

Avaliação microbiológica da qualidade da Água

IV Congresso Análises Clínicas e de Saúde Pública

2, 3 e 4 de Março de 2012

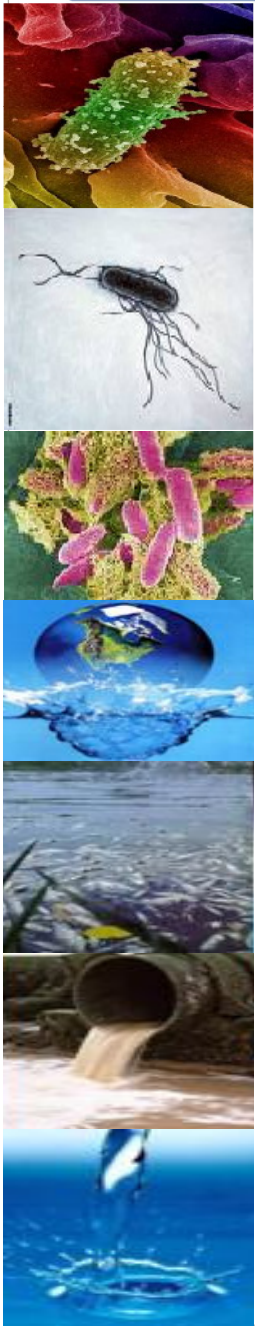
Cristina Pizarro / Carla Coelho

Laboratório de Microbiologia – Unidade de Água e Solo
Departamento de Saúde Ambiental
Porto



Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge





Missão da Unidade de Água e Solo (UAS)

A promoção e proteção da Saúde Pública através da execução de planos de vigilância e controlo da qualidade da água nas suas diversas utilizações, numa perspectiva preventiva relativamente à exposição a factores de risco de origem hídrica.

Laboratório de Microbiologia

O Laboratório dá apoio à comunidade

- Análises microbiológicas
- Inquéritos epidemiológicos
- Emissão de pareceres técnicos (particulares, empresas, Autoridades de Saúde, Laboratórios de Saúde Pública, Comissões de Infeções Hospitalares, ...)
- Participação em seminários
- Promoção de ações de formação, estágios, visitas de estudo, ...



Laboratório de Microbiologia

O Laboratório está acreditado para todos os parâmetros microbiológicos que executa e para todos os tipos de água, pelo Instituto Português da Qualidade (IPAC).

Norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 - Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração.





Tipos de água

- **Água para Consumo Humano**
 - Tratada
 - Não tratada
- **Água de Piscina (piscinas, jacuzzis...)**
- **Água Mineral Natural / Nascente**
- **Água Balnear**
- **Água para Hemodiálise**
- **Água proveniente de Torres de Refrigeração**
- ...

Água de Consumo Humano

Decreto-lei 306/2007

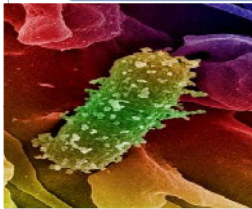
Microrganismos Cultiváveis a 22 °C e a 37 °C

Bactérias coliformes

Escherichia coli

Enterococos

Clostridium perfringens



Água de Piscina

Decreto Regulamentar nº. 5/97

Microrganismos cultiváveis a 37 °C

Bactérias coliformes

Escherichia coli

Enterococos

Estafilococos totais

Estafilococos produtores de coagulase

Pseudomonas aeruginosa





Água para Hemodiálise

Despacho 14391/01

Microrganismos Cultiváveis a 22°C e a 37 °C

Endotoxinas

Água Mineral Natural / Nascente

Portaria 1220/2000

Microrganismos Cultiváveis a 22 °C e a 37 °C

Bactérias coliformes

Escherichia coli

Enterococos

Esporos clostrídios sulfito redutores

Pseudomonas aeruginosa



Água Mineral Natural / Nascente

Estabelecimentos termais

Portaria 1220/2000

Microrganismos Cultiváveis a 22 °C e a 37 °C

Bactérias coliformes

Escherichia coli

Enterococos

Esporos clostrídios sulfito redutores

Pseudomonas aeruginosa

Legionella pneumophila

Legionella spp. não *pneumophila*





Sistemas de ar condicionado

Decreto-Lei n.º 79/2006

Pesquisa de *Legionella*



Águas Balneares

Decreto-Lei nº 135/2009

- Inspeção visual das águas balneares - detecção da poluição por resíduos de alcatrão, vidro, plástico, borracha e outros resíduos.
- Perfil das águas balneares com risco potencial de proliferação de cianobactérias - monitorização apropriada para permitir a identificação atempada de riscos para a saúde.
- Parâmetros microbiológicos :

Enterococos

Escherichia coli



Organismo indicador

- Presente em número elevado;
- Detetado por métodos simples;
- Não se desenvolver na água;
- Ter origem fecal;
- Ter características semelhantes aos patogénicos;
- Presente em maior número do que os patogénicos.





ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Marine Pollution Bulletin

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul



Águas Balneares



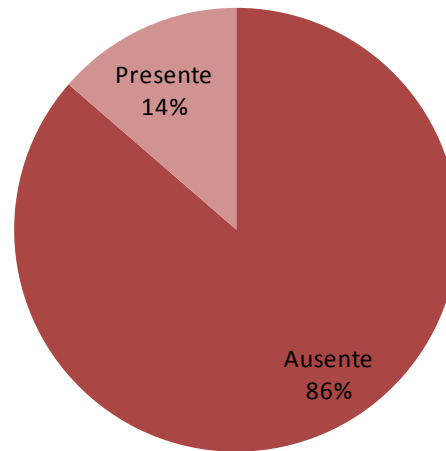
Salmonella: The forgotten pathogen: Health hazards of compliance with European Bathing Water Legislation

Catarina R. Mansilha^{a,b,*}, Carla A. Coelho^a, Alcina Reinas^a, Ana Moutinho^a, Sónia Ferreira^a, C. Pizarro^a, António Tavares^a

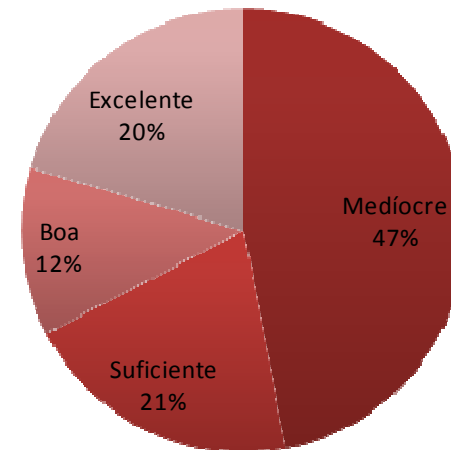
^aNational Institute of Health Doutor Ricardo Jorge, Rua Alexandre Herculano 321, 4000-055 Porto, Portugal

^bRequimte, University of Porto, Portugal

Distribuição percentual das amostras com *Salmonella* presente e ausente (360 amostras)



Distribuição percentual das praias com *Salmonella* (49 amostras)



Decreto-lei 135/2009

Autoridade de Saúde - “Análises complementares para a avaliação do risco”



Ministério da Saúde

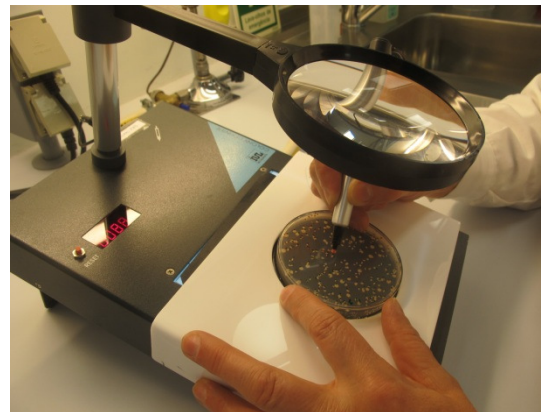
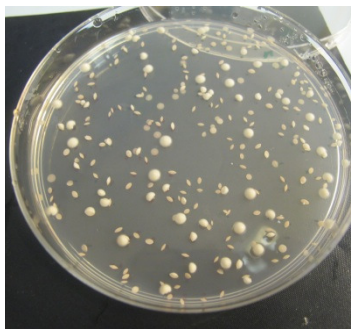
Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge



Métodos de ensaio

Microrganismos Cultiváveis

EN ISO 6222:1999, Water quality – Enumeration of culturable micro-organisms – Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium.



Métodos de ensaio

Filtração – Concentração da amostra

- Homogeneização da amostra
- Diferentes volumes: 100 mL, 250 mL, 1 L
- Membranas: 0,20 μm ; 0,22 μm ; 0,45 μm
- Meios de cultura: seletivos e diferenciais

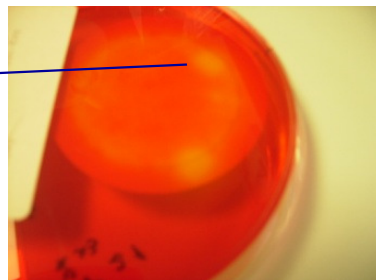


Métodos de ensaio

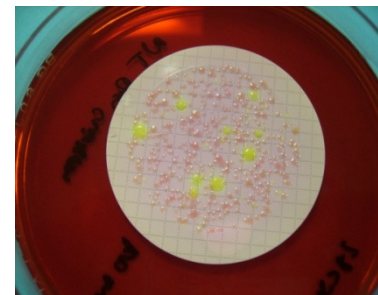
Bactérias coliformes e *Escherichia coli*

Recomendação IRAR nº 05/2005 – Método alternativo para análise de bactérias coliformes e *Escherichia coli*. Instituto Regulador de Águas e Resíduos, 2005. (Baseado na ISO 9308-1:2000).

