



**CAPTAR**  
ciência e ambiente para todos

volume 11 • 2022 • art. 2

## **Toxinas produzidas por cianobactérias e dinoflagelados: o caso particular das saxitoxinas**

O aquecimento global e a degradação antropogénica da qualidade da água são apontados como as causas principais do aumento mundial da frequência, gravidade e duração dos *blooms* nocivos de cianobactérias e microalgas (HABs, do inglês *harmful algal blooms*). Em particular, as cianobactérias e os dinoflagelados, principais constituintes dos HABs, podem causar diversos problemas ao nível ecológico e de saúde humana, havendo por isso a necessidade de desenvolvimento e implementação de programas eficientes na monitorização e gestão dos impactos destes eventos nocivos. Uma biotoxina aquática particularmente preocupante é a saxitoxina e os seus derivados. As saxitoxinas são neurotoxinas potentes produzidas por algumas espécies de cianobactérias e dinoflagelados, tanto em água doce como em águas marinhas. Para além dos seus efeitos neurotóxicos conhecidos, pensa-se que poderão ter também efeitos citotóxicos e genotóxicos, todos podendo refletir-se em consequências ecológicas negativas. Este artigo de revisão explora as principais vias de exposição às saxitoxinas, os seus efeitos tóxicos e, por último, futuras direções na investigação relevantes para uma mais eficiente abordagem à deteção da potencial exposição (humana e da biota aquática) e à mitigação de efeitos nefastos. Pretende ser uma ferramenta com informação atualizada sobre a problemática das biotoxinas aquáticas, saxitoxinas em particular, que constitui uma base fidedigna para o desenvolvimento de ações para o aumento da consciência social sobre a mesma.

### **Palavras-chave**

biotoxinas aquáticas

neurotoxicidade

saxitoxinas

cianobactérias

dinoflagelados

Albano Pinto<sup>1,2\*</sup>

Patrícia Pereira<sup>1,2</sup>

Joana Luísa Pereira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Portugal.

<sup>2</sup> CESAM – Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, Universidade de Aveiro, Portugal.

\* [albanopinto@ua.pt](mailto:albanopinto@ua.pt)

**ISSN 1647-323X**

Artigo em acesso aberto sob [licença CC-BY](#)

© 2022 Autores

## INTRODUÇÃO

As biotoxinas aquáticas são toxinas naturais sintetizadas por algumas espécies/estirpes de cianobactérias e algas marinhas durante florescências (*blooms*) fitoplanctónicos, geralmente designados pelo acrónimo HAB (do inglês *harmful algal blooms*) (Pulido, 2016; Stauffer et al. 2019). Estes *blooms* são uma preocupação mundial de saúde pública (Pulido, 2016; Huisman et al. 2018), ocorrendo tanto em águas interiores como costeiras a nível mundial (Altamirano e Sierra-Beltrán, 2008; Paerl e Otten, 2013; Pulido, 2016; Stauffer et al. 2019).

As cianobactérias e algas tóxicas com a capacidade de formarem *blooms* constituem um risco global, uma vez que são capazes de infligir danos à biodiversidade e ao equilíbrio dos ecossistemas aquáticos, não só porque representam um desequilíbrio trófico (aumento descontrolado dos produtores), mas também devido às toxinas por si libertadas durante estes eventos (Pulido, 2016; Chorus et al. 2021). Os eventos de *blooms* nocivos, e particularmente as toxinas produzidas durante estes eventos, devem ser consideradas contaminantes ambientais em ecossistemas de água doce, salobra e salgada, que geralmente são classificadas em dois grandes grupos:

