 5 das 7 albufeiras visadas e responsável pela florescência mais intensa (1.270.173 cels/ml na albufeira da Boavista, em 2007). A predominância e boa correlação entre estas cianobactérias (*Microcystis aeruginosa*) e as concentrações de microcistinas foi igualmente citada por Galvão et al. (2008).

Tendo em conta a solubilidade em água, a resistência à hidrólise química e a fase inicial de latência, a presença eventual destas toxinas (microcistinas) nas albufeiras avaliadas

pode ter constituído um efetivo fator de risco para as populações humanas abastecidas (expostas), dado que, segundo Rasga (2003), todas estas massas de água se destinavam essencialmente à captação de água para consumo humano, sem disporem de tratamento adequado para uma remoção eficaz de cianobactérias e cianotoxinas.

3. Saúde da população exposta e não exposta

A avaliação laboratorial da função hepática (enzimas AST, ALT e GGT) nas populações abrangidas pelo estudo, permitiu verificar que a concentração sérica destas enzimas apresentou diferenças estatisticamente significativas, com valores mais elevados na população exposta relativamente à população não exposta, indo ao encontro dos resultados apresentados por (Chen, Li, & Xu, 2009) e Araújo (1995).

Estas diferenças significativas de valores de transaminases (AST e ALT) entre populações expostas e não expostas, vieram corroborar o indício de comprometimento hepático associado à exposição continuada a cianotoxinas (microcistinas) através das águas de consumo, como é sugerido por Araújo (1995), Moreno et al., (2003) e Svircev et al., (2009). A alteração destas enzimas podem no entanto refletir uma exposição concomitante a outros agentes hépato-tóxicos (etanol, toxinas fúngicas ou infeção viral), como é referido por autores como Fleming et al., (2002), Damjana et al., (2011) e Zegura et al., (2011) atuando, enquanto fatores de confundimento.

3.1. Etilismo e ingestão de aflotoxinas

A ingestão abusiva de álcool é habitualmente avaliada e monitorizada através do estudo da enzimologia hepática, nomeadamente do enzima Gama Glutamil Transpeptidase (GGT) cuja elevação se valoriza nestas circunstâncias, podendo este enzima também apresentar-se elevado com a toma de medicamentos como analgésicos ou anticonvulsivos Pádua (2009). Face à ausência de dados relativos ao consumo abusivo do álcool a nível concelhio, procurou acautelar-se a influência do etilismo nas populações expostas, avaliando o peso relativo dos indivíduos com idades entre os 20 e 50 anos relativamente a todos os que apresentaram níveis de GGT elevados. Esta opção permitiu minimizar estes confundimentos, uma vez que reuniu indivíduos que apresentam maior propensão ao consumo regular de álcool (Balsa, Vital, & Urbano, 2013), e menor probabilidade de ingestão medicamentosa, tendo-se constatado que

durante o período estudado, o número de indivíduos desta faixa etária com níveis de GGT elevados diminuiu gradualmente.

Considerando que o consumo de álcool é extensivo às populações expostas e não expostas, e que mesmo assim os valores da enzima GGT continuam a ser mais elevados nas populações expostas, é possível relativizar a influência do consumo desta substância hepato-tóxica na elevação sérica desta enzima.

Contrariamente à população estudada na Sérvia por Svircev et al., (2009), entre 2000 e 2007 Portugal foi um dos países com maior consumo de álcool em litros *per capita* (+15 anos) da região Europeia (12,1L e 10,3L, respetivamente) (WHO, 2013), mas com tendência a diminuir, como se verificou entre 2007 e 2012 (Balsa et al., 2013).

Pese embora o consumo de aflotoxinas tenha sido correlacionado de forma positiva com a afetação hepática (incidência de carcinomas hepatocelulares) em estudos similares na China (Yu, 1995; Zegura et al., 2011), em Portugal não existem dados oficiais relativos ao consumo de alimentos suscetíveis de estarem contaminados por aflotoxinas e, tal como sucedeu no estudo desenvolvido na Sérvia por Svircev et al., (2009), não foi possível avaliar este fator de confundimento na patologia hepática, como foi feito relativamente ao álcool.

