



7, 8 e 9  
Março 2018  
ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS  
RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS  
DESAFIOS**

# NÍVEIS DE RISCO DE OCORRÊNCIA DE CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS EM ÁGUAS DOCES SUPERFICIAIS

Carina Menezes, Catarina Churro, Elsa Dias  
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

Instituto Nacional de Saúde  
Doutor Ricardo Jorge



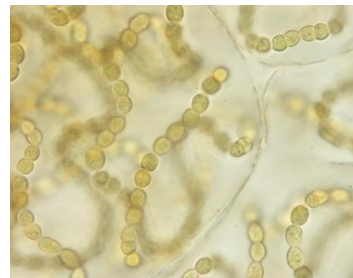
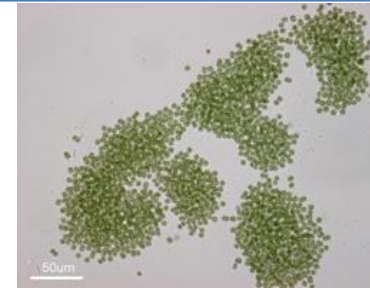


7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

## GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS: NOVOS DESAFIOS

### Cianobactérias

- Microorganismos procariotas fotoautotróficos
- Excelente adaptação ao meio ambiente (água doce, mar, solo, rochas)
- Têm papéis ecológicos importantes (produção de O<sub>2</sub>, base da cadeia alimentar).
- Formam blooms
- Produtores de toxinas (ex: microcistinas)





7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## ***Blooms de cianobactérias*** **consequências**

Aumento global da frequência de ocorrência de blooms devido às alterações climáticas e pressão antropogénica.



Comprometem /dificultam os procedimentos de tratamento nas ETAs.



Causam a desoxigenação da água e a mortandade de peixes.



Libertação de toxinas para a água – riscos para a saúde humana e animal.

**Monitorização de cianobactérias e cianotoxinas = Prevenção de riscos para a Saúde Pública**



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

## GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS: NOVOS DESAFIOS

# Legislação

### Água para consumo humano

MINISTÉRIO DO AMBIENTE, DO ORDENAMENTO  
DO TERRITÓRIO E DO DESENVOLVIMENTO REGIONAL

Decreto-Lei n.º 306/2007

de 27 de Agosto

O Decreto-Lei n.º 243/2001, de 5 de Setembro, que transpõe para ordem jurídica interna a Directiva n.º 98/83/CE, do Conselho, de 3 de Novembro, relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano, manteve aspectos fundamentais do anterior diploma, o Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de Agosto. Este definia já o essencial

Manganês .....	50	µg/l Mn
Microcistinas — LR to	1	µg/l
Cheiro, a 25°C .....	3	Factor de diluição
Oxidabilidade .....	5	mg/l O <sub>2</sub>

O teor total de microcistinas é determinado quando se suspeita de **eutrofização** da massa de água quando a concentração de cianobactérias potencialmente tóxicas é superior a **2000 células/mL**.

### Água balnear interior

MINISTÉRIO DO AMBIENTE, DO ORDENAMENTO  
DO TERRITÓRIO E DO DESENVOLVIMENTO REGIONAL

Decreto-Lei n.º 135/2009

de 3 de Junho

Artigo 13.º

Riscos provenientes de cianobactérias

- Não inclui qualquer valor guia para a densidade de cianobactérias ou cianotoxinas.
- Recomenda a monitorização da massa de água quando houver potencial de proliferação de cianobactérias.
- Quando se detectar visualmente a ocorrência de *blooms*, compete ao delegado de saúde pública avaliar os riscos para a saúde.
- Se forem identificados riscos, as autoridades de saúde e ambiente deveram implementar as devidas medidas de gestão do risco de forma a prevenir a exposição humana a cianotoxinas.



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

## GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS: NOVOS DESAFIOS




*toxins*



Article

# Risk Levels of Toxic Cyanobacteria in Portuguese Recreational Freshwaters

Carina Menezes, Catarina Churro  and Elsa Dias \*

Department of Environmental Health, National Institute of Health Dr. Ricardo Jorge, Av. Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal; carina.menezes@insa.min-saude.pt (C.M.); catarina.churro@gmail.com (C.C.)

