

# Toxinas de dinoflagelados, causadores do fenômeno da "maré vermelha"

Isa Ramos de Queiroz (\*)  
Fausto Antonio de Azevedo (\*)  
Rubia Kuno (\*\*)

## 1 — INTRODUÇÃO

### 1.1 — Generalidades

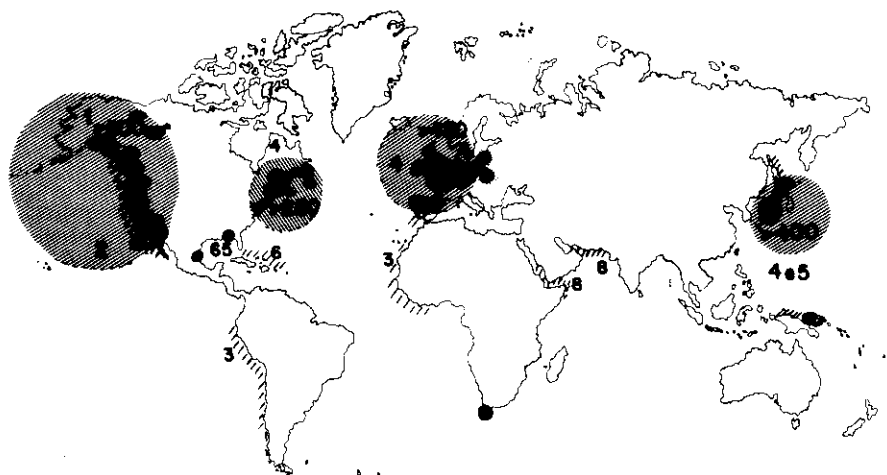
As intoxicações alimentares que ocorrem no homem, como consequência do consumo de moluscos-bivalves contendo toxinas sintetizadas por dinoflagelados, são conhecidas como Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) e Neurotoxic Shellfish Poisoning (NSP) (HUGHES, 1979).

Os dinoflagelados ocupam o segundo lugar em abundância no ambiente marinho, mas florações de espécies que provocam intoxicações no homem e outras espécies animais ocorrem somente em determinadas áreas do mundo (Figura 1). Para que isso aconteça é necessário que condições ambientais permitam ao organismo ou a seu cisto (Figura 2) entrarem em contato com moluscos filtradores, tais como ostra e mariscos (DALE et alii, 1978; YENTSCH & MAGUE, 1979).

Em algumas áreas do mundo os moluscos-bivalves tornam-se regularmente tóxicos, embora o exato momento em que o fenômeno acontece e o nível de toxicidade variem anualmente. Em outras, os moluscos-bivalves tornam-se tóxicos sem nenhuma ocorrência prévia de intoxicações de PSP ou NSP (ANDERSON et alii, 1979; DALE et alii, 1978; HALSTEAD, 1981) e, ainda, em outras localidades, nas quais não se observou floração de dinoflagelados, os moluscos-bivalves são altamente tóxicos (ANDERSON & MOREL, 1979; DALE et alii, 1978).

### 1.2 — Definição e Terminologia

A "maré vermelha" é um fenômeno natural no qual há um crescimento maciço, ou floração de algas ou protozoários, causando mudança na cor das águas superficiais. Às vezes estas florações podem se expandir por extensas áreas, produzindo mortalidade de grande número de peixes e outros organismos marinhos (BROWN et alii, 1979; HALSTEAD,



- |                               |                                |
|-------------------------------|--------------------------------|
| 1. <i>Gonyaulax catenella</i> | 5. <i>Gymnodinium breve</i>    |
| 2. <i>Gonyaulax polyedra</i>  | 6. <i>Pyrodinium bahamense</i> |
| 3. <i>Gymnodinium</i> sp.     | 7. <i>Gonyaulax polygramma</i> |
| 4. <i>Gonyaulax excavata</i>  | 8. Não identificada            |

Figura 1 — Distribuição mundial de incidentes de intoxicações do tipo PSP. Os números nas áreas sombreadas indicam o total aproximado de intoxicações humanas nas quatro principais regiões afetadas. Os pontos representam as ocorrências. (Modificado de PRAKASH et alii, 1971, segundo informação pessoal de BARRIE DALE do Institute for Marine Biology and Limnology, University of Oslo, Norway)

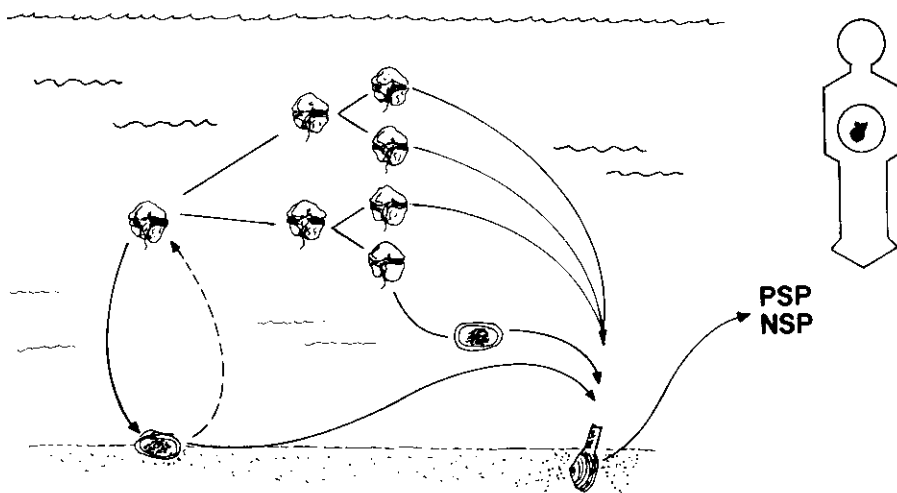


Figura 2 — Esquema representativo de como os moluscos-bivalves se nutrem de dinoflagelados provocando intoxicações alimentares no homem

1965; STEIDINGER & JOYCE, 1973).

O termo "maré vermelha" tem distintos significados em diferentes campos. Para a oceanografia significa uma alta concentração (floração) de organismos planctônicos que mudam a cor da água.

Nos oceanos de regiões temperadas, florações de algas ocorrem sazo-

nalmente e o ecossistema planctônico é regulado por estas ocorrências (DALE et alii, 1978). Para a biotoxicologia há uma associação entre a "maré vermelha" e efeitos adversos sobre a saúde do homem e do meio ambiente. Por exemplo, na costa da Flórida, a "maré vermelha" geralmente é sinal de mortalidade de peixes;

(\*) Setor de Toxicologia

(\*) Gerência de Ecodesenvolvimento

(\*) Superintendência de Pesquisas de Impactos Ambientais

(\*) Diretoria de Pesquisa — Cetesb

nas costas Nordeste e Noroeste da América do Norte, a "maré vermelha" está associada a moluscos-bivalves contaminados e riscos de intoxicações alimentares.

Alguns autores consideram o termo "maré vermelha" inadequado se usado com referência a intoxicações alimentares, pois "maré vermelha" é uma floração de organismos que podem ou não ser tóxicos e a cor vermelha é devida principalmente a um pigmento, a xantofila (peridinina), que é encontrado tanto nos dinoflagelados como em outros organismos planctônicos. Para eles dever-se-ia usar, neste caso, o termo descoloração das águas, que é o resultado da absorção de luz pelos pigmentos dos organismos planctônicos (DALE et alii, 1978; SHIMIZU, 1978).

O problema da terminologia é ainda mais complicado pelo fato de que os dinoflagelados tóxicos nem sempre estão em número suficientemente elevado para mudar a cor da água, embora estejam em número suficiente para contaminar os moluscos-bivalves (DALE et alii, 1978).

Contudo, apesar de todos estes fatos mencionados, a expressão "maré vermelha" continua sendo usada pela comunidade científica, por ser um termo popularmente conhecido, e é por isso que na maioria dos trabalhos a expressão vem escrita entre aspas.

### 1.3. — Organismo causador da "maré vermelha"

O principal organismo causador das florações ou "marés vermelhas" tóxicas é o dinoflagelado.

Os dinoflagelados são organismos microscópicos, unicelulares, autótrofos, saprófitos ou fagotróficos, pigmentados ou não, que se caracterizam por possuírem dois flagelos, um longitudinal e outro transversal, os quais servem para o deslocamento. Esses organismos quando têm o corpo recoberto por placas de celulose são denominados tecados, e quando estas placas estão ausentes são designados nus. A forma e a disposição das placas são usadas na identificação das espécies (HALSTEAD, 1965).

Os dinoflagelados multiplicam-se tanto por reprodução sexuada quanto por assexuada, apresentando no seu ciclo de vida formas móveis e imóveis, estas últimas denominadas cistos.

Os cistos desempenham um papel importante tanto na ocorrência de florações como na dispersão das espécies. São formas resistentes e potenciais que:

- a) garantem a sobrevivência dos dinoflagelados num determinado local (ANDERSON & MOREL, 1979);
- b) promovem a dispersão para outras áreas sem antecedentes de florações tóxicas (DALE et alii, 1978);
- c) permitem o possível aparecimento de florações em determinados locais onde estão presentes em todas as épocas do ano (STEINDINGER, 1975; WALL, 1975);
- d) podem contaminar os moluscos-bivalves, tornando-os tóxicos, mesmo sem a ocorrência de florações (ANDERSON & WALL, 1978).

Várias espécies de dinoflagelados são tóxicas, mas as mais implicadas na ocorrência da "maré vermelha" são: *Gonyaulax* (espécies: *catenella*, *acatenella*, *tamarensis* igualmente designada *excavata*), *Pyrodinium* (espécies: *pheneus*, *bahamense*), *Prorocentrum* sp., e *Gymnodinium breve*. As mais comuns são o *Gonyaulax* e o *G. breve*.

### 1.4 — Fatores que contribuem para a ocorrência da "maré vermelha"

As condições ambientais que favorecem a ocorrência da "maré vermelha" não estão bem entendidas, apesar de o fenômeno ter sido registrado desde os tempos bíblicos. Acha-se que é uma combinação de fatores físicos, químicos e biológicos, tais como regiões de ressurgência, correntes, ventos, salinidade, temperatura, nutrientes etc. (BALDRIDGE, 1975; HARTWELL, 1975; MULLIGAN, 1975; OGURI et alii, 1975).

## 2 — TOXICOLOGIA

### 2.1 — Intoxicações

Os dinoflagelados tóxicos podem causar mortandade de peixes, de outros organismos marinhos, e também de outras espécies de animais, inclusive o homem.

A mortandade de peixes e de outros animais marinhos pode ser produzida tanto pela ação direta das biotoxinas dos dinoflagelados, como, indiretamente, pelas condições secundárias, tais como aumento da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e crescimento bacteriano (ALAM, 1975; BLANCO, 1975; BODEANU et alii, 1979; BROWN et alii, 1979; FERRAZ-REYES et alii, 1979; MALONEY et alii, 1979; MENDIOLA et alii, 1979; OGURI et alii, 1975; ROBERTS et alii, 1979; SMITH, 1975; TUFTS et alii, 1979).