Colónias de fermentadores da lactose



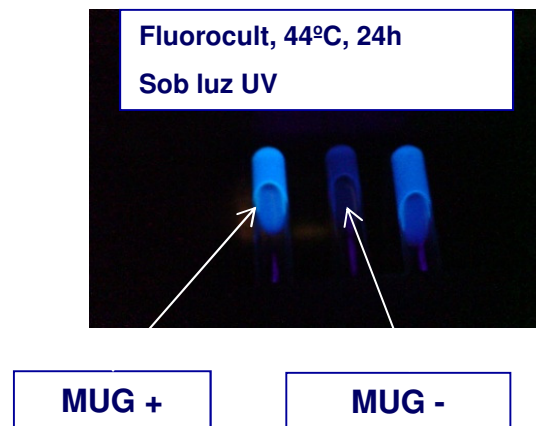
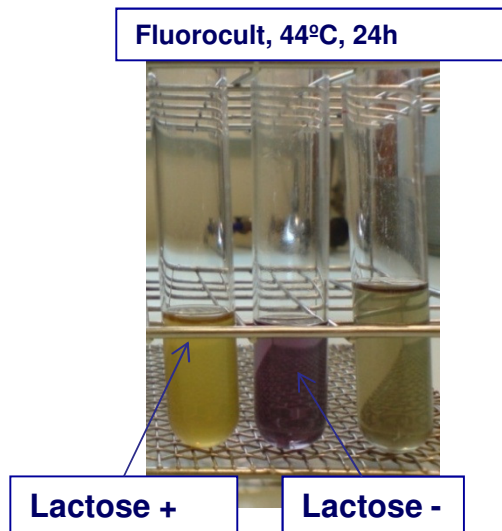
LSA



Métodos de ensaio

Escherichia coli

Recomendação IRAR nº 05/2005 – Método alternativo para análise de bactérias coliformes e *Escherichia coli*. Instituto Regulador de Águas e Resíduos, 2005.



Métodos de ensaio / Matriz

INSTITUTO PORTUGUÊS DE ACREDITAÇÃO 
acreditação

PORTUGUESE ACCREDITATION INSTITUTE
Rua António Gillo, 2-5º 2829-513 CAPARICA Portugal
Tel +351.212 948 301 Fax +351.212 948 302
acredita@ipac.pt www.ipac.pt

CIRCULAR CLIENTES Nº 2/2009

Assunto: Aplicabilidade de métodos microbiológicos a diferentes matrizes

Destinatários: Laboratórios de ensaios microbiológicos em águas

Data de emissão: 27-02-2009

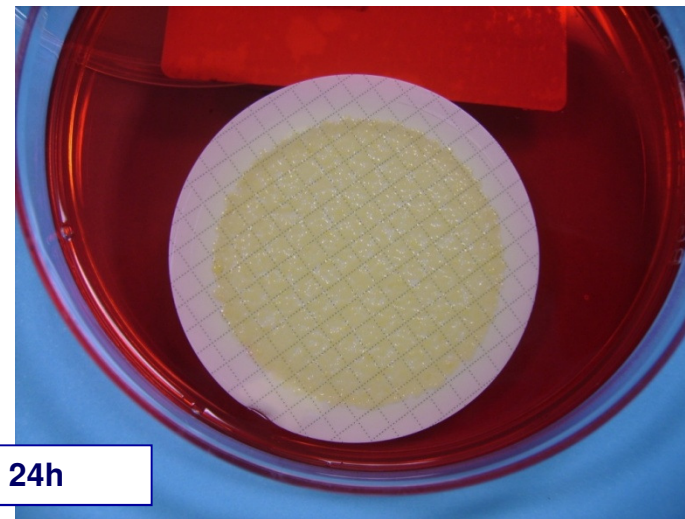
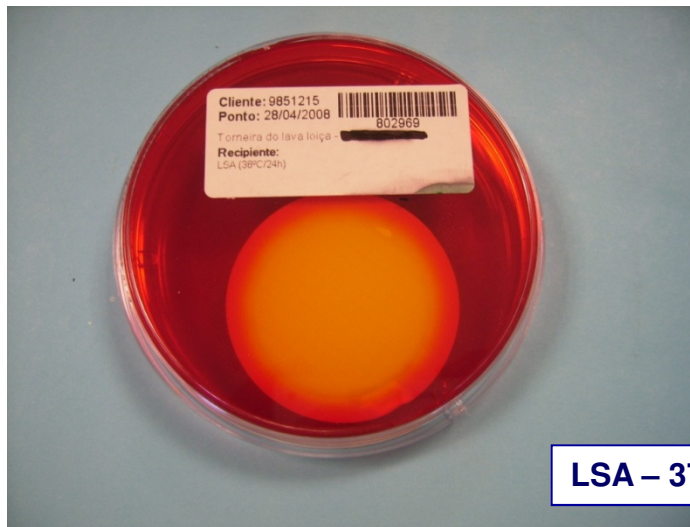
Introdução