\* Correspondence: elsa.dias@insa.min-saude.pt; Tel.: +351-21-751-9248; Fax: +351-21-752-6400

Academic Editor: Luis M. Botana

Received: 31 July 2017; Accepted: 16 October 2017; Published: 18 October 2017

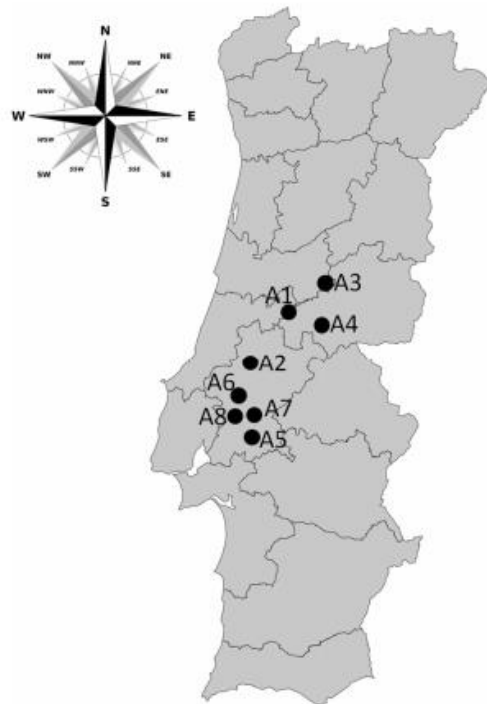
**Abstract:** Portuguese freshwater reservoirs are important socio-economic resources, namely for recreational use. National legislation concerning bathing waters does not include mandatory levels or guidelines for cyanobacteria and cyanotoxins. This is an issue of concern since cyanotoxin-based evidence is insufficient to change the law, and the collection of scientific evidence has been hampered by the lack of regulatory levels for cyanotoxins in bathing waters. In this work, we evaluate the profile of cyanobacteria and microcystins (MC) in eight freshwater reservoirs from the center of Portugal, used for bathing/recreation, in order to determine the risk levels concerning toxic cyanobacteria occurrence. Three of the reservoirs did not pose a risk of MC contamination. However, two reservoirs presented a high risk in 7% of the samples according to the World Health Organization (WHO) guidelines for MC in bathing waters (above 20 µg/L). In the remaining three reservoirs, the risk concerning microcystins occurrence was low. However, they exhibited recurrent blooms and persistent contamination with MC up to 4 µg/L. Thus, the risk of exposure to MC and potential acute and/or chronic health outcomes should not be disregarded in these reservoirs. These results contribute to characterize the cyanobacterial blooms profile and to map the risk of toxic cyanobacteria



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

## GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS: NOVOS DESAFIOS

# Albufeiras monitorizadas



*Toxins* 2017, 9, 327

13 of 17

**Table 4.** Characteristics of the sampled freshwater reservoirs [53,54], monitoring period and number of collected samples.

Reservoirs	Total Capacity (dam <sup>3</sup> )	Surface Area (ha)	Mean Depth (m)	Other Uses	Trophic State	Years of Monitoring	Number of Samples
A1	72,000	2023	35.6	Energy production	Mesotrophic	14	109
A2	1,095,000	3291	33.3	Drinking water supply Energy production Flood defense	Oligotrophic	10	40
A3	53,700	246	21.8	Energy production	Mesotrophic	9	56
A4	660	12	6.4	Drinking water supply Flood defense	Mesotrophic	14	112
A5	ND	ND	ND	ND	ND	3	21
A6	ND	ND	ND	ND	ND	2	13
A7	ND	ND	ND	ND	ND	8	32
A8	3032	124	3.8	Irrigation	Eutrophic	11	53

ND—Not described.

**Figure 3.** Geographic locations of the reservoirs studied in Portugal.



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## Procedimentos de monitorização

### Identificação e quantificação de espécies fitoplanctónicas



Fixação de 100mL  
com Lugol

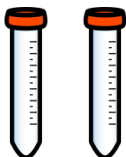


Sedimentação



Observação ao  
microscópio

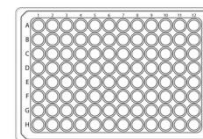
### Quantificação de microcistinas



Congelamento de 5  
mL de amostra



Sonicação



Kit ELISA



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## Albufeiras monitorizadas

### Critérios utilizados para determinar os níveis de risco nas albufeiras

*Toxins* 2017, 9, 327

14 of 17

**Table 5.** Criteria used to determine the risk levels in the freshwater reservoirs, based on the WHO Guidelines for bathing waters [26].