### • **Toxinas produzidas durante *blooms* de cianobactérias (cianotoxinas)**

As cianotoxinas são produzidas por cianobactérias e são preferencialmente contaminantes de reservatórios de água doce, rios (em zonas de corrente reduzida), lagos e outros sistemas de armazenamento que podem ser fontes de água potável, neste caso configurando-se um risco direto para a saúde humana se o tratamento da água não for especificamente afinado para remover estes contaminantes (Visciano et al. 2016; Pulido, 2016; Stauffer et al. 2019; Christensen e Khan, 2020). Outras vias de exposição de humanos a cianotoxinas incluem a ingestão acidental de água durante atividades recreativas, e o simples contacto direto da pele com águas contaminadas durante essas mesmas atividades (Žegura et al. 2011; Pulido, 2016; Macário et al. 2021). Todas estas vias adicionais são potencialmente relevantes na exposição de outros organismos, particularmente da biota aquática. Entre as cianotoxinas mais relevantes encontram-se as microcistinas, nodularina, cilindropermopsina, as toxinas *Lyngbya*, anatoxinas, saxitoxinas e a  $\beta$ -N-Metilamino-L-alanina (BMAA) (Christensen e Khan, 2020).

### • **Toxinas marinhas produzidas durante *blooms* de microalgas (ficotoxinas)**

As ficotoxinas são produzidas principalmente por dinoflagelados e diatomáceas, e geralmente acumulam-se em concentrações consideráveis em vários tecidos de organismos aquáticos como moluscos, e peixes, entrando na cadeia alimentar e ameaçando a saúde humana (Visciano et al. 2016; Pulido, 2016). As ficotoxinas marinhas acumulam-se em vários tecidos destes animais (Visciano et al. 2016; Pulido, 2016) e são, dessa forma, uma importante fonte de contaminação de produtos alimentares marinhos em todo o mundo; não obstante, colocam em risco também a saúde da vida selvagem e o equilíbrio do ecossistema marinho (Visciano et al. 2016; Pulido, 2016). Sabe-se que estas biotoxinas marinhas podem persistir nos tecidos dos organismos aquáticos até vários meses após o desaparecimento dos *blooms* de algas responsáveis pela sua produção, o que exige um esforço prolongado de deteção e controlo de eventos de intoxicação devido à ingestão de alimentos contaminados (Toyofuku, 2006; Hess, 2010; Gaboriau et al. 2014; Visciano et al. 2016; Nicolas et al. 2017). A persistência das ficotoxinas, particularmente nos tecidos de moluscos, deve-se principalmente ao facto dos processos de metabolização e desintoxicação nestes organismos serem lentos (Hess, 2010). As ficotoxinas marinhas mais relevantes produzidas por

dinoflagelados ou diatomáceas incluem as saxitoxinas, o ácido domóico, as brevetoxinas e as ciguatoxinas (Christensen e Khan, 2020).

Neste artigo focam-se em particular as saxitoxinas, que são toxinas produzidas quer por cianobactérias quer por dinoflagelados, em ecossistemas de água doce e marinhos, respetivamente. São apresentadas as espécies responsáveis pela sua produção e revistos os seus potenciais efeitos deletérios, apresentando de forma crítica os desafios futuros da investigação em biotoxinas aquáticas focada na compreensão e mitigação da problemática que representam. Assim, o objetivo principal deste trabalho de revisão é disseminar informação atualizada sobre o problema global das saxitoxinas em ambientes aquáticos, contribuindo também para o aumento da consciência social sobre os riscos associados a esta neurotoxina e em relação aos eventos de *blooms* nocivos de microalgas.

## SAXITOXINAS: O QUE SÃO E COMO SURTEM NA ÁGUA

As saxitoxinas (Figura 1) são alcaloides que foram pela primeira vez isoladas de tecidos de moluscos marinhos, particularmente bivalves, organismos que as acumulam após filtração de água contaminada (Pulido, 2016), geralmente em consequência da ocorrência de um *bloom* de produtores destas toxinas. Em ecossistemas marinhos, as saxitoxinas são principalmente produzidas pelos dinoflagelados *Pyrodinium bahamense*, *Alexandrium spp.* e *Gymnodinium catenatum* (Metcalf e Codd, 2009; Murk et al. 2019; Christensen e Khan, 2020). Dinoflagelados destes géneros (*Alexandrium*, *Gymnodinium* e *Pyrodinium*) ocorrem principalmente ao largo das costas do Atlântico e do Pacífico (O'Neill et al. 2016; Visciano et al. 2016), sendo que *Gymnodinium catenatum* também é encontrado no Mar Mediterrâneo (Ordás et al. 2004). Nas costas Portuguesas, diversos eventos de *blooms* foram já reportados (Carvalho et al. 2019). Por exemplo, o mais recente caso envolvendo *blooms* de *Gymnodinium catenatum* em Portugal ocorreu em outubro de 2018 na praia da Caparica (Lisboa), levando à intoxicação e hospitalização de duas pessoas devido ao consumo de mexilhões azuis (*Mytilus spp.*) contaminados com saxitoxinas produzidas por esta espécie de dinoflagelados (Carvalho et al. 2019).