A morbidade e/ou mortandade do homem e de outros animais é provocada por intoxicações alimentares que ocorrem como resultado do consumo

de moluscos-bivalves (ostras, mariscos, mexilhões) contendo toxinas derivadas de dinoflagelados. Estas intoxicações são conhecidas como Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) e Neurotoxic Shellfish Poisoning (NSP) e são caracterizadas por sinais e sintomas específicos.

A intoxicação do tipo PSP é causada pela ingestão de moluscos-bivalves contendo biotoxinas de certas espécies de dinoflagelados, principalmente do gênero *Gonyaulax*.

A intoxicação do tipo NSP é uma intoxicação moderada, associada ao dinoflagelado *Gymnodinium breve*.

#### 2.1.1 — Paralytic Shellfish Poisoning

As toxinas produtoras da PSP são alcalóides neurotóxicos que interferem na condução nervosa e bloqueiam o potencial de ação muscular (ADAMS & MIESCIER, 1980).

Estas toxinas estão classificadas entre as substâncias não protéicas de maior potência tóxica conhecidas (OSHIMA et alii, 1977). Quando comparadas ao curare, são 50 vezes mais tóxicas (PRAKASH et alii, 1971).

SHIMIZU (1979) isolou um total de nove toxinas: saxitoxina (STX), neosaxitoxina (neoSTX), goniautoxina I (GTX<sub>1</sub>), goniautoxina II (GTX<sub>2</sub>), goniautoxina III (GTX<sub>3</sub>), goniautoxina IV (GTX<sub>4</sub>), goniautoxina V (GTX<sub>5</sub>), goniautoxina VI (GTX<sub>6</sub>), goniautoxina VII (GTX<sub>7</sub>), todas com propriedades físico-químicas e farmacológicas semelhantes, diferindo apenas na fórmula estrutural.

O quadro clínico da intoxicação do tipo PSP pode ser diagnosticado pela presença de sinais e sintomas que geralmente se manifestam num intervalo de 30 minutos após ingestão dos moluscos-bivalves.

Esta intoxicação apresenta uma sequência de sintomas muito característicos, os quais a determinarão como leve, moderada e grave:

**Leve** será a intoxicação caracterizada pela sensação de dormência ou entorpecimento ao redor dos lábios, que gradualmente se espalha para o rosto e pescoço. Sensação de picada na ponta dos dedos das mãos e dos pés. Dor de cabeça, vertigens e náuseas.

**Moderada** será a intoxicação caracterizada por incoerência na fala, sensação progressiva da picada para os braços e pernas. Rigidez e incoordenação dos membros. Fraqueza geral e sensação de leveza, ligeira dificuldade respiratória, pulso rápido.

**Grave** será a intoxicação caracterizada por paralisia muscular, pronunciada dificuldade respiratória e sensação de choque. Muitos fatores mo-

dificam os sintomas e a severidade da intoxicação (entre eles: susceptibilidade individual, quantidade de toxina ingerida etc.); nos casos fatais a morte é causada por paralisia respiratória e colapso cardiovascular, geralmente no período de 12 horas após o consumo dos moluscos-bivalves.

É importante citar que o paciente é pouco afetado em sua condição mental, permanecendo cômico e calmo (PRAKASH et alii, 1971; SOUTH-COTT, 1979).

#### 2.1.1a — Características químicas das toxinas causadoras da PSP

O isolamento e a purificação das toxinas da PSP são muito trabalhosos. Um dos grandes problemas é a falta de material para os estudos químicos e farmacológicos. A coleta de organismos no mar é muito difícil, até mesmo impossível. Consequentemente, a melhor fonte de toxinas são os moluscos-bivalves que acumulam estes organismos através da filtração. Entretanto, a esporádica e imprevisível ocorrência da "maré vermelha" torna a coleta do material muito problemática. Naturalmente, a cultura em laboratório parece ser o método ideal para assegurar um suprimento constante destes organismos tóxicos, mas não é fácil cultivar os organismos em quantidades adequadas. A concentração de toxina presente no organismo e nos moluscos é muito pequena, embora seja altamente tóxica (SHIMIZU, 1978).

Não é simples isolar microquantidades de compostos, como as toxinas de PSP que são solúveis na água e têm peso molecular baixo (SHIMIZU, 1978).

Os dinoflagelados tecados produzem várias toxinas embora a saxitoxina (STX) seja a mais conhecida, não é necessariamente o principal componente tóxico presente em alguns organismos filtradores analisados.

Segundo SHIMIZU (1979), um total de nove toxinas têm sido isoladas dos moluscos (GTX<sub>1</sub>, GTX<sub>2</sub>, GTX<sub>3</sub>, GTX<sub>4</sub>, GTX<sub>5</sub>, GTX<sub>6</sub>, GTX<sub>7</sub>, neo-STX) e é extremamente importante observar que com exceção do *Saxidomus giganteus*, do Alasca, todas as espécies analisadas contêm misturas de toxinas nas quais a STX é só uma parte, ou a menor parte. Estas toxinas afetam uma grande variedade de espécies animais (peixes, pássaros, mamíferos), inibindo o impulso nervoso pelo bloqueio do transporte de sódio, o que resulta em paralisia (Figura 3).