Risk Level	Criteria Based on Cyanobacterial Density (Cells/mL)	Criteria Based on Microcystin Concentration ( $\mu\text{g MC/L}$ )
No Risk	Not detected	Not detected or not analysed *
Low Risk	<20,000	<20
Moderate Risk	20,000–100,000	-
High Risk	>100,000	$\geq 20$

\* When the density of potential toxic cyanobacteria was bellow 2000 cells/mL.



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## Frequência de blooms e ocorrência de microcistinas

≠ cenários ≠ riscos

**Table 1.** Frequency of overall cyanobacteria bloom and microcystins detection in each freshwater reservoir.

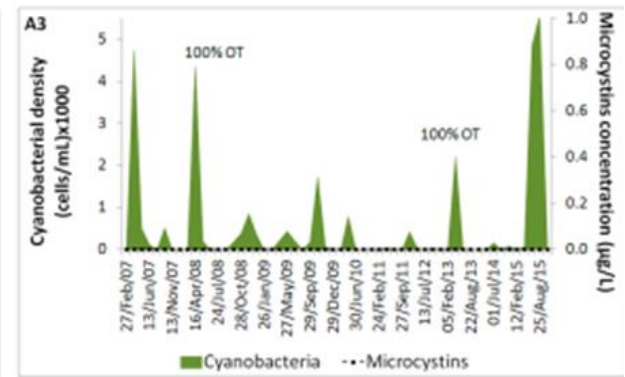
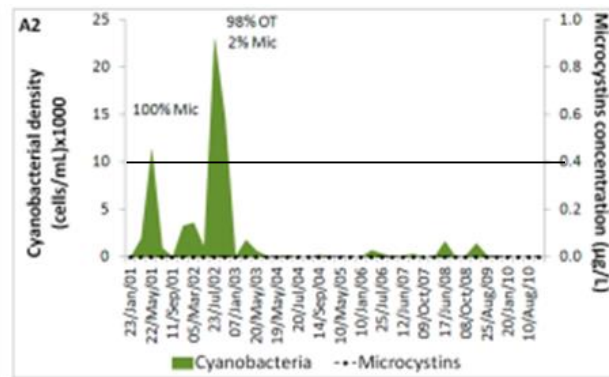
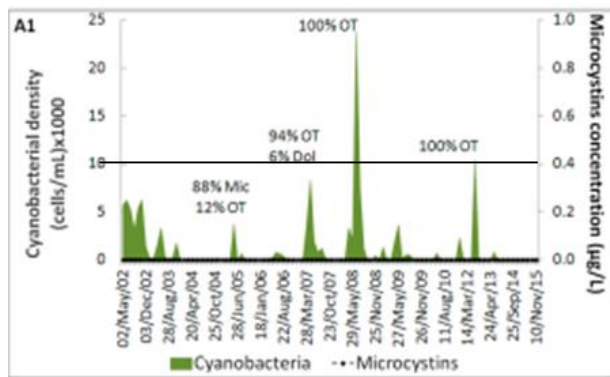
Reservoir	Samples with Blooms (%)	Samples with Microcystins (%)	
A1	30	0	Freq. blooms baixa Sem microcistinas
A2	25	0	
A3	15	0	
A4	44	16	Freq. elevada de blooms e de microcistinas
A5	77	24	
A6	100	85	
A7	69	38	
A8	79	58	



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## Variação de cianobactérias e microcistinas nas albufeiras