No entanto, as saxitoxinas são também produzidas por algumas estirpes de cianobactérias de água doce (Žegura et al. 2011; Christensen e Khan, 2020). As principais estirpes de cianobactérias produtoras de saxitoxinas pertencem aos géneros *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Cylindrospermopsis* e *Lyngbya*, tendo já sido quantificadas saxitoxinas por elas produzidos em muitos ecossistemas de água doce um pouco por todo o mundo (Ártico, Nova Zelândia, Canadá e Europa), em concentrações a variarem entre 0,09 µg/L e 193 µg/L (Boyer, 2008; Trainer e Hardy, 2015; Chorus e Welker, 2021). Em Portugal, foram reportados vários eventos de *bloom* em ecossistemas de água doce, resultando na produção principalmente de microcistinas, cilindrospermopsinas e saxitoxinas (Moreira et al. 2021). Pereira et al. (2000) reportou pela primeira vez a existência de saxitoxinas no Reservatório de Montargil (Algarve), produzidas por cianobactérias da estirpe *Aphanizomenon flos-aquae*.

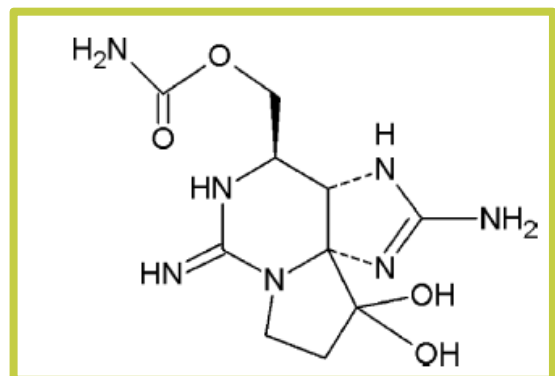


FIGURA 1. Estrutura química da saxitoxina. Imagem adaptada de (Žegura et al. 2011).

Entre as biotoxinas aquáticas, a saxitoxina constitui um caso de estudo único, uma vez que é produzida por organismos de diferentes ecossistemas aquáticos: cianobactérias de água doce e dinoflagelados marinhos. Este facto traz preocupações acrescidas relativamente ao impacto desta neurotoxina na saúde humana e ambiental, uma vez que a exposição pode ocorrer em água doce, água marinha e em ecossistemas de transição como estuários ou lagoas costeiras, havendo ainda muito a investigar no que diz respeito ao seu potencial tóxico.



## EXPOSIÇÃO A SAXITOXINAS E PRINCIPAIS EFEITOS CONHECIDOS

As saxitoxinas estão entre as neurotoxinas naturais conhecidas mais potentes (Christensen e Khan, 2020), com a capacidade de afetar a geração de impulsos nervosos (Murray et al. 2011; Christensen e Khan, 2020). O comprometimento da geração de impulsos nervosos leva à supressão da estimulação dos músculos, podendo por exemplo resultar em paralisia respiratória quando os músculos respiratórios são afetados (Christensen e Khan, 2020). Quando produzidas por dinoflagelados em ambiente marinho, as saxitoxinas estão associadas a um conjunto de sintomas específicos conhecido por intoxicação por toxinas paralisantes em marisco (do inglês *paralytic shellfish poisoning*; PSP) (Metcalf e Codd, 2009; Christensen e Khan, 2020). Apesar desta biotoxina ter sido amplamente estudada no contexto marinho, ainda existem diversas dúvidas relativamente aos efeitos resultantes da exposição a esta toxina através do contacto com e/ou ingestão de água doce (Metcalf e Codd, 2009; Christensen e Khan, 2020).