Quimicamente as toxinas causadoras de PSP são bases derivadas da tetraidropurina, dentre elas a STX é

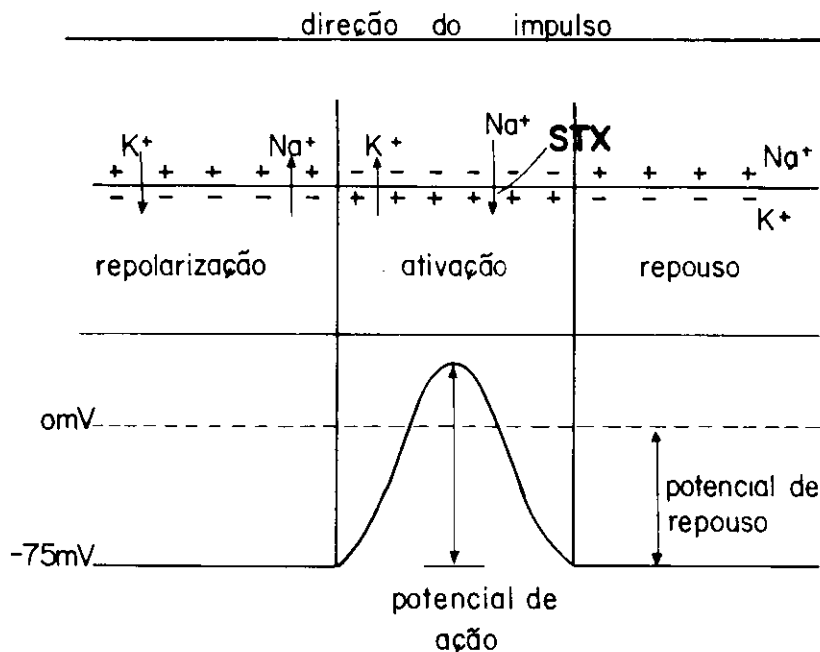


Figura 3 — Diagrama esquemático do movimento do Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> através da membrana excitada (SHIMIZU, 1978)

um composto branco, sólido muito higroscópico, ligeiramente solúvel em metanol e etanol, mas insolúvel em muitos compostos orgânicos não polares.

A fórmula química do dicloridrato do composto denominado STX é: C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>. 2 HCl (PM=372).

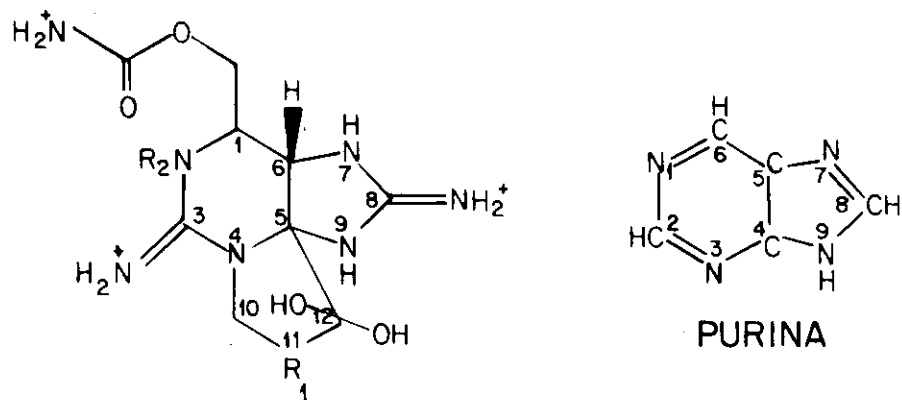
No infravermelho esta substância tem uma absorção a 1.600 – 1.700 cm<sup>-1</sup> devido aos grupos guanidina e carbâmico. É um composto de caráter básico, com valores de pKa de 8,1 a 11,5.

A goniautoxina II (GTX<sub>2</sub>) é o sulfato da 11-hidroxisaxitoxina. Esta toxina é uma substância ligeiramente bá-

sica mas tem propriedades semelhantes à STX. A goniautoxina III (GTX<sub>3</sub>) é um 11-β-epímero da GTX<sub>2</sub> (SHIMIZU, 1979).

A estrutura de uma outra importante toxina, a neosaxitoxina (neo-STX), é l-hidrosaxitoxina, derivado da hidroguanidina. Esta toxina é muito semelhante à STX quanto ao comportamento cromatográfico e foi isolada através de cuidadoso gradiente por cromatografia de troca iônica. Sua toxicidade é comparável com a da STX (cinco mil unidades camundongo/mg ± 500) (SHIMIZU et alii, 1978).

Embora muito progresso tenha sido obtido na determinação da natureza e



GRUPAMENTO		SUBSTÂNCIA
R <sub>1</sub> = H	R <sub>2</sub> = H	saxitoxina
R <sub>1</sub> = α-OH	R <sub>2</sub> = H	GTX <sub>2</sub>
R <sub>1</sub> = β-OH	R <sub>2</sub> = H	GTX <sub>3</sub>
R <sub>1</sub> = H	R <sub>2</sub> = OH	neo-STX

Figura 4 — Estrutura química das toxinas e da purina

das propriedades químicas destas toxinas, pouco é conhecido sobre o mecanismo de sua síntese e seu papel no processo metabólico destes organismos. A forte semelhança entre a estrutura das purinas, saxitoxina e goniautoxinas (Figura 4) leva-nos a perguntar se as toxinas têm um papel no metabolismo dos ácidos nucleicos dos dinoflagelados (MICKELSON & YENTSCH, 1979).

#### 2.1.1 b — Toxicocinética e Toxicodinâmica

As toxinas são absorvidas pelo trato gastrointestinal e são excretadas pela urina (SOUTHCOTT, 1979).

As toxinas causadoras de PSP têm sua ação principal sobre os centros respiratório e vasomotor do sistema nervoso central. Atuam também sobre o sistema nervoso periférico, na junção neurovascular, terminais tácteis cutâneos e junções neuromusculares. Têm efeito direto sobre o músculo esquelético, bloqueando o potencial de ação muscular sem despolarizar a célula. Impedem a condução nervosa periférica, mas, contrariamente ao curare, não têm ação na junção neurovascular. A ação das toxinas no nervo periférico e músculo é mais ativa no centro respiratório medular. O efeito é, aparentemente, sobre o transporte do sódio. A respiração pode diminuir ou cessar completamente e pode apresentar-se com expirações e inspirações rápidas. O potencial de ação do nervo periférico pode elevar-se até o início da falha respiratória (SOUTHCOTT, 1979).