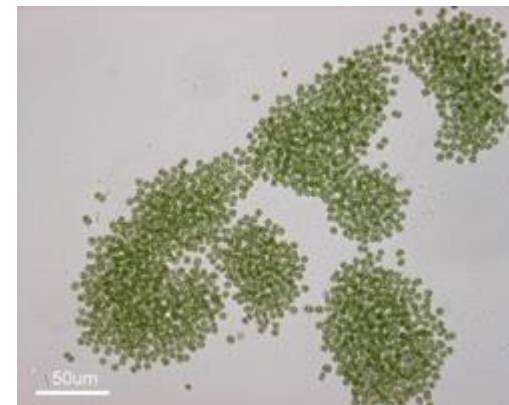
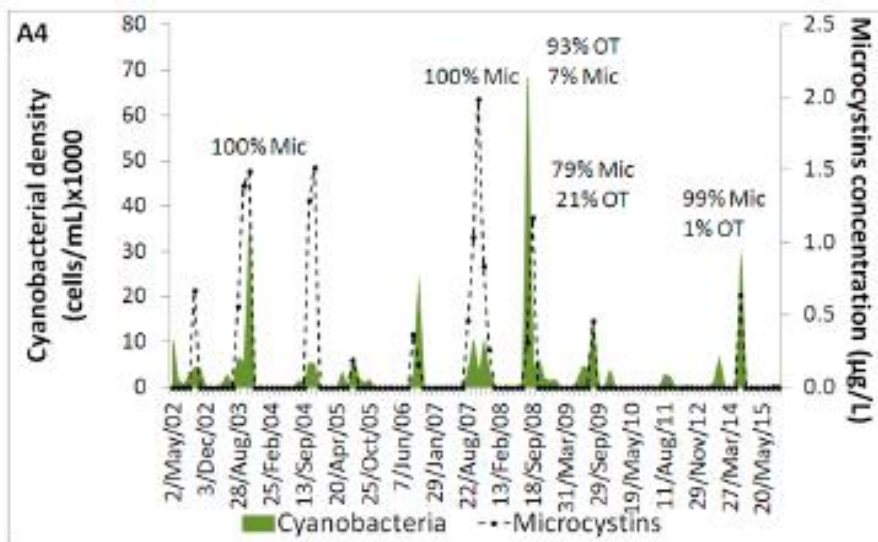
- Densidades cianobactérias geralmente inferior a 10.000 células/mL (pontualmente 20.000 células/mL).
- Frequência de blooms: 30% A1, 25% A2, 15% A3.
- Presença de espécies potencialmente tóxicas (*Microcystis aeruginosa*).
- Não se detectaram microcistinas.



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## Variação de cianobactérias e microcistinas nas albufeiras



*Microcystis aeruginosa*

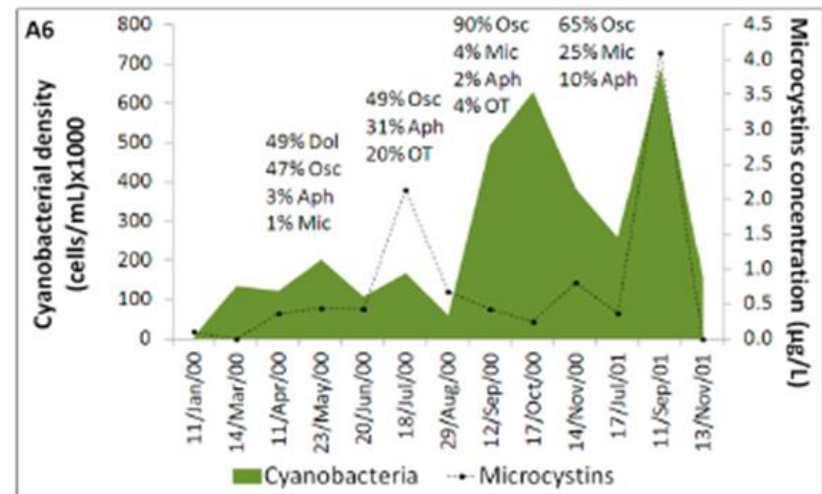
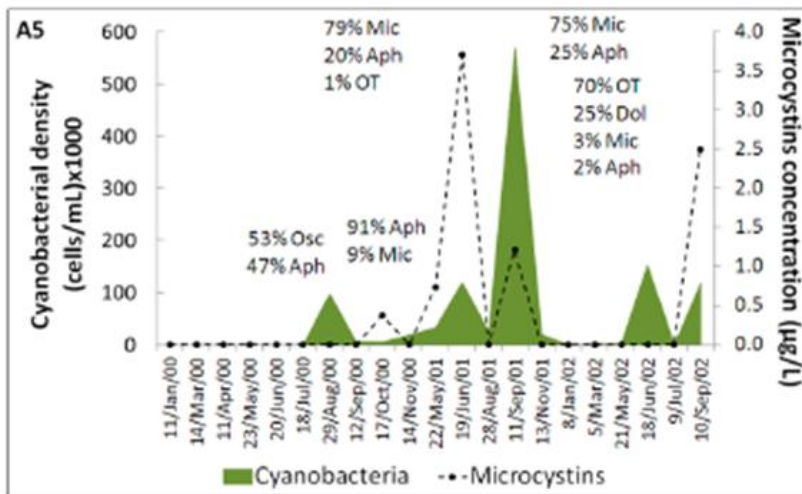
- Frequência de blooms 44%.
- Densidade de cianobactérias ocasionalmente elevada.
- Espécie dominante potencialmente tóxica (*Microcystis aeruginosa*).
- 16% das amostras com microcistinas (mas inferior a 2 µg/L).