A síndrome PSP resulta da ingestão de produtos alimentares marinhos contaminados e é caracterizada pelos seguintes sintomas: ardor, dormência, cólicas, vômitos, diarreia, paralisia, dificuldade em respirar, transpiração excessiva, salivação e dores de cabeça (Visciano et al. 2016; O'Neill et al. 2016; Rutkowska et al. 2019). Ainda não existe uma terapia eficaz disponível para reverter os efeitos das saxitoxinas, sendo que a única terapia de apoio existente para casos de intoxicação mais graves consiste na utilização de processos mecânicos de respiração artificial até os tóxicos serem excretados (O'Neill et al. 2016; Murk et al. 2019). As vítimas de intoxicação por saxitoxinas podem também ser tratadas com carvão ativado, de forma a auxiliar a excreção da toxina do corpo (O'Neill et al. 2016).

As saxitoxinas são também recorrentemente implicadas na morte de várias espécies marinhas, tais como aves marinhas, baleias e focas-monge (Cusick e Sayler, 2013; O'Neill et al. 2016). Nos casos de eventos de mortalidade em massa envolvendo aves, são sobretudo as aves piscívoras que são afetadas após o consumo de peixe contaminado por saxitoxinas (Cusick e Sayler, 2013). Em ambientes de água doce, as saxitoxinas são conhecidas por causar principalmente sintomas de intoxicação, mas também mesmo morte, em gado que ingere água contaminada (Murray et al. 2011).

Para além dos efeitos dramáticos e mais obviamente reconhecíveis descritos acima, as saxitoxinas têm também a capacidade de induzir stress oxidativo<sup>1</sup>, o que leva a danos indiretos na cadeia de ADN e à apoptose celular. A indução de stress oxidativo e danos no ADN já foi observada também em peixes de água doce

---

<sup>1</sup> O stress oxidativo é um estado fisiológico caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigénio (do inglês *reactive oxygen species*; ROS), como o ião superóxido, e as defesas antioxidantes da célula. ROS em excesso podem oxidar e danificar lípidos celulares, proteínas e ADN, levando à sua modificação e frequentemente à sua inutilização, ou seja, afetando a sua função normal.

(*Geophagus brasiliensis*) expostos a saxitoxinas (de Morais Calado et al. 2020). A paragem do ciclo celular na fase G0/G1<sup>2</sup>, induzindo assim a morte celular através de um processo apoptótico foi observada por exemplo em linhas celulares de mamíferos cultivados *in vitro* (Melegari et al. 2015). Foi também já demonstrada a capacidade das saxitoxinas em alterar os padrões de metilação do ADN<sup>3</sup> em organismos modelo relevantes para a saúde humana e para a ecologia (Mat et al. 2013; O'Neill et al. 2016; Melegari et al. 2015; de Morais Calado et al. 2020; Chen et al. 2020). Por exemplo, a alteração a expressão de genes relacionados com apoptose e desenvolvimento vascular em embriões de peixe-zebra (*Danio rerio*) foi registada (Chen et al. 2020), assim como indução de citotoxicidade e alteração dos padrões de metilação do ADN em células de neuroblastoma de rato (Perreault et al. 2011). Embora mais raros, há estudos sobre efeitos das saxitoxinas ao nível do indivíduo. Por exemplo, observou-se que a exposição a saxitoxinas inibe os movimentos dos apêndices torácicos e o movimento pós-abdominal das garras na pulga-de-água *Daphnia pulex* (Ferrão-Filho et al. 2010). Tendo em conta que estas estruturas são cruciais para o processo de alimentação por filtração de partículas da coluna de água exibido pelas pulgas-de-água, quando o seu movimento é afetado, a eficiência alimentar também o é, manifestando-se assim uma consequência indireta da neurotoxicidade das saxitoxinas. Sendo as pulgas-de-água, herbívoros muito importantes nos ecossistemas aquáticos, capazes de controlar a produção fitoplanctónica, quando a sua alimentação é afetada há uma probabilidade aumentada de se verificarem desequilíbrios tróficos no ecossistema aquático. Embora escassos, estes resultados reportados na literatura levantam preocupações sobre os efeitos das saxitoxinas como resultado da exposição crónica a concentrações baixas, incluindo sobre efeitos que se estendem para além da neurotoxicidade relacionados com potenciais propriedades cancerígenas e genotóxicas e relativos a consequências ecológicas da exposição.