3.2. Infecções virais

Apesar do número de casos reportados de infeções pelo vírus da Hepatite A ter sido o mais elevado na região do Alentejo durante o período estudado (nomeadamente em 2004 e 2005), a evolução geralmente favorável desta doença impede uma influência expressiva no número de casos de hêpato-carcinomas que se registaram na região. Embora as afetações hepáticas associadas à infeção pelo vírus tipo B e C possam evoluir para hepatites crónicas, cirroses e carcinoma hepatocelular (Pádua, 2009), não foi possível estabelecer uma comparação do número de infetados entre a população exposta e não exposta, tendo em conta o caráter confidencial desta informação. Este facto não permitiu determinar a influência destas infeções nos diagnosticos de carcinoma hepático nas populações expostas e não expostas, conforme sugerido por Fleming et al., (2002) e Svircev et al., (2009), dado que estes autores apresentam as infeções hepáticas virais (vírus B e C) como indutoras do carcinoma hepático, nomeadamente quando associadas à exposição a cianotoxinas.

Tendo-se avaliado apenas o peso relativo da infeção hepática viral ao nível distrital e regional (NUTS 2), refira-se que o número de infeções pelo vírus da hepatite B nos distritos estudados não foi expressivo a nível da região do Alentejo, contrariamente à infeção pelo vírus da hepatite C, cuja casuística elevada em alguns anos poderá ter contribuído para a subida dos valores das transaminases ou para a incidência de carcinomas hepáticos da região.

4. Consumo de água contaminada versus doença hepática e colorretal

Neste estudo, as populações expostas às cianotoxinas apresentam taxas de incidência de carcinoma hepático mais elevadas do que as populações não expostas, indo ao encontro dos estudos realizados por Yu, (1995) na China, onde foi revelada a presença da microcistina em águas superficiais de zonas endémicas (de prevalência habitual) de carcinoma hepato-celular, e na Sérvia, onde Svircev et al., (2009) enfatizou a responsabilidade do consumo de águas contaminadas com cianotoxinas, nos elevados rácios de hépato-carcinoma registados em algumas regiões. As incidências de carcinoma hepático nestas populações alentejanas expostas chegaram a ter uma ponderação superior a 85% nos diagnósticos estabelecidos. Esta casuística foi determinada com base nas notificações de doenças de declaração obrigatória (DDO) emitidas pelos clínicos e pelos serviços de saúde após diagnóstico, no âmbito de um sistema de vigilância epidemiológica. De acordo com a Direção de Serviços de Informação e Análise (2007), estes valores poderão apresentar algumas discrepâncias relativamente à situação real, uma vez que poderão verificar-se atrasos por notificação médica (após diagnóstico) ou devido a atrasos na evolução de determinadas doenças (diagnóstico tardio face à sintomatologia).

Por outro lado, a avaliação da incidência da doença hepática e colorretal na população exposta e não exposta pode também ter sido influenciada pela exportação de doentes ou por alterações nos índices de consumo de água, no entanto foi importante verificar que não só os padrões de consumo *per capita* se mantiveram idênticos no período em análise, como também se manteve constante o número de habitantes com idades mais avançadas, (muito por força da diminuição da população jovem residente), e consequentemente, mais tempo expostos ao fator em análise. A importância desta exposição continuada e prolongada, constituiu também condição fundamental para que

You (1995) e Svircev et al., (2009), tenham indiciado a existência de uma relação causal entre cianotoxinas e a incidência de patologia hepática e colorretal.

A responsabilidade que nesta investigação se atribui à exposição às cianotoxinas na incidência da doença oncológica hepática, também se baseou no facto do risco atribuível na população ter atingido 63% em 2007 e 2010, que é superior aos 30,39% apontados por Yu, Zhao, & Zi (2001), e no risco atribuível na população exposta que nesses anos chegou aos 77%. Relativamente ao risco relativo (que avalia as hipóteses de se estar exposto e de se contrair a doença), este chegou aos 4,4 em 2007 e 2010, superando o valor de Odds ratio de 2,46 apresentado por Yu, Zhao, & Zi, (2001), indiciando em Portugal uma associação entre a exposição continuada a cianotoxinas e a doença oncológica hepática, tal como a que foi descrita na China. Estes resultados vão também ao encontro dos que foram divulgados pelo estudo de Fleming et al., (2002), no qual concluiu que o risco de desenvolver carcinoma hepático estaria substancialmente elevado quando a população exposta era comparada com populações (residentes em zonas tampão contíguas), pressupostamente não expostas.

A comparação das taxas de mortalidade por carcinomas hepáticos e colorretais entre indivíduos residentes em concelhos expostos e não expostos, poderia também dar alguma indicação sobre a evolução destas doenças eventualmente associadas a cianotoxinas, como as que foram descritas nas regiões expostas da China ou da Sérvia Central. O Instituto Nacional de Estatística (INE) negou esta possibilidade, ao impedir o acesso a este tipo de informação ao nível da NUTS III (Concelhos), devido a critérios de confidencialidade. Esta limitação de dados relativos à mortalidade, não constituiu no entanto impedimento para estimar o impacto da exposição a cianotoxinas na doença oncológica hepática, não só porque nem todos os casos de doença oncológica evoluem para a morte, como foi possível utilizar mecanismos alternativos tais como a comparação de dados laboratoriais, a comparação de taxas de incidência da doença oncológica e a determinação do risco associado.