Na sequência dos trabalhos desenvolvidos pelo Grupo de Trabalho IPAC na área da microbiologia, verificou-se a necessidade de clarificar as condições para a realização de ensaios com métodos de filtração por membrana em diversos tipos de águas, nomeadamente por estes métodos nem sempre serem adequados pelo facto das matrizes a ensaiar poderem conter uma elevada carga microbiana interferente e/ou matéria em suspensão.



Métodos de ensaio / Matriz

Amostra de água não tratada (*E.coli* e outros coliformes) – MF



LSA – 37°C, 24h

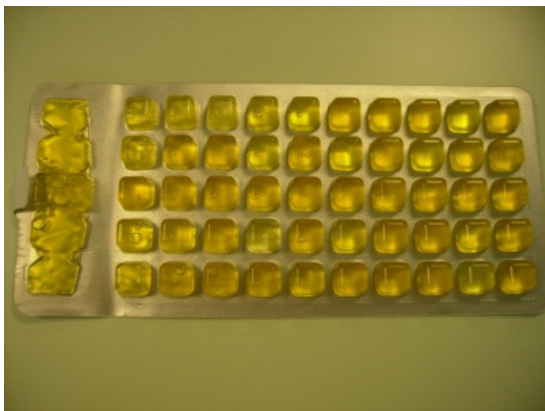


Métodos de ensaio

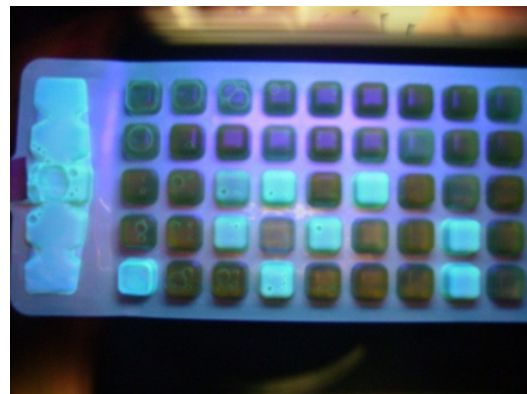
Bactérias coliformes e *Escherichia coli* – Colilert

NSM HPA W18:2005 - Enumeration of coliforms and *Escherichia coli* by Idexx (Colilert 18) Quanti-tray™.

Bactérias coliformes



Escherichia coli



sob luz UV

Após incubação a $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$, durante 18 a 22h

Métodos de ensaio

Escherichia coli - Método Miniaturizado

ISO 9308-3: 1998, Water quality – Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria - Part 3: Miniaturized method (Most Probable Number) for the detection and enumeration of *E. coli* in surface and waste water.

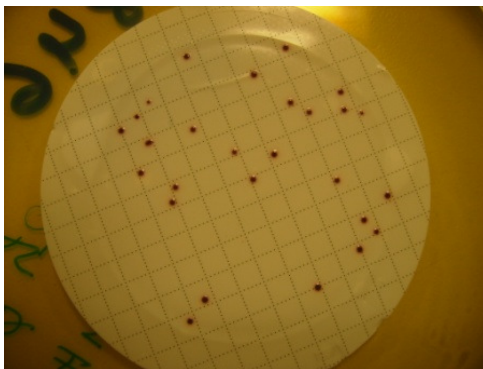


Microplaca sob luz UV

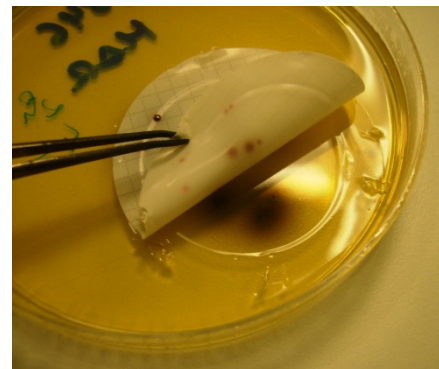
Métodos de ensaio

Enterococos

EN ISO 7899-2, Water quality –Detection and enumeration of intestinal enterococci. Part 2: membrane filtration method.