## DIMENSÃO DA PROBLEMÁTICA E ESTRATÉGIAS DE GESTÃO

Tendo em consideração os conhecidos efeitos neurotóxicos das saxitoxinas e as preocupações emergentes relativamente aos seus potenciais efeitos genotóxicos, citotóxicos e até ecológicos, a sua ocorrência em ambiente marinho e dulçaquícola é globalmente preocupante. De facto, os *blooms* de microalgas e cianobactérias produtoras de saxitoxinas representam uma ameaça tanto para a saúde humana (Visciano et al. 2016) como para a biota aquática, sendo que as preocupações com a saúde pública se destacam ao nível societal. Um elevado número de casos de intoxicação humana por saxitoxinas através do consumo de marisco, cefalópodes e peixes contaminados é reportado todos os anos, especialmente no Japão e América do Sul (Visciano et al. 2016; O'Neill et al. 2016; Murk et al. 2019). Globalmente, são registados

<sup>2</sup> O ciclo celular pode ser visto como o ciclo de vida de uma célula, desde a sua formação a partir de uma célula mãe até à sua divisão em duas células filhas. É composto por várias fases: (i) fase G1, em que a célula, após a divisão, cresce, copia organelos e produz os componentes moleculares de que precisará nas etapas posteriores; (ii) fase G0, uma fase que decorre a seguir à fase G1 em algumas células que não se dividem ou que estão em fase de repouso a desempenhar as suas funções até receberem sinais que promovam o avanço para a fase seguinte; (iii) fase S, em que a célula sintetiza uma cópia completa do ADN e duplica as estruturas organizadoras dos microtúbulos que serão essenciais na mitose posteriormente; (iv) fase G2, que é uma segunda fase de crescimento celular em que a célula prepara a mitose.

<sup>3</sup> A metilação do ADN é uma alteração química na molécula que consiste na acoplagem de um grupo metilo às bases azotadas, geralmente às citosinas. Este é um mecanismo epigenético, ou seja, um mecanismo de regulação da expressão dos genes que é influenciado por fatores ambientais. A metilação do ADN está habitualmente, embora não exclusivamente, associada ao silenciamento dos genes.

aproximadamente 2000 casos de intoxicação humana por saxitoxinas anualmente, com uma taxa de mortalidade associada de 15% (Cusick e Sayler, 2013). A acumulação de saxitoxinas ocorre geralmente nas vísceras de marisco contaminado, mas no polvo comum (*Octopus vulgaris*) e na lula (*Dosidicus gigas*) foram também registadas elevadas concentrações de saxitoxinas (390 até 2680 mg/kg), em particular na glândula digestiva destes moluscos (Lopes et al. 2014; Chorus e Welker, 2021). Peixes pescados para consumo humano também acumulam saxitoxinas, principalmente no fígado (até 0,6 mg/kg) e em menor concentração no tecido muscular (até 0,02 mg/kg) (Testai et al. 2016). Os bivalves são também conhecidos por acumularem saxitoxinas, tendo sido registado em tecidos de bivalves contaminados até 8575 mg de saxitoxinas por 100 g de massa visceral (Garcia et al. 2004).

Apesar dos diversos casos fatais de intoxicação por saxitoxinas que são registados globalmente todos os anos, a implementação de programas de monitorização em diversos países tem ajudado a minimizar os riscos de saúde pública e a reduzir o número de fatalidades como resultado último de eventos de intoxicação (Cusick e Sayler, 2013; O'Neill et al. 2016; Murk et al. 2019). Na União Europeia, as áreas de produção de marisco são periodicamente monitorizadas para verificar a presença de microalgas produtoras de biotoxinas e a ocorrência destas toxinas nos tecidos destes organismos marinhos (Visciano et al. 2016). Este controlo é geralmente aplicado semanalmente, durante os períodos em que a colheita é permitida e durante os períodos do ano em que a ocorrência de *blