



RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS

SÉRIE DIGITAL

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS BIVALVES DA
RIA FORMOSA – VINTE ANOS DE RESULTADOS

Florbela Soares, Catarina Almeida e Rui Cachola

2012

54



Os **RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS DO IPIMAR** destinam-se a uma divulgação rápida de resultados preliminares de carácter científico e técnico, resultantes de actividades de investigação e de desenvolvimento e inovação tecnológica. Esta publicação é aberta à comunidade científica e aos utentes do sector, podendo os trabalhos serem escritos em português, em francês ou em inglês.

A **SÉRIE COOPERAÇÃO** destina-se, primordialmente, à divulgação de trabalhos realizados com países terceiros no âmbito de programas de cooperação.

A **SÉRIE DIGITAL** destina-se a promover uma Consulta mais diversificada e expedita dos trabalhos na área da investigação das pescas e do mar.

Edição

IPIMAR

Avenida de Brasília

1449-006 LISBOA

Portugal

Corpo Editorial

Francisco Ruano – Coordenador

Aida Campos

Irineu Batista

Manuela Falcão

Maria José Brogueira

Maria Manuel Martins

Rogélia Martins

Edição Digital

Anabela Farinha / Irineu Batista / Luís Catalan

As instruções para os autores estão disponíveis no sítio web do IPIMAR <http://ipimar-iniap.ipimar.pt/> ou podem ser solicitadas aos membros do Corpo Editorial desta publicação

Capa

Luís Catalan

ISSN

1645-863x

Todos os direitos reservados

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS BIVALVES DA RIA FORMOSA – VINTE ANOS DE RESULTADOS

Florbelo Soares, Catarina Almeida e Rui Cachola

Unidade de Aquicultura - IPIMAR

Recebido em 28.07.11

Aceite em 20.02.12

RESUMO

As zonas de produção de bivalves (ZPB's) da Ria Formosa são muito importantes do ponto de vista socioeconómico, não só a nível regional mas também nacional, uma vez que contribuem com 80% da produção nacional. Com este estudo pretendeu-se avaliar a evolução temporal e espacial da contaminação fecal, ocorrida entre 1990 e 2009, em bivalves das cinco principais ZPB's da Ria Formosa (Cacela, Tavira, Fuzeta, Olhão e Faro) e a sua relação com as variáveis ambientais.

Os valores mais elevados de *Escherichia coli* (*E. coli*) nos bivalves foram obtidos durante os anos 90, possivelmente relacionados com a descarga de águas residuais não tratadas directamente para a ria. Durante a década de 2000 registou-se uma diminuição dessa contaminação, sendo 83% da população já servida por estações de tratamento de águas residuais (ETAR's) em 2002.

Os bivalves recolhidos na zona de Faro foram os que apresentaram os teores de *E. coli* mais elevados, tendo os de Olhão, Tavira e Fuzeta apresentado níveis de contaminação intermédios. Estas ZPB's foram maioritariamente classificadas com o estatuto sanitário B. No entanto as zonas, de Faro, Olhão e Tavira atingiram por diversas vezes a classificação C, sendo por isso necessário identificar e eliminar as fontes de contaminação existentes nestes centros urbanos, caso contrário, os viveiros mais afectados terão possivelmente de ser realocados. Pelo contrário, os valores mais baixos de contaminação fecal foi detectada nos bivalves provenientes da zona de Cacela, tendo esta zona sido maioritariamente classificada como A. A sua localização permitem uma melhor recirculação e renovação da coluna de água.

De uma maneira geral, o teor de *E. coli* nos bivalves foi mais elevado no Outono e Inverno e mais baixo na Primavera e Verão. Este facto encontra-se relacionado com as variações sazonais dos parâmetros ambientais como a precipitação, temperatura e salinidade. A influência destes factores é potenciada pelo facto da Ria Formosa ser um sistema lagunar pouco profundo. As escorrências das águas pluviais aumentam a contaminação fecal, com o transporte de contaminantes. Pelo contrário, o aumento da temperatura e salinidade estiveram associados a um decréscimo da contaminação fecal.

Assim, é necessário um acompanhamento da contaminação microbiológica existente nas várias ZPB's da Ria Formosa, para que se possa garantir a qualidade da produção de bivalves a curto e longo prazo.

Palavras-chave: Bivalves, *Escherichia coli*, Ria Formosa

ABSTRACT

Title: Microbiological quality of bivalves from Ria Formosa Lagoon - 20 years of results

Bivalve production areas (BPA) in the Ria Formosa Lagoon, south coast of Portugal, are social and economically significant at regional and national levels, contributing for 80% of national production. In this study the temporal and spatial evolution of faecal contamination, between 1990 and 2009, in bivalves from the BPA in the Ria Formosa were evaluated. The relationships with environmental variables like temperature, salinity, pH, oxygen saturation and precipitation were also assessed.

The highest values of *Escherichia coli* (*E. coli*) in bivalves were obtained during the 90s, probably due to the discharge of untreated wastewaters directly into the lagoon. During the 2000s this contamination decreased, with 83% of the population already served by new or remodeled sewage treatment plants (STP's).

Bivalves collected at Faro showed the highest levels of *E. coli*, while those from Olhão, Tavira and Fuzeta had middle values. These BPA were mainly classified as class B. However, Faro, Olhão e Tavira exhibited for several times the category C, being urgent to identify and eliminate the punctual and diffuses contamination sources. Otherwise, the most impacted shellfish beds will have to be relocated in other less affected sites. On the other hand, bivalves from Cacela showed the lowest faecal contamination, being this area normally classified as A, because it is located in an area with more recirculation and renewal of water.

Seasonally, the levels of *E. coli* in bivalves were in general higher in autumn and winter, while lowest in spring and summer. This is due to the seasonal variations of environmental factors such as rainfall, temperature and salinity. The influence of these factors is enhanced by the fact that the Ria Formosa is a shallow water lagoon. The runoff increases the faecal contamination, while the high temperatures and salinity were associated with faecal contamination decrease.

The regular monitoring of microbiological contamination in the Ria Formosa lagoon is essential to ensure the quality of the shellfish production, very important for this region.

Keywords: Bivalves, *Escherichia coli*, Ria Formosa

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOARES, F.; ALMEIDA, C., CACHOLA, R. 2012. Qualidade microbiológica dos bivalves da Ria Formosa – vinte anos de resultados. *Relat. Cient. Téc. Inst. Invest. Pescas Mar, Série Digital, n°54*, 47 p.

INTRODUÇÃO

A Ria Formosa, a principal zona lagunar da região do Algarve, suporta diversas e importantes actividades económicas, nomeadamente a produção de moluscos bivalves e a aquacultura (Coelho et al., 2002; Ens et al., 2007).

As zonas de produção de bivalves (ZPB's), localizadas em sistemas lagunares como a Ria Formosa, podem ser significativamente afectadas pelas fontes de contaminação existentes. Os bivalves, como organismos filtradores, concentram um maior número de microrganismos do que o meio onde se desenvolvem, sendo por isso extremamente importante o seu controlo higio-sanitário. O consumo dos bivalves constitui assim um potencial risco para a saúde pública, devendo a sua produção, salubridade e comercialização ser devidamente controladas. A contaminação microbiológica dos bivalves pode causar doenças infecciosas como a febre tifóide, cólera, gastroenterites e hepatites. Compete ao INRB, IP/IPIMAR a classificação e monitorização das zonas de produção de moluscos bivalves em Portugal, incluindo o seu controlo sanitário. Este controlo baseia-se essencialmente na quantificação do teor de bactérias indicadoras da contaminação fecal em espécies de referência, como a amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*), o berbigão (*Cerastoderma* spp.) e as ostras (*Crassostrea* spp.; *Ostrea* spp.) (Cachola & Campos, 2006; Pedro et al., 2008a,b).

Para cada zona de produção é estabelecido um programa anual de amostragem de moluscos bivalves vivos. Com base na análise dos dados obtidos é definido o número de amostras a realizar, a distribuição geográfica dos locais de amostragem e a frequência de amostragem. Pretende-se assim que os resultados sejam representativos de cada zona de produção (Pedro et al., 2008c). Na Ria Formosa existem cinco principais zonas de produção, Cacela, Tavira, Fuzeta, Olhão e Faro. Entre 1990 e 2005 estas encontravam-se divididas em 23 sub-zonas, de 2006 a 2008 em 17 e em 2009 em 11 sub-zonas. Estas subzonas têm vindo a ser agregadas dada a maior constância nos resultados obtidos no programa de amostragem.

A monitorização microbiológica das ZPB's envolve a sua classificação em categorias ou estatuto sanitário, de acordo com os teores bacteriológicos encontrados (Tabela 1). Actualmente e desde 2005 esta classificação baseia-se no teor de *Escherichia coli*. Anteriormente era efectuada com base no Número Mais Provável (NMP) de coliformes

fecais (CF) por 100g de carne e líquido intervalvar. Estes sistemas de classificação permitem avaliar o grau de contaminação fecal existente nas diferentes zonas de produção de bivalves e determinar qual o tipo de tratamento necessário a que os bivalves têm de ser submetidos para poderem ser comercializados (Cachola & Campos, 2006).

Tabela 1 - Critérios microbiológicos para classificação das zonas de produção de moluscos bivalves vivos de acordo com o Regulamento (CE) N°854 (Anónimo, 2004).

Classes	Níveis Permitidos (Teor de <i>E. coli</i> /100g)	Resultados
A	≤ 230 <i>E. coli</i> /100g de carne e líquido intervalvar	Centro de Expedição e Consumo Directo
B	$230 < E. coli \leq 4600$ /100g de carne e líquido intervalvar em 90% das amostras	Depuração e depois cumprir os requisitos da Classe A
C	$4600 < E. coli \leq 46000$ /100g de carne e líquido intervalvar	Indústria transformadora ou permanecer pelo menos 2 meses em zona de transposição
D	> 46000 <i>E. coli</i> /100g de carne e líquido intervalvar	Proibida a apanha

Neste trabalho apresentam-se os teores microbiológicos obtidos em bivalves provenientes da Ria Formosa ao longo de 20 anos de estudo, entre 1990 e 2009. Pretende-se assim avaliar a evolução temporal e espacial da contaminação fecal existente nas principais ZPB's da Ria Formosa. Pretende-se ainda analisar as relações existentes entre os níveis de *E. coli* nos bivalves e as variáveis ambientais, nomeadamente a temperatura da água, salinidade, pH e oxigénio dissolvido e a precipitação.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem e transporte das amostras

Entre Janeiro de 1990 e Dezembro de 2009, foram recolhidas mensalmente 15 a 50 amostras de diversas espécies, tais como amêijoia-boia (*R. decussatus*), berbigão (*Cerastoderma* spp.) e ostras (*Crassostrea* spp.; *Ostrea* spp.) provenientes das 5 ZPB's da Ria Formosa (Fig. 1), em situação de baixa-mar. Ao longo dos vinte anos as ZPB's da Ria Formosa foram sofrendo alterações, sendo divididas de forma diferente de acordo com a legislação (Despacho n.º 19960/2008; Despacho n.º 14515/2010), tendo

sido efectuadas alterações em 2006 e 2009 (Tabela 2). Neste estudo foram consideradas para os cálculos as zonas de produção actuais. Assim, dado que anteriormente existiam mais pontos de amostragem (mais subdivisões nas ZPB's principais) todos os valores foram considerados, tendo-se efectuado a média dentro da zona correspondente, mantendo-se as actuais subzonas.

Tabela 2 – Classificação das 5 principais zonas de Produção de Bivalves (ZPB's) da Ria Formosa entre 1990 e 2009.

ZPN		1990-2005	2006-2008	2009
Cacela	Cacela	VRSA1	VRSA1	VRSA1
Tavira	Fábrica	TAV1	TAV1	TAV1
	Quatro Águas	TAV2	TAV2	TAV2
	Torre D'Aires/ Livramento	TAV3		
Fuzeta	Murteira	FUZ1	FUZ1	FUZ1
	Ilha da Fuzeta	FUZ2		
	Salva Vidas	FUZ3		
Olhão	Regueira de Água Quente	OLH1	OLH1	OLH1
	Regueira dos Barcos	OLH2	OLH2	
	Marim	OLH3	OLH3	OLH2
	Fortaleza	OLH4	OLH4	
	Anixa	OLH5		OLH3
	Alcorão	OLH6		
	Coroa dos Mouros	OLH7	OLH6	
	Esteiro do Malhado	OLH8	OLH7	OLH4
	Garganta	OLH9	OLH8	
	Marchil	OLH10		OLH5
	Culatra	OLH11		
Faro	Cais Comercial	FAR1	FAR1	FAR1
	Marchil	FAR2	FAR2	
	Ramalhete	FAR3	FAR3	FAR2
	Largura	FAR4		
	Carga Palha	FAR5	FAR4	

As amostras de bivalves das espécies de referência foram colocadas individualmente em sacos de rede, conservadas entre 0 e 4°C em caixas isotérmicas e transportadas vivas para o laboratório. O intervalo de tempo entre a recolha de bivalves e o início da análise laboratorial não ultrapassou as 24 horas.

Foram determinados *in situ* os seguintes parâmetros físico-químicos da água: temperatura (°C), salinidade e pH com uma sonda multiparamétrica WTW Multiline P4 e o oxigénio dissolvido (%) com uma sonda WTW Oxi 325. Relativamente aos valores de precipitação, estes foram obtidos a partir da base de dados do Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos (<http://www.snirh.pt>) (SNIRH, 2010).



Figura 1 - Localização das zonas de produção de moluscos bivalves na Ria Formosa.

Quantificação de bactérias indicadoras de contaminação fecal na carne e líquido intervalvar dos bivalves

Inicialmente, os bivalves inteiros e fechados foram lavados e escovados em água corrente e secos com papel absorvente. Em seguida procedeu-se à preparação das amostras de acordo com a NP-1829 (NP, 1982).

Os teores de CF nos bivalves foram quantificados através do NMP, em 5 tubos e 3 diluições. A 25g de carne e líquido intervalvar foram adicionadas 225g de solução de triptona sal. A solução foi homogeneizada durante 45 a 60s, tendo-se obtido a diluição de 10^{-1} denominada suspensão-mãe. Desta solução retiraram-se alíquotas de 10ml para uma série de 5 tubos, contendo cada um, um tubo de Durham, meio selectivo de verde brilhante e 2% bÍlis (VB) em concentração dupla. A partir da diluição efectuada com triptona sal, retiraram-se alíquotas de 1ml para as seguintes séries de tubos, contendo cada um deles um tubo de Durham com a mesma solução, obtendo-se assim as diluições de 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} . Os tubos foram incubados em estufa a 36 ± 1 °C, durante 24h a 48h. Foram considerados positivos os tubos onde a produção de gás atingiu pelo menos 1/10 da altura do tubo de Durham. As leituras realizaram-se após as 24h e 48h de incubação. A partir do número de tubos positivos, calculou-se o NMP de CF presentes em 100g de carne e líquido intervalvar, com base nas tabelas de probabilidades. Em seguida fez-se a extrapolação do NMP de CF para o NMP de *E. coli*. ($\text{NMP } E. coli = 0,7667 \times \text{NMP CF}$) e calculou-se o seu logaritmo decimal ($\text{Log NMP } E. coli/100\text{g}$). Para validar esta extrapolação foi efectuado um teste preliminar para se detectarem eventuais diferenças entre os resultados obtidos pelos dois métodos (NMP de Coliformes Fecais e NMP de *E. coli*), através do teste ANOVA. Não foram detectadas diferenças significativas entre os métodos ($F = 0,262$; $p = 0,609$).