Slanetz & Bartley

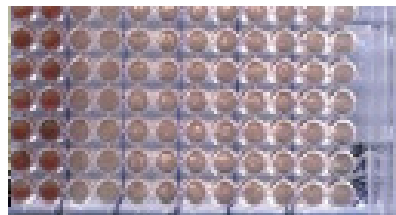
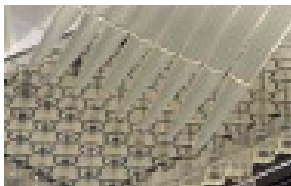


Bilis esculina azida agar

Métodos de ensaio

Enterococos - Método Miniaturizado

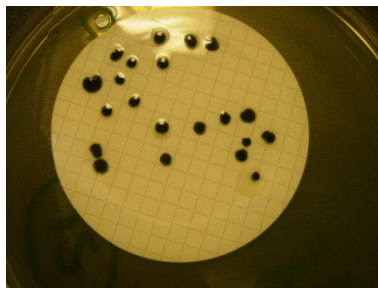
ISO 7899-1:1998, Water quality –Detection and enumeration of intestinal enterococci in surface and waste water- Part 1: Miniaturized method (Most Probable Number) by inoculation in liquid medium.



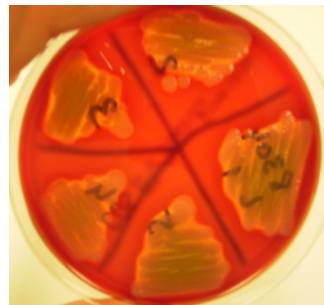
Métodos de ensaio

Clostridium perfringens

NSM HPA W5:2005 - Enumeration of *Clostridium perfringens* by membrane filtration.



TSC

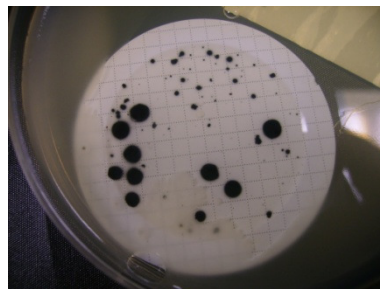


Gelose de Sangue

Métodos de ensaio

Esporos de bactérias anaeróbias sulfito-redutoras

NP EN 26 461-2 (1994): Qualidade da água – Pesquisa e quantificação de esporos de bactérias anaeróbias sulfito-redutoras (Clostridia). Parte 2: Método de filtração por membrana.

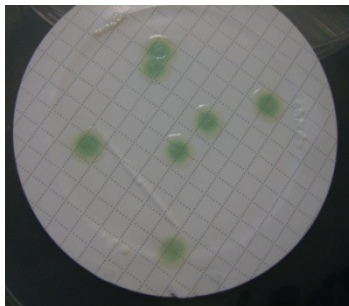


TSA

Métodos de ensaio

Pseudomonas aeruginosa

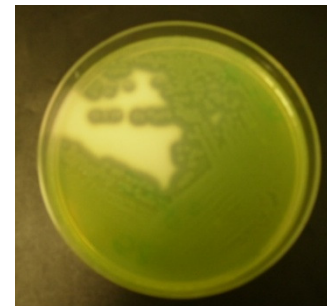
NSM HPA W6:2007 - Enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* by membrane filtration



PSCN



PSCN sob luz UV

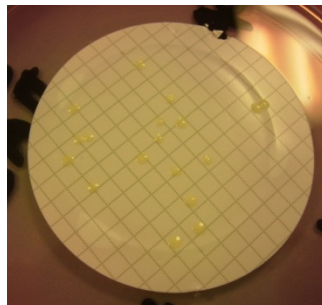


SMCA

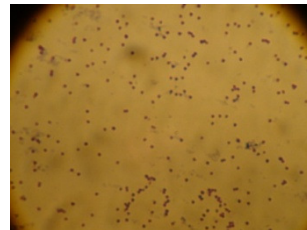
Métodos de ensaio

Estafilococos

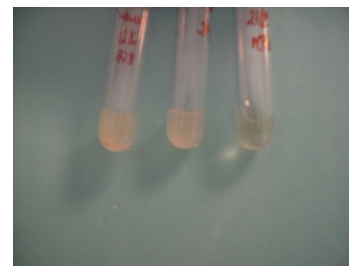
NP 4343:1998, Qualidade da água – Pesquisa e quantificação de estafilococos



MSA



Gram



Prova da coagulase

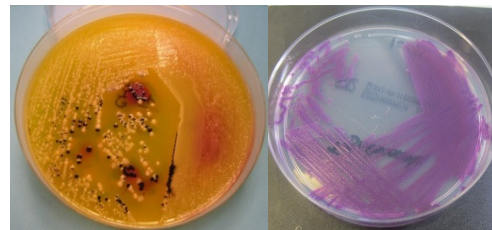
Métodos de ensaio

Salmonella

ISO 19250:2010: Water quality - Detection of *Salmonella* spp.



RVS e SC



XLD

Meio cromogénico

Métodos de ensaio

Endotoxinas

DSA ASMI-PE10 P- Pesquisa e quantificação de endotoxinas - método cinético cromogénico

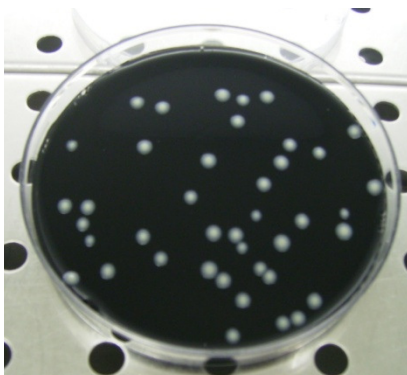
Limulus Amebocyte Lysate (LAL)- lisado constituído a partir dos amebócitos do caranguejo - ferradura (*Limulus polyphemus*).



Métodos de ensaio

Legionella

- NSM HPA W12:2006 - Detection and enumeration of *Legionella* species by filtration and centrifugation
- NSM HPA W13:2006 - Detection and enumeration of *Legionella* species by centrifugation



GVPC



GVPC sob luz UV

Legionella

Habitat

- Ambiente: rios, lagos, nascentes, solos húmidos, águas subterrâneas
- Reservatórios artificiais: redes prediais, torres de refrigeração, sistemas de rega, piscinas, humidificadores, ...



Legionella

Principais locais a monitorizar

- Sistemas de água quente e fria
- Torres de refrigeração e condensadores evaporativos
- Piscinas e jacuzzis
- Complexos desportivos/ginásios
- Fontes ornamentais
- Sistemas de rega



Legionella

Principais locais a monitorizar

- Humidificadores
- Equipamento de terapia respiratória
- Unidades hospitalares e outras que prestam cuidados de saúde
- Lares de 3^a idade
- Estâncias termais
- Unidades hoteleiras
- Sistemas de lavagem automática





Legionella

Saúde dos Idosos □

Prevalência da *Legionella pneumophila* em águas de diferentes proveniências das regiões norte e centro de Portugal no período de 2000 a 2006

CATARINA RODRIGUES MANSILHA
CARLA ALEXANDRA COELHO
MÁRIA ALCINA REINAS
ANA MARGARIDA HETTOR

A *Legionella* é uma bactéria amplamente distribuída capaz de sobreviver em condições ambientais hostis por longos períodos, o que contribui para a sua fácil disseminação, daí resultar uma elevada probabilidade de exposição do Homem a este agente. O seu habitat natural consiste em reservatórios de água, nomeadamente: rios, lagoas, nascentes, fontes hidrotermais e solos húmidos, onde sobrevive como parasita intracelular de alguns protozoários que funcionam como seu reservatório natural. Também pode ser encontrada em sistemas artificiais de circulação de água, como os circuitos de água quente sanitária, de água fria para consumo humano, de rega por aspersão, filtros de aquários de ar condicionado e seus condutas, sistemas de refrigeração, condensadores de evaporação, nebulizadores e humidificadores. Nestes últimos a *Legionella* encontra-se frequentemente associada a biofilmes que providenciam os nutrientes e o ambiente necessário à sua manutenção e proliferação. Esta capacidade peculiar de adaptação a novas condições ambientais é responsável pela frequente contami-

nação de sistemas de distribuição de água artificiais e pela dificuldade de erradicação da *Legionella* de estruturas contaminadas.

A *Legionella pneumophila* está associada a duas doenças: a Doença dos Legionários e a febre de Pontiac, cuja incidência depende do grau de contaminação dos reservatórios de água, da susceptibilidade da pessoa exposta e da intensidade da exposição. A infeção transmite-se por via respiratória a partir de bioaerossóis de água contaminada com este agente.

Pela importância que representa em Saúde Pública, a Doença dos Legionários, e porque a sua monitorização apenas pelo sistema de notificação de doenças transmissíveis de declaração obrigatória (DDO) se tem mostrado insuficiente, consideramos fundamental a pesquisa e quantificação da *Legionella* nas amostras ambientais para uma melhor vigilância e prevenção desta patologia.

