

# **O PERIGO DAS BIOTOXINAS MARINHAS**

**As biotoxinas marinhas são causadoras de uma forma de intoxicação associada ao consumo de frutos do mar, principalmente moluscos e crustáceos.**

**Dr. Edison Barbieri**

**São Paulo / 2009**

# O PERIGO DAS BIOTOXINAS MARINHAS

## CONTEÚDO

### 1. Introdução

### 2. Biointoxicação

#### 2.1. Biointoxicação por Toxina Paralisante de Frutos do Mar (PSP - *Paralytic Shellfish Poisoning*) ou PSP-saxitoxina

2.1.1. Estrutura química da saxitoxina PSP

2.1.2. Organismos Produtores; Vetores

2.1.3. Mecanismo de ação tóxica

2.1.4. Clínica

2.1.5. Tratamento

#### 2.2. Biointoxicação por DSP - Toxina Diarreica de Frutos do Mar (DSP - *Diarrheic Shellfish Poisoning*)

2.2.1. Estrutura química do ácido ocadaico e da pectenotoxina

2.2.2. Organismos produtores; Vetores

2.2.3. Mecanismo de ação tóxica

2.2.4. Clínica

2.2.5. Tratamento

#### 2.3. Biointoxicação por AZP, ou azaspirácido (*azaspiracid poisoning*)

2.3.1. Estrutura química do AZP

2.3.2. Organismos produtores; Vetores

2.3.3. Mecanismo de ação tóxica

2.3.4. Clínica

2.3.5. Tratamento

## 2.4. Biointoxicação por ASP - Toxina Amnésica de Frutos do Mar (ASP - *Amnesic Shellfish Poisoning*)

2.4.1. Estrutura química do AZP

2.4.2. Organismos produtores; Vetores

2.4.3. Mecanismo de ação tóxica

2.4.4. Clínica

2.4.5. Tratamento

## 2.5. Biointoxicação por NSP, ou Toxina Neurotóxica de Frutos do Mar (NSP - *Neurotoxic Shellfish Poisoning*)

2.5.1. Estrutura química do AZP

2.5.2. Organismos produtores; Vetores

2.5.3. Mecanismo de ação tóxica

2.5.4. Clínica

## 2.6. Biointoxicação por venerupino, ou VSP (*Venerupine Shellfish Poison*)

2.6.1. Estrutura química do AZP

2.6.2. Organismos produtores; Vetores

2.6.3. Mecanismo de ação tóxica

2.6.4. Clínica

### **3. Métodos analíticos para determinação das biotoxinas**

3.1. Métodos químicos

3.1.1. Para toxinas DSP

3.1.2. Para toxinas PSP

3.1.3. Para a toxina ASP

3.2. Métodos biológicos

### **4. Prevenção e controle**

**5. Medidas de controle**

**6. Literatura consultada**

## 1. Introdução

Foi na Califórnia, em 1927, que pela primeira vez se registraram algumas intoxicações humanas provocadas pelo consumo de mexilhões. Nessa época, Sommer e colaboradores registraram os primeiros casos de intoxicação e morte de consumidores de mexilhão na Califórnia, EUA, com a presença, na água do mar, da microalga *Alexandrium catenella* (Schantz, 1984).

Posteriormente observou-se que quando apareciam afloramentos de dinoflagelados ao redor dos mexilhões, também ocorriam sintomas de enjoo e inclusive mortes de pessoas que os haviam ingerido. Na época, houve a suspeita, e logo a comprovação, de que os dinoflagelados, alimento dos mexilhões, eram os responsáveis pelas intoxicações.

A partir de 1976 ocorrem os primeiros casos comprovados (63) de intoxicação humana relacionada ao consumo de mexilhões "tóxicos", procedentes da Galícia, cujas toxinas eram do grupo PSP. Entre 1978 e 1982, na Europa, houve vários registros de intoxicação relacionada ao consumo de moluscos bivalves. O fato mais importante ocorreu em 1981, afetando quase 5.000 pessoas. Entretanto, nesses registros não foi possível identificar uma toxina do grupo DSP nos mexilhões consumidos, porque não foram feitas análises com cromatografia líquida, porém descartaram-se causas de origem bacteriana.

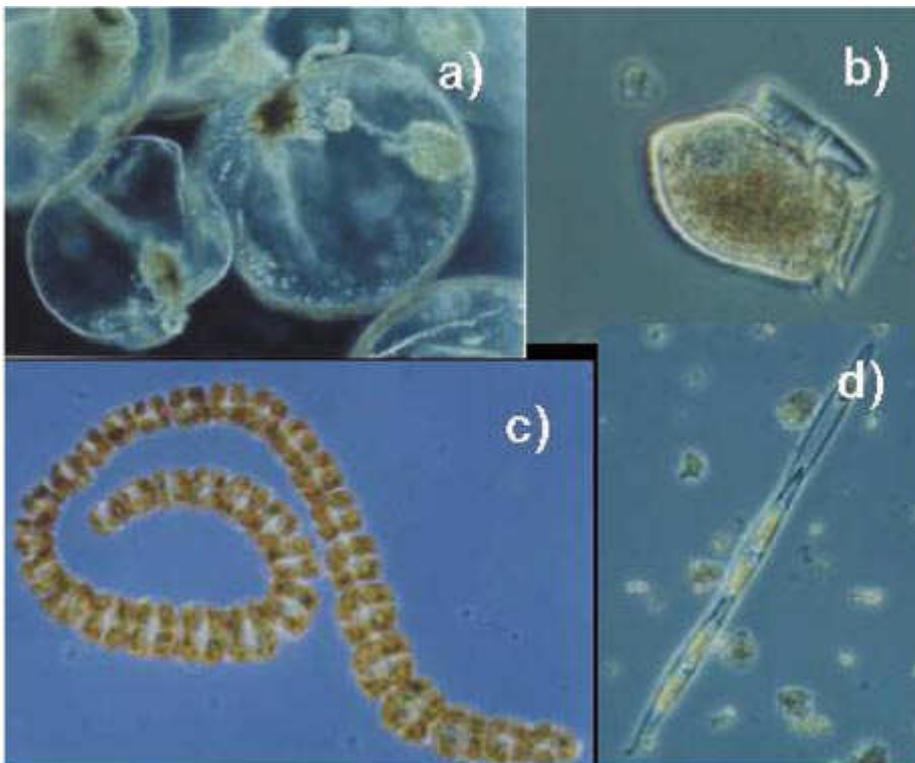
Desde essa data não há registro de nenhum outro caso até 1986, quando foram diagnosticados sintomas em 17 pessoas que haviam consumido mexilhões cozidos na rocha.

Posteriormente ocorreram sucessivos novos episódios, mais ou menos graves, quase todos os anos. Em 1993 e 1994 ocorreram nove casos, atingindo um total de 27 pessoas e provocando a morte de uma delas. Já em 1995, outros três casos afetaram 61 pessoas. Os moluscos bivalves responsáveis foram, outra vez, mexilhões cozidos na rocha. Em todos esses casos, à exceção do ocorrido em 1976, a toxina causadora da intoxicação era do grupo DSP.