Para a pesquisa de *E. coli* foi utilizada a técnica da fermentação dos tubos múltiplos com séries de 5 tubos, baseado no método Donovan et al. (1998) e normalizado na ISO/TS16649-3 (ISO, 2005) com a determinação do NMP. Para a prova presuntiva, semearam-se 10 ml da suspensão-mãe em cada tubo de uma série de cinco tubos contendo o caldo de glutamato modificado com minerais (meio MMGB) em concentração dupla. Inoculou-se 1 ml da suspensão-mãe nos cinco tubos contendo o meio MMGB em concentração simples e inoculou-se o volume de 1 ml das diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} noutras séries de cinco tubos contendo o mesmo meio. Os tubos foram

colocados numa estufa de incubação a $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 24h. Consideraram-se suspeitos os tubos que apresentaram turvação e alteração da cor lilás do meio para amarelo, indicando viragem do pH devido à produção de ácido. Os tubos suspeitos foram sujeitos a prova de confirmação. Repicaram-se estes tubos com ansas de $10\mu\text{l}$ para placas que continham meio Agar de triptona biliar x-glucoronídeo (Meio TBX), seccionadas num máximo de três partes iguais. Incubaram-se as placas com meio TBX na estufa a $44^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24\text{h}\pm 2\text{h}$. Nas placas com meio TBX, o crescimento de colónias azuis/esverdeadas indicou a presença de *E. coli*. Reportaram-se as secções consideradas positivas aos tubos de MMGB e anotou-se o número de tubos com reacção positiva em cada uma das diluições das respectivas amostras. Para cada amostra anotou-se o número de resultados positivos para cada série de tubos. Escolheram-se três séries consecutivas de tubos que apresentaram reacções positivas e negativas, respeitando as regras estabelecidas pela ISO 7218 (ISO, 2007) e leu-se o NMP de *E. coli* presente em 100g de amostra de carne e líquido intervalvar a partir da respectiva tabela. As concentrações de *E. coli*, inicialmente expressas em NMP de microrganismos por 100g, foram transformadas em logaritmo decimal ($\text{Log NMP } E. coli/100\text{g}$).

Análise estatística

Os resultados da contaminação fecal foram agregados segundo as 5 principais zonas de produção de bivalves da Ria Formosa (Cacela, Tavira, Fuzeta, Olhão e Faro; representados na figura 1 e tabela 2) tal como foi descrito anteriormente. Calcularam-se as variações mensais, sazonais e anuais (média e erro padrão) do NMP de *E. coli* nos bivalves de cada ZPB entre 1990 e 2009, expressas através do logaritmo decimal. Os valores de *E. coli* nos bivalves da Ria Formosa foram determinados através da média geral do NMP *E. coli* nos bivalves destas 5 ZPB's.

Para o tratamento estatístico recorreu-se ao programa SPSS 17.0. O nível mínimo de confiança considerado foi de 95%. As diferenças temporais e espaciais nos teores de *E. coli* dos bivalves foram detectadas através da análise de variância (One Way ANOVA), seguida do teste de comparação múltipla de Tukey, depois de provadas a homogeneidade das variâncias (teste de Levene) e a normalidade dos dados (teste de Kolmogorov-Smirnov).

Foi utilizada a análise de componentes principais (ACP), englobando os teor de *E. coli* nos bivalves, os parâmetros físico-químicos da água (temperatura, salinidade, pH e oxigénio dissolvido medidos *in situ*) e a precipitação média mensal (mm; SNIRH, 2011) para a Ria Formosa no geral e para cada uma das ZPB's em particular. Pretendeu-se assim discriminar quais as principais variáveis responsáveis pela variância dos dados. Foram também calculadas as correlações entre estes parâmetros, tendo-se recorrido ao coeficiente de Spearman, devido à não normalidade de algumas variáveis ambientais.

RESULTADOS

Escherichia coli em bivalves da Ria Formosa - Geral

A figura 2 apresenta a evolução do teor de *E. coli* nas espécies de bivalves de referência recolhidos na Ria Formosa, entre 1990 e 2009. Estes resultados englobam a contaminação detectada em bivalves recolhidos em todas as ZPB's da Ria Formosa, entre Cacela e Faro. Os valores mais elevados foram obtidos em 1992 e os mais baixos em 2004. Os resultados parecem demonstrar uma tendência para a diminuição dos teores de *E. coli* nos bivalves provenientes da Ria Formosa nos últimos anos.

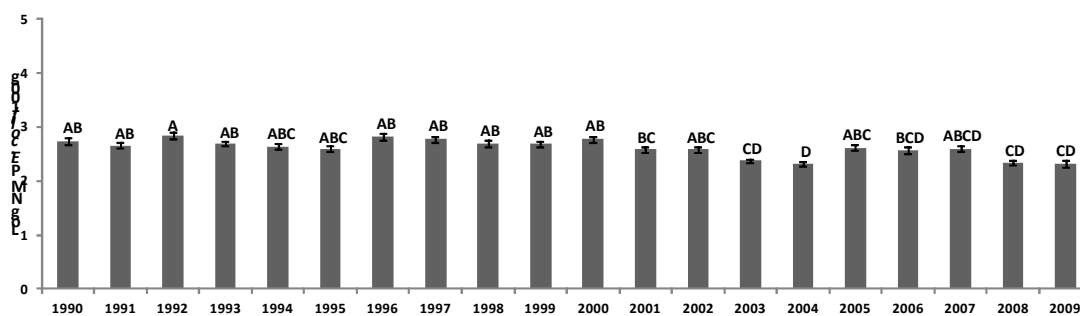


Figura 2 - Evolução do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) em bivalves da Ria Formosa, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre locais.

A figura 3 mostra a variação sazonal do teor de *E. coli* nas espécies de referência, entre 1990 e 2009. Neste intervalo de 20 anos, os bivalves apresentaram valores de contaminação fecal mais elevados nas estações do Outono e Inverno, relativamente aos da Primavera e Verão.

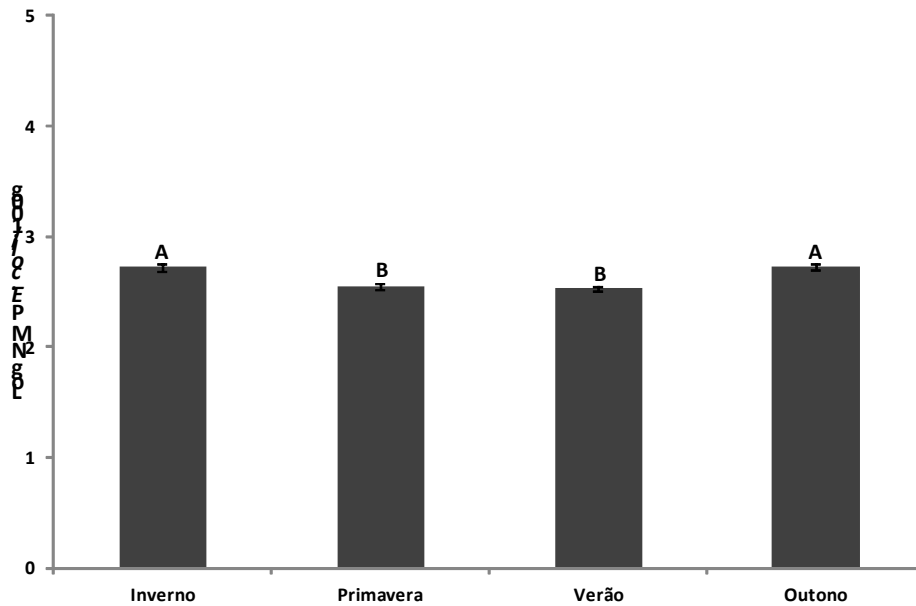


Figura 3 - Variação sazonal do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves da Ria Formosa, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre estações do ano.

Na figura 4 encontram-se representados os níveis médios gerais de *E. coli* obtidos, entre os anos 1990 e 2009, em bivalves recolhidos nas 5 principais ZPB's da Ria Formosa: Cacela, Tavira, Fuzeta, Olhão e Faro.

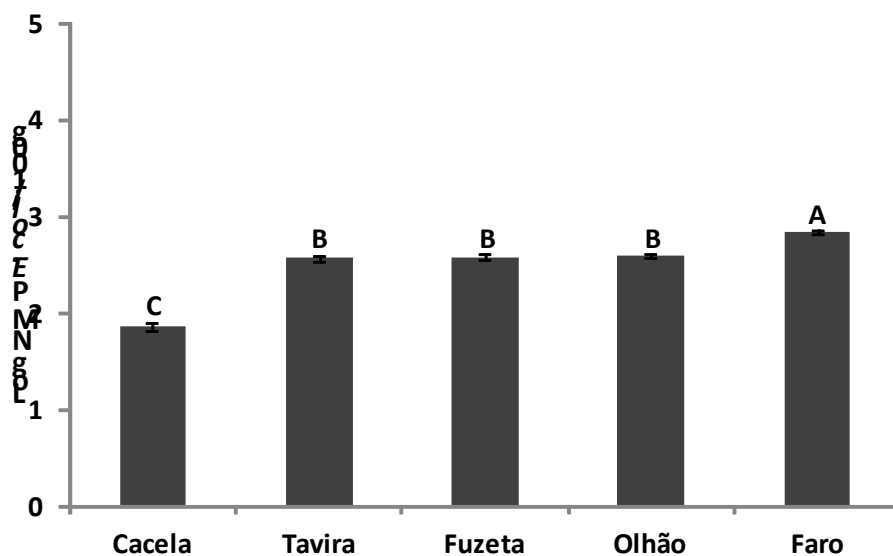


Figura 4 - Teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) em bivalves da Ria Formosa recolhidos em Cacela, Tavira, Fuzeta, Olhão e Faro, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre locais.

Os bivalves recolhidos em Faro foram os que apresentaram os níveis de contaminação mais elevados, enquanto que os de Cacela apresentaram valores significativamente mais baixos. Entre os bivalves de Tavira, Fuzeta e Olhão não se registaram diferenças significativas, apresentando teores de *E. coli* intermédios entre os inicialmente referidos. Assim, os níveis de *E. coli* em bivalves recolhidos na Ria Formosa variaram da seguinte forma: Cacela < Tavira = Fuzeta = Olhão < Faro.

Na figura 5 pode observar-se qual a percentagem que cada zona de produção obteve de cada estatuto sanitário (A, B ou C; tabela 1) ao longo deste intervalo de 20 anos, entre 1990 e 2009. Os resultados acompanham a mesma variação do teor de *E. coli* anteriormente descrito (Fig. 4). Tavira, Fuzeta, Olhão e Faro foram maioritariamente classificadas com o estatuto sanitário B (> 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g), enquanto que Cacela teve uma maior percentagem da classe A (≤ 230 NMP *E. coli*/100g). A zona com maior proporção da classe C (> 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g) foi Faro.

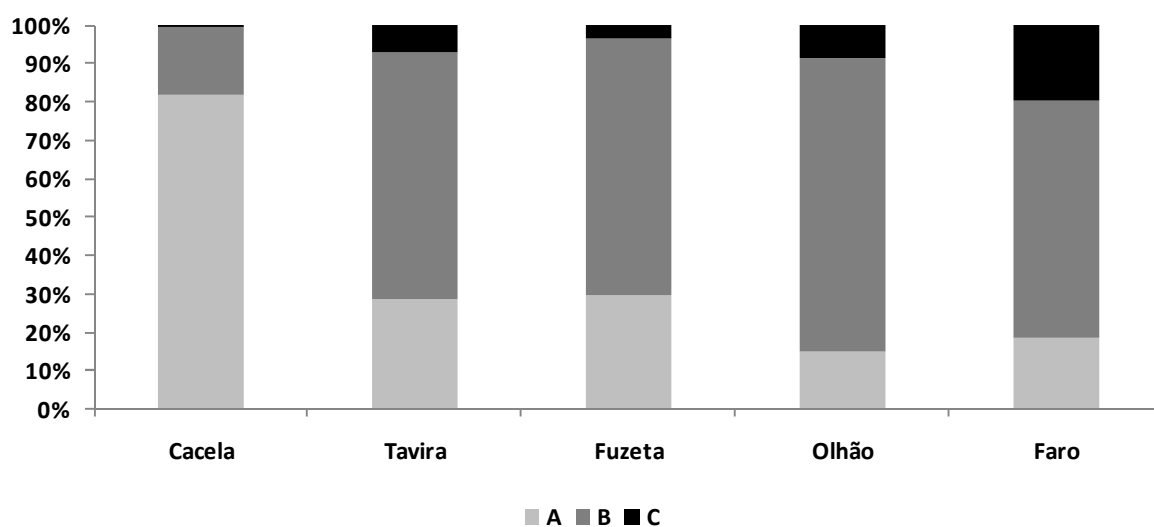


Figura 5 – Distribuição do estatuto sanitário (A, B e C) das zonas de produção da Ria Formosa entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

Em seguida diferenciaram-se as principais variáveis responsáveis pela variância geral dos dados obtidos para a Ria Formosa (Fig. 6). Para tal recorreu-se à Análise de

Componentes Principais (ACP). Além do teor de *E. coli* nos bivalves foram também utilizados os seguintes parâmetros ambientais: temperatura da água, salinidade, oxigénio dissolvido e pH medidos *in situ* e dados sobre a precipitação mensal (mm) na estação meteorológica de São Brás de Alportel, disponibilizada pelo Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos (SNIRH, 2010).

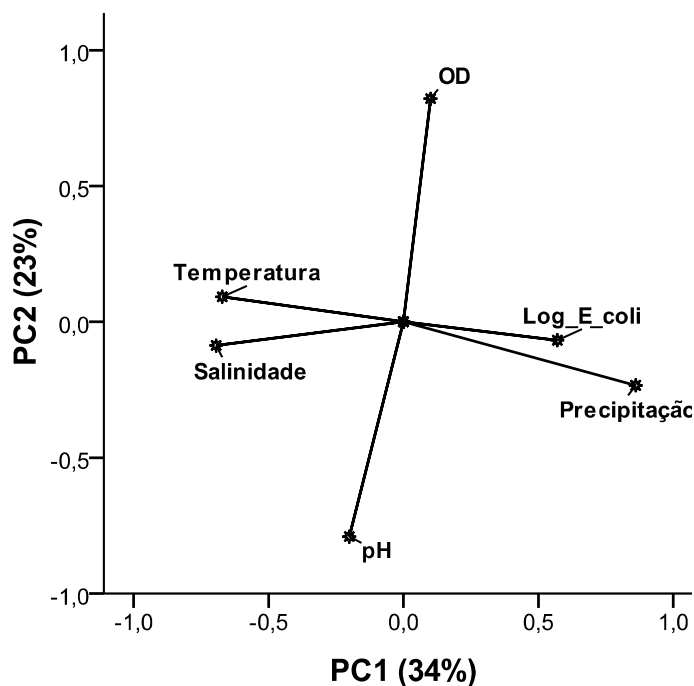


Figura 6 - ACP com o teor de *Escherichia coli* nos bivalves da Ria Formosa, entre 1990 e 2009, e os respectivos parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigénio dissolvido (OD; %) e precipitação (mm).

Este modelo explica 57% da variação total dos dados. Na primeira componente, responsável por 34% da variância dos dados, pode observar-se que a um aumento da precipitação corresponde um aumento do teor de *E. coli* nos bivalves e uma diminuição da temperatura e salinidade da água. A segunda componente, responsável por 23% da variação dos dados, mostra que a um aumento do oxigénio dissolvido na água corresponde a uma diminuição do seu pH.

Foram também analisadas as correlações existentes entre estas variáveis (tabela 3). Pode verificar-se que a quantidade de *E. coli* nos bivalves da Ria Formosa se encontra positivamente correlacionada com a precipitação e negativamente com a salinidade da água.

Tabela 3 - Coeficiente de correlação de Spearman entre o teor de *Escherichia coli* nos bivalves e os parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigénio dissolvido (OD) e precipitação (mm) para a Ria Formosa. Apenas se apresentam as correlações significativas ($p < 0,05$).

	Log <i>E. coli</i>	Temperatura	Salinidade	pH
Log <i>E. coli</i>	-	-	-0,20	-
Salinidade	-0,20	0,44	-	0,14
OD	-	-	-	-0,30
Precipitação	0,19	-0,56	-0,43	-

Em seguida procedeu-se à análise de cada ZPB em particular (Cacela, Tavira, Fuzeta, Olhão e Faro), analisando-se a evolução da contaminação fecal existente nos bivalves ao longo dos 20 anos em estudo.