A ação das toxinas sobre o sistema circulatório é variável. Geralmente há uma queda da pressão sanguínea, seguida de uma recuperação, e após, uma alteração permanente (SOUTHCOTT, 1979).

A vasodilatação esplâncnica parece ser o principal efeito pela via vasomotora central, uma vez que a deca-pitação anula a resposta.

A depressão direta do miocárdio é também devida a uma alteração vascular (SOUTHCOTT, 1979).

#### 2.1.2 — Neurotoxic Shellfish Poisoning

O dinoflagelado *Gymnodinium breve* produz potentes toxinas (com efeitos neurológicos, hemolíticos e anticoagulantes), que têm causado grandes mortandades de peixes (toxinas ictiotóxicas) e de outros organismos marinhos. Estas toxinas são responsáveis pela intoxicação alimentar conhecida como Neurotoxic Shellfish Poisoning (NSP).

Como o dinoflagelado *G. breve* é

nu, ele facilmente se desintegra pelo movimento das ondas, podendo passar à forma de aerossol e causar irritação conjuntival, rinorréia e tosse nas pessoas que estejam próximas à praia, ou provocar dermatite nas que tenham entrado em contato com as águas com floração (ADAMS & MIESCIER, 1980; HUGHES, 1979; McFARRREN et alii, 1965; QUICK et alii, 1975).

Embora nenhum caso de mortandade nos seres humanos tenha ocorrido, os danos econômicos têm sido muito grandes.

Pouco se sabe sobre as propriedades físico-químicas destas toxinas.

Quanto às propriedades toxicológicas, supõe-se que as toxinas atuam na estimulação das fibras nervosas colinérgicas pós-ganglionares.

Os sinais e sintomas de intoxicação aparecem cerca de três horas após a ingestão dos moluscos-bivalves contaminados, e são caracterizados por: parestesia, perturbações da sensibilidade do calor e frio, náuseas, vômitos, diarreia e ataxia. Não foram observados até hoje casos de paralisia nos seres humanos. O tratamento é, geralmente, sintomático.

#### 2.1.2a — Características químicas das toxinas causadoras de NSP

Muitos pesquisadores têm estudado a toxicidade do *Gymnodinium breve* (BADEN et alii, 1979; CUMMINS et alii, 1969; MARTIN et alii, 1975; PADILLA et alii, 1975 e 1979; TRIEFF et alii, 1975), mas o mecanismo de ação das toxinas do *Gymnodinium* (GBTX), assim como sua constituição química e características físicas, têm sido pouco aclarados. Isto se deve, em parte, à dificuldade de cultura do organismo em número suficiente para a extração das toxinas e também devido à questionável pureza dos extratos usados nos estudos (BADEN et alii, 1979), pois até agora não se tem observado concordância em estudos paralelos de grupos de pesquisadores quanto à purificação de uma mesma toxina ALAA et alii, 1973, 1975; KIM et alii, 1976; PADILLA et alii, 1979; SASNER et alii, 1972; SPIEGELSTEIN et alii, 1973).

O estudo das estruturas das várias toxinas isoladas pode indicar que:

- o *Gymnodinium breve* produz várias toxinas (ALAM et alii, 1975);
- a grande variedade de procedimentos para extração e purificação altera a estrutura do composto tóxico instável (KIM et alii, 1976; PADILLA et alii, 1979);
- as toxinas descritas podem estar contaminadas com pequenas quantidades de um pigmento amarelo persistente (BADEN, 1979).

Quanto ao estudo estrutural das toxinas do *Gymnodinium breve*, dois dos mais recentes mostram a situação atual. Diversos autores têm descrito o isolamento e a purificação de cinco toxinas das culturas de laboratório de *Gymnodinium breve* (ALAM et alii, 1975). Quatro destas toxinas são neurotóxicas e a última delas induz hemólise nos eritrócitos. A fração hemolítica tem sido estudada extensivamente por MARTIN (1974) e as frações neurotóxicas, que são predominantes nos extratos tóxicos, por PADILLA et alii (1979).

Alguns autores sugeriram a existência de somente três toxinas, duas das quais são neurotóxicas e a outra tem propriedade hemolítica.

Suspeita-se que a fração neurotóxica T<sub>2</sub> seja uma molécula grande, que não contém fósforo, em contraste com os resultados prévios de MARTIN & CHATTERJEE (1973). Nenhuma delas atua como inibidor da acetilcolinesterase, contradizendo, assim, os achados de SPIEGELSTEIN et alii, (1973).

A toxina T<sub>2</sub>, pelos dados de espectroscopia de massa, parece ter um peso molecular de 725 e apresentar grau elevado de duplas ligações, com máximos de absorção na região ultravioleta em 260 nm, 267 nm e 270 nm. Não contém hidroxilas, nem aminas primárias ou secundárias, de acordo com o espectrograma infravermelho. Pode conter nitrogênio terciário, uma vez que produz reação positiva com o reagente de Dragendorff. O espectrograma infravermelho sugere a presença de um anel lactona ou agrupamento éster.