No Brasil não há dados disponíveis sobre a ocorrência e gravidade de tais intoxicações, o que dificulta a identificação dessas enfermidades e sua associação com a ingestão de frutos do mar. Nos Estados Unidos são registrados, por ano, cerca de 30 casos de intoxicação por toxinas marinhas, sendo mais comuns nos meses de verão, quando o crescimento de dinoflagelados é maior. Dentre todas as toxinas, as do grupo PSP são as mais perigosas, pois podem levar o paciente a óbito. Estima-se, a partir dos dados disponíveis, que ocorra um óbito a cada quatro anos, dentre todos os casos.

## 2. Biointoxicação

A proliferação de certas algas microscópicas (microalgas), marinhas ou de água doce, pode causar diversos problemas para o homem e para o ecossistema como um todo. Quando a proliferação dessas algas é grande, o fenômeno é designado por “Harmful Algal Blooms”, ou HABs (proliferações nociva de algas).



Microalgas causadoras de HABs: a) *Noctiluca scintillans*, causadora de maré vermelha; b) *Dinophysis acuta*, produtora de DTXs e PTXs; c) *Gymnodinium catenatum*, produtora de PSP; d) *Pseudonitzschia* spp., produtora de ASP. As fotos não estão todas na mesma escala, mas as dimensões de cada célula estão entre 0,005 e 0,100 mm (fotos: M.A. Sampayo). Fonte: Vale, 2004.

A proliferação maciça de microalgas pode ter aparentemente poucos efeitos no ecossistema ou afetar fortemente diversos organismos aquáticos por mecanismos diversos como: anoxia, produção de toxinas (ictiotoxinas), ação mecânica da estrutura anatômica da sua parede celular nos tecidos delicados das brânquias (Vale, 2004). As HABs têm um forte impacto negativo na pesca, especialmente quando causam grande mortalidade de espécies criadas em gaiola, como o salmão, que não podem escapar do local onde ocorre o fenômeno (Landsberg, 2002).

A contaminação esporádica de animais filtradores, como os moluscos bivalves, por biotoxinas pode causar intoxicações agudas nos seres humanos, embora aparentemente não afetando o animal contaminado. Neste caso particular, a proliferações das algas pode ser tão pequena que não chega a alterar a cor da água. O fenômeno da floração é devido essencialmente a microalgas do grupo dos dinoflagelados (Vale, 2004), as quais, em sua maioria, são planctônicas (livre-natantes na água) e cujas toxinas atingem os homens diretamente através de moluscos bivalves.

Biointoxicação por moluscos bivalves (MB) é como se denominam os processos patológicos produzidos pela ingestão desses animais contendo em seus tecidos toxinas, as quais são sintetizadas por microalgas planctônicas. Estes processos são diferentes das intoxicações provocadas pelo consumo de moluscos bivalves contaminados com bactérias ou parasitos, por radiatividade ou compostos químicos, ou ainda daqueles decorrentes de hipersensibilidade do consumidor.

As toxinas encontradas até o momento na região costeira do Brasil incluem **microcistinas, ácido ocadaico, palitoxina, saxitoxinas e congêneres (NeoSTX, GTX1-4, C1, C2) e ácido domoico**, provenientes de várias microalgas, como *Microcystis aeruginosa*, *Dynophysis acuminata*, *Ostreopsis ovata*, *Alexandrium tamarense*, *Gymnodinium catenatum* e *Pseudonitzschia* spp. (Proença e Mafra, 2005).

As biotoxinas causadoras de intoxicações são substâncias sintetizadas pelo fitoplâncton, pelo fitobentos ou por macroalgas. Uma vez sintetizadas, são ingeridas pelos consumidores de plâncton ou bentos, dentre

eles, os MB. Estes, em seu processo de filtração-alimentação, absorvem as biotoxinas suspensas junto a outras partículas orgânicas e inorgânicas no meio marinho, as quais são acumuladas nos tecidos, na glândula digestiva ou no hepatopâncreas. Esta capacidade de acumular as biotoxinas é o que dá aos MB relevância especial como causadores de intoxicação dos seres humanos que os consomem.

Segundo Anderson (1998), vêm-se observando aumentos constantes do número de espécies fitoplanctônicas produtoras de toxinas, do número de toxinas produzidas por algumas destas espécies, da ocorrência mundial de florações de algas tóxicas e dos impactos desses aumentos nos ecossistemas e na pesca, justamente quando a dependência humana sobre os sistemas costeiros - para alimentação, recreação e comércio - encontra-se em expansão.

A quantidade de biotoxinas no plâncton varia com o período do ano e alcançam nível de toxicidade só nos períodos de proliferação intensa e rápida das microalgas que as sintetizam. Esta proliferação ocorre quando as condições ambientais da água do mar são propícias, e, neste caso, a concentração de dinoflagelados pode ser vista a olho nu. Quando isso acontece, o fenômeno é chamado “maré vermelha”.

Portanto, a ocorrência de marés vermelhas afeta diretamente os bancos naturais de moluscos e também as criações artificiais, principalmente porque os moluscos se alimentam principalmente das partículas que se encontram em seu entorno em maior concentração, no caso, as oriundas de espécies de dinoflagelados, algumas delas, tóxicas (Alonso, 1989). Por este motivo, pode-se considerar os MB como bioacumuladores de biotoxinas e, portanto, bioindicadores da presença delas.

Ainda não se conhece o porquê dessa seletiva acumulação. Nem todos os dinoflagelados produtores de maré vermelha são tóxicos para o homem, só o são aqueles que sintetizam toxinas e são acumulados pelos MB e consumidos.

Assim, os MB contaminam-se com as biotoxinas marinhas por via digestiva, e o grau de contaminação depende de sua capacidade filtradora, e esta, por sua vez, do estado fisiológico em que se encontra; assim, os mexilhões e ostras são sempre os animais mais afetados, porque sua capacidade filtradora é maior que a de outros moluscos.

A acumulação de altas quantidades de biotoxinas nos MB não afeta o estado fisiológico destes. Tampouco se conhece se a toxina originada no dinoflagelado sofre alguma transformação no interior dos MB ou se algo semelhante ocorre ao ser ingerida pelo homem. Ocorram ou não estas transformações, desde que se origina no dinoflagelado até que se manifeste sua presença no ser humano intoxicado, ocasionam graves patologias. Essas intoxicações alimentares são importantes por duas razões: do ponto de vista sanitário, porque podem levar à morte; do ponto de vista social, pelos inúmeros prejuízos econômicos que causam nas empresas do setor e, portanto, nas populações que vivem desse recurso.

Atualmente pode-se distinguir cinco tipos de biointoxinas encontradas em moluscos bivalves, as quais se relacionam com outros tantos grupos de toxinas. Quatro deles, os das biointoxinas **PSP (paralisante)**, **NSP (neurotóxica)**, **DSP (diarreica)** e **VSP (venerupino)**, são sintetizados por dinoflagelados pertencentes aos gêneros *Gonyaulax*, *Gimnodinium* e *Pyrodinium*. Constitui exceção a biotoxina ASP (amnésica), produzida por diatomáceas.