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## Variação de cianobactérias e microcistinas nas albufeiras



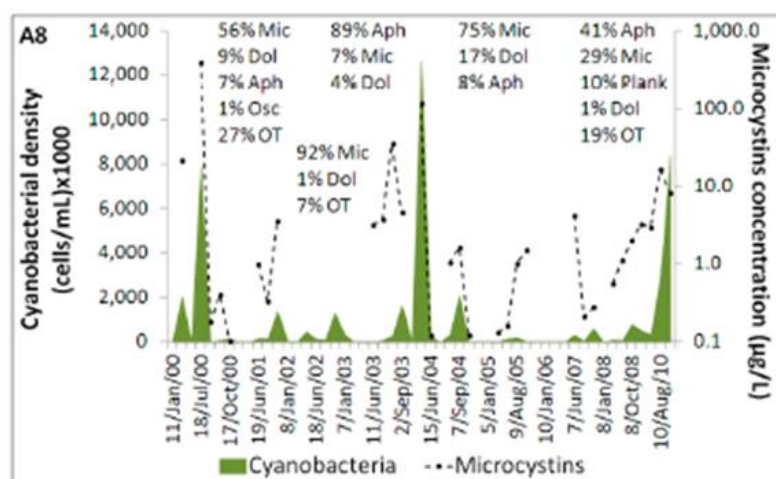
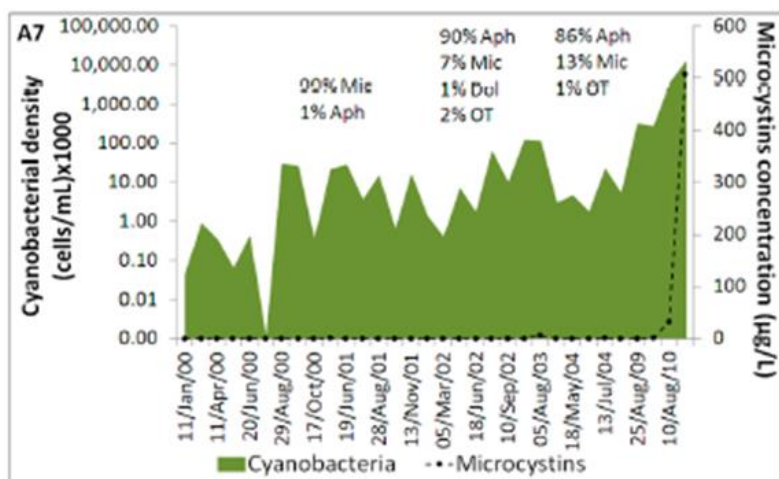
- Frequência de blooms elevada em A5 (77%) e blooms persistentes em A6 (100%).
- Densidade extrema de cianobactérias frequente (maior que 100.000 células/mL).
- Espécies potencialmente tóxicas predominantes
- Presença de microcistinas em A5 (24%) e A6 (85%) (mas inferior a 4 µg/L).



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## Variação de cianobactérias e microcistinas nas albufeiras



- Frequência de blooms elevada em A7 (69%) e A8 (79%).
- Ocorrência de densidades celulares elevadas a extremas (maior que  $10^6$  células/mL em A8).
- Presença de microcistinas em A7 (38%) e A8 (58%) com níveis ocasionalmente muito elevados (20-500  $\mu\text{g/L}$ ).
- Picos de toxinas coincidentes com prevalência de espécies potencialmente tóxicas (*Aphanizomenon spp.*, *Dolichospermum spp.*, *Microcystis spp.*, *Oscillatoria spp.*).