BADEN et alii (1979), utilizando carbono radioativo (14C), encontrou duas toxinas distintas e que apresentam toxicidades diferentes para peixes, e verificou que as toxinas são biossintetizadas independentemente uma da outra. Pelos espectrogramas obtidos se deduz que as toxinas não são idênticas. Elas são compostos alifáticos não voláteis, de cadeia longa, lipossolúveis, não protéicos, com cinco ligações não saturadas e não conjugadas. Ambas possuem função carbonila, função éster ou lactona.

Diversos autores estudaram a purificação das toxinas de *Gymnodinium breve* pela cromatografia líquida de alta pressão e obtiveram a separação de dois tipos de toxina, uma ictiotóxica (GBTX) e a outra com propriedades hemolíticas (GBTX). O composto ictiotóxico foi separado pela cromatografia líquida de um composto mais polar, mais estável e igualmente tóxico, GTBX<sub>2</sub>. Do componente hemolítico foram separadas

três frações tóxicas  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  e três não tóxicas.

As características da GBTX são as seguintes:

- as toxinas são endotoxinas e não são liberadas até a lise celular;
- são instável ao ar;
- são compostos alifáticos que não contêm fósforo e não inibem a acetilcolinesterase;
- têm peso molecular elevado;
- o nitrogênio, se presente, não está na forma de amina primária;
- as duplas ligações não são conjugadas nem cíclicas;
- o oxigênio pode estar presente como lactona, éter ou éster, mas não como álcool;
- GBTX é um agente despolarizante que afeta a capacidade do nervo de reter  $Ca^{++}$  e provocar sua não excitabilidade.

#### 2.1.2b — Toxicodinâmica

O exame farmacológico e fisiológico da toxina pura tem sido falho. Os estudos da GBTX feitos antes de 1975 sugerem que, no nervo isolado, a toxina tem uma ação despolarizante pós-sinapse.

ABBOTT et alii (1975), descreveram uma toxina que tem efeito hemolítico e neurotóxico e produz uma descarga espontânea na região terminal não mielinizada do axônio motor, similar àquela que apresenta o nervo quando está num meio com baixo conteúdo de  $Ca^{++}$ . Segundo PADILLA et alii (1979) estas toxinas exercem sua principal ação nos componentes da membrana celular e sua especificação (em termos de efeito da dose mínima) depende do tipo de preparação utilizada.

#### 2.2 — Tratamento

Embora muito seja conhecido sobre o comportamento das toxinas nos organismos vivos, não existe nenhum antídoto específico e eficaz, apesar das pesquisas que se têm desenvolvido. Assim, certos procedimentos devem ser realizados para ajudar na maioria do quadro clínico, tais como: a apomorfina é mais efetiva que a lavagem estomacal para a remoção dos restos de moluscos-bivalves do estômago. Uma vez que a toxina é adsorvida em carvão, o reagente de Lloyde, ou similar, deve ser tentado. Líquidos alcalinos podem ser ensaiados, já que as toxinas são instáveis neste meio.

A diurese com cloreto de amônio a 5%, o uso de D.L. anfetaminas, epinefrina, efedrina, também podem ser tentados. A respiração artificial é um

importante recurso se houver dificuldade respiratória (PRAKASH, et alii, 1971).

#### 2.3 — Avaliação da Toxicidade da "maré vermelha"

A avaliação da toxicidade de uma floração tóxica ou "maré vermelha" é feita através de ensaios biológicos, utilizando-se camundongos. Nos EUA, a FDA-Food and Drug Administration coopera com os órgãos estaduais de controle de moluscos-bivalves, através do NSSP-National Shellfish Sanitation Program. Desta maneira, o único método reconhecido pela FDA são os ensaios com camundongos. Estes métodos são padronizados e usados internacionalmente. Para avaliação da toxina produtora de PSP segue-se a metodologia da Aoac-Association Official Analytical Chemists; para a da NSP, utiliza-se a padronização da Apha-American Public Health Association. Os moluscos serão considerados adulterados para o consumo humano se contiverem 80  $\mu$ g de PSP/100 g da parte mole de moluscos-bivalves, ou 20 unidades-camundongos ("mouse-units"-MU), ou qualquer nível detectado de toxinas de NSP/10 da parte mole dos moluscos-bivalves.

Contrariamente ao que se acreditava, é impossível distinguir se o molusco é ou não tóxico pelo gosto, cheiro ou mesmo pela observação visual (PRAKASH et alii, 1971).

#### 3 — REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, B.C.; SIGER, A.; SPIEGELSTEIN, T. Toxins from the blooms of *Gymnodinium breve*. In: Lo Cicero, V. R. (Ed.) *Proc. 1<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms*. Mass. Sci. Tech. Found., Inc., Massachusetts, 1975, p. 355-365.
- ADAMS, W.N. & MIESCIER, J.J. Fish and other marine products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 63 (6):1336-1343, 1980.
- ALAM, M.; SASNER, J. J. & IKAWA, M. Isolation of *Gymnodinium breve* toxin from Florida red tide water. *Toxicon*, 11, 201-202, 1973.
- ALAM, M.; TRIEFF, N.M.; RAY, S.M.; HUDSON, J. E. Isolation and partial characterization of toxins from the dinoflagellate *Gymnodinium breve* Davis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 64 (5): 865-867, 1975.
- American Public Health Association Procedures for the examination of sea water and shellfish. 4th. ed. New York, **American Public Health Association**, 1970, p. 57-66.
- ANDERSON, D.M. & MOREL, F.M.M. Toxic dinoflagellate blooms in the Cope Cod region of Massachusetts. In: Taylor & Seliger (Ed.) *Toxic Dinoflagellate Blooms*. Elsevier-North Holland, Inc., 1979, p. 145-150.
- ANDERSON, D.M. & WALL, D. Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. *J. Phycol.* 14, 224-234, 1978.
- Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis of the Aoac**. 2 nd ed. Arlington, 1975. p. 319-321, secs. 18070-18076.
- BADEN, D.G.; MENDE, T.J. and BLOCK, R.E. Two similar toxin isolated from *Gymnodinium breve* In: Taylor/Seliger (Eds.) *Toxic Dinoflagellate Blooms*. Elsevier/North-Holland, Inc. 1979, p. 327-334.
- BALDRIDGE, H.D. Temperature patterns in the long-range prediction of red tide in Florida waters. In: Lo Cicero, V. R. (Ed.) *Proc. 1st Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms*. Mass. Sci. Tech. Found. Massachusetts, 1975, p. 69-79.
- BLANCO, D. Red tides in the upwelling regions. In: Lo Cicero, V.R. (Ed.) *Proc. 1st Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms*. Mass. Sci. Technol. Foundn. Massachusetts, 1975, p. 113-119.
- BODEANU, N. & USURELU, M. Dinoflagellate blooms in romanian Black Sea coastal waters. In: Taylor & Seliger (Ed.) *Toxic Dinoflagellate Blooms*. Elsevier-North Holland, Inc. 1979, p. 151-154.
- BROWN, P.C.; HUTCHINGS, L.; HORSTMANN, D. A red-water outbreak and associated fish mortality at Gordon's Bay near Cape Town. *Fish. Bull. S. Afr.*, 11: 46-52, 1979.
- CUMMINS, J. M. & HILL, W. F. Method for bioassay of *Gymnodinium breve* toxins in shellfish (after McFARREN et alii, 1965). Special Report GCMHSL 69-3, Gulf Coast Marine Health Sciences Laboratory, Dauphin Island Alabama 36528.
- DALE, B.; YENTSCH, C.M.; HURST, J. W. Toxicity in resting cysts of the red-tide dinoflagellate *Gonyaulax excavata* from deeper water coastal sediments. *Science*, 201, 1223-1225, 1978.
- FERRAZ-REYES, E.; REYES-VASQUEZ, G.; BRUZUAL, I. B. Dinoflagellate bloom in the Gulf of Carioco. In: Taylor Y Seliger ed. *Toxic Dinoflagellate Blooms*. Elsevier North Holland, Inc., 1979, 155-160.
- HALSTEAD, B. W. Poisonous and venomous marine animals of the world. vol. 1, U.S. Government Printing Office, Washington, D. C., 1965.
- HALSTEAD, B. W. Current status of marine biotoxicology — An Overview. *Clinical Toxicology*, 18 (1): 1-24, 1981.
- HARTWELL, A. D. Hydrographic factors affecting the distribution and movement of toxic dinoflagellates in western Gulf of Maine. In: Lo Cicero, V. R. (Ed.) *Proc. 1<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms*. Mass. Sci. and Technol. Foundn. Massachusetts, 1975, p. 47-68.
- HUGHES, J. M. Epidemiology of shellfish poisoning in the United States, 1971 — 1977. In: Taylor & Seliger (Ed.) *Toxic Dinoflagellate Blooms*. Elsevier North-Holland Inc. 1979, p. 23-28.
- KIM, Y. S. & PADILLA, G. M. Purification of the ichthyotoxic component of *Gymnodinium breve* (red tide dinoflagellate) toxin by high pressure liquid chromatography. *Toxicon*, 14, 379-387, 1976.

- MALONEY, J. B. & STEIMLE, F.W. Jr. A mass mortality of marine animals associated with a bloom of *Ceratium tripos* in the New York bight. In: Taylor & Seliger (Ed.) **Toxic Dinoflagellate Blooms**. Elsevier - North - Holland Inc., 1979, p. 225-230.
- MARTIN, D.F. & CHATTERJEE, A.B. Some chemical and physical properties of two toxins from the redtide organism *Gymnodinium breve* **Fish. Bull.**, **68**, 443, 1973.
- MARTIN, D.F. & PADILLA, G.M. Effect of *Gymnodinium breve* toxin on potassium influx of erythrocytes. **Toxicon**, **12**, 353-360, 1974.
- MARTIN, R.; LIN, Y.Y.; MACFARLANE, R. D.; RAMANUJAM, V.M.S.; SMITH, L.L.; TRIEFF, N.M. Purification and chemical studies on a major toxin from *Gymnodinium breve*. In: Taylor & Seliger (Ed.) **Toxic Dinoflagellate Blooms**. Elsevier - North - Holland, 1979, p. 335-344.
- MARTIN, D. F. & MARTIN, B.B. Studies of toxins from Florida red-tide outbreaks. In: Lo Cicero, V.R. (Ed.) **Proc. I<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms** Mass. Sci. and Tech. Foundn., 1975, p. 287-298.
- McFARREN, E.F.; TANABE, H.; SILVA, F. J.; WILSON, W. B.; CAMPBELL, J.E.; K. W. The occurrence of a ciguatera like poison in oysters, clams, and *Gymnodinium breve* cultures. **Toxicon**, **3**, 111-123, 1965.
- MENDIOLA, B.R. Red-tide along the Peruvian Coast. In: Taylor & Seliger (Ed.) **Toxic Dinoflagellate Blooms**. Elsevier - North-Holland Inc., 1979, páginas 183-190.
- MICKELSON, C. & YENTSCH, C. Toxicity and nucleic acid content of *Gonyaulax excavata*. In: Taylor & Seliger (Ed.) **Toxic Dinoflagellate Blooms**. Elsevier-North Holland Inc., 1979, p. 131-134.
- MULLIGAN, H.F. Oceanographic factors associated with New England red-tide blooms. In: Lo Cicero, V. R. (Ed.) **Proc. I<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms**. Mass. Sci. and Technol. Foundn. Massachusetts, 1975, p. 23-40.
- OGURI, M.; SOULE, D.; JUGE, D.M. and ABBOTT, B.C. Red-tides in Los Angeles - Long Beach Harbor. In: Lo Cicero, V.R. (Ed.) **Proc. I<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxins Dinoflagellate Blooms**. Mass. Sci. and Technol. Foundn. Massachusetts, 1975, p. 41-46.
- OSHIMA, Y.; BUCKLEY, L.J.; ALAM, M. and SHIMIZU, Y. Heterogeneity of Paralytic Shellfish Poisons. Three new toxins from cultured *Gonyaulax tamarensis* cells, *Mya arenaria* and *Saxidomus giganteus*. **Comp. Biochem. Physiol.** **57C**, 31-34, 1977.
- PADILLA, G.M.; KIM, Y.S. and MARTIN, D.F. Separation and analysis of toxins isolated from a red-tide sample of *Gymnodinium breve*. In: Lo Cicero, V.R. (Ed.) **Proc. I<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms**. Mass. Cci. Technol. Foundn., Massachusetts, 1975, p. 299-308.
- PADILLA, G.M.; KIM, Y.S.; RAUCKMAN, E.J. and ROSEN, G.M. Physiological Activities of Toxins from *Gymnodinium breve* isolated by High Performance liquid Chromatography. In: Taylor & Seliger (Ed.) **Toxic Dinoflagellate Blooms**. Elsevier-North-Holland Inc. 1979, p. 351-354.
- PRAKASH, A.; MEDCOF, J.C.; TENNANT, A.D. Paralytic Shellfish Poisoning in eastern Canada. **Fish. Resear. Board of Canada Bull.** **177**, 1971, 87 p.
- QUICK, J.A. Jr. & HENDERSON, G.E. Evidences of new ichthyotoxicative phenomena in *Gymnodinium breve* red tide. In: LoCicero, V.R. (Ed.) **Proc. I<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms** Mass. Sci. Technol. Foundn., Massachusetts, 1975, p. 413-422.
- ROBERTS, B.S.; HENDERSON, G.E.; MEDLYN, R.A. The effect of *Gymnodinium breve* toxin(s) on selected mollusks and crustaceans. In: Taylor & Seliger (Ed.) **Toxic Dinoflagellate Blooms**. Elsevier-North-Holland Inc., 1979, p. 419-424.
- SASNER, J.J.; IKAWA, M.; THURBERG, F.; ALAM, M. Physiological and chemicals studies on *Gymnodinium breve* Davis toxin. **Toxicon**, **10**: 163-172, 1972.
- SHIMIZU, Y. Dinoflagellate toxins. In: **Marine Natural Products**. New York, Academic Press, Inc., 1978. 1, p. 1-41.
- SHIMIZU, Y. Developments in the study of paralytic shellfish toxins. In: Taylor & Seliger (Ed.) **Toxic Dinoflagellate Blooms**. Elsevier-North-Holland Inc. 1979, p. 321-326.
- SHIMIZU, Y.; HSU, C.; FALLON, W. E.; OSHIMA, Y.; MIURA, I.; NAKANISHI, K. Structure of neosaxitoxin. **J. of the American Society**, **100** (21): 6791-6793, 1978.
- SMITH, G.B. Phytoplanton blooms and reef kills in the mid-eastern Gulf of Mexico. Proceedings of the Florida Red-Tide Conference. 10-12 October, 1974, Sarasota, Florida. Florida Marine Research Publications, p. 8.
- SOUTHCOTT, R.V. Marine toxins. In: Vinken/Bruyn (Ed.) **Handbook of Clinical Neurology** vol. 37. Intoxications of the Nervous System. North-Holland Inc., 1979, p. 27-105.
- SPIEGELSTEIN, M.Y.; PASTER, Z.; ABBOTT, C.C. Purification and biological activity of *Gymnodinium breve* toxins. **Toxicon**, **11**: 85-93, 1973.
- STEINDINGER, K.A. Basic factor influencing red-tides. In: Lo Cicero, V.R. (Ed.) **Proc. I<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms**. Mass. Sci. and Technology Foundn. Massachusetts, 1975, p. 152-162.
- STEINDINGER, K.A. & JOYCE, E. A. Jr. - Florida red-tides. Resources educational series n.º 17 april 1973. Marine research laboratory. Florida Department of Natural Resources st. Petersburg, Florida.
- TRIEFF, N. M.; RAMANUJAM, U.M.S.; ALAM, M.; RAY, S.M.; HUDSON, J. E. Isolation, physico-chemical, and toxicologic characterization of toxins from *Gymnodinium breve* Davis In: LoCicero, V. R. (Ed.) **Proc. I<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms**. Mass. Sci. and Technology Foundn. Massachusetts, 1975, p. 309-322.
- TUFTS, N.R. Molluscan transvertors of paralytic shellfish poisoning. In: Taylor & Seliger (Ed.) **Toxic Dinoflagellate Blooms** Elsevier-North-Holland, 1979, p. 403-408.
- WALL, D. Taxonomy and cysts of red-tides dinoflagellates. In: LoCicero, V.R. (Ed.) **Proc. I<sup>st</sup> Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms**. Mass. Sci. and Technology Foundn. Massachusetts, 1975, p. 249-255.
- YENTSCH, C.M. & MAGUE, F.C. Motile cells and cysts: Two probable mechanisms of intoxication of shell fish in New England waters. In: Taylor & Seliger (Ed.) **Toxic Dinoflagellate Blooms**. Elsevier-North-Holland, 1979, p. 127-134.