### **2.1. Biointoxicação por Toxina Paralisante de Frutos do Mar (PSP - *Paralytic Shellfish Poisoning*) ou PSP-saxitoxina**

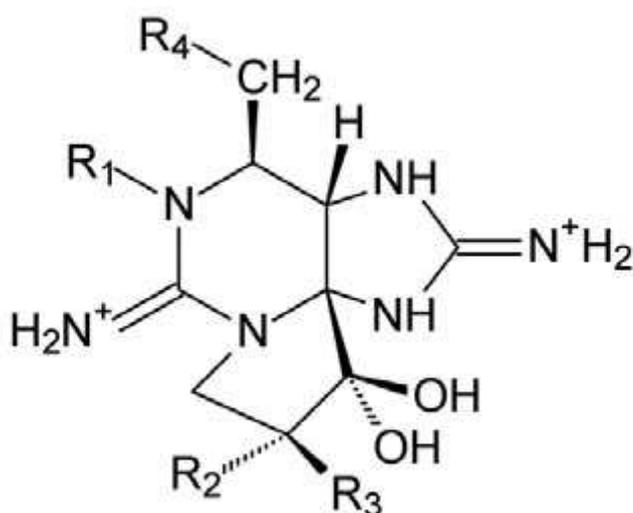
Do grupo das biotoxinas IPIA (toxinas responsáveis por paralisia) a PSP (do inglês, *paralytic shellfish poison*), ou veneno paralisante de moluscos, é chamada de “paralisante” pelos efeitos que produz. É também chamada de neurotoxina, mitilotoxina ou saxitoxina. A saxitoxina foi a primeira biotoxina descoberta e estudada, por isso, a mais bem conhecida e tipificada deste grupo. Na atualidade se conhecem cerca de vinte variedades de biotoxinas

paralisantes, e todas elas têm propriedades químicas semelhantes às da saxitoxina (STX).

O princípio ativo estudado e tipificado até o momento é a saxitoxina (STX), mas já foram descobertos outros deste grupo, como a neossaxitoxina (neo-STX) e as gonyautoxinas (GTX). Parece que ambas se transformam em saxitoxina no interior do MB graças à ação de bactérias e víbrios, sendo maior a velocidade de conversão em condições aeróbias.

Todas as biotoxinas deste grupo são paralisantes. Em geral, são hidrossolúveis, termoestáveis em meio ácido, porém extremamente instáveis e facilmente oxidadas em meio alcalino ou em meio ácido fraco (a partir de pH 4,5).

### 2.1.1. Estrutura química da saxitoxina PSP



Estrutura das toxinas PSP. R1 = H ou OH; R2 e R3 = H ou OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>; R4 = NH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub> - nas toxinas carbamato, SO<sub>3</sub>NHCO<sub>2</sub> - nas toxinas N sulfocarbamoyl, OH - nas toxinas decarbamoyl, H - nas toxinas deoxydecarbamoyl. Há pelo menos 21 toxinas caracterizadas estruturalmente.

### 2.1.2. Organismos Produtores e Vetores

As saxitoxinas PSP são produzidas por certos gêneros de dinoflagelados, como *Gonyaulax*, *Gimnodinium*, *Alexandrium* e *Pyrodinium*. Algumas espécies de *Gonyaulax* são: *G. tamarensis* e *G. catenella*. Em águas brasileiras, as espécies que produzem a PSP são *Alexandrium catenella* e

*Gonyaulax catenatum*. Desde 1992, todos os anos observam-se florações de *A. catenella* e toxicidade em mariscos (FAO, 2005). Em 1998 foi registrada a presença de *Gonyaulax catenatum* na costa do estado de Santa Catarina (Ferrari, 2001).

Os vetores mais importantes são os MB: mitílideos (mexilhões) e ostreídeos (ostras). Em determinadas condições, os mexilhões e as ostras podem causar intoxicações graves. Qualquer uma das 28 variedades utilizadas na alimentação pode ocasionar intoxicação, mesmo que até o momento os mexilhões procedentes do Mar Vermelho e do Mediterrâneo não tenham produzido intoxicação conhecida. Os mexilhões e as ostras filtram diariamente 19 a 40 litros de água e os micro-organismos são acumulados em suas glândulas digestivas. Mesmo que a concentração destes micro-organismos na água não seja muito elevada, o risco de intoxicação existe pela capacidade de acumulação pelo molusco. A liberação da toxina acumulada se produz de forma mais ou menos lenta, dependendo da espécie. A temperatura (ótima entre 5 e 10 °C), o grau de salinidade, a intensidade de luz e o teor de nutrientes são fatores que influem na presença de micro-organismos na água.

### **2.1.3. Mecanismo de ação tóxica**

Quase a totalidade dos efeitos da STX no ser humano se deve à inibição difusa do impulso nos nervos periféricos e no músculo esquelético. Esta inibição se produz por bloqueio seletivo do influxo de sódio pela membrana celular, impedindo a propagação do impulso nervoso (Baden *et al.*, 1995a). A paralisia da musculatura torácica é a causa direta de morte por asfixia. São necessários teores de 1 a 4 mg de PSP para causar a morte (Schantz, 1984).

### **2.1.4. Clínica**

A gravidade da intoxicação por PSP é muito variável, dependendo do grau de intoxicação, sendo determinada pelo tipo de toxina, pela quantidade ingerida e pela taxa com que o intoxicado é capaz de eliminá-la.

Os primeiros sintomas podem aparecer ao redor de 30 minutos após o consumo dos MB, mas também podem surgir horas depois. Origina um quadro fundamentalmente nervoso, neurotóxico, mais ou menos grave nos níveis central e periférico.

Dependendo do quadro, a sintomatologia pode ser:

**Benigna.** O mais frequente é que os primeiros sintomas sejam formigamento/dormência (inchaço, coceiras ou ardor) na boca, lábios e ao redor da língua e rosto. Estes sintomas estão presentes na totalidade dos casos. Parestesias nos extremos dos dedos e orelhas, cefaléia e tonturas, náuseas e vômitos também podem ocorrer (Mons *et al.*, 1998). Sintomas gastrointestinais são raros.

**Moderada.** Ao aumentar a intoxicação, o formigamento/dormência progride nos braços e pernas, e o paciente apresenta debilidade muscular, com rigidez na musculatura e certa incoerência na fala. São comuns as manifestações do cerebelo, do tipo ataxia, falta de coordenação motora e/ou demitria e hipertensão (Gessner *et al.*, 1997).

**Severa.** Nas formas mais graves de intoxicação ocorrem paralisias musculares intensas e difusas, com dificuldade respiratória importante, sensação de falta de ar e risco de morte iminente, acompanhadas desde o começo de acidez láctica (Aune, 2001). São raras as vezes em que a consciência é comprometida; quando acontece, a morte é causada por insuficiência respiratória. Nestes casos, a evolução é muito rápida, ocorrendo morte entre 2 e 24 horas (em média 8 horas) após a ingestão (Mons *et al.*, 1998). O prognóstico é favorável quando o paciente sobrevive às primeiras 24 horas (Aune, 2001)

### 2.1.5. Tratamento

De acordo com AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA, 1995), atualmente não existe tratamento específico nem antídoto eficaz nos casos de intoxicação por biotoxinas. Por isso, o tratamento, que inclui lavagem gástrica para eliminar os restos de MB, é sintomático e sempre de acordo com a fase e gravidade do caso. Assim, o tratamento de suporte é

fundamental ao paciente para a manutenção de suas funções vitais e para o controle das complicações do quadro.

Quanto mais cedo tratar, melhor. Assim, deve-se iniciar o tratamento nas primeiras horas após a ingestão. A toxina não será totalmente absorvida através da mucosa gástrica, provocando-se o vômito ou realizando-se lavagem estomacal, assim como administrando-se diuréticos e bebidas alcalinas ricas em íons de sódio e potássio, já que a principal via de eliminação é a renal. No caso de deficiência respiratória, deve-se recorrer à respiração assistida e, nos casos extremos, à traqueostomia (CDC, 2003).

Uma nova terapia em nível hospitalar é a hemoperfusão em carvão, que consiste em passar o sangue do paciente através de um filtro que retém a toxina (APHA, 1995).

Os diagnósticos diferenciais, que há anos quase não era necessário considerar, hoje são muito importantes em razão da intoxicação por anticolinesterásicos e do consumo de diversas espécies de peixe-lua que contêm também a tetradoxina.

A distinção entre a intoxicação por anticolinesterásicos e aquela por tetradoxina pode ser difícil, exceto nos casos em que são evidentes os efeitos da estimulação colinérgica, como o aumento da quantidade de saliva, lágrima e secreção bronquial ou a miose. Nenhum destes sinais é apresentado na intoxicação por PSP.

Na intoxicação devida à ingestão de diversas espécies de peixe-lua e de baiacu, que contêm tetradoxina, o começo é agudo, e a evolução e preponderância das manifestações neurológicas são quase idênticas à da intoxicação por PSP. A diferença se estabelecerá pelos antecedentes de consumo de pescado ou pela presença da hipotensão arterial moderada ou severa, ausente na intoxicação por PSP (FDA/CFSAN, 2003).

Não existe dado concreto sobre a dose tóxica. Não obstante, estima-se como dose mortal para um ser humano aquela compreendida entre 1.000 e 12.400 µg (a partir de 5.000 µg, segundo outros autores) ou ainda entre 40.000 e

60.000 unidades-rato. Atualmente admite-se como limite máximo permitido 80 µg/100 gramas de produto (carne de molusco).

A unidade-rato (UR) é a dose mínima necessária para matar um rato num determinado período de tempo. Calcula-se injetando 1 ml de extrato tóxico por via intraperitoneal. A toxicidade de uma amostra é expressa em unidades-rato/grama de hepatopâncreas.

Os efeitos negativos que estas biotoxinas ocasionam são sanitários, econômicos e sociais (como os causados pelas toxinas do grupo DSP), com a diferença de que os efeitos sanitários vão ser mais importantes pela gravidade do quadro clínico apresentado pelo paciente. Entretanto, os efeitos econômicos e sociais vão ser menores, já que, ao menos até a presente data, o número e duração destes são muito menores e reduzidos também nas zonas afetadas.

## **2.2. Biointoxicação por DSP - Toxina Diarreica de Frutos do Mar (DSP - *Diarrheic Shellfish Poisoning*)**

Certas espécies de dinoflagelados, principalmente as do gênero *Dinophysis*, produzem uma série de biotoxinas conhecidas como IDIA (toxinas responsáveis por intoxicação causadora de diarreia), DSP (*diarrheic shellfish poison*, veneno diarreico de moluscos) ou simplesmente toxinas diarreicas ou enterotoxinas, pelos efeitos que produzem no homem. Estas toxinas causam problemas gastrointestinais ao serem ingeridas com os MB que as acumulam.

Na Europa, na década de 1960 já se suspeitava de intoxicações provocadas por mexilhões, que não eram atribuídas a bactérias (Kat, 1979). Só após um surto de intoxicações no Japão, em 1976, foi definitivamente afastada a hipótese de contaminação bacteriana, chegando-se à conclusão de que se tratava de um composto químico termorresistente, de origem marinha. A causa da contaminação foi atribuída à alga *Dinophysis fortii* (Yasumoto *et al.*, 1980), produtora do poliéter dinofisistoxina-1 ou DTX1 (Murata *et al.*, 1982).

Foram identificados três subgrupos de toxinas:

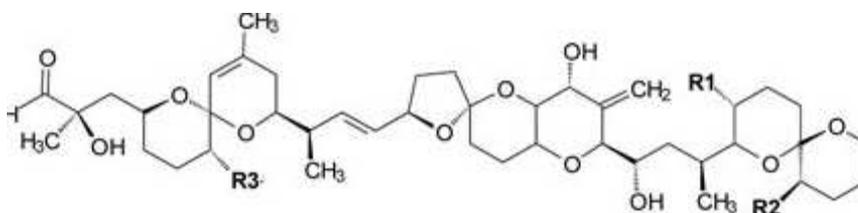
**Toxinas diarreicas (dinofisistoxinas).** Seu componente ativo é o ácido okadaico, ou ocadaico (AO), e seus derivados.

**Pectenotoxinas (PTX).** Seu componente ativo é um grupo de poliésteres lactônicos. São toxinas principalmente hepatotóxicas

**Lesotoxinas (ITX).** São toxinas com grupos sulfato. São quase insolúveis em meio aquoso, porém são muito solúveis em meio orgânico, sobretudo em acetona, solvente usado para sua extração nos MB. Seus efeitos são cardiotoxicos em animais, e sua ação por administração oral é muito fraca (Tubaro *et al.*, 2003).

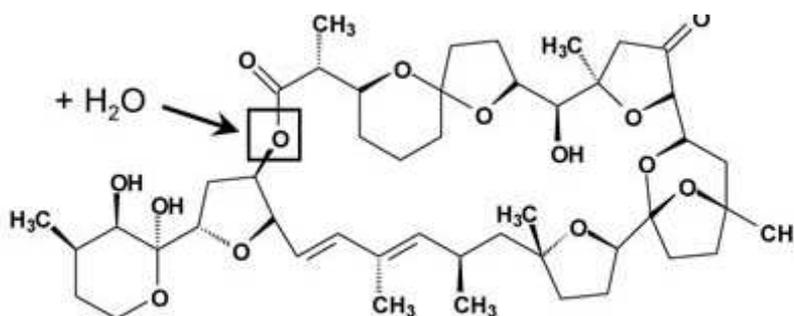
Sabe-se ainda que nos bivalves qualquer destas toxinas pode ocorrer conjugada com ácidos graxos, formando os ésteres acilo ou DTX3 (Marr *et al.*, 1992). Estes ésteres não ocorrem nas microalgas, mas são metabólitos dos bivalves (Suzuki *et al.*, 1999).

### 2.2.1. Estrutura química do ácido ocadaico



R1 = CH<sub>3</sub>, R2 = H; DTX1: R1 = R2 = CH<sub>3</sub>; DTX2: R1 = H, R2 = CH<sub>3</sub>; 'DTX3': R3 = acilo.  
Nas restantes, R3 = OH

### Estrutura química da pectenotoxina



### **2.2.2. Organismos produtores**

As enterotoxinas são produzidas principalmente por dinoflagelados dos gêneros *Dinophysis* e *Prorocentrum*.

Os vetores mais importantes são os mitilídeos (mexilhões) e os pectinídeos (vieira).