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

## GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS: NOVOS DESAFIOS

## Níveis de risco nas albufeiras

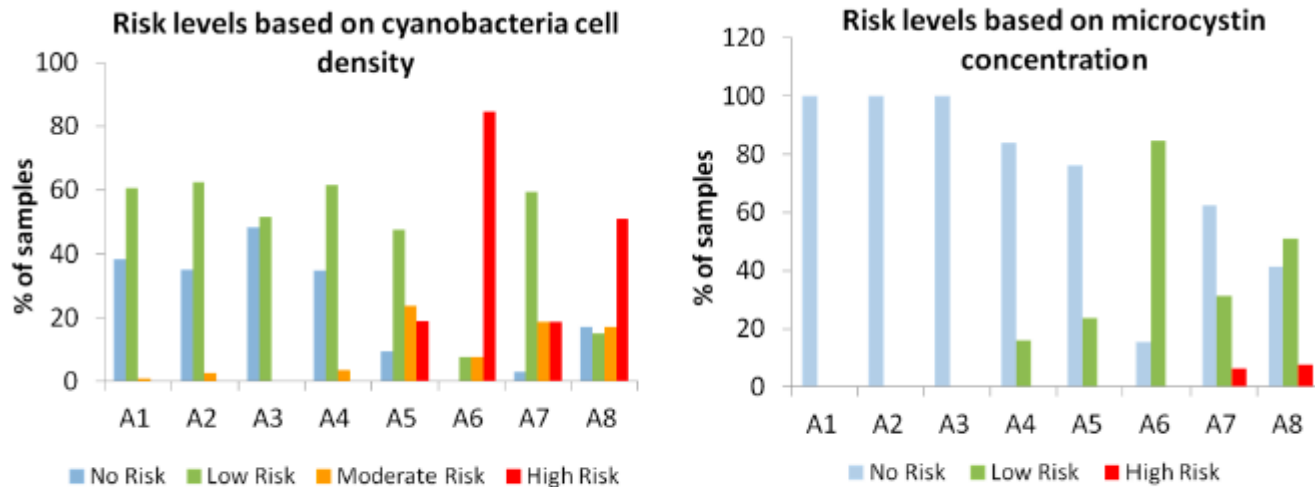


Figure 2. Risk levels of the eight freshwater reservoirs based on cyanobacterial cell density (a) and on microcystin concentration (b).

- Critério baseado na densidade celular - Todas as albufeiras com algum grau de risco.
- Albufeiras A5, A6, A7 e A8 com risco elevado em 20–80% das amostras.
- Critério baseado nas concentrações de microcistinas – Diminuição da severidade do risco. Albufeiras A7 e A8 têm risco elevado em cerca de 7% das amostras.

**Sobreavaliação de espécies potencialmente tóxicas? Subavaliação de cianotoxinas?**



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## Cenários de exposição humana nas albufeiras

Table 3. Scenarios of human exposure to microcystins in the studied reservoirs, considering the tolerable daily intake (TDI).

Reservoirs	MC Range Detected ( $\mu\text{g/L}$ )	Minimum Water Ingestion to Reach TDI (mL)		
		Children	Adults	
A1	-	-	-	Exposição impossível
A2	-	-	-	
A3	-	-	-	
A4	0.16–2	201	1206	Exposição improvável
A5	0.37–3.7	108	647	Exposição provável
A6	0.1–4.1	98	585	(?) em crianças
A7	0.16–506	1	5	Exposição provável em crianças e adultos
A8	0.2–389	1	6	

- Albufeiras A7 e A8: Volume mínimo de ingestão de água para ultrapassar a dose diária admitida para as microcistinas de 1 a 6 mL. **Risco real de intoxicação aguda.**
- Não descurar exposição prolongada a pequenas doses em A6 considerando a persistência de blooms e de cianotoxinas. **Risco eventual de efeitos crónicos.**



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

## Conclusões

- Foram identificados cenários de **risco potencial de exposição humana** aguda e/ou crónica a cianobactérias e microcistinas em 5 de 8 albufeiras usadas para fins balneares do centro do país.
- Para além de cianobactérias produtoras de microcistinas foram identificadas espécies potencialmente **produtoras de outras cianotoxinas** (neurotoxinas, cilindrospermopsina).
- Face à diversidade de espécies potencialmente tóxicas, outras cianotoxinas deveriam ser incluídas nos planos de monitorização de forma a avaliar os **cenários reais de riscos para a saúde pública**.
- A **sistematização dos dados de monitorização a nível nacional** será fundamental para obter evidência científica que permita estabelecer valores guia para as cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios de água doce superficial balnear.



7, 8 e 9 Março 2018 • ÉVORA  
Évora Hotel

GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS:  
**NOVOS DESAFIOS**

---

Obrigado pela atenção!

[Carina.menezes@insa.min-saude.pt](mailto:Carina.menezes@insa.min-saude.pt)

[Elsa.dias@insa.min-saude.pt](mailto:Elsa.dias@insa.min-saude.pt)