Na tabela 4 apresentam-se as classificações de todas as ZPB's da Ria Formosa, entre 1990 e 2009. Pode verificar-se que a classe B (> 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g) é o estatuto predominante. Cacela é a zona com melhor classificação A (≤ 230 NMP *E. coli*/100g) e Faro com maior preponderância da classe C (> 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g) especialmente nos anos 90.

Tabela 4 - Classificação das Zonas de Produção de Bivalves (ZPB's) da Ria Formosa entre 1990 e 2009.

ZPN		1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Cacela	Cacela	B	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	B
Tavira	Fábrica	B	C	B	B	B	B	B	B	B	B	C	B	A	A	A	B	B	B	B	B
	Quatro Águas	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	Torre D'Aires/ Livramento	B	B	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B				
Fuzeta	Murteira	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	Ilha da Fuzeta	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B				
	Salva Vidas	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B				
Olhão	Regueira de Água Quente	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B
	Regueira dos Barcos	B	B	C	B	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	
	Marim	B	B	C	B	B	B	C	B	B	B	B	C	B	A	B	B	B	B	B	B
	Fortaleza	B	B	C	B	B	B	B	C	B	B	B	C	B	B	A	B	B	B	B	B
	Anixa	B	B	B	B	B	B	C	C	B	B	B	B	B	B	B	C				
	Alcorão	A	B	C	B	B	B	C	B	B	B	C	B	B	B	B	B	C	B	B	B
	Coroa dos Mouros	B	B	B	B	B	B	C	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	
	Esteiro do Malhado	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	C	B	B	B	B	B	B	B	B
	Garganta	B	B	C	B	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	C	B	B	B
	Marchil	C	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	C				
Culatra	B	B	C	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A
Faro	Cais Comercial	C	C	C	C	B	C	C	C	C	C	B	B	B	B	B	B	C	B	A	B
	Marchil	C	C	C	C	B	B	C	C	C	B	C	B	C	B	B	B	C	B	B	
	Ramalhete	B	B	C	B	C	B	B	B	B	C	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A
	Largura	B	B	B	B	C	B	B	C	C	B	B	B	B	B	A	B				
	Carga Palha	B	B	B	B	C	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	A	B	A	B	A

Escherichia coli em bivalves da Ria Formosa - Cacela

Na figura 7 encontra-se a evolução temporal dos níveis de *E. coli* em bivalves de Cacela, entre 1990 e 2009. A classificação desta zona variou ao longo destes 20 anos entre as classes A e B, tendo maioritariamente sido classificada como A (Fig. 8). Apenas em Setembro de 2007, os bivalves deste local apresentaram valores superiores de *E. coli*, tendo por isso atingido nessa altura a classe C.

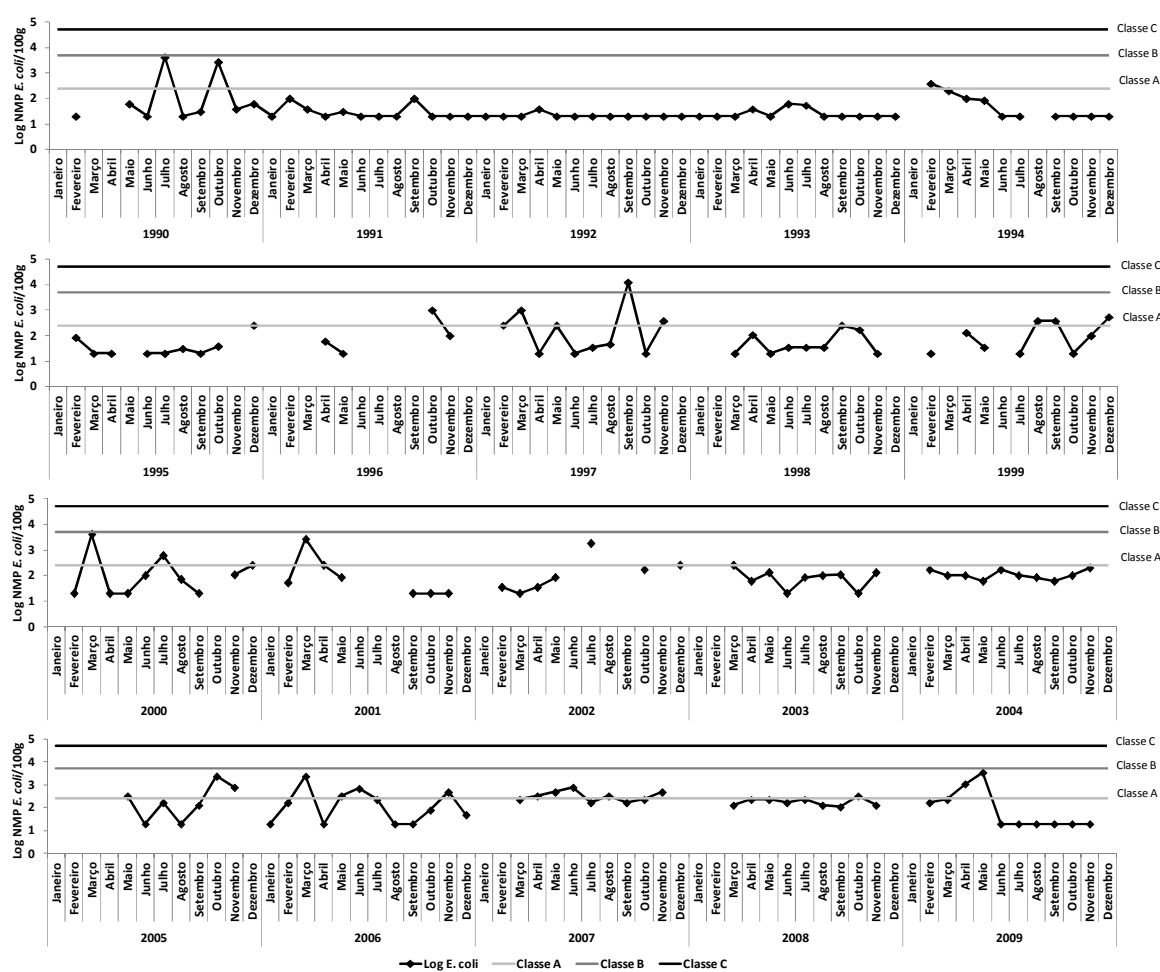


Figura 7 - Evolução temporal do teor de *Escherichia coli* nos bivalves de Cacela, entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

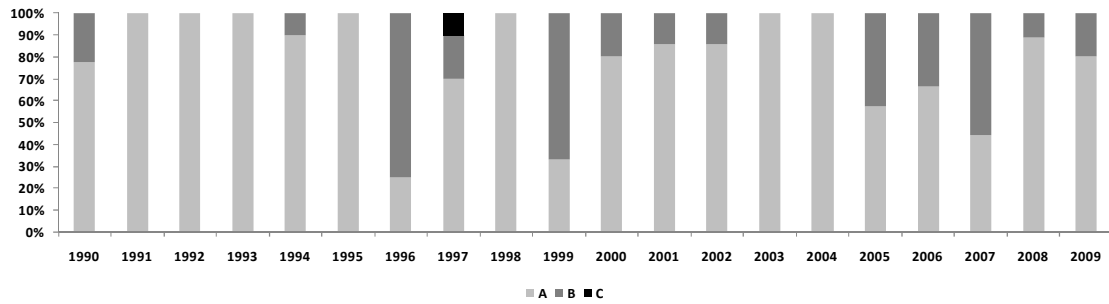


Figura 8 - Evolução do estatuto sanitário (A, B e C) da zona de produção de Cacela entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

Observando as variações anuais dos níveis de *E. coli* nos bivalves de Cacela (Fig. 9), pode verificar-se que estes foram significativamente mais elevados em 2007 do que em 1991, 1992 e 1993. Não foram encontradas diferenças significativas entre os restantes anos analisados.

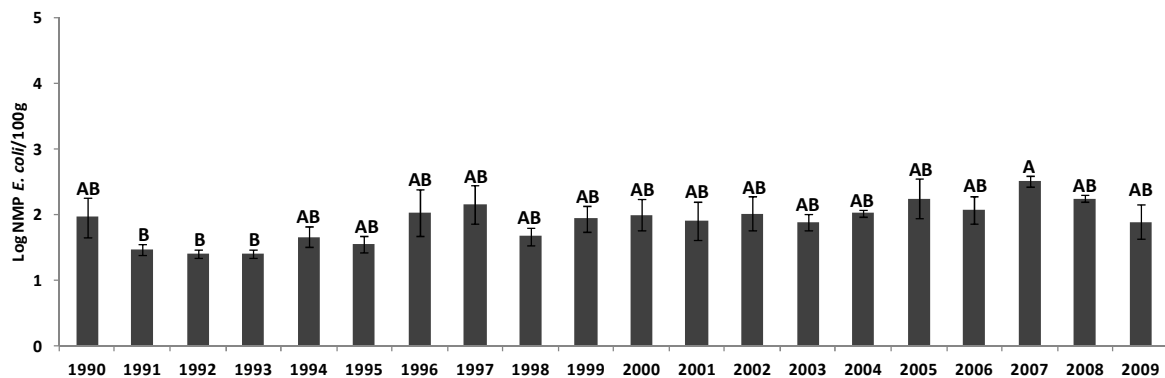


Figura 9 - Variações anuais do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves de Cacela, entre os anos 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre anos.

Considerando os níveis de *E. coli* no geral, entre os anos 1990 e 2009, não se detectaram diferenças significativas entre estações do ano (Fig. 10), nem entre meses (Fig. 11).

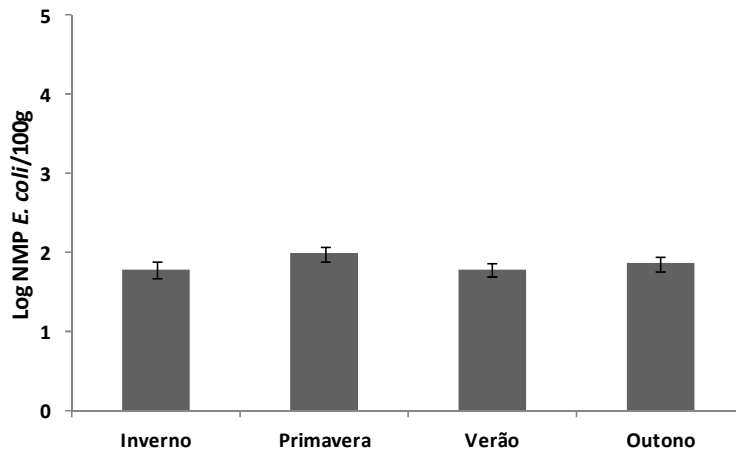


Figura 10 - Variação sazonal do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves de Cacela, entre 1990 e 2009.

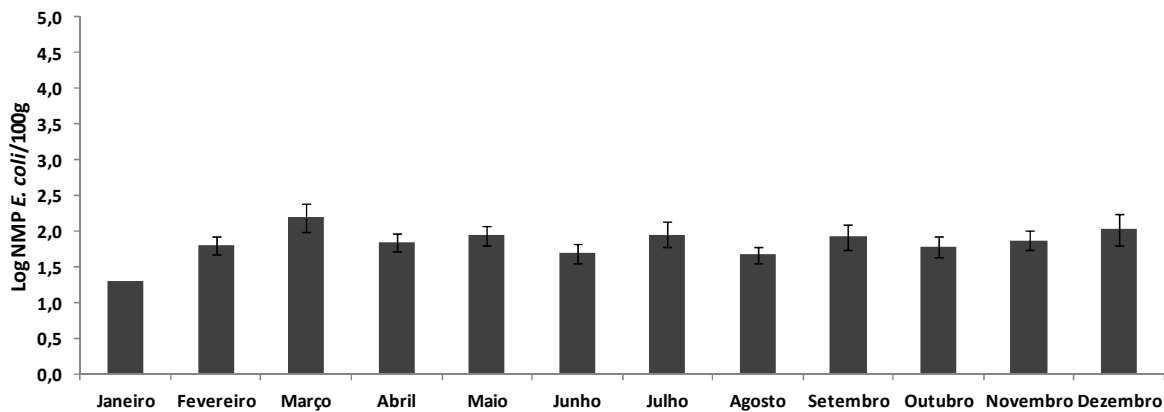


Figura 11 - Variação mensal do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves de Cacela, entre 1990 e 2009.

A figura 12 apresenta a ACP com o teor de *E. coli* nos bivalves de Cacela entre 1990 e 2009, os respectivos parâmetros ambientais medidos *in situ* e a precipitação mensal (mm) (SNIRH, 2010). Este modelo explica 53% da variância total dos dados. A primeira componente (31% da variância) mostra que a um aumento da temperatura e salinidade corresponde uma diminuição da precipitação. A segunda componente (22%) indica que o teor de *E. coli* nos bivalves varia no mesmo sentido que o pH e no sentido inverso ao oxigénio dissolvido (OD).

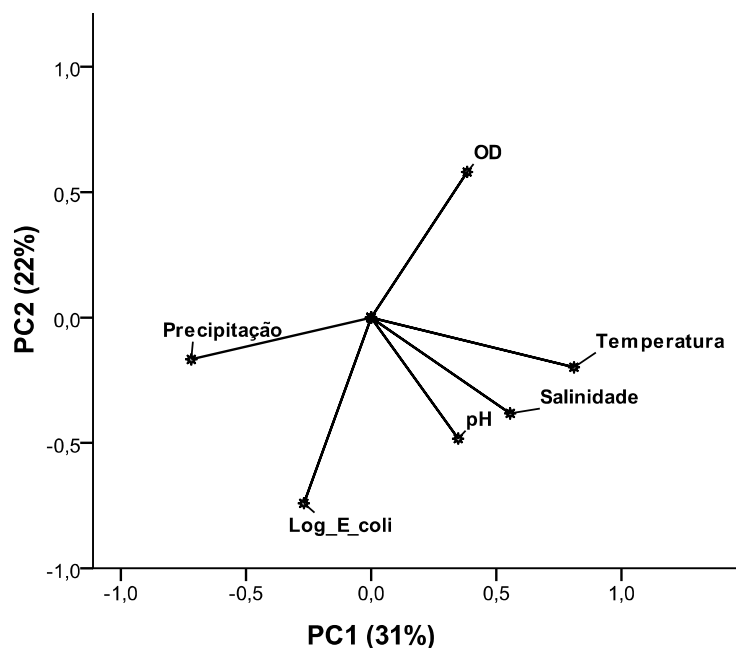


Figura 12 - ACP com os teor de *Escherichia coli* nos bivalves de Cacela, entre 1990 e 2009, e os respectivos parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigénio dissolvido (OD; %) e precipitação (mm).

Na tabela 5 encontram-se os coeficientes de correlação entre estas variáveis. As correlações seguem a mesma tendência apresentada pela ACP (Fig. 12), verificando-se que os níveis de *E. coli* se encontram negativamente correlacionados com o oxigénio dissolvido.

Tabela 5 - Coeficiente de correlação de Spearman entre o teor de *Escherichia coli* nos bivalves e os parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigénio dissolvido (OD) e precipitação (mm) para a estação de Cacela. Apenas se apresentam as correlações significativas ($p < 0,05$).

	Temperatura	Salinidade	OD	Precipitação
Log <i>E. coli</i>	-	-	-0,28	-
Temperatura	-	0,44	-	-0,52
Salinidade	0,44	-	-	-0,30
pH	0,29	0,24	-	-

Escherichia coli em bivalves da Ria Formosa - Tavira

A figura 13 apresenta a evolução dos níveis de *E. coli* nos bivalves de Tavira entre 1990 e 2009. A classificação desta zona de produção variou entre as classes A, B e C tendo principalmente sido classificada como B (Fig. 14). A classe C foi maioritariamente alcançada no início dos anos 90.

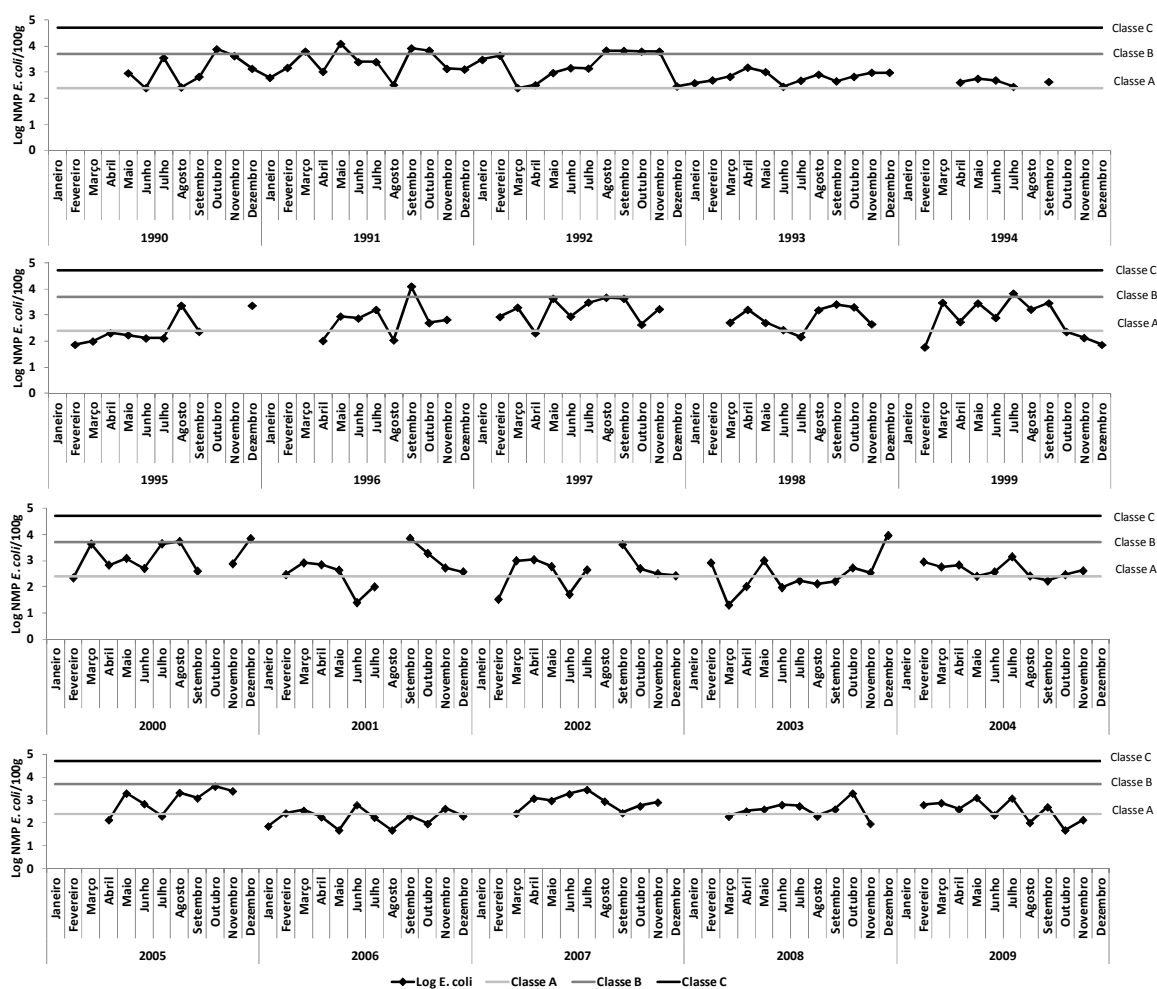


Figura 13 - Evolução temporal do teor de *Escherichia coli* nos bivalves de Tavira, entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

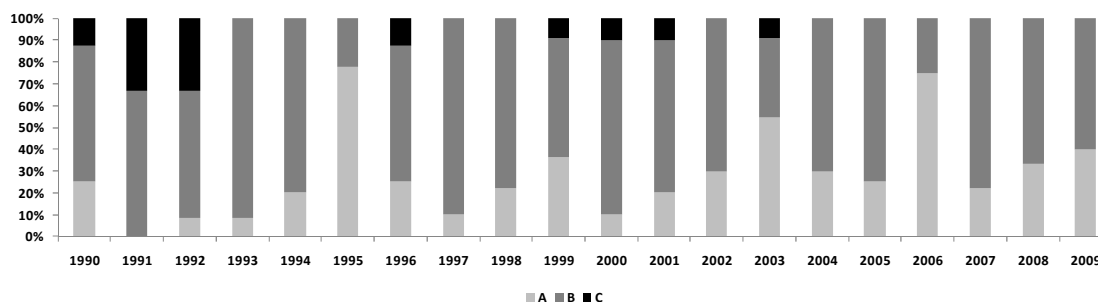


Figura 14 - Evolução do estatuto sanitário (A, B e C) da zona de produção de Tavira entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

Comparando os níveis de *E. coli* nos bivalves de Tavira entre os anos 1990 e 2009 (Fig. 15), em 1991 foram significativamente mais elevados do em 1995, 2002, 2003 e 2006. Nos anos 1997, 2000 e 2005, os valores foram superiores aos registados em 2002, 2003 e 2006. Os valores mais baixos registaram-se em 2006, significativamente diferentes dos obtidos em 1990, 1991, 1992, 1997, 2000 e 2005.

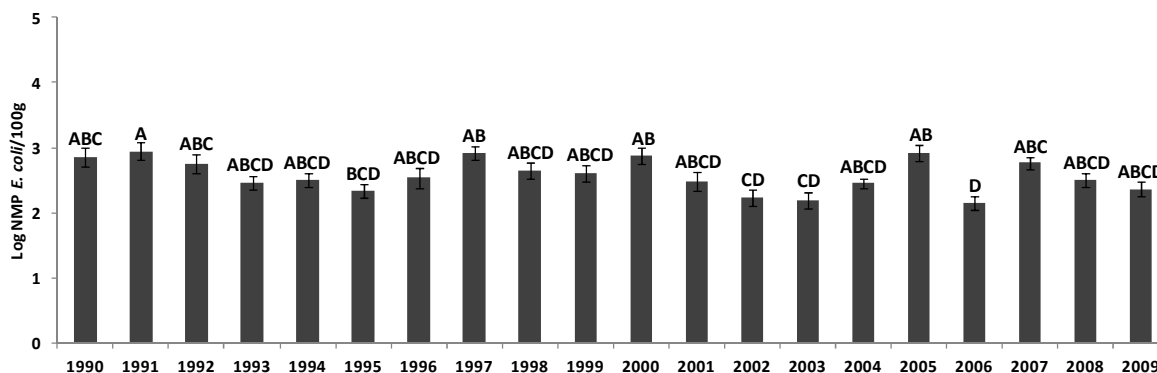


Figura 15 - Variações anuais do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves de Tavira, entre os anos 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre anos.

Relativamente às diferenças entre estações do ano para os dados em geral (Fig. 16), não se verificaram diferenças significativas.

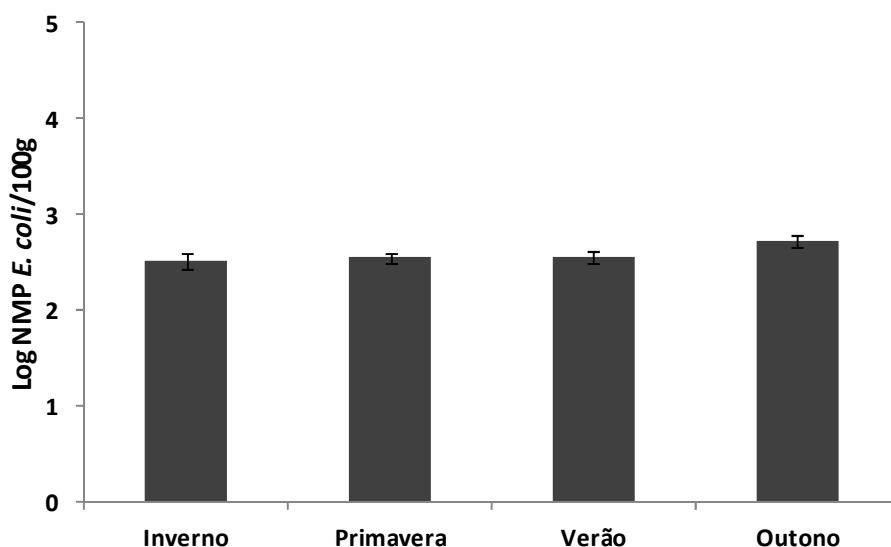


Figura 16 - Variação sazonal do teor de *Escherichia coli* (média ± erro padrão) nos bivalves de Tavira, entre 1990 e 2009.

Quanto às variações mensais (Fig. 17), verificou-se que os valores obtidos no mês de Setembro foram mais elevados do que em Fevereiro e Junho, não se tendo obtido diferenças entre os restantes meses.

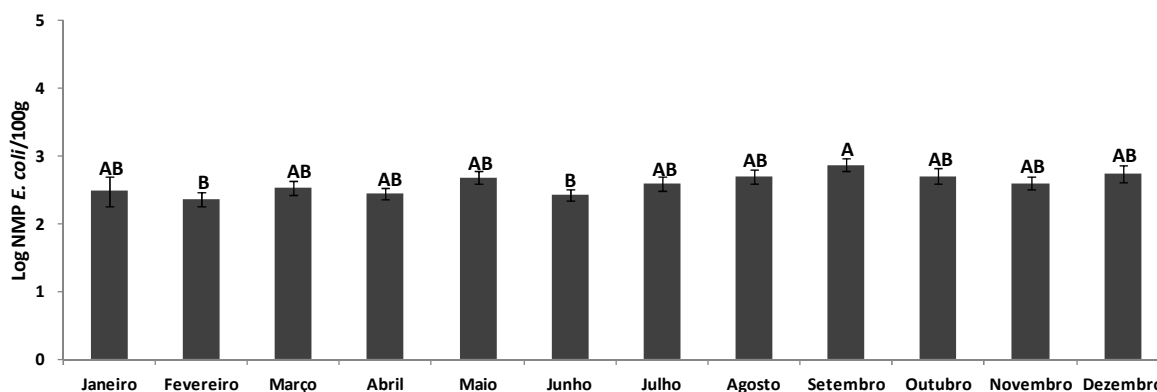


Figura 17 - Variação mensal do teor de *Escherichia coli* (média ± erro padrão) nos bivalves de Tavira, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre meses.

Na figura 18 encontra-se a ACP com os teor de *E. coli* nos bivalves de Tavira entre 1990 e 2009 e os respectivos parâmetros ambientais. Este modelo explica 57% da variância total dos dados. Na primeira componente (33% da variância) pode observar-se que um aumento da salinidade e temperatura estão associados a uma diminuição da precipitação. Na segunda

componente (24% da variação), ao aumento dos níveis de *E. coli* nos bivalves corresponde ao aumento do oxigénio dissolvido e a uma diminuição do pH.

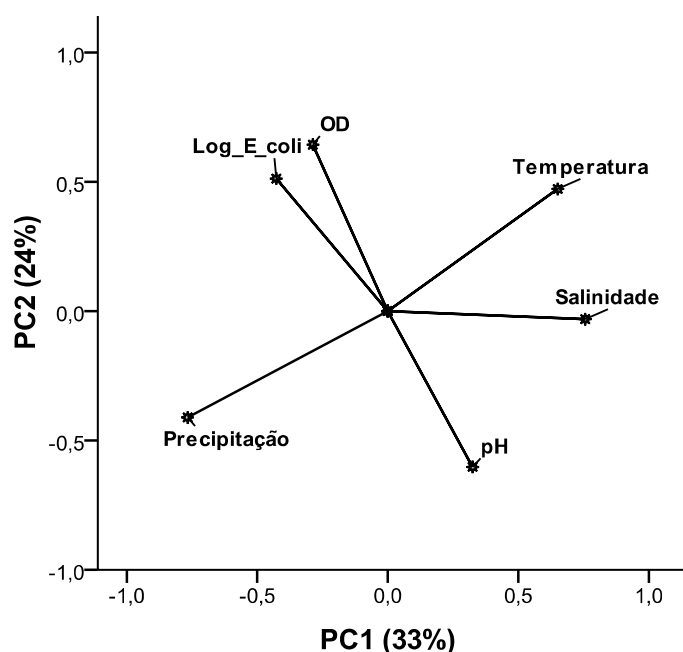


Figura 18 - ACP com os teor de *Escherichia coli* nos bivalves de Tavira, entre 1990 e 2009, e os respectivos parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigénio dissolvido (OD; %) e precipitação (mm).

Na tabela 6 encontram-se os coeficientes de correlação entre estas variáveis. Pode se verificar que o teor de *E. coli* nos bivalves se encontra negativamente correlacionado com a salinidade.

Tabela 6 - Coeficiente de correlação de Spearman entre o teor de *Escherichia coli* nos bivalves e os parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigénio dissolvido (OD) e precipitação (mm) para a estação de Tavira. Apenas se apresentam as correlações significativas ($p < 0,05$).

	Salinidade	OD	Precipitação
Log <i>E. coli</i>	-0,16	-	-
Temperatura	0,42	-	-0,54
Salinidade	-	-0,22	-0,37
pH	0,16	-0,19	-

Escherichia coli em bivalves da Ria Formosa - Fuzeta

Na figura 19 encontra-se representada a evolução temporal do teor de *E. coli* nos bivalves da Fuzeta, entre os anos 1990 e 2009. A classificação desta zona de produção variou ao longo destes 20 anos entre as classes A, B e C, tendo principalmente tido a classificação B (Fig. 20). A classe C foi alcançada pontualmente em 1990, 1991, 1998, 1999 e 2005.

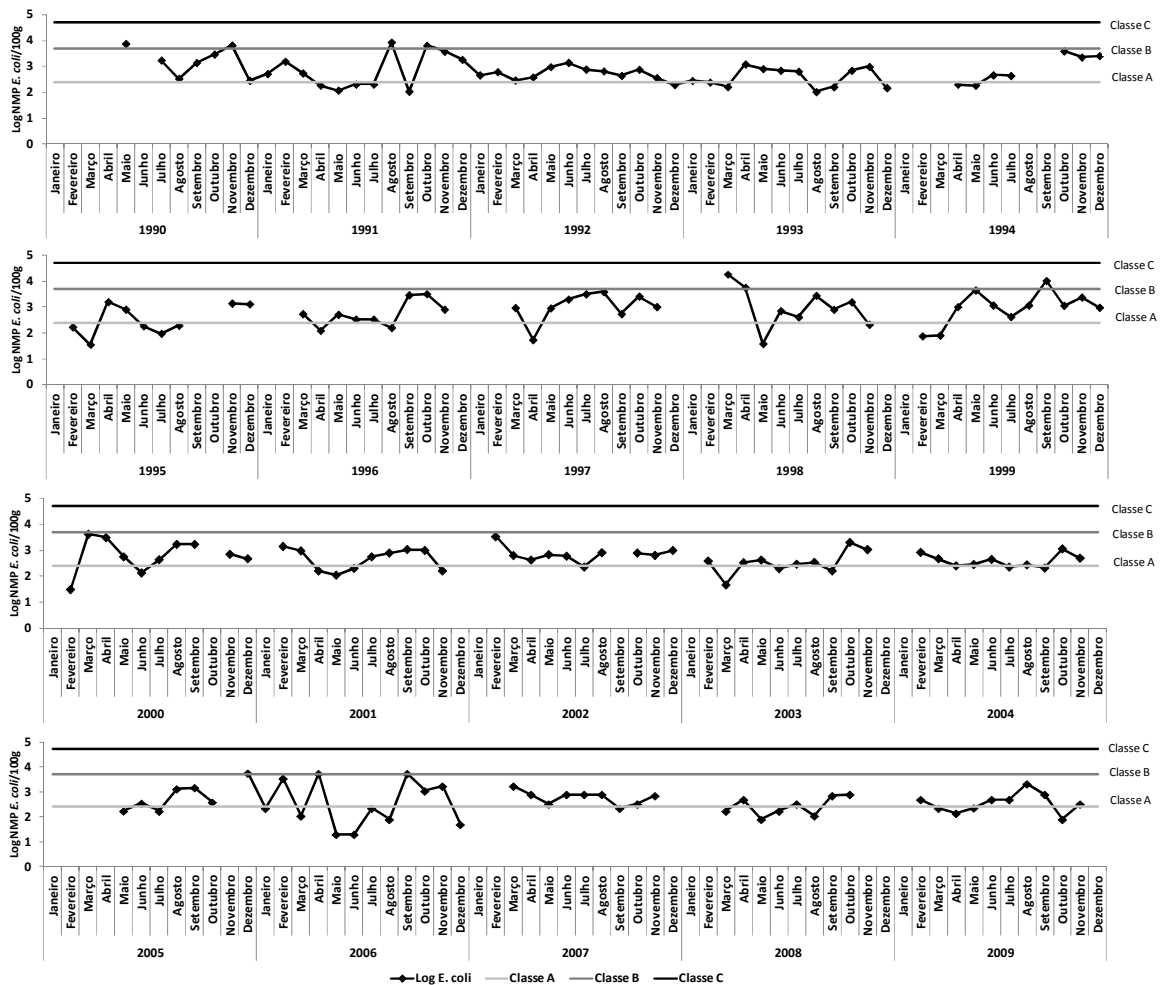


Figura 19 - Evolução temporal do teor de *Escherichia coli* nos bivalves da Fuzeta, entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

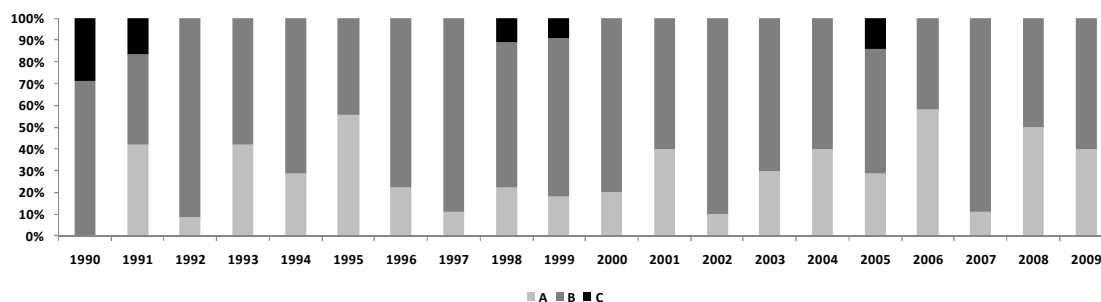


Figura 20 - Evolução do estatuto sanitário (A, B e C) da zona de produção da Fuzeta entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

Analisando as variações anuais de *E. coli* nos bivalves da Fuzeta (Fig. 21), pode se verificar que entre os anos 20 anos analisados não existiram diferenças significativas.

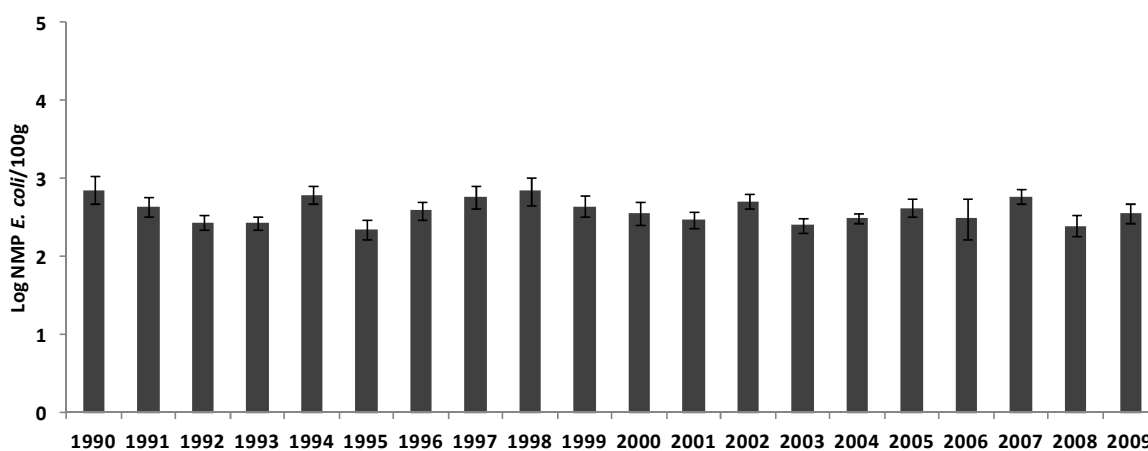


Figura 21 - Variações anuais do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves da Fuzeta, entre os anos 1990 e 2009.

Quanto às variações sazonais (Fig. 22), os níveis de *E. coli* nos bivalves da Fuzeta foram significativamente mais elevados no Outono do que na Primavera e no Verão.

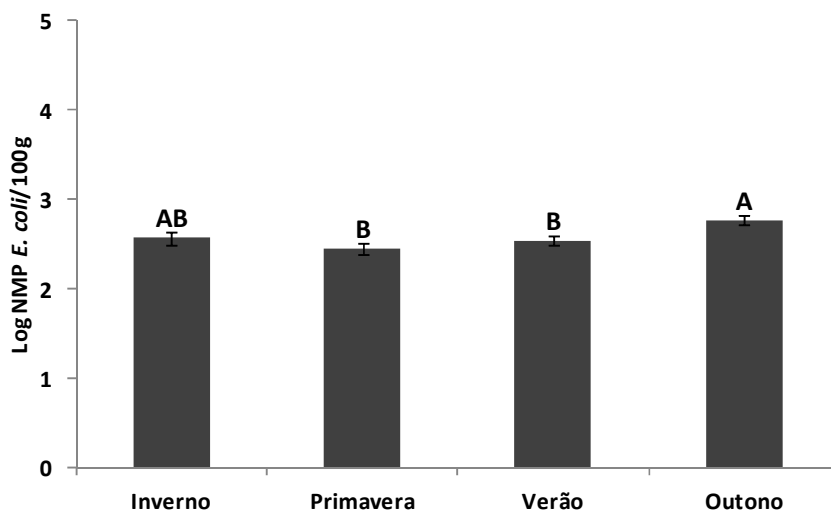


Figura 22 - Variação sazonal do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves da Fuzeta, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre estações do ano.

Relativamente às diferenças mensais (Fig. 23), os valores obtidos em Outubro foram mais elevados do que em Maio, não tendo sido detectadas diferenças entre os restantes meses.

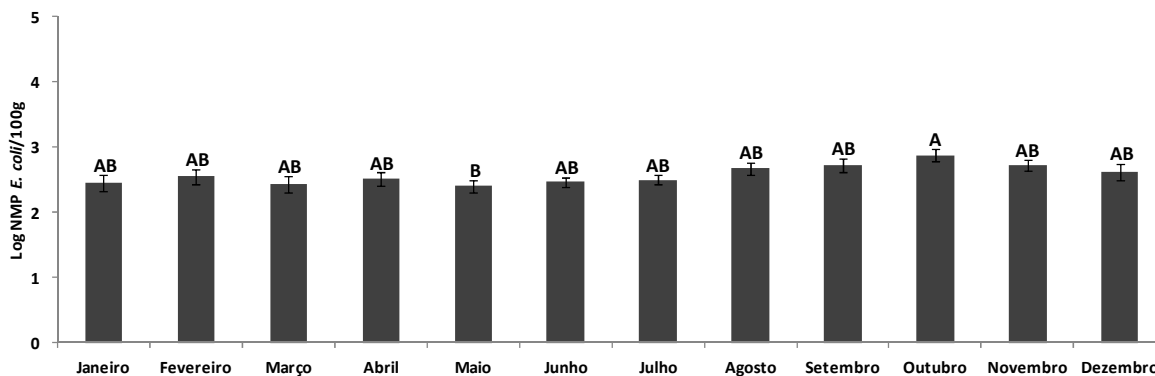


Figura 23 - Variação mensal do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves da Fuzeta, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre meses.

Na figura 24 encontra-se a ACP, englobando os níveis de *E. coli* nos bivalves da Fuzeta entre 1990 e 2009 e os parâmetros ambientais. A variância total dos dados explicada por este modelo é de 52%. A primeira componente (29% da variância) mostra que a um aumento da precipitação corresponde um aumento do teor de *E. coli* nos bivalves e a uma diminuição da

temperatura e salinidade. A segunda componente (23% da variação) revela que a um aumento pH corresponde a uma diminuição do OD.

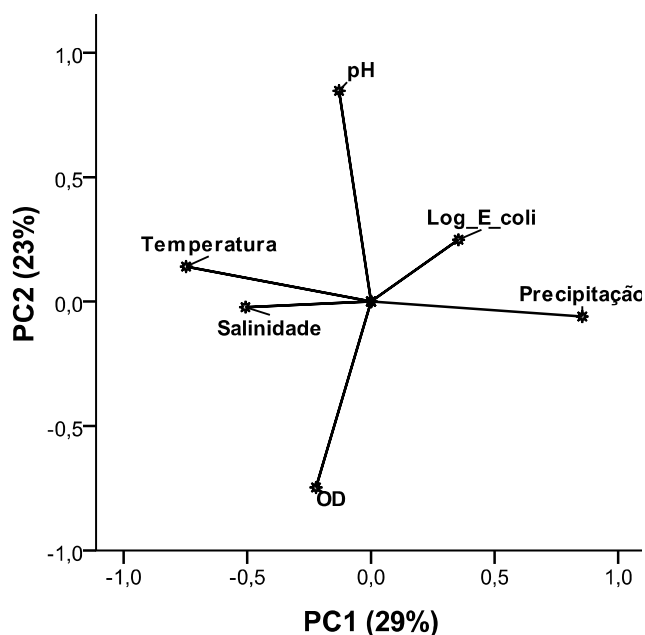


Figura 24 - ACP com os teor de *Escherichia coli* nos bivalves da Fuzeta, entre 1990 e 2009, e os respectivos parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH e oxigênio dissolvido (OD; %) e precipitação (mm).

Na tabela 7 encontram-se os coeficientes de correlação entre estas variáveis. Pode se verificar a mesma tendência demonstrada pela ACP, encontrando-se o teor de *E. coli* nos bivalves da Fuzeta positivamente correlacionada com a precipitação.

Tabela 7 - Coeficiente de correlação de Spearman entre o teor de *Escherichia coli* nos bivalves e os parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigênio dissolvido (OD) e precipitação (mm) para a estação da Fuzeta. Apenas se apresentam as correlações significativas ($p < 0,05$).

	Temperatura	pH	Precipitação
Log <i>E. coli</i>	-	-	0,16
Temperatura	-	-	-0,55
Salinidade	0,25	-	-0,25
OD	-	-0,24	-

Escherichia coli em bivalves da Ria Formosa - Olhão

Na figura 25 encontra-se a evolução temporal dos níveis de *E. coli* nos bivalves de Olhão, entre os anos 1990 e 2009. A classificação desta zona variou entre A, B e C, tendo maioritariamente sido classificada como B (Fig. 26). Por diversas vezes a zona atingiu a classificação C, nomeadamente entre 1990 e 1992, em 1996, entre 2000 e 2002 e ainda entre 2005 e 2007.

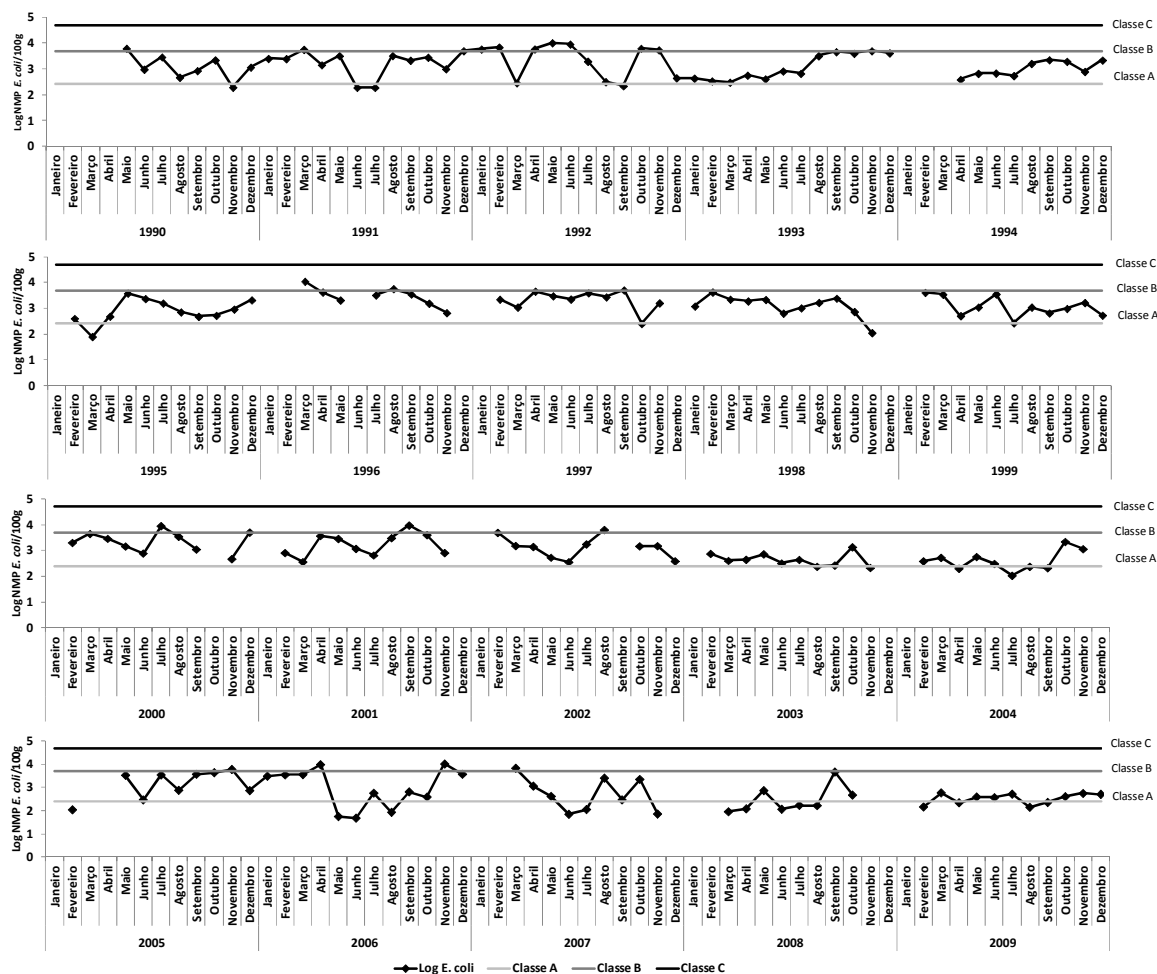


Figura 25 - Evolução temporal do teor de *Escherichia coli* nos bivalves de Olhão, entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

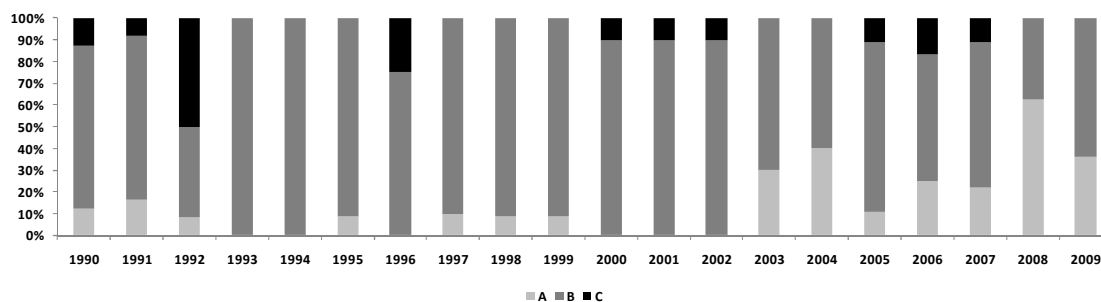


Figura 26 - Evolução do estatuto sanitário (A, B e C) da zona de produção de Olhão entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

Relativamente às variações anuais dos níveis de *E. coli* nos bivalves de Olhão (Fig. 27), foram detectadas algumas diferenças significativas. Os valores mais altos verificaram-se em 1992, significativamente maiores do que em 1998, 2003, 2004 e de 2007 a 2009. Em 1996 os valores foram superiores aos de 2003, 2004, 2008 e 2009. Em 2000 foram mais elevados do que em 1998, 2003, 2004, 2008 e 2009. Em 2003, 2004, 2008 e 2009 foram os anos em que se registaram os valores mais baixos.

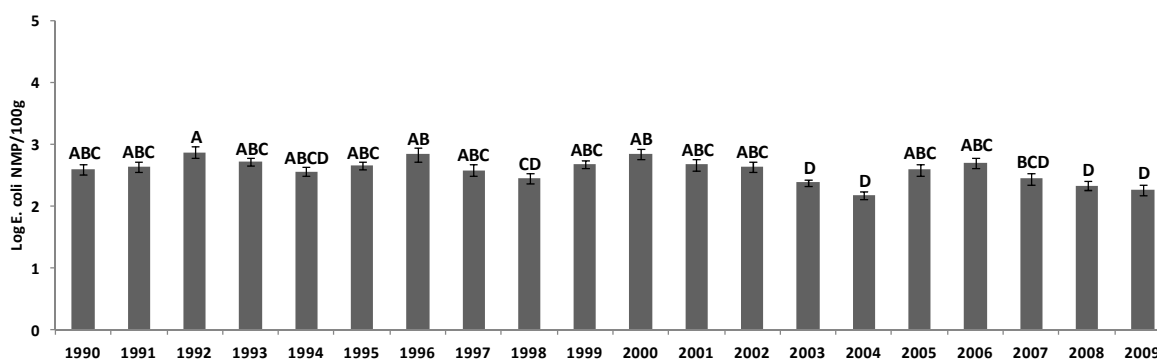


Figura 27 - Variações anuais do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves de Olhão, entre os anos 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre anos.

Quanto às diferenças entre estações do ano (Fig. 28), os níveis de *E. coli* nos bivalves foram significativamente mais elevados no Inverno e no Outono relativamente aos da Primavera e Verão.

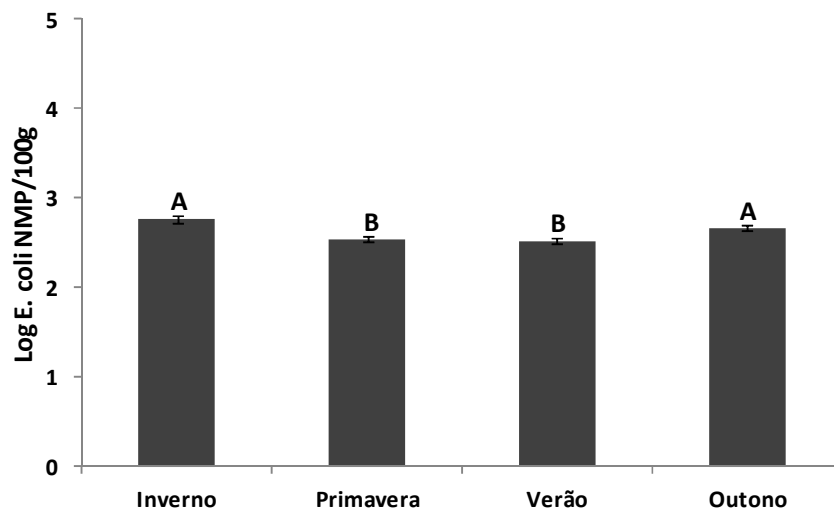


Figura 28 - Variação sazonal do teor de *Escherichia coli* (média ± erro padrão) nos bivalves de Olhão, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre estações do ano.

Em relação às diferenças mensais (Fig. 29), pode se verificar que os valores em Outubro foram mais elevados do que em Março, Junho e Julho. Os mais baixos foram encontrados em Junho.

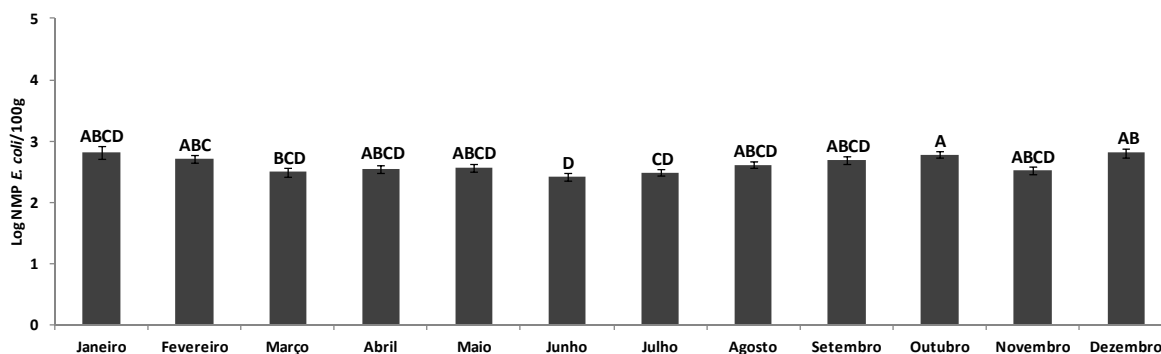


Figura 29 - Variação mensal do teor de *Escherichia coli* (média ± erro padrão) nos bivalves de Olhão, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre meses.

Na figura 30 encontra-se a ACP com o teor de *E. coli* nos bivalves de Olhão e respectivos parâmetros ambientais. Este modelo explica 61% da variância dos dados. A primeira componente (36% da variância) mostra que a um aumento da temperatura e salinidade corresponde uma diminuição dos níveis de *E. coli* nos bivalves e da precipitação. A segunda componente (25% da variação) revela que a um aumento do oxigénio dissolvido corresponde a uma diminuição do pH.

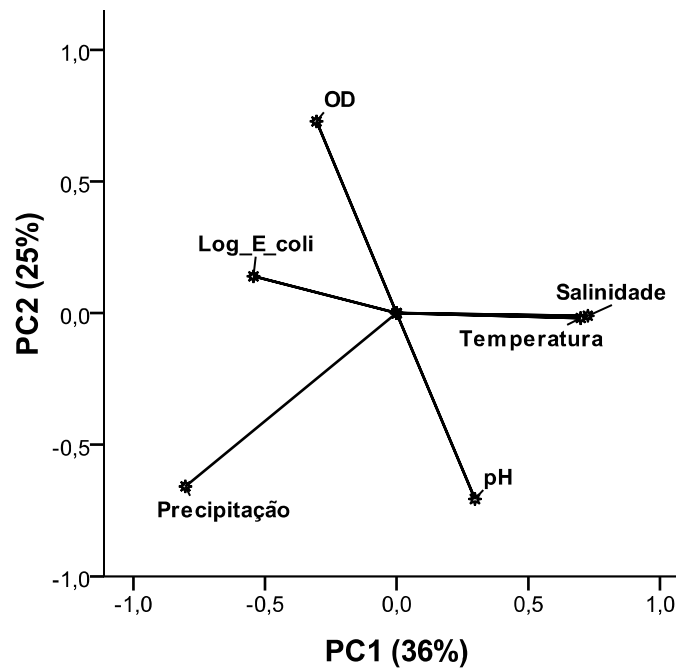


Figura 30 - ACP com o teor de *Escherichia coli* nos bivalves de Olhão, entre 1990 e 2009, e os respectivos parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigénio dissolvido (OD; %) e precipitação (mm).

A tabela 8 apresenta os coeficientes de correlação entre estas variáveis. O teor de *E. coli* nos bivalves de Olhão encontra-se inversamente correlacionado com a temperatura e salinidade.

Tabela 8 - Coeficiente de correlação de Spearman entre o teor de *Escherichia coli* nos bivalves e os parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigênio dissolvido (OD) e precipitação (mm) para a estação de Olhão. Apenas se apresentam as correlações significativas ($p < 0,05$).

	Log <i>E. coli</i>	Temperatura	Salinidade	pH	Precipitação
Log <i>E. coli</i>	-	-0,20	-0,25	-	-
Temperatura	-0,20	-	0,51	-	-0,50
Salinidade	-0,25	0,51	-	0,16	-0,40
OD	-	-0,16	-0,16	-0,34	-

Escherichia coli em bivalves da Ria Formosa - Faro

A figura 31 apresenta a evolução entre 1990 e 2009 dos níveis de *E. coli* nos bivalves de Faro. A classificação desta zona de produção variou ao longo destes anos entre as classes A, B e C tendo maioritariamente sido classificada como B (Fig. 32). A classe C foi mais alcançada durante os anos 90, especialmente em 1998.

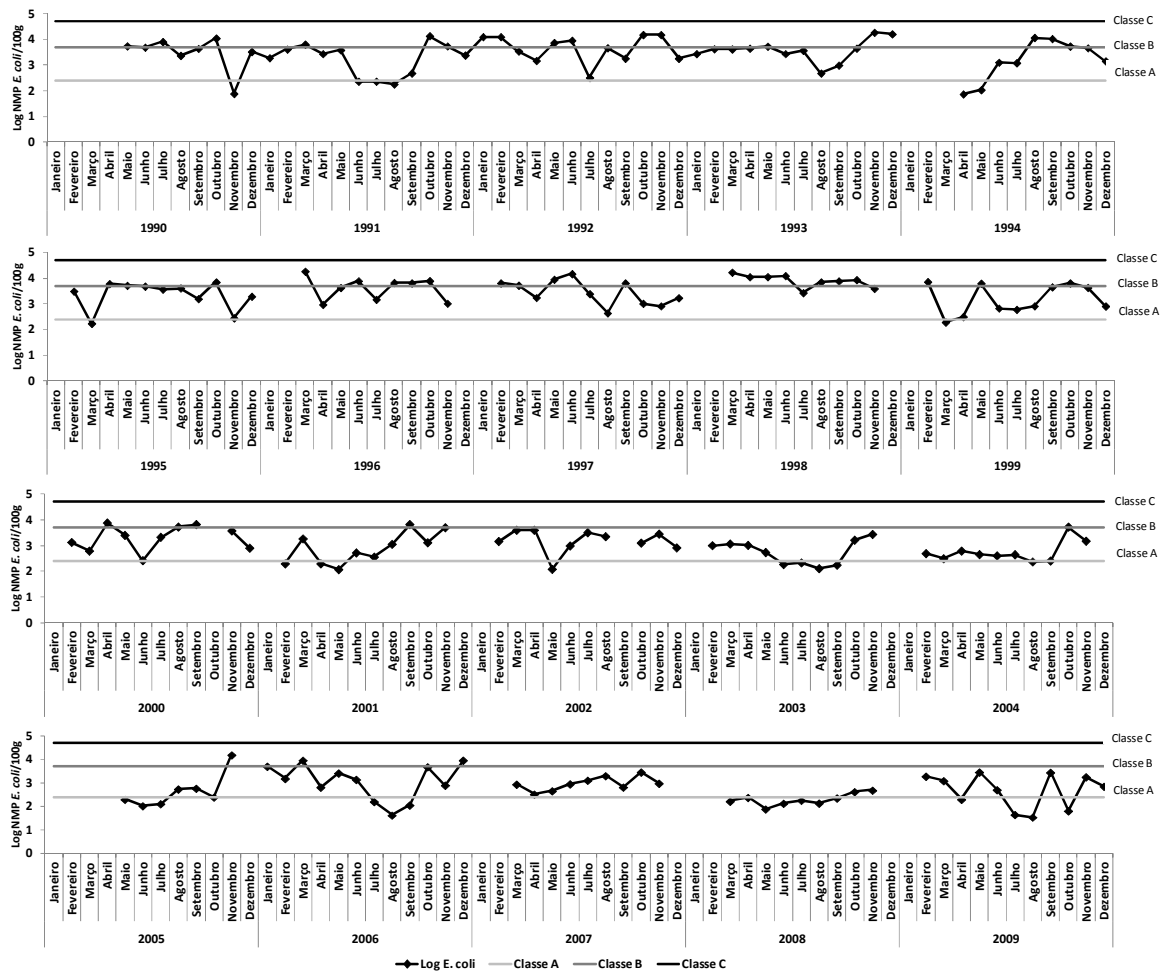


Figura 31 - Evolução temporal do teor de *Escherichia coli* nos bivalves de Faro, entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

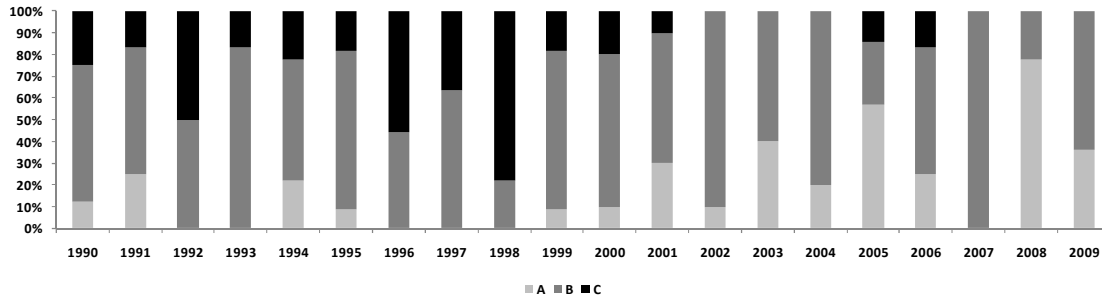


Figura 32 - Evolução do estatuto sanitário (A, B e C) da zona de produção de Faro entre os anos 1990 e 2009. Os teores de *Escherichia coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B > 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g, C > 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g.

Comparando os níveis de *E. coli* nos bivalves de Faro entre 1990 e 2009 (Fig. 33), pode se verificar que o ano em que se registaram os valores mais elevados foi em 1998, seguindo-se os restantes anos 90. Na década de 2000 os valores foram mais baixos, tendo o valor mais baixo sido obtido em 2008.

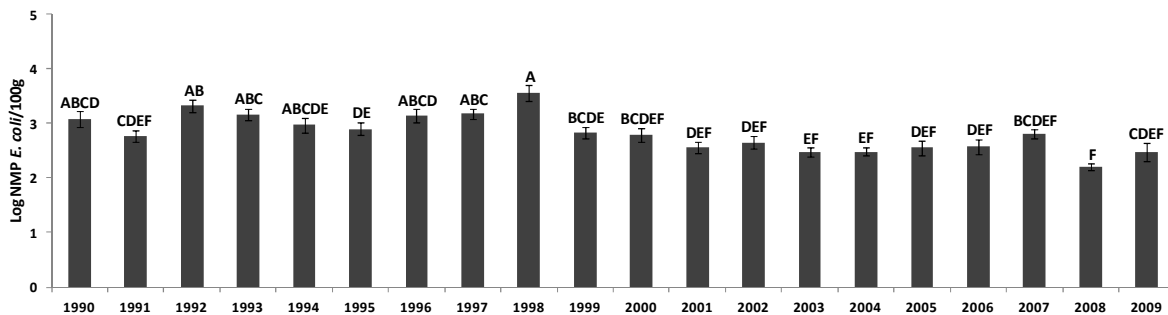


Figura 33 - Variações anuais do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves de Faro, entre os anos 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre anos.

Relativamente às diferenças entre estações do ano, como se pode observar na figura 34, os níveis de *E. coli* nos bivalves de Faro foram significativamente mais elevados no Inverno e no Outono relativamente aos da Primavera e Verão.

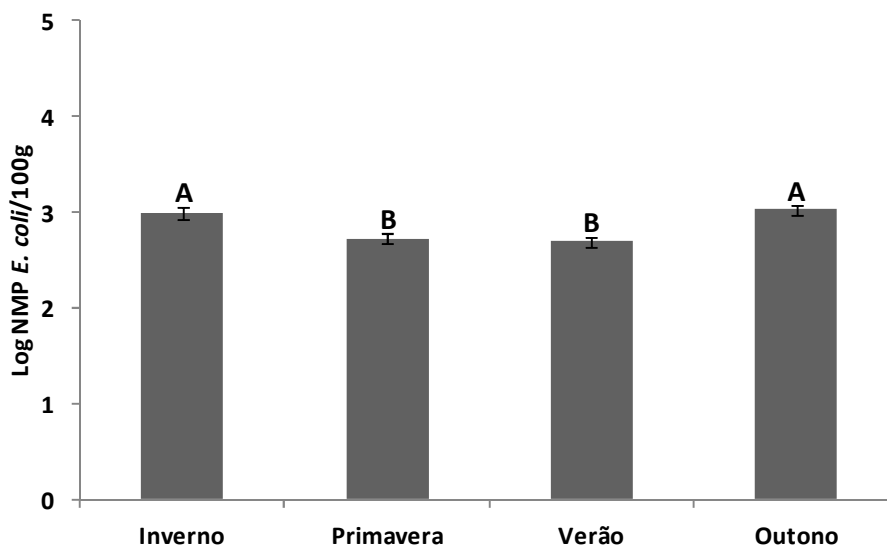


Figura 34 - Variação sazonal do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves de Faro, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre estações do ano.

Analisando as variações mensais (Fig. 35), verificou-se que os valores obtidos em Outubro foram superiores aos de Abril, Maio, Julho e Agosto, não havendo diferenças entre os restantes meses.

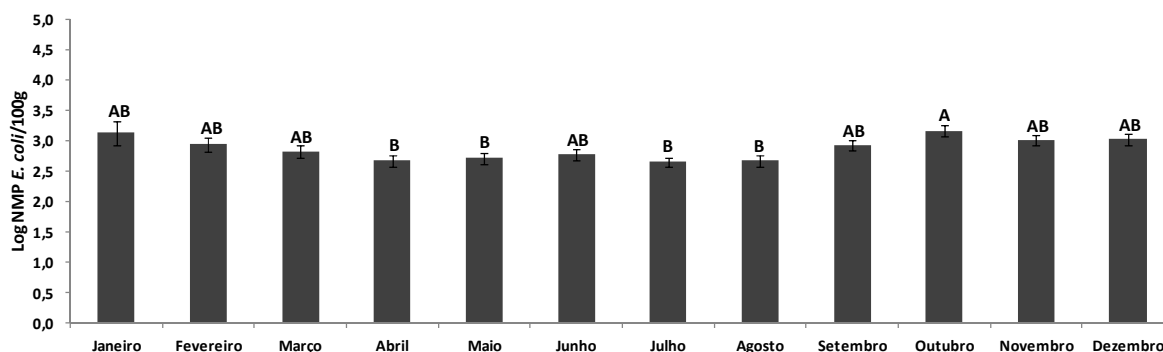


Figura 35 - Variação mensal do teor de *Escherichia coli* (média \pm erro padrão) nos bivalves de Faro, entre 1990 e 2009. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre meses.

A figura 36 apresenta a ACP do teor de *E. coli* nos bivalves de Faro e respectivos parâmetros ambientais. O modelo explica 62% da variância. A primeira componente (36% da variância)

mostra que a um aumento da precipitação corresponde uma diminuição da temperatura e salinidade. A segunda componente (23% da variação) revela que a um aumento do oxigénio dissolvido corresponde um aumento do nível de *E. coli* nos bivalves e a uma diminuição do pH.

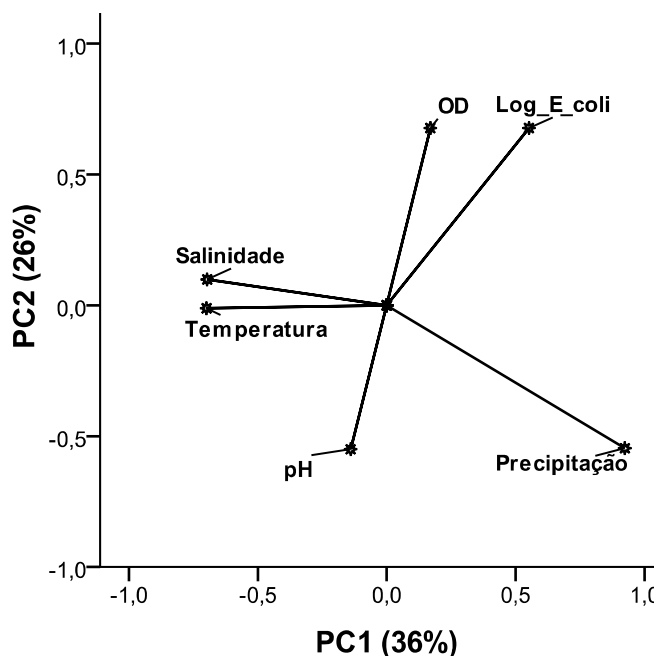


Figura 36 - ACP com o teor de *Escherichia coli* nos bivalves de Faro, entre 1990 e 2009, e os respectivos parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigénio dissolvido (OD; %) e precipitação (mm).

Na tabela 9 encontram-se os coeficientes de correlação entre estas variáveis. O teor de *E. coli* nos bivalves de Faro encontra-se positivamente correlacionado com o oxigénio dissolvido e inversamente com a temperatura, salinidade e pH.

Tabela 9 - Coeficiente de correlação de Spearman entre o teor de *Escherichia coli* nos bivalves e os parâmetros ambientais temperatura da água (°C), salinidade, pH, oxigénio dissolvido (OD) e precipitação (mm) para a estação de Faro. Apenas se apresentam as correlações significativas ($p < 0,05$).

	Log <i>E. coli</i>	Temperatura	Salinidade	pH	Precipitação
Log <i>E. coli</i>	-	-0,24	-0,25	-0,16	-
Temperatura	-0,24	-	0,55	-	-0,54
Salinidade	-0,25	0,55	-	-	-0,47
OD	0,33	-	-	-0,38	-

DISCUSSÃO

Com este estudo pretendeu-se avaliar a evolução da contaminação fecal existente nos bivalves da Ria Formosa em geral e das suas cinco principais ZPB's (Cacela, Tavira, Fuzeta, Olhão e Faro) em particular, entre 1990 e 2009.

Relativamente à evolução temporal dos níveis de contaminação fecal existente nos bivalves da Ria Formosa, os valores mais elevados de *E. coli* foram obtidos durante os anos 90, especialmente em 1992. Um dos principais factores que influencia a qualidade de uma ZPB é a contaminação microbiológica existente na água. Os moluscos bivalves obtêm os seus nutrientes a partir da coluna de água através da filtração de pequenas partículas materiais, concentrando assim muitos contaminantes, incluindo microrganismos patogénicos se estes se encontrarem na água (Younger et al., 2003). Segundo o PROT Algarve (2002), em 1994 apenas 54% das águas residuais eram sujeitas a tratamento, sendo a restante parte lançada directamente para o meio ambiente. Estas águas residuais não tratadas encontravam-se entre as principais fontes de contaminação para a Ria Formosa (Cachola & Campos, 2006).

Segundo Campos & Cachola (2007) continua ainda a existir um potencial para a deterioração da qualidade microbiana dos bivalves especialmente nas zonas próximas aos centros urbanos, devido à contaminação antropogénica. No Algarve as ETAR's localizam-se no litoral seguindo a ocupação do território, onde se encontram os maiores agregados populacionais e pressão turística. Metade dessas ETAR's apresenta um nível de tratamento secundário, com a

remoção da carga orgânica e cerca de 25 % têm já remoção bacteriológica (PROT Algarve, 2002). No entanto, os próprios efluentes das ETAR's representam um risco muito significativo para a saúde pública, dependendo de factores como o tipo de tratamento existente (se é ou não eficaz), o volume de esgoto (se consegue responder às exigências das flutuações populacionais) e o desempenho da rede de esgotos urbanos (se seguem todos para tratamento ou se há fugas na rede; Pedro et al., 2008d). Em caso de mau funcionamento, as ETAR's estão entre as principais fontes de contaminação microbiológica na Ria Formosa. A área de maior impacto de contaminação fecal para os viveiros pode abranger 300 a 400 m do ponto de descarga (Cravo, 2003). Contudo, sob determinadas condições hidrográficas, os viveiros que distam 1000 a 2000 m da descarga podem também ser bastante afectados (Martins et al., 2004).

No Algarve existem ainda áreas edificadas com algum significado que não dispõem de redes de drenagem de águas residuais, recorrendo a fossas sépticas com um sistema de infiltração no solo (PROT Algarve, 2007). Estas permitem a infiltração dos efluentes para o subsolo, o que constitui um factor negativo em termos ambientais, criando focos de poluição difusa (POP NRF, 2007). O seu nível de risco para a saúde pública é baixo se se tratarem de pequenos volumes, podendo tornar-se num risco local significativo se não forem adequadamente tratados.

Relativamente à variação espacial da contaminação fecal existente nas cinco principais ZPB's da Ria Formosa, os bivalves recolhidos em Faro foram os que apresentaram os teores de *E. coli* mais elevados. Esta zona foi maioritariamente classificada com o estatuto sanitário B (> 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g). No entanto, foi a que apresentou maior proporção da classe C (> 4600 e ≤ 46000 NMP *E. coli*/100g), especialmente nos anos 90, com as maiores concentrações obtidas em 1998. Outros estudos também demonstraram que Faro é a ZPB na Ria Formosa com valores mais elevados de contaminação fecal (Cachola & Lima, 1984; Dionísio et al., 2000; Cachola & Campos, 2006). Esta contaminação deve-se à proximidade dos pontos de descarga de efluentes das ETAR's de Faro Noroeste e Faro Nascente e das descargas de efluentes urbanos e de suiniculturas, vacarias, aviários e centros de abate, sem tratamento adequado (POP NRF, 2007). Venâncio et al. (2004) realizaram um estudo para avaliar o efeito das descargas dos efluentes de algumas ETAR's da Ria Formosa, incluindo as de Faro (Nascente e Noroeste). Nesse estudo foi simulado o cenário de uma descarga de CF de 10^4 NMP/100ml, tendo a Ria apresentado todas as classes de apanha permitida de bivalves.

As zonas localizadas a mais de 1500 m relativamente ao ponto de descarga foram classificadas como classe A e as zonas inferiores a 1500 m encontravam-se entre as classes B e C.

Outros estudos (Silva, 2011) realizados indicam que a contaminação fecal em Faro, em especial na proximidade da ETAR Faro Noroeste, uma zona de confluência de ribeiras, aumenta nos períodos de maior precipitação. Assim, a qualidade sanitária das áreas de produção de bivalves em Faro é também pelas escorrências originadas pelas chuvas mais intensas e que arrastam a contaminação de montante. Cravo (2003) também confirmou que além da influência das ETAR's, outras fontes de poluição a montante e a jusante dos canais podem ser responsáveis por alterações na qualidade microbiológica da água. A poluição difusa de origem agrícola é significativa na bacia hidrográfica das ribeiras do Algarve, sendo as zonas de Faro e Olhão as mais susceptíveis, com cargas anuais de azoto e fósforo elevadas. Estas cargas devem-se ao uso excessivo de adubação onde a agricultura é mais intensiva. Os índices de carga de azoto e fósforo obtidos para estes concelhos foram considerados elevados tendo em conta as áreas agrícolas existentes: cerca de 100 kg/ha/ano de azoto e mais de 50 kg/ha/ano de fósforo (PBHRA, 2000).

As ZPB's de Olhão, Tavira e Fuzeta apresentaram níveis intermédios de *E. coli* nos bivalves. Foram maioritariamente classificadas com o estatuto sanitário B (> 230 e ≤ 4600 NMP *E. coli*/100g). Olhão e Tavira atingiram diversas vezes a classificação C, tanto nos anos 90 como em 2000, tendo os valores mais altos sido registados em 1992 e 1991, respectivamente. Segundo o estudo de Venâncio et al. (2004), tal como observado para Faro, as zonas distanciadas a mais de 1500 m das ETAR de Olhão (Nascente e Poente) são da classe A e inferiores a 1500 m das classes B e C. De acordo com estudos realizados (Cravo, 2003; Martins et al., 2004), a área de maior impacte encontra-se entre os 50 e 100 m, limitada à região do ponto de descarga. Além da ETAR de Olhão Nascente tratar os efluentes do complexo industrial de Olhão (POP NRF, 2007), a hidrografia no Canal de Marim junto à Barra de Olhão favorece também a rápida dispersão da contaminação microbiológica (Martins et al., 2004). Nas zonas sob a influência da ETAR de Tavira, as concentrações de CF encontram-se maioritariamente entre as classes B e C. O Rio Gilão em Tavira constitui a entrada de água doce mais importante para a Ria Formosa (Newton & Mudge, 2003). Em períodos de maior precipitação e em situação de baixa-mar, este rio contribui de forma significativa para o transporte da contaminação microbiológica (Cachola & Campo, 2006).

Os valores mais baixos de *E. coli* nos bivalves da Ria Formosa foram registados em 2004, parecendo existir uma tendência para a diminuição do seu teor nos últimos anos da década de 2000 em todas as ZPB's. Em 2002, 83% da população do Algarve já era servida com o tratamento de águas residuais. Nos últimos anos têm sido construídas e remodeladas várias ETAR's, nomeadamente as existentes em Castro Marim, Tavira, Olhão e Faro, muitas já com tratamento secundário com desinfecção. Cachola & Campos (2006) também verificaram a diminuição da contaminação fecal nestes últimos anos em algumas zonas da Ria Formosa.

A ZPB de Cacela foi a que apresentou os valores mais baixos de contaminação fecal nos bivalves, tendo maioritariamente sido classificada como A (≤ 230 NMP *E. coli*/100g). Também num estudo efectuado por Cachola & Campos (2006), todos os teores médios mensais de CF nos bivalves de Cacela corresponderam à categoria A. A geometria da costa frente a Cacela tem variado ao longo dos anos em função das correntes marítimas, tempestades e da acção antropogénica. Já se encontrou dentro e fora da Ria Formosa, com ilhas-barreira mais ou menos largas e extensas, barras ou vastos areais, com maior circulação de água e trocas de água entre a ria e o mar. Vários estudos já demonstraram que nas zonas mais próximas das barras há uma diminuição dos microrganismos fecais (Nunes, 1984; Dionísio et al., 2000), devido aos efeitos negativos de diversos factores bióticos e abióticos, tanto a nível individual como sinérgico (Borrego et al., 1983; Martin & Bonnefort, 1986).

Quanto à variação sazonal da contaminação fecal existente nos bivalves da Ria Formosa, verificou-se que o teor de *E. coli* foi mais elevado no Outono e Inverno e mais baixo na Primavera e Verão. Este facto também se verificou em particular para os bivalves de Faro e Olhão, tendo os bivalves da Fuzeta valores mais elevados apenas no Outono relativamente aos da Primavera e Verão. Relativamente às variações mensais, em todas as ZPB's os valores mais elevados de contaminação fecal foram obtidos em Setembro e Outubro e os mais baixos especialmente em Maio e Junho. Os efeitos sazonais e mensais devem-se a vários factores, que podem actuar separadamente ou em conjunto. Estes incluem as variações na actividade biológica dos organismos, a oscilações nas descargas dos efluentes e às próprias variações sazonais dos padrões de precipitação, temperatura, salinidade, oxigénio, etc. (Younger et al., 2003).

Assim, como os níveis de contaminação fecal nos bivalves resultam do efeito combinado das fontes de contaminação e dos factores ambientais que determinam a concentração e o

transporte dos contaminantes no meio ambiente (Younger et al., 2003), verificou-se ainda qual a relação do teor de *E. coli* nos bivalves com os parâmetros ambientais: temperatura da água, salinidade, pH e oxigénio dissolvido e a precipitação média mensal. Observou-se que ao aumento da contaminação fecal nos bivalves da Ria Formosa, corresponde um aumento da precipitação e uma diminuição da temperatura e salinidade da água. A mesma relação foi obtida para os bivalves da Fuzeta e Olhão em particular. Outros estudos (p. ex. Campos & Cachola, 2007) sugerem que os parâmetros ambientais têm a capacidade de influenciar a magnitude e a sazonalidade dos microrganismos que contaminam tanto a água, como os bivalves. As taxas de sobrevivência e desenvolvimento das bactérias existentes em massas de água são condicionadas por diversos factores, como a exposição à luz solar, a temperatura, salinidade, pH, pluviosidade, matéria em suspensão, presença de nutrientes orgânicos e inorgânicos, etc. (Dionísio et al., 2000; Pedro et al., 2008b).

Entre os factores naturais que afectam a introdução de microrganismos no meio aquático, a pluviosidade é das mais relevantes. Esta pode originar a descida de uma a duas classes de estatuto sanitário. As escorrências provenientes das chuvas alimentam as diversas linhas de água, consoante a topologia dos terrenos e as suas características hidrográficas. Estas transportam uma série de compostos, nomeadamente orgânicos e inorgânicos, que vão afluír para a linha de costa (Pedro et al., 2008d; Vieira et al., 2008). Campos & Cachola (2007) verificaram que os efluentes descarregados pelas águas pluviais originaram um aumento da contaminação na água e bivalves da Ria Formosa, originando concentrações microbianas muito elevadas.

Neste estudo a temperatura teve um efeito negativo no teor de *E. coli* nos bivalves da Ria Formosa, em particular na zona da Fuzeta, Olhão e Faro. As temperaturas elevadas potenciam a autólise dos microrganismos (Dionísio et al., 2000). A luz solar tem também o mesmo efeito, provocando uma forte inactivação dos microrganismos provenientes de efluentes de ETAR's. É considerado dos factores que mais contribui para a mortalidade das bactérias no mar, especialmente em águas pouco profundas como na Ria Formosa. Este efeito é proporcional à intensidade e ao período de radiação. A Ria Formosa apresenta um longo período de insolação durante a Primavera e Verão, o que pode explicar o decréscimo da contaminação fecal durante estas estações do ano (Cornax et al., 1990; Alkan et al., 1995; Dionísio et al., 2000; Rozen & Belkin, 2001), mesmo com o elevado aumento da pressão turística (e por conseguinte o volume de efluentes) nestas épocas do ano.

O teor de *E. coli* nos bivalves da Ria Formosa em geral e na zona de Tavira, Fuzeta, Olhão e Faro em particular apresentou uma correlação negativa com a salinidade. As bactérias entéricas sofrem um choque osmótico quando entram em contacto com a água do mar, originando a sua inactivação. Como os coliformes fecais têm pouca tolerância à salinidade do ambiente marinho, a detecção destes microrganismos indica a existência de uma descarga recente e constante de matéria fecal. Na presença de sal, existe a eliminação de 90% da população de *E. coli* em poucas horas ou minutos. Contudo, embora a salinidade aumente a sensibilidade desta bactéria na presença de luz solar, este não é o principal factor responsável pela capacidade de inactivação do ambiente marinho, resultando a acção bactericida da água salgada do efeito sinérgico de vários factores, bióticos e abióticos (Sorensen, 1991; Ahl et al., 1995; Rozen & Belkin, 2001).

O nível de *E. coli* nos bivalves de Tavira e Faro aumentou com o oxigénio dissolvido na água. Em zonas de pouca profundidade como a Ria Formosa, o oxigénio pode ser um factor limitante para o desenvolvimento dos microrganismos. Pelo contrário, o teor de *E. coli* diminuiu com o pH. O pH da água do mar situa-se normalmente entre 7,5 e 8,5 e é influenciado pela temperatura, pressão e actividades fotossintéticas e respiratórias dos microrganismos. Um pH ácido (≈ 5) favorece a sobrevivência da *E. coli*, enquanto que o pH da água do mar (≈ 8) contribui para um efeito prejudicial na sobrevivência da bactéria (Dionísio et al., 2000; Rozen & Belkin, 2001; Vieira et al., 2008). No entanto, para os bivalves de Cacela verificou-se o oposto, ou seja, o teor de *E. coli* variou no sentido inverso ao do oxigénio dissolvido e no mesmo que o pH. Estes resultados encontram-se de acordo com o facto de baixos valores oxigénio dissolvido indicarem a presença de matéria orgânica, potencialmente procedente de esgotos (alta biomassa de bactérias aeróbias decompositoras). Pelo contrário, altos valores de oxigénio indicam a presença de organismos fotossintéticos e um ambiente menos eutrofizado.

Conclusões

A contaminação microbiológica nos bivalves da Ria Formosa tem diminuído ao longo da década de 2000, com a implementação e melhoramento das ETAR's existentes no litoral algarvio. No entanto, para que se possa garantir a qualidade da água nas ZPB's na Ria Formosa, é necessário definir uma estratégia de gestão que contemple a identificação e eliminação das fontes de contaminação, tanto pontuais (como efluentes não tratados, fossas

sépticas, etc) como difusas (por exemplo as escorrências provenientes da agricultura), em especial junto aos centros urbanos de Faro, Olhão e Tavira. Se a deterioração de algumas zonas em particular não for interrompida, terá que se ponderar a realocização dos viveiros mais afectados.

Quando as bactérias entéricas são expostas à água da ria, são afectadas por uma combinação de diversos factores stressantes como a salinidade, temperatura, radiação solar, stress oxidativo, pH e disponibilidade de nutrientes. A salinidade e a temperatura foram os factores com maior influência na diminuição dos teores de *E. coli* nos bivalves, apresentando um efeito bactericida. Por outro lado, a precipitação foi o agente que mais contribuiu para o aumento da contaminação, originando o transporte de contaminantes nas escorrências das chuvas. Os efeitos destes factores são mais significativos devido ao facto da Ria Formosa ser um sistema lagunar pouco profundo. Assim, embora na Primavera e sobretudo no Verão, o volume de efluentes das ETAR's aumente devido à pressão do turismo, o efeito deletério combinado da temperatura, radiação solar e salinidade parece ser responsável pela diminuição da contaminação microbiana. Pelo contrário, nas estações de Outono e Inverno o aumento da precipitação leva ao transporte de vários tipos de contaminantes através das escorrências que vão desaguar na Ria Formosa, aumentando a contaminação fecal.

Grande parte dos riscos de saúde pública associados ao consumo de bivalves são directamente atribuídos à qualidade do ambiente onde são produzidos (Campos & Cachola, 2007). Como a vulnerabilidade das ZPB's à contaminação microbiana se encontra em modificação constante, devido às variações das actividades humanas e do próprio clima (Campos et al., 2009), é necessário um acompanhamento contínuo da sua situação para que a produção de moluscos bivalves, tão importante na Ria Formosa, não ponha em causa a saúde dos consumidores.

Agradecimentos

Um agradecimento aos técnicos do INRB, IP/IPIMAR de Olhão, Fernando Catarino, Luz Abreu, Bento Marques, Domingos Santos e todos os técnicos que colaboraram na colheita e processamento das amostras ao longo de vinte anos.

Referências Bibliográficas

AHL, T., CHRISTOFFERSEN, K., RIEMAAN, B., NYBROL, D., 1995. A combined microcosm and mesocosm approach to examine factors affecting survival and mortality of *Pseudomonas aeruginosa* Ag 1 in seawater. *FEMS Microbiology and Ecology*, 17: 107-116.

ALKAN, U., ELLIOT, D. J., EVISON, L. M., 1995. Survival of enteric bacteria in relation to simulated solar radiation and other environmental factors in marine waters. *Water Research*, 29: 2071-2080.

ANÓNIMO, 2004. "Regulamento (CE) nº 854/2004 de 29 de Abril, estabelece regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano", Jornal Oficial da União Europeia, L139/206, Parlamento Europeu e Conselho, Bruxelas, 115 pp.

ANÓNIMO, 2008. "Despacho n.º 19960 de 28 de Julho, INRB, I.P. estabelece a classificação das zonas de produção de moluscos bivalves vivos", Diário da República Nº 144, 2ª Série, do Ministério da Agricultura, do desenvolvimento Rural e das Pescas.

ANÓNIMO, 2010. "Despacho nº14515 de 17 de Setembro, INRB, I.P. estabelece a classificação das zonas de produção de moluscos bivalves vivos", Diário da República Nº 182, 2ª Série, do Ministério da Agricultura, do desenvolvimento Rural e das Pescas.

BORREGO, J. J., ARRABAL, F., DE VICENTE, A., GOMEZ, L. F., ROMERO, P., 1983. Study of microbial inactivation in the marine environment. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 55: 297-302.

CACHOLA, R., LIMA, C., 1994. Qualidade da água e dos recursos vivos da costa algarvia (Verão 1984). *Relatórios do Instituto Nacional de Investigação das Pescas*, 38: 1-15.

CACHOLA, R.A., CAMPOS, C.J.A., 2006. Redefinição das zonas de produção de bivalves nos sistemas lagunares do Algarve no âmbito do programa de monitorização microbiológica. *Relatórios Científicos e Técnicos*, Série Digital, IPIMAR, Lisboa, 37p.

CAMPOS, C, CACHOLA, R., 2007. Contaminação Microbiana num Porto de Recreio próximo de Viveiros de Bivalves na Ria Formosa. *Relatório do Programa Maris*, Olhão, 20 páginas.

CAMPOS, C.J.A., HARGIN, K., KERSHAW, S., LEE, R. J., MORGAN, O. C., 2009. Notes on worst-case scenario of microbiological contamination in bivalve mollusc harvesting areas.

Proceedings of the 7th International Conference on Molluscan Shellfish Safety (ICMSS09), Nantes, France, 8pp.

COELHO, M.R., BEBIANNO, M.J., LANGSTON, W.J., 2002. Organotin levels in the Ria Formosa lagoon, Portugal. *Applied Organometallic Chemistry*, 16: 384-390.

CORNAX, R., MORIÑIGO, M. A., ROMERO, P., BORREGO, J. J., 1990. Survival of pathogenic microorganisms in seawater. *Current Microbiology*, 20: 293-298.

CRAVO, A., 2003. Avaliação de Efeito das Descargas de Águas Residuais Urbanas na Ria Formosa (DRAOT/UAlg) – Relatório Final - Análises de Maio de 2001 a Dezembro de 2002, Faro, Universidade do Algarve, 131 p.

DIONÍSIO, L.P.C., RHEINHEIMER, G., BORREGO, J.J., 2000. Microbiological pollution of Ria Formosa (South of Portugal). *Marine Pollution Bulletin*, 40 (2): 186-193.

DONOVAN, T.J., GALLACHER, S., ANDREWS, N.J., GREENWOOD, M.H., GRAHAM, J., RUSSELL, J.E., ROBERTS, D., LEE, R., 1998. Modification of the standard method used in the United Kingdom for counting *Escherichia coli* in live bivalve molluscs. *Communicable Disease and Public Health*, 1 (3): 188-196.

ENS, B.J., DANKERS, N.M.J.A., LEOPOLD, M.F., LINDEBOOM, H.J., SMIT, VAN BREUKELEN, C.J., S., VAN DER SCHANS, J.W., 2007. International comparison of fisheries management with respect to nature conservation. Wageningen, Statutory Research Tasks Unit for Nature and the Environment, WOt-rapport 42: 116 p.

ISO/TS 16649-3, 2005. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide. International Organization for Standardization, Geneve, Suíça.

ISO 7218, 2007. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations. International Organization for Standardization, Geneve, Suíça.

MARTIN, Y. P., BONNEFONT, J. L., 1986. Conditions de décroissance en milieu marin des bactéries fécales des eaux usées urbaines. *Oceanis*, 12: 403-418.

MARTINS, F., NEVES, R., BRITO, A., VENÂNCIO, A., 2004. Análise do impacto das características microbiológicas dos Efluentes Urbanos na Actividade Conquícola da Ria

Formosa: Relatório da Tarefa de Modelação da Acumulação de Coliformes em Bivalves. CCDRALg/IMAR, 37 p.

NEWTON, A., MUDGE, S.M., 2003. Temperature and salinity regimes in a shallow, mesotidal lagoon, the Ria Formosa, Portugal. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 57: 73-85.

NP 1829:1982 (1ª edição). Microbiologia alimentar. "Preparação da amostra para análise microbiológica". *Instituto Português da Qualidade*, Ministério da Economia e Inovação, Lisboa.

NUNES, M.C., 1984. Ria de Faro-Olhão: Estudo bacteriológico da água. *Cuadernos da Area de Ciencias Mariñas*, 1: 357-364.

PBHRA, 2000. Plano das Bacias Hidrográficas das Ribeiras do Algarve, 2000.

PEDRO, S., CASTILHO, M.F., SILVA, H.A., 2008a. Monitorização sanitária e classificação das zonas de produção; Classificação. *In: H. A. Silva e I. Baptista (eds). Produção, Salubridade e Comercialização de Moluscos Bivalves em Portugal*, Publicações avulsas do IPIMAR, Lisboa, pp. 107-111.

PEDRO, S., CASTILHO, M.F., 2008b. Principais perigos associados aos bivalves; Contaminantes microbiológicos; Bactérias. *In: H. A. Silva e I. Baptista (eds). Produção, Salubridade e Comercialização de Moluscos Bivalves em Portugal*, Publicações avulsas do IPIMAR, Lisboa, pp. 75-76.

PEDRO, S., CACHOLA, R., CASTILHO, M.F., SOBRAL, M., 2008c. Monitorização sanitária e classificação das zonas de produção; Monitorização; Programa de monitorização microbiológica. *In: H. A. Silva e I. Baptista (eds). Produção, Salubridade e Comercialização de Moluscos Bivalves em Portugal*, Publicações avulsas do IPIMAR, Lisboa, pp. 102-103.

PEDRO, S., CASTILHO, M.F., SILVA, H.A., 2008d. Principais perigos associados aos bivalves; Contaminantes microbiológicos; Generalidade. *In: H. A. Silva e I. Baptista (eds). Produção, Salubridade e Comercialização de Moluscos Bivalves em Portugal*, Publicações avulsas do IPIMAR, Lisboa, pp. 74-75.

POPNR, 2007. Revisão do Plano do Ordenamento do Parque Natural da Ria Formosa, 2007.

PROT - Algarve, 2002. Plano Regional do Ordenamento do Território do Algarve. Relatório Preliminar de Caracterização e Diagnóstico. Volume II - Caracterização e Diagnóstico, Parte

1. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Algarve, 213 pp.

PROT-Algarve, 2007. Plano Regional do Ordenamento do Território do Algarve. Volume III - Elementos Complementares. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Algarve, 127 pp.

ROZEN, Y., BELKIN, S., 2001. Survival of enteric bacteria in seawater. *FEMS Microbiology Review*, 25: 513-529.

SILVA, F. M., 2011. Avaliação da contaminação fecal da amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) e respectiva zona de produção - Ria Formosa - Faro: influência na saúde pública. Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Segurança Alimentar e Saúde Pública. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Núcleo de Investigação e Formação em Segurança e Qualidade Alimentar, 188pp.

Sistema Nacional de Informação de Recursos Hídricos (SNIRH), 2010 (<http://snirh.pt>).

SORENSEN, S. J., 1991. Survival of *Escherichia coli* K12 in seawater. *FEMS Microbiology and Ecology*, 85: 161-168.

VENÂNCIO, A.N., BRITO, A.M., MARTINS, F.A., REIS, M., 2004. Modelação da qualidade microbiológica da água na Ria Formosa. 7º Congresso da Água, LNEC, Lisboa, 14p.

VIEIRA, R.H.S.F., ATAYDE, M.A., CARVALHO, E.M.R., CARVALHO, F.C.T., FILHO, A.A.F., 2008. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacotu (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e a sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 45: 180-189.

YOUNGER, A.D., LEE, R.J. AND LEES, D.N., 2003. Microbiological monitoring of bivalve mollusc harvesting areas in England and Wales – rationale and approach. In: *Molluscan Shellfish Safety* (eds. A. Villalba, B. Reguera, J.L. Romalde and R. Beiras), Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos da Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Santiago de Compostela, Spain, pp. 265–277