### **2.2.3. Mecanismo de ação tóxica**

As toxinas do subgrupo das dinofisistoxinas atuam no ser humano estimulando a fosforilação das proteínas que controlam a secreção de sódio pelas células intestinais. Experimentalmente foi demonstrado que as toxinas não diarréicas do complexo DSP podem ter efeito tóxico no fígado (PTX) e no coração (YTX). O AO é um inibidor potente de uma classe de enzimas – as fosfatases proteicas do tipo PP2A e PP1 (Bialojan e Takai, 1988) – e leva à acumulação de proteínas hiperfosforiladas na célula, alterando inúmeros processos metabólicos. Por exemplo, a acumulação de actina hiperfosforilada leva à desorganização da estrutura celular, causando a perda da forma das células animais em cultura, o que é também uma maneira de diagnosticar a presença desta toxina (Amzil *et al.*, 1992).

A periculosidade das variedades geográficas de *Dinophysis* e *Prorocentrum* varia quando se leva em conta a quantidade de toxina produzida e seu poder tóxico. Estas variações dependem do estado fisiológico dos dinoflagelados, relacionado, sem dúvida, às condições do ambiente marinho, cujos parâmetros ativos continuam ainda sem ser determinados. Os MB que mais facilmente se contaminam são os mexilhões.

### **2.2.4. Clínica**

No período de 30 minutos até 12 horas (normalmente 4 horas) após a ingestão de MBs tóxicos inicia-se um quadro clínico caracterizado por dores gastrointestinais abdominais (53%), destacando-se: diarreias (92%), náuseas (80%) e vômitos (79%) (Vale, 2004). São raros a febre e os calafrios. Os sintomas podem durar até três dias, sendo rara a necessidade de hospitalização do paciente. Os afetados se recuperam em 2-3 dias (Yasumoto *et al.*, 1978).

### **2.2.5. Tratamento**

O tratamento é sintomático: os pacientes devem ser hidratados até desaparecerem os sintomas. Algumas toxinas deste grupo apresentam quadros assintomáticos, assim sendo, carecem de interesse sanitário.

A toxina pode ser veiculada pelo leite materno, podendo ocasionar desidratação do lactente, por causa das diarreias. Neste caso, deve-se realizar também um diagnóstico diferencial com outros quadros gastroenteríticos febris.

Ainda não foi estabelecida a dose mínima efetiva, ou intoxicante. Segundo dados epidemiológicos obtidos com mexilhões contaminados, 12 unidades-rato são suficientes para provocar uma forma débil de intoxicação no ser humano.

Toxinas deste tipo dão origem a quadros patológicos menos graves, porém são as que provocam os maiores efeitos negativos do tipo comercial.

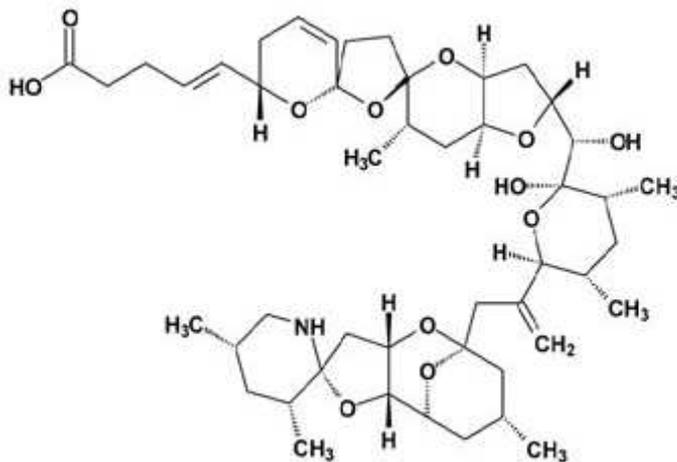
Tais efeitos vão ser sentidos no âmbito sanitário, por sua frequência, extensão e permanência nas águas, e, por conseguinte, nos moluscos. No âmbito social, repercutirá em redução do consumo de moluscos, não só durante o tempo que dura o episódio, mas, por muito tempo após seu desaparecimento. Por último, a proibição da extração de moluscos de amplas zonas marisqueiras durante longos períodos de tempo, que em muitas ocasiões coincidem precisamente com as épocas de maior consumo, causará prejuízos econômicos muito elevados a produtores, depuradores e indústrias transformadoras.

### **2.3. Biointoxicação por AZP, ou azaspirácido (*azaspiracid poisoning*)**

A toxina AZP foi registrada pela primeira vez em 1995, na Holanda, devido ao consumo de mexilhões contaminados provenientes da Irlanda (McMahon e Silke, 1996). Na Irlanda já se havia registrado intoxicações devidas à AZP (McMahon e Silke, 1998). A toxina é um poliéter ácido contendo um anel

azaspiro pouco comum, donde deriva o seu nome: azaspirácido-1, ou AZA1 (Satake *et al.*, 1998).

### 2.3.1. Estrutura química do AZP



### 2.3.2. Organismos produtores

A alga produtora parece ser *Protoperdinium crassipes*, espécie que até agora nunca havia sido relacionada à produção de biotoxinas.

### 2.3.3. Mecanismo de ação tóxica

Não altera o potencial de membrana celular, por isso não é neurotóxico; altera a concentração de F-actina, tendo, portanto, o citoesqueleto como um dos alvos; aumenta o nível de íons de cálcio no citoplasma celular (Román *et al.*, 2002).

### 2.3.4. Clínica; Vetores

É uma síndrome exclusivamente gastrointestinal idêntica à da DSP: náuseas, vômitos, diarreia abundante e dores abdominais (Vale, 2004).

Os principais vetores são os mitilídeos (mexilhões).

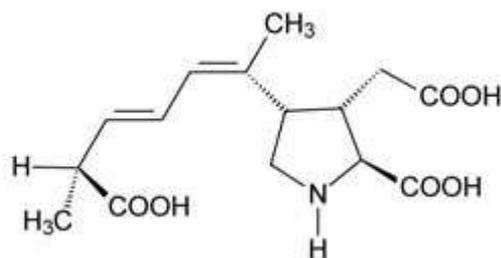
## 2.4. Biointoxicação por ASP - Toxina Amnésica de Frutos do Mar (ASP - *Amnesic Shellfish Poisoning*)

Esta toxina foi detectada pela primeira vez no Canadá, em 1987, quando o consumo de mexilhão contaminado provocou a intoxicação de 153 pessoas, das quais 103 foram hospitalizadas. O fato se repetiu novamente no Canadá, em 1988, e na costa oeste dos Estados Unidos, em 1992.

### 2.4.1. Toxina

A principal substância responsável pela intoxicação por ASP (*amnesic shellfish poisoning*, síndrome amnésico por marisco) é o ácido domoico, sintetizado por certas espécies de diatomáceas.

#### Estrutura química da toxina ASP: ácido domoico



### 2.4.2. Organismo produtor; Vetores

O produtor do composto é a diatomácea marinha *Pseudo-nitzschia pungens* (Bates *et al.*, 1989).

A toxina está presente em algumas variedades da *Diatomea nitzschia*. Em 1995, na costa espanhola, foram detectadas diatomáceas produtoras do ácido domoico, mais precisamente a espécie *Nitzschia pungens*, que se acumula em vieiras e mexilhão no Canadá Atlântico durante sua multiplicação.

Os vetores mais importantes são os mexilhões e as vieiras.

### **2.4.3. Mecanismo de ação tóxica**

O ácido domoico atua como antagonista do glutamato, neurotransmissor do sistema nervoso central. Este ácido é um aminoácido neuroexcitatório, que potencializa a ação de aminoácidos excitatórios naturais, como o glutamato. Atua nos receptores do glutamato no nível do sistema nervoso central, induzindo despolarização da membrana pós-sináptica (Todd, 1993).