A amplitude da relação entre a exposição às hepato-toxinas e a incidência de carcinoma hepático não foi, porém, verificada nos casos do carcinoma do cólon e do reto, conforme referido por Zhou et al., (2002), tendo-se constatado que a percentagem dos doentes expostos não ultrapassou os 67% dos diagnósticos de carcinoma do cólon e os 52% nos carcinomas do reto, podendo outros fatores indutores deste tipo de carcinoma

(carga genética e hábitos alimentares) ter influenciado particularmente a população não exposta face ao aumento da incidência verificado no final do período estudado. O risco relativo calculado para o carcinoma do cólon apresenta valores muito próximos de 1, chegando mesmo a apresentar, conjuntamente com o carcinoma do reto, valores inferiores a 1 que traduzem uma associação negativa. Estes resultados encontrados para o RR do carcinoma do cólon e reto aproximam-se dos que foram apresentados por Zhou et al., (2002), desenvolvido na província de Zhejiang, na China, onde o risco relativo para o carcinoma colorretal para o consumo de água a partir da rede foi de 1.88, contrariamente à população que consumia diretamente a água do rio (RR de 7.94) ou da barragem (RR 7.70).

Parte VI - Conclusões e Recomendações

Este estudo ecológico permitiu reiterar o estado eutrófico das albufeiras objeto de estudo no período selecionado, sendo a clorofila-*a* e/ou o fósforo os parâmetros responsáveis por esta classificação. Este estado eutrófico promoveu o crescimento primário, traduzido pelas florescências fitoplanctónicas assinaladas e pelos elevados teores de oxigénio dissolvido verificados nestas massas de água.

A caracterização fitoplanctónica destas albufeiras registou padrões de domínio de cianobactérias relativamente prolongados, com abundâncias particularmente acentuadas nos meses de verão e outono que, em certos casos, chegaram a atingir proporções próximas de 100%. A identificação laboratorial permitiu elaborar tabelas, onde foram inscritas as cianobactérias responsáveis pelas florescências mais expressivas, contando-se entre elas os géneros não fixadores de Azoto *Microcystis* e *Oscillatoria* e géneros fixadores de azoto como *Anabaena* e *Aphanizomenon*, todos produtores de toxinas, cuja exposição continuada foi indiciada como promotora de doença hepática (microcistinas e cylindrospermopsina) e colorretal (microcistinas).

Durante o período selecionado, estas albufeiras serviram essencialmente para abastecimento de populações, podendo, por isso, concluir-se sobre a existência de um risco potencial associado ao consumo de água proveniente destas massas de água, uma vez que nem todas as estações de tratamento de água possuíam, na altura, tratamentos adequados para a eliminação de cianobactérias e cianotoxinas.

As populações expostas e não expostas selecionadas para o estudo pertencem a dois distritos contíguos da região do Alentejo, em que o envelhecimento populacional é uma característica comum, principalmente devido à diminuição/saída da população jovem, o que pode ter influenciado, por defeito, a análise do impacte na saúde nesta faixa etária da população. Por outro lado, a comparação dos índices de consumo de água *per capita* permitiu concluir que estes foram mais elevados na população exposta, desde o início do período considerado para avaliação.

Através da análise de dados laboratoriais foi possível atestar que a população exposta apresentou indicadores da condição hepática (níveis de ALT, AST e GGT) mais

elevados do que a população não exposta, podendo esta circunstância traduzir uma afetação hepática relacionada com um fator que não está presente na população não exposta.

Uma vez que a alteração destes indicadores hepáticos se pode relacionar com outras causas que não sejam a exposição às cianotoxinas, foram consideradas a exposição a fatores como vírus responsáveis por doenças hepáticas (nomeadamente hepatites B e C), a ingestão abusiva de álcool e o consumo de alimentos contaminados com toxinas fúngicas (Aflo-toxinas). Relativamente ao consumo de álcool, este estudo permitiu concluir, de forma indireta, que o peso relativo do consumo desta substância na alteração do indicador laboratorial associado (GGT) era baixo e transversal às duas populações (expostas e não expostas), não justificando os elevados níveis na população exposta relativamente à não exposta.

Não foi possível tecer qualquer consideração sobre o peso das aflotoxinas na afetação hepática das populações estudadas, uma vez que a informação disponível relativamente ao consumo de alimentos contaminados com estes compostos é escassa, contrariamente à informação exclusivamente distrital das infeções hepáticas de natureza viral.

Nos distritos de Beja e Évora, a infeção pelo vírus da hepatite A foi a mais expressiva (principalmente em 2004 e 2005) e, embora seja a mais relacionada com o meio hídrico, a cronicidade da doença ainda não foi descrita, pelo que se concluiu que o peso desta infeção nas alterações hepáticas registadas não deveria ser considerado. Relativamente às infeções pelo vírus da hepatite B, apesar de o número de casos ter correspondido em alguns anos à totalidade da casuística da região do Alentejo, o peso relativo nas alterações hepáticas registadas não foi expressivo, contrariamente à infeção pelo vírus da hepatite C, cujo número de casos chegou a atingir 17% de todos aqueles que foram diagnosticados naquela região. Nessas circunstâncias, pode ter tido alguma expressão nos indicadores de doença hepática registados.

Não foi possível, neste estudo, comparar taxas de mortalidade de carcinoma hepático e colorretal entre população exposta e não exposta, devido à confidencialidade da causa de morte ao nível dos concelhos. Foi apenas feita uma análise ao nível distrital, onde se concluiu sobre um equilíbrio interdistrital.

Relativamente à incidência de hepato-carcinoma, concluiu-se que, à exceção dos anos 2002 e 2006, houve uma maior incidência nas regiões expostas relativamente às não expostas, contrariamente à incidência do carcinoma do cólon e do reto, onde se registaram valores muito próximos entre expostos e não expostos.

Após avaliação do risco relativo, foi possível concluir que as hipóteses de se ter estado exposto e de se ter contraído hepato-carcinoma, foram genericamente superiores às hipóteses de não ter estado exposto e de se ter contraído a doença, uma vez que valores de risco relativo de 4.4 indiciam fortemente a existência de uma relação de causalidade positiva e consistente.

Esta afirmação perde solidez quando se refere ao risco de se ter estado exposto e ter contraído carcinoma do cólon e reto, uma vez que os valores do risco relativo não ultrapassaram 1,6. Não pode concluir-se, nestes casos, sobre a existência de uma relação forte e inequívoca.

A avaliação do risco atribuível na população em geral permitiu concluir que 63% dos carcinomas hepáticos diagnosticados em 2007 e 2010 poderiam ser atribuídos à exposição em análise. No caso do risco atribuível na população exposta, 77% dos hepato-carcinomas diagnosticados poderiam ser evitados se eliminada a exposição ao agente em análise.

Este estudo permitiu reafirmar na região do Alentejo uma relação já indiciada em estudos internacionais entre carcinomas hepatocelulares e exposição continuada a cianotoxinas através de águas de consumo. Apesar dos sugestivos estados de afetação hepática traduzidos pelos elevados níveis das enzimas estudadas (AST, ALT e GGT) na população exposta relativamente à não exposta, estes começaram a diminuir a partir de 2009, podendo associar-se esta descida a uma eventual diminuição do consumo direto de água da rede, à acessibilidade a uma água de melhor qualidade (face às ações das entidades gestoras com vista à aplicação da Diretiva-Quadro da Água) ou à exportação de doentes ainda não diagnosticados para outras regiões geográficas, diminuindo as incidências de entidades clínicas associadas à exposição ao fator em estudo.

Sendo importante conhecer o impacte que a exposição a cianotoxinas teve na doença oncológica hepática, seria recomendável não só reeditar o estudo nas regiões agora analisadas num período posterior a 2010 e verificar o comportamento dos indicadores

de morbilidade e mortalidade avaliados, como também replicá-lo noutras regiões do país abastecidas por reservatórios de água de condição eutrófica e com registos de florescências a cianobactérias, acautelando, se possível, o conhecimento de aspetos relacionados com a mobilidade da população. Por forma a minimizar o impacto das cianotoxinas na saúde humana, também se recomenda que nessas regiões se repliquem ou homogeneizem as medidas de prevenção de florescências e de mitigação, entretanto implementadas na região do Alentejo, principalmente ao nível das entidades gestoras multimunicipais, como a aplicação dos planos de monitorização, estratégias de controlo de aportes antropogénicos nas massas de água superficiais e tratamentos adotados que têm promovido a melhoria gradual da qualidade da água (estado potencial/ecológico entre bom e razoável) em todas as albufeiras estudadas. Ao nível das entidades municipais sugere-se a adoção generalizada e concertada com as entidades multimunicipais de práticas de pesquisa e tratamento de cianotoxinas em águas da rede, pelo menos nas alturas em que são reportadas florescências a cianobactérias na origem.

Referências Bibliográficas

- Abramson, J. (1997). *Survey methods in community medicine: epidemiological studies, programme evaluation, clinical trials* (4th ed.). New York: Churchill Livingstone, Medical Division of Pearson Professional Ltd.
- Administração Região Hidrográfica do Alentejo. (2012a). Avaliação ambiental estratégica do plano de gestão das bacias hidrográficas integradas na região hidrográfica do Guadiana (RH7).
- Administração Região Hidrográfica do Alentejo. (2012b). Avaliação ambiental estratégica do plano de gestão das bacias hidrográficas integradas na região hidrográfica do Sado e Mira (RH6).
- Araújo, F. (1995). Effects of cyanobacteria on drinking water and human health: an epidemiological study in Evora, Portugal. *International Association of Hydrological Sciences*, (233).
- ARH do Alentejo – Administração da Região Hidrográfica do Alentejo, I.P. (2011). *Avaliação ambiental estratégica do plano de gestão das bacias hidrográficas integradas na região hidrográfica do Guadiana (RH7)*.
- Arnette, V. (2009). *Cyanotoxin removal in drinking water treatment processes*. University of Cincinnati.
- Aschengrau, A., & Seage III, G. (2003). *Essentials of epidemiology in public health*. London: Jones and Bartlett Publishers International.
- Backer, L. (2002). Cyanobacteria harmful algal blooms; developing a public health response. *Lake and Reservoir Management*, 18(1), 20–31. doi:10. 1080/07
- Balsa, C., Vital, C., & Urbano, C. (2013). III Inquérito nacional ao consumo de substâncias psicoativas na população portuguesa. CESNOVA.

- Barbosa, T. (2009). *Cianobacterias tóxicas e processos de remoção*. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Barros, L., Souza, F., Tavares, L., & Amaral, L. (2009). Cyanobacteria and absence of cyanotoxins in a public water supply source. *Journal of Public Health and Epidemiology*, 1(1), 007–013.
- Batoréu, M., Dias, E., Pereira, P., & Franca, S. (2005). Risk of human exposure to paralytic toxins of algal origin. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, (19), 401–406.
- Beers, M., Porter, R., Jones, T., Justin, K., & Berkwits, M. (2008). *Manual Merck: diagnóstico e tratamento* (18th ed.). São Paulo: Roca.
- Bellém, F., Nunes, S., & Morais, M. (2013). Cyanobacterial toxicity: potential public health impact in south Portugal populations. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues*, (76), 263–271.
doi:10.1080/15287394.2013.757204
- Bellém, F., Nunes, S., Morais, M., & Fonseca, R. (2012). Cianobactérias e toxicidade: impacte na saúde pública em Portugal e no Brasil. *Revista Brasileira de Geografia Física*, (06).
- Bláha, L., Babica, P., & Marsálek, B. (2009). Toxins produced in cyanobacterial water blooms – toxicity and risks. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(2), 36–41.
- Boavida, M. (2011). *Glossário científico de limnologia*. Lisboa: Escolar Editora.
- Camargo, J., & Alonso, Á. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. *Environment International*, (32), 831 – 849.

- Campinas, M., Teixeira, M., Lucas, H., & Rosa, M. (2002). Previsão da capacidade de remoção de cianobacterias e cianotoxinas na ETA de Alcantarilha. In *Actas do 10º Encontro Nacional de Saneamento Básico (ENaSB)*. Braga.
- Carvalho, A., Schlittler, F., & Tornisiello, V. (2000). Relações da actividade agropecuária com parâmetros físicos químicos da água. *Química Nova*, 23–25.
- Chen, J., Li, L., & Xu, J. (2009). First identification of the hepatotoxic microcystins in the serum of a chronically exposed human population together with indication of hepatocellular damage. *Toxicological Sciences*, 108(1), 81–89.
- Chen, K., Yu, W., Ma, X., Yao, K., Zheng, S., & Jiang, Q. (2004). Association of drinking water source and colorectal cancer incidence: a prospect cohort study. *Ai Zheng*, 23(5), 550–4.
- Chorus, I., & Bartram, J. (Eds.). (1999). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. CRC Press.
- Chorus, I., & Salas, H. (1996). Health impacts of freshwater algae : draft for guidelines for recreational water and bathing beach quality.
- Chorus, I., Salas, H., Bartram, J., & Falconer, I. (2000). Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational waters. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, (3), 323 – 347.
- Churro, C., Dias, E., & Valério, E. (2012). Risk Assessment of Cyanobacteria and cyanotoxins, the particularities and challenges of *Planktothrix* spp, monitoring. In *In Novel Approaches and Their Applications in Risk Assessment*. InTech. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10400.18/1118>
- Coelho, H., & Leitão, P. (2001). Modelação integrada de bacias e albufeiras: os casos do Pocinho e Enxoé. *Recursos Hídricos /Associação Portuguesa Dos Recursos Hídricos*, 31.

- Crayton, M. (1993). Toxic cyanobacteria - laboratory guide.
- Damjana, D., Zorica, S., Nada, T., Milka, V., Vladimir, B., Verica, B.-K., ... Tatjana, P. (2011). Microcystins - potential risk factors in carcinogenesis of primary liver cancer in Serbia. *Geographica Pannonica*, 15(3), 70–80.
- Decreto-Lei n.º 243/01 de 5 de Setembro de 2001. Diário da República n.º 206/01, Série I-A. Retrieved from Lisboa: Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território
- Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de Agosto. Diário da República n.º 164/07, Série I. Retrieved from Lisboa: Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional
- Déoux, S., & Déoux, P. (sd). *Ecologia é a saúde*. Lisboa: Instituto Piaget.
- Dias, E. (2009). *Avaliação do potencial carcinogénico de microcistinas (cianotoxinas)*. Universidade de Lisboa - Faculdade de Farmácia, Lisboa.
- Direcção de Serviços de Informação e Análise. (2007). Doenças de declaração obrigatória 2002-2006. Direcção Geral de Saúde.
- Direcção Regional do Ambiente e Ordenamento do Território do Alentejo. (1999). Identificação e caracterização das fontes poluidoras de carácter pontual localizadas em bacias hidrográficas das albufeiras destinadas à produção de água para consumo em bacias drenantes para zonas balneares.
- Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos. (2012). Relatório anual dos serviços de águas e resíduos em Portugal: Volume 4 – controlo da qualidade da água para consumo humano.
- European Environment Agency, & World Health Organization. (2002). *Water and health in Europe* (Vol. 93). Copenhagen: WHO regional publications.

- Fadigas, L. (2007). *Fundamentos ambientais do ordenamento do território e da paisagem*. Edições Sílabo.
- Falconer, I., & Humpage, A. (2005). Health risk assessment of cyanobacterial (blue-green algal) toxins in drinking water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2(1), 43–50.
- Felip, M., & Catalan, J. (2000). The relationship between phytoplankton biovolume and chlorophyll in a deep oligotrophic lake: decoupling in their spatial and temporal maxima. *Journal of Plankton Research*, 22(1), 91 – 105.
- Filho, N. A., & Rouquayrol, M. Z. (2007). *Introducción a la epidemiologia*. Buenos Aires: Lugar Editorial.
- Fleming, L., Rivero, C., Burns, J., Bean, J., Shea, K., & Stinn, J. (2002). Blue green algal (cyanobacterial) toxins, surface drinking water, and liver cancer in Florida. *Harmful Algae*, (1), 157–168.
- Funari, E., & Testai, E. (2008). Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure. *Critical Reviews in Toxicology*, (38), 97 – 125.
- FUNASA. (2003). *Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano* (Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde.). Brasília.
- Galvão, H., Reis, M., Valerio, E., Domingues, R., Costa, C., Lourenço, D., ... Pereira, P. (2008). Cyanobacterial blooms in natural waters in southern Portugal: a water management perspective. *Aquatic Microbial Ecology*, 53, 129–140.
- Global Water Research Coalition. (2009). International guidance manual for the management of toxic cyanobacteria. SA Water Corporation.
- Gordis, L. (2004). *Epidemiology*. Philadelphia: Elsevier Saunders.

- Haider, S., Naithani, V., Viswanathan, P., & Kakkar, P. (2003). Cyanobacterial toxins: a growing environmental concern. *Chemosphere*, (52), 1–21.
- Havens, K. (2008). Cyanobacteria blooms: effects on aquatic ecosystems. In *Cyanobacteria Harmfull Algal Blooms: Stat of the Science and Research Nedds* (H. K. Hudnell.).
- Havens, K. E., James, R. T., East, T. L., & Smith, V. H. (2003). N:P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. *Environmental Pollution*, 122(3), 379–390. doi:10.1016/S0269-7491(02)00304-4
- Hernández, J., López-Rodas, V., & Costas, E. (2009). Microcystins from tap water could be a risk factor for liver and colorectal cancer: a risk intensified by global change. *Medical Hypotheses*, 72, 539–40.
- Herrine, S. (2012). Primary liver cancer. In *The Merck Manual for healthcare professionals [Internet]*. New Jersey. Retrieved from http://www.merckmanuals.com/professional/hepatic_and_biliary_disorders/liver_masses_and_granulomas/primary_liver_cancer.html#v901390
- Hill, M., & Hill, A. (2000). *Investigação por questionário* (1^a ed.). Lisboa: Edições Sílabo, Ld^a.
- Hitzfeld, B., Hoger,, S., & Dietrich, D. (2000). Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 108(1).
- Hoeger, S., Hitzfeld, B., & Dietrich, D. (2005). Occurence and elimination of cyanobacterial toxins in drinking water treatment plants. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203(3), 231–242.

- Hoeger, S., Shaw, G., Bettina, H., & Dietricha, D. (2004). Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in two Australian drinking water treatment plants. *Toxicon*, (43), 639–649.
- Instituto da Água, IP. (2008). Utilizações dos recursos hídricos - guias interpretativos do quadro legal em vigor. Conceitos gerais - utilizações dos recursos hídricos. Instituto da Água, IP.
- Jones, G., & Negri, A. (1997). Persistence and degradation of cyanobacterial paralytic shellfish poisons (PSPs) in freshwaters. *Water Research*, 31(3), 525–533.
- Karadžić, V., Subakov-Simić, G., Krizmanić, J., & Natić, D. (2010). Phytoplankton and eutrophication development in the water supply reservoirs Garaši and Bukulja (Serbia). *Desalination*, (255), 91–96.
- Kuipers, E. J., Rösch, T., & Bretthauer, M. (2013). Colorectal cancer screening-optimizing current strategies and new directions. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, 10(3), 130–142. doi:10.1038/nrclinonc.2013.12
- Lee, R. E. (2008). *Phycology* (Fourth Edition.).
- Lopes, A. (2007). *Estudo da comunidade fitoplanctonica como bioindicador em três reservatórios em série do parque estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo SP*. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Marconi, M. de A., & Lakatos, E. M. (2003). *Fundamentos de metodologia científica* (5ª Edição.). São Paulo: Editora Atlas, S.A.
- Marconi, M., & Lakatos, E. (2002). *Técnicas de pesquisa: planejamento e execução de pesquisas, amostragens e técnicas de pesquisa, elaboração, análise e interpretação de dados* (5ª edição.). São Paulo: Atlas.
- Mausner, J., & Kramer, A. (2007). *Introdução à epidemiologia* (4ª Edição.). Lisboa: Fundação Caloust Gulbenkian.

- Mendes, B., & Oliveira, J. (2004). *Qualidade da água para consumo humano*. Lisboa: Lidel.
- Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território, & Administração Região Hidrográfica do Alentejo. (2012). Planos de gestão das bacias hidrográficas integradas na região hidrográfica 6 e na região hidrográfica 7.
- Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, & Instituto da Água. (2005). Relatório síntese sobre a caracterização das regiões hidrográficas prevista na directiva-quadro da água.
- Morais, M., Pinto, P., Saúde, A., Caeiro, J., & Pinto, V. (2003). Qualidade ecológica de águas interiores superficiais. *Anais Da Universidade de Évora*, (Nº 10-11), 55–102.
- Moreno, I., Reppeto, G., & Cameán, A. (2003). Interés toxicológico de las microcistinas. *Revista Toxicologia*, (20), 159–165.
- Moss, D., & Henderson, R. (1987). Enzymes. In *Fundamentals of Clinical Chemistry* (3rd ed., pp. 346–421). Philadelphia.
- Newcombe, G., House, J., Ho, L., Baker, P., & Burch, M. (2010). *Management strategies for cyanobacteria (blue-green algae): a guide for water utilities* (No. 74). Adelaide: WQRA.
- Oliveira, A. G. de. (2009). *Bioestatística, epidemiologia e investigação: teoria e aplicações*. Lidel- Edições Técnicas Lda.
- Pádua, M. (2009a). *Patologia clínica para técnicos*. Loures: Lusociência - Edições Técnicas e Científicas Lda.
- Pádua, M. (2009b). *Patologia clínica para técnicos: química clínica*. Loures: Lusociência - Edições Técnicas e Científicas Lda.

- Paerl, H. (2008). Nutrient and other environmental controls of harmful cyanobacterial blooms along the freshwater–marine continuum. In *Cyanobacteria harmful algal blooms: state of science and research needs* (H. K. Hudnell.). New York: Springer.
- Paerl, H., Fulton, R., Moisander, P., & Dyble, J. (2001). Harmful fresh water algal blooms, with an emphasis on cyanobacteria. *The ScientificWorld Journal*, (1), 76–113. doi:10.1100/tsw.2001.16
- Palus, J., Dziubaltowska, E., Stanczyk, M., Lewinska, D., Mankiewicz-Boczek, J., Izydorczyk, K., ... Wasowicz, W. (2007). Biomonitoring of cyanobacterial blooms in polish water reservoir and the cytotoxicity and genotoxicity of selected cyanobacterial extracts. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 20(1), 48–65.
- Patronilho, M. (2008). *Eutrofização de sistemas dulçaquícolas - desenvolvimento de uma actividade prática para o 12º ano*. Universidade de Aveiro, Aveiro.
- Pearce, N. (2003). *Short introduction to epidemiology*. Weliohton.
- Pocock, G. (2008). *Phosphorus limitation as a method of cyanobacterial bloom control*. University of Pretoria, Pretoria.
- Prodanov, C. C., & Freitas, E. C. (2013). *Metodologia do trabalho científico: métodos e técnicas da pesquisa e do trabalho académico* (2ª Edição.). Novo Hamburgo: Universidade Feevale.
- Rasga, M. J. (2003). *Monitorização de microcistinas na região do Alentejo, 2003*. Universidade de Coimbra, Coimbra.
- Rothman, K. (2002). *Epidemiology: an introduction*. New York: Oxford University Press, Inc.

- Santos, A., & Bracarense, A. (2008). Hepatotoxicidade associada à microcistina. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 29(2), 417–430.
- Santos, A. L. (2004). A Importância da Ética na Investigação. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 23(4), 627–644.
- Straskraba, M., & Tundisi, J. G. (2000). *Directrizes para o gerenciamento de Lagos. Gerenciamento da qualidade da água de represas*. São Paulo: ILEC, IIE.
- Svircev, Z., Kristic, S., Miladinov-Mikov, M., Baltic, V., & Vidovic, M. (2009). Freshwater cyanobacterial blooms and primary liver cancer epidemiological studies in Serbia. *Journal of Environmental Science and Health Part C*, (27), 36–55.
- Taylor, C. (2012). Best practice in colorectal cancer care. *Nursing Times*, 108(12), 22–25.
- Thompson, G., & Turk, J. (2007). *Earth science and the environment* (4th Editon.). Belmont: Thomson Higher Education.
- Ueno, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Watanabe, M., Park, H.-D., ... Yu, S.-Z. (1996). Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis*, 17(6), 1717–1321.
- Van Apeldoorn, M. E., van Egmond, H. P., Speijers, G. J. A., & Bakker, G. J. I. (2007). Toxins of cyanobacteria. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(1), 7–60. doi:10.1002/mnfr.200600185
- Vasconcelos, V. (1999). Cyanobacterial toxins in Portugal: effects on aquatic animals and risk for human health. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 32(3), 249–254.

- Vasconcelos, Victor. (2006). Eutrophication, toxic cyanobacteria and cyanotoxins: when ecosystems cry for help. *Limnetica*, 25((1-2)), 425–432.
- Viegas, V. (2010). *Fitoplâncton das albufeiras do Divor, Monte Novo e Pêgo do Altar: contribuição para o estudo da qualidade da água*. Universidade de Lisboa - Faculdade de Ciências - Departamento de Biologia Animal, Lisboa.
- WHO. (1998). *Cyanobacterial toxins: microcystin-LR in drinking-water*. Geneva: World Health Organization. Retrieved from www.who.int/water_sanitation.../cyanobactoxins.pdf
- WHO. (2002). Eutrophication and health.
- WHO. (2003a). Guidelines for algae and cyanobacteria in fresh water.
- WHO. (2003b). *Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1: coastal and fresh waters*.
- WHO. (2006). Preventing disease through healthy environments.
- WHO. (2008). *Guidelines for drinking-water quality. Third edition incorporating the first and second addenda. Volume 1*. Geneva.
- WHO. (2013). European health for all database(HFA-DB). Retrieved from <http://data.euro.who.int/hfad/>
- WHO, & UNICEF. (2005). *Water for life: making it happen*. Geneva: WHO.
- World Health Organization. (1996). *Water quality monitoring - a practical guide to the design and implementation of freshwater quality studies and monitoring programmes* (Jamie Bartram and Richard Ballance.).
- Yu, S., Zhao, N., & Zi, X. (2001). The relationship between cyanotoxin (microcystin, MC) in pond-ditch water and primary liver cancer in China. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 23(2), 96–9.

- Yu, S.-Z. (1995). Primary prevention of hepatocellular carcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, (10), 674–682.
- Zegura, B., Straser, A., & Filipic, M. (2011). Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins – a review. *Mutation Research*, (727), 16–41.
- Zhou, L., Yu, H., & Chen, K. (2002). Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer. Retrieved from <http://www.paper.edu.cn>

APÊNDICES