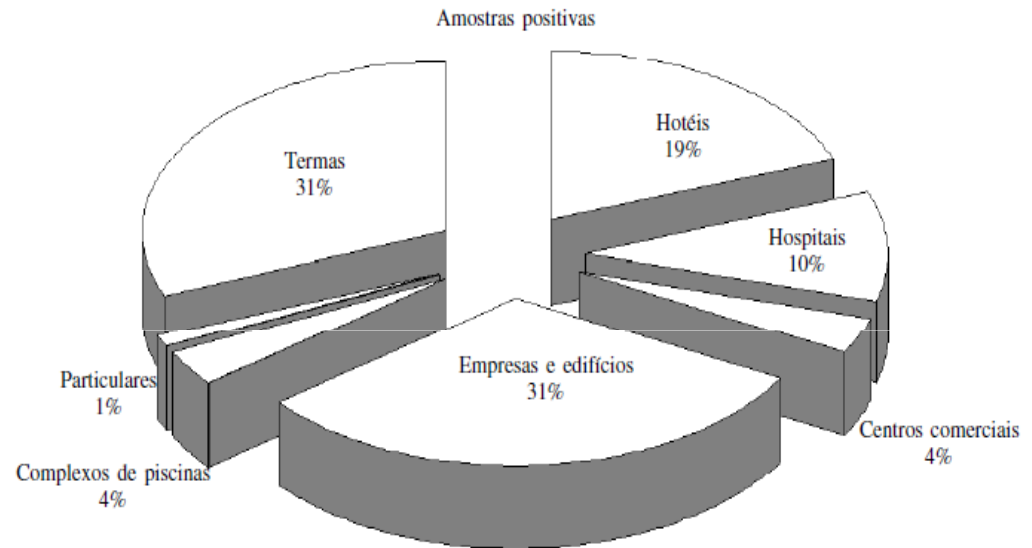
Motivado este trabalho resulta de um estudo estatístico, realizado a partir de 1674 amostras de água recolhidas no Centro de Qualidade Hídrica do Porto do INSA (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge), durante os anos de 2000 a 2006, para pesquisa de *Legionella pneumophila* e *Legionella* spp. não *L. pneumophila*. Os resultados foram avaliados por local e ponto de colheita, tendo sido efectuado igualmente um estudo de variação sazonal de amostras positivas ao longo desse período de tempo.

Resumo: A partir da análise dos resultados laboratoriais obtidos de 2000 a 2006 verificou-se uma diminuição do número de amostras positivas em águas minerais naturais naturais, com 9 e 11 resultados positivos em 2000 e 2001, respectivamente, e ausência de casos positivos em 2006, e um aumento do número de casos em hospitais, hotéis e centros comerciais nos dois últimos anos, com 24 casos

□ Catarina Rodrigues Mansilha é investigadora no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge — Porto.
Carla Alexandra Coelho é técnica superior no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge — Porto.
Mária Alcina Reinas é técnica de diagnóstico e terapêutica no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge — Porto.
Ana Margarida Hettor é técnica superior, assessora no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge — Porto.
Submetido à apreciação: 18 de Junho de 2007.
Aceito para publicação: 20 de Setembro de 2007.

REVISTA PORTUGUESA DE SAÚDE PÚBLICA

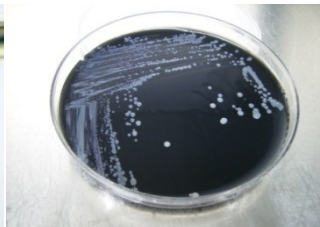
Figura 3
Percentagem de amostras de água contendo *Legionella pneumophila* por entidade, ao longo dos sete anos de estudo

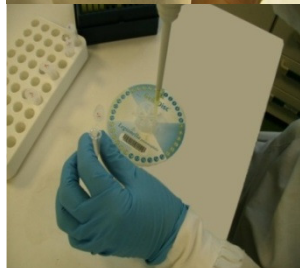
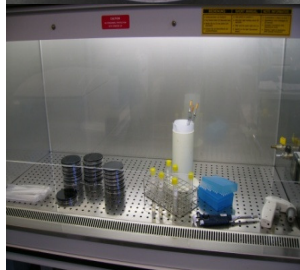
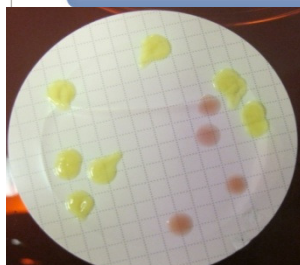



Legionella

Medidas gerais de prevenção

- planeamento e manutenção das infra-estruturas
- vigilância da qualidade da água
- tratamento da água
- tratamento complementar








Centro de Saúde Pública
Doutor Gonçalves Ferreira
Rua Alexandre Herculano, 321 - 4000-055 Porto
Portugal

Departamento de Saúde Ambiental
Unidade de Água e Solo
Laboratório de Microbiologia