### **2.4.4. Clínica**

A intoxicação por ASP se manifesta nas primeiras 24 horas que se seguem ao consumo de MBs contaminados, geralmente com um quadro gastroenterítico caracterizado por náuseas, vômitos e diarreia. Porém nas primeiras 48 horas podem-se observar sintomas neurológicos, que vão desde cefaléia e confusão a até (nas pessoas mais velhas) perda de memória, particularmente severa em alguns casos. Em pacientes idosos surgiram ainda lesões cerebrais, coma e morte (Vieira, 2004). Observou-se associação entre perda de memória e idade: os pacientes com menos de 40 anos tiveram predominantemente diarreia e aqueles com mais de 50 anos, perda de memória (Todd, 1993).

As autoridades canadenses analisaram o ácido domoico em mexilhões e amêijoas provenientes de cultivo, constatando em seus tecidos níveis do ácido superiores a 20 µg/grama.

### **2.4.5. Tratamento**

Ainda não se conhece nenhum tipo de tratamento.

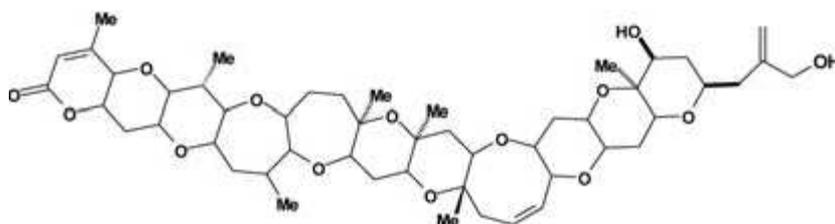
## **2.5. Biointoxicação por NSP, ou Toxina Neurotóxica de Frutos do Mar (NSP - *Neurotoxic Shellfish Poisoning*)**

Conhecida há bastante tempo, a NSP parece restringir-se à região do Golfo do México, Caribe e Flórida, embora esporadicamente já tenha causado intoxicações na Nova Zelândia (Vale, 2004). A contaminação dos MB é causada

pelo dinoflagelado *Ptychodiscus brevis*, produtor de toxinas hemolíticas e neurotóxicas.

As NSP são conhecidas, conjuntamente, como brevetoxinas. Dividem-se em dois grupos de poliéteres: os análogos da brevetoxina PbTx-1 contêm um esqueleto de 10 anéis fundidos, e os análogos da brevetoxina PbTx-2, 11 anéis fundidos (Baden *et al.*, 1995b).

### 2.5.1. Estrutura química das brevetoxinas



### 2.5.2. Organismos produtores

As NSP são sintetizadas pelo dinoflagelado *Ptychodiscus brevis*.

### 2.5.3. Mecanismo de ação tóxica

As brevetoxinas atuam por ativação persistente do canal de sódio, originando descargas elétricas contínuas (Baden *et al.*, 1995a).

Quando ocorrem marés vermelhas de *Ptychodiscus brevis*, verificam-se grandes mortalidades de peixes e complicações respiratórias nas populações humanas costeiras, através da inalação do aerossol marinho, com efeitos irritantes na mucosa.

### 2.5.4. Clínica

Três horas após o consumo de MB que contenha NSP produz-se um quadro neurológico leve, caracterizado por parestesia na boca e dedos, ataxia, bradicardia, sensação de calor e frio, midríase (dilatação da pupila) e diarreia leve (Pumarola e Piedrola, 1983). Estes sintomas constituem a chamada síndrome de NSP. A recuperação é rápida e, dependendo da dose ingerida, é alcançada em

dois dias. Não ocorre paralisia muscular, e não se conhecem casos fatais (Baden *et al.*, 1995a). Seria necessário fazer o diagnóstico diferencial com a intoxicação por ciguatera, devido o consumo do peixe baiacu contaminado por substâncias do grupo da ciguatoxina, sintetizada também por dinoflagelados. O peixe baiacu tem seu hábitat nos mares das regiões tropicais e subtropicais. Até o momento não se registrou no Brasil a ocorrência desse dinoflagelado e nem de intoxicação por NSP.

## **2.6. Biointoxicação por venerupino, ou VSP (*Venerupine Shellfish Poison*)**

Intoxicação deste tipo constitui um sério problema de saúde pública em certas regiões do Japão.

### **2.6.1. Estrutura química do VSP**

A natureza química do VSP não é totalmente conhecida.

### **2.6.2. Organismos produtores**

O VSP é produzido por variedades do dinoflagelado *Prorocentrum minimum*.

### **2.6.3. Mecanismo de ação tóxica**

O VSP ocasiona no homem um quadro hemorrágico e hepatotóxico.

### **2.6.4. Clínica**

A manifestação da intoxicação se dá após um período de 24-48 horas, com anorexia, halitose, náuseas, vômitos, dores gástricas, constipação e cefaléia. O quadro clínico pode complicar-se, pois o paciente fica inquieto, aumentando a hematemese e o sangramento das mucosas oral e nasal. Nos casos graves podem ocorrer icterícia, petéquias e equimoses, e, nos letais, lesão hepática aguda, excitação extrema, delírio e coma (APHA, 1995).

### 3. Métodos analíticos para determinação das biotoxinas

Os métodos analíticos que se utilizam para detectar e quantificar as toxinas nos MBs são químicos e biológicos.

#### 3.1. Métodos químicos

Só podem ser realizados em centros especializados e em função da biotoxina analisada.

##### 3.1.1. Para toxinas DSP:

*Cromatografia líquida de alta resolução.* Baseia-se na reação das toxinas diarreicas com 9-antracildiazometano ou com 1-antracilnitrilo, para obter um derivado fluorescente que se injeta e se separa no cromatógrafo, o qual será detectado fluorimetricamente. O maior inconveniente deste método é ser dificilmente reproduzível.

*Cromatografia gasosa.* Baseia-se na formação de derivados siliados, os quais são injetados no cromatógrafo a 315 °C e com fluxo de nitrogênio de 30 ml/minuto. Não pode ser utilizado como método de controle rotineiro, pelo elevado peso molecular das toxinas e a possibilidade de que se formem múltiplos derivados.

Há também um teste de imunoensaio disponível comercialmente para a DSP (limite de detecção para o ácido ocadaico=1 fg/100 g de alimento; 0,01 ppm) (Hallegraeff *et al.*, 1995). Os testes de radioimunoensaio (RIA) para o ácido ocadaico foi desenvolvido por Levine *et al.* (1988)

##### 3.1.2. Para toxinas PSP:

*Colorimétrico.* Baseado em reações de alfadacetonas com guanidinas e outros compostos com grupos guanidínio ou também em reações com compostos nitroaromáticos para formar compostos coloridos.

*Fluorimétrico.* Baseado no fato de que as toxinas dão origem a substâncias fluorescentes em condições de oxidação.

*Cromatografia líquida de alta resolução.* Permite separar diferentes toxinas.

### **3.1.3. Para a toxina ASP:**

Os métodos empregados no Canadá baseiam-se em HPLC, metodologia que foi validada por um estudo intercolaborativo (Lawrence *et al.*, 1991) e adotada como método oficial pela AOAC (1995b). Além de metodologias baseadas em HPLC, também estão sendo desenvolvidos e comercializados imunoenaios para esta toxina (Garthwaite, 1998).

## **3.2. Métodos biológicos**

São os mais usados e oficialmente reconhecidos em nível nacional e internacional. Quase a totalidade dos países membros da União Europeia recorrem a este tipo de bioensaio como referência em suas legislações.

Este método se baseia na patologia que a toxina pode causar em um rato com determinado peso (pode até provocar-lhe a morte), quando se lhe injeta intraperitonealmente 1 ml do extrato tóxico, e no tempo que transcorre desde a injeção até o aparecimento dos sintomas ou até o instante em que se produz a morte.

No caso de discrepância de resultados entre os métodos químico e biológico, o de referência deve ser o método biológico.

## **4. Prevenção e controle**

O controle da toxicidade dos MB é feito diretamente na carne do organismo, já que os níveis determinados na água marinha não correspondem aos encontrados nos tecidos dos MB. O controle efetivo é realizado antes que os MB sejam encaminhados para o mercado.

Juntamente com o controle dos MB deve-se realizar o diagnóstico precoce no ser humano e notificar com urgência as autoridades sanitárias. Estas intoxicações são alimentares, por isso, sua notificação é obrigatória e urgente. A finalidade deste procedimento é evitar a intoxicação de mais pessoas, retirando do mercado os produtos contaminados pelas biotoxinas.

Entretanto, como medida preventiva é necessário intensificar o sistema de vigilância que, a princípio de forma rotineira, realize análises das águas marinhas coletadas em pontos pré-determinados e com frequência pré-estabelecida para identificar espécies e concentrações celulares potencialmente tóxicas.

Quando os resultados das análises indicam índices perigosos e/ou que as circunstâncias ecológicas são favoráveis ao desenvolvimento de dinoflagelados tóxicos, deve-se ficar alerta, multiplicando os pontos de amostragem e elevando a frequência das coletas, para evidenciar o possível aumento da densidade de dinoflagelados. Este procedimento deve ser complementado com o recolhimento de amostras de MB, que serão objeto de exame do conteúdo estomacal, teste de bioensaio, etc. A rapidez na execução deste plano e a agilidade na comunicação dos resultados garantem a defesa adequada de saúde pública, até que sejam adotadas medidas de controle mais eficazes.

Os MB, por serem produzidos em meio de difícil manejo, como o mar, estão sujeitos a todos os fatores negativos que podem ocorrer na água em que vivem, sendo passíveis de estarem contaminados; por isso, antes de serem consumidos devem ser submetidos a um processo de saneamento ou higienização (depuração) que garanta sua salubridade. A depuração de moluscos, por não utilizar agentes físicos, químicos e nenhum outro tipo diretamente sobre o produto, tem vantagem pois não altera as características organolépticas (sabor, cor, etc.) nem as estruturas químicas do MB, conservando todas as suas propriedades nutritivas.

As biotoxinas acumulam-se nos tecidos dos animais marinhos por assimilação dos agentes toxicogênicos ingeridos, os quais são eliminados lentamente quando o meio ambiente fica livre deles durante um tempo geralmente longo.

Pode-se concluir que o bivalve mantém valores de toxicidade durante meses, os quais, inclusive, não chegam a desaparecer por completo antes da ocorrência de novo episódio de intoxicação, geralmente no verão ou outono (na Europa). Com frequência, na Europa, tal manifestação tóxica tem lugar durante o outono e pode chegar até o inverno sem que a toxina tenha desaparecido totalmente do bivalve.

Esse fenômeno de persistência pode ser constatado em mexilhões escandinavos que adquiriram elevado nível de toxinas DSP durante o outono e que não foram capazes de eliminá-las antes da chegada das gélidas temperaturas das águas nórdicas durante o inverno e a primavera seguintes. Outro exemplo desta persistência é a intoxicação de mexilhões por DSP ocorrida na Noruega em outubro de 1984, pois os bivalves conservaram as biotoxinas até o mês de abril de 1985.

## 5. Medidas de controle

Segundo a Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar, do Centro de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, as medidas de controle podem ser acessadas no site: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Frutos\\_mar.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Frutos_mar.htm). Um resumo delas encontra-se adiante:

- 1) **notificação de surtos** - a ocorrência de surtos (2 ou mais casos) requer a notificação imediata às autoridades de vigilância epidemiológica municipal, regional ou central, para que se desencadeie a investigação das fontes comuns e o controle da transmissão através de medidas preventivas. Um caso, por sua gravidade e associação a alimentos de risco, deve ser notificado e investigado. Orientações poderão ser obtidas junto à Central de Vigilância Epidemiológica - Disque CVE, no telefone é 0800-55-5466.
- 2) **medidas preventivas** - evitar o consumo de frutos do mar de locais onde há concentração ou crescimento excessivo de algas ou da chamada "maré vermelha"; não comer barbatanas ou frutos do mar utilizados como iscas; pessoas imunodeprimidas, em geral, devem evitar o consumo de frutos do mar; lembrar que as toxinas marinhas não são destruídas pelo calor; as autoridades locais devem monitorar o crescimento de dinoflagelados e evitar ou proibir a pesca nos períodos de risco; a vigilância sanitária deve monitorar as áreas de risco e a vigilância epidemiológica fornece suporte para a investigação de casos e identificação das causas.
- 3) **medidas em epidemias** - investigação e identificação dos produtos; alertas à população; controle/proibição da coleta e comercialização de bivalves em áreas de risco.

## 6. Literatura Consultada

- Anderson, D. M. 1998. Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions. In Anderson, D. M.; Cembella, A. D. & Hallegraeff, G. M. (eds.). *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 29-48.
- Alonso JF. 1989. *Mareas rojas y biotoxinas: química y epidemiología*. Santiago: Conselleria de Sanidad de la Xunta de Galicia, 1989; 19.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Control of Communicable Diseases Manual*. Abram S. Benenson, Ed., 16 th Edition, 1995, p. 193-194.
- Amzil, Z., Pouchus, Y.F., Le boterff, J., Roussakis, C., Verbist, J.F., Marcaillou-Le Baut, C. e Masselin, P. (1992). Short-time cytotoxicity of mussel extracts: a new bioassay for okadaic acid detection. *Toxicon*, 30 (11), 1419-1425.
- Aune, T. 2001. Risk assessment of toxins associated with DSP, PSP and ASP in seafood. In De Koe, W.J., Samson, R.A., Van Egmond, H.P., Gilbert, J. & M. Sabino, eds. *Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Millennium. Proceedings of the X International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins* (May 2000, Guarujá, Brazil), pp. 515-526. Wageningen, the Netherlands, Ponsen & Looyen.
- Baden, D.G., Fleming, L.E. e Bean, J.A. (1995a). Marine toxins. In: *Handbook of clinical neurology*, Vol. 21 – Intoxications of the nervous system, Part III. Editor: F.A. Wolf. Elsevier Science (B.V.), pp. 141-174.
- Baden, D.G., Melinek, R., Sechet, V., Trainer, V.L., Shultz, D.R., Rein, K.S. Tomas, C.R., Delgado, J. e Hale, L. (1995b). Modified immunoassays for polyether toxins: implications of biological matrixes, metabolic states, and epitope recognition. *J. AOAC Internat.*, 78 (2), 499-508.
- Bates, S.S., Bird, C.J., de Freitas, A.S.W., Foxall, R., Gilgan, M., Hanic, L.A., Johnson, G.R., McCulloch, A.W., Odense, P., Pocklington, R., Quilliam, M.A., Sim, P.G., Smith, J.C., Subba Rao, D.V., Todd, E.C.D., Walter, J.A. e Wright,

- J.L.C. (1989). Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46, 1203-1215
- Bialojan, C. e Takai, A. (1988). Inhibitory effect of a marine-sponge, okadaic acid, on protein phosphatases. *Biochem. J.*, 256, 283-290
- Biointoxicación por consumo de moluscos bivalvos: clínica y control. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 1997-1999; 5 (5).
- CDC. *Epidemiologic Notes and Reports Paralytic Shellfish Poisoning -- Massachusetts and Alaska, 1990. MMWR 40 (10):157-161, March 15, 1991 and MMWR 40(14):242, April 12, 1991 (Errata Notice)*. URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/htm>
- CDC (2003). Marine Toxins. Division of Bacterial and Mycotic Diseases. URL: [http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/marinetoxins\\_g.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/marinetoxins_g.htm)
- FAO. 2005. Biotoxinas marinhas. 52p.
- Ferrari, G. 2001. HABs in the Southwestern Atlantic Ocean. In Zhu, M., Zou, Y., Cheong L., & S. Hall, eds. *Proceedings of the Second International Conference on Harmful Algae Management and Mitigation* (November 2001, Qingdao, China), pp. 34-35. IOC UNESCO, Paris.
- FDA/CFSAN (2003). Bad Bug Book. *Various Shellfish-Associated Toxins*. URL: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap37.html>
- García RM, Sánchez PJ. Riesgos sanitarios del pescado y marisco. *Alimentaria* 1998; 198: 107.
- Garthwaite, I., Ross, K.M., Miles, C.O., Hansen, R.P., Foster, D., Wilkins, A.L. e Towers, N.R. (1998). Polyclonal antibodies to domoic acid, and their use in immunoassays for domoic acid in seawater and shellfish. *Nat. Toxins*, 6, 93-104.
- Gessner, B.D., Bell, P., Doucette G.J., Moczydlowski, E., Poli, M.A., Van Dolah F. & Hall S. 1997. Hypertension and identification of toxin in human urine and

- serum following a cluster of mussel-associated paralytic shellfish poisoning outbreaks. *Toxicon* 35(5): 711-722.
- Hallegraeff, G.M. 1995. 1. Harmful algal blooms: a global overview. In Hallegraeff, G.M. *et al.* eds. *Manual on Harmful Marine Microalgae*, pp. 1-22. IOC Manuals and Guides No. 33. UNESCO.
- Kat, M. (1979). The occurrence of *Prorocentrum* species and coincidental gastrointestinal illness of mussel consumers. In: Toxic Dinoflagellate Blooms. Editores: D. Taylor e H. Seliger. Elsevier (New York), 215-220.
- Landsberg, J.H. (2002). Effects of algal blooms on aquatic organisms. *Rev. Fish. Sci.*, 10 (2), 113-390.
- Levine, L., Fujiki, H., Yamada, K., Ojika, M., Gjika, H.B, & Van Vunakis, H. 1988. Production of antibodies and development of a radioimmunoassay for okadaic acid. *Toxicon* 26: 1123.
- Marr, J.C., Hu, T., Pleasance, S., Quilliam, M.A. e Wright, J.L.C. (1992). Detection of new 7-O-acyl derivatives of diarrhetic shellfish poisoning toxins by liquid chromatography-mass spectrometry. *Toxicon*, 30 (12), 1621-1630.
- McMahon, T. e Silke, J. (1996). Winter toxicity of unknown aetiology in mussels. *Harmful Algae News*, 14, 2.
- McMahon, T. e Silke, J. (1998). Re-occurrence of winter toxicity. *Harmful Algae News*, 17, 12.
- Mons, M.N., Van Egmond, H.P. & Speijers, G.J.A. 1998. Paralytic shellfish poisoning: A review. RIVM Report 388802 005. June 1998.
- Moya A, López L. PSP y DSP. Identificación de toxinas de bivalvos. II Jornadas de Control de Calidad de Productos de la Pesca. Madrid, 1989.
- Murata, M., Shimatani, M., Sugitani, H., Oshima, Y. e Yasumoto, T. (1982). Isolation and structural elucidation of the causative toxin of the diarrhetic shellfish poisoning. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 48(4), 549-552.

- Pascual MP. Microbiología Alimentaria. Madrid: Díaz de Santos, 1992; 183-187.
- Proença, L. A. O. & Mafra, L. L. 2005. Ocorrência de ficotoxinas na costa brasileira. In: SBFIC. (Org.). Formação de Ficólogos: um compromisso com a sustentabilidade dos recursos aquáticos. Rio de Janeiro, p. 57-77.
- Pumarola A, Piedrola A. 1983. Medicina preventiva y social. Higiene y sanidad ambiental. 7.<sup>a</sup> ed. Madrid: Amaro.
- Román, Y., Alfonso, A., Louzao, M.C., de la Rosa, L., Leira, F., Vieites, J.M., Vieytes, M.R., Ofuji, K., Satake, M., Yasumoto, T. e Botana, L.M. (2002). Azaspiracid-1, a potent, nonapoptotic new phycotoxin with several cell targets. *Cell. Signalling*, 14, 703-716.
- Satake, M., Ofuji, K., Naoki, I., James, K.J., Furey, A., McMahon, T., Silke, J. e Yasumoto, T. (1998). Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels, *Mytilus edulis*. *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 9967-9968.
- Schantz, E.J. (1984). Historical perspective on paralytic shellfish poison. In: *Seafood Toxins American Chemical Society, Washington, DC*, pp. 99-111.
- Suzuki, T., Ota, H. e Yamasaki, M. (1999). Direct evidence of transformation of dinophysistoxin-1 to 7-O-acyl-dinophysistoxin-1 (dinophysistoxin-3) in the scallop *Patinopecten yessoensis*. *Toxicon*, 37 (1), 187-198.
- Todd, E.C.D. (1993). Domoic acid and amnesic shellfish poisoning - a review. *J. of Food Protection*, 56 (1), 69-83.
- Tubaro, A., Sosa, S., Carbonatto, M., Altinier, G., Vita, F., Melato, M., Satake M., Yasumoto T. (2003). Oral and intraperitoneal acute toxicity studies of yessotoxin and homoyessotoxins in mice. *Toxicon*, 41 (7), 783-792.
- Vale, P. 2004. Biotoxinas marinhas. *Revista Portuguesa de Veterinária*. 99: 3-18
- Yasumoto, T., Oshima, Y., Sugawara, W., Fukuyo, Y., Oguri, H. Igarashi, T. e Fujita, N. (1980). Identification of *Dinophysis fortii* as the causative organism

of diarrhetic shellfish poisoning. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 46 (11), 1405-1411.

Yasumoto, T., Oshima, Y. e Yamaguchi, M. (1978) Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku district. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 44 (11), 1249-1255.

---

**Agradecimento:** à Márcia Navarro Cipólli, pela valiosa e cuidadosa revisão efetuada neste texto.