IPAC
accreditação
LDA
Ematós



Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge

RELATÓRIO: 0000000 Rua da ... 0000-000

Relatório de Ensaio Boletim Definitivo

Identificação da Amostra	Versão: 1.0	Data de Recolha:	22/02/2012
Tipo Amostra: Água de consumo humano não tratada		Data de Recepção:	22/02/2012
Ponto de Colheita: Torneira da cozinha		Data de Início:	22/02/2012
Proveniência: poço		Data de Fim:	29/02/2012
Responsável Colheita: Cliente		Data de Emissão:	29/02/2012
		ID. Colheita:	1009672

Dados de Colheita
Proveniência: poço

Análise Microbiológica		Valores de Referência	
Parâmetros / Métodos Analíticos	Resultados	VR	VL
Pesquisa e Quantificação de Bactérias Coliformes (NMP/100mL) / HPA NSM W18:2005	102	—	0
Pesquisa e Quantificação de <i>Escherichia coli</i> (NMP/100mL) / HPA NSM W18:2005	2	—	0
Pesquisa e Quantificação de Enterococos (UFC/100mL) / ISO 7899-2:2000	0	—	0
Pesquisa e Quantificação de <i>Clostridium perfringens</i> (UFC/100mL) / HPA NSM W5:2005	0	—	0

Apreciação:
Os parâmetros assinalados a negrito não estão conforme os requisitos da qualidade da água definidos no Decreto-Lei 306/2007 (Água destinada ao consumo humano - toda a água no seu estado original, ou após tratamento, destinada a ser bebida, a cozinhar, à preparação de alimentos, à higiene pessoal ou a outros fins domésticos, independentemente da sua origem).

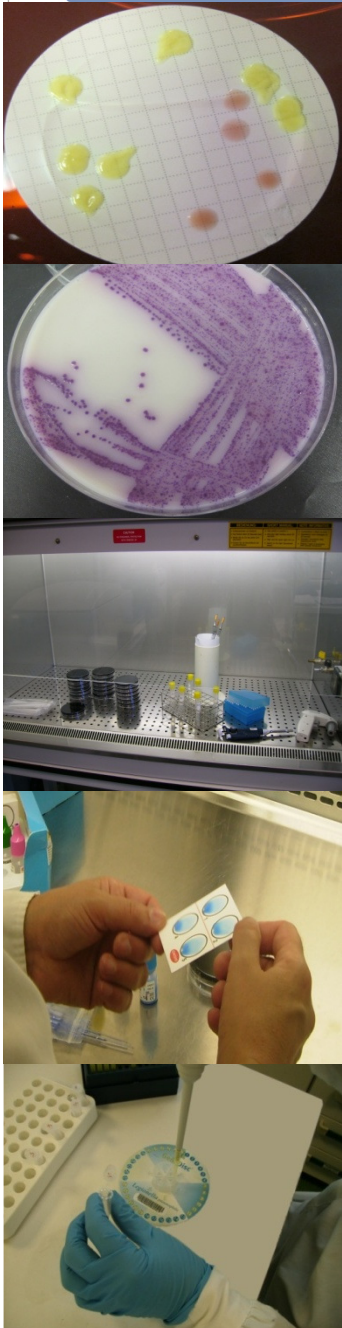
UFC=Unidades Formadoras de Colónias; ISO=International Standard Organization; UE=Unidades de Endófitas; NMP= Número Mais Provável; LD=Limite de Detecção; LQ=Limite de Quantificação; SFS=Espectrometria de Fluorescência; HPA NSM W - Health Protection Agency, National Standard Methods for Water Analysis; VR=Valor Recomendado; VL=Valor Limite

Os ensaios assinalados com (*) não estão incluídos no âmbito da acreditação. Os ensaios assinalados com (#) são subcontratados e acreditados. Os ensaios assinalados com (##) são subcontratados e não acreditados. A amostragem, dados de colheita, apreciações, observações e as notas contidas neste relatório não estão incluídas no âmbito da acreditação. Os resultados referem-se exclusivamente à amostra analisada. Este relatório apenas pode ser reproduzido na íntegra, excepto quando autorizado pelo Responsável do Laboratório

Telefones: 223 401 116/ 223 401 100 - Email: central.analises@insa.min-saude.pt

DGA A SM-HGE_03P Página: 1 de 2





Controlo da Qualidade

- Controlo Positivo Quantitativo
- Duplicados
- Controlos Positivo e Negativo
- Brancos
- Avaliação Externa da Qualidade
- Controlo das Temperaturas de Ensaio
- Controlo Ambiental



OBRIGADA PELA VOSSA ATENÇÃO!



Ministério da Saúde

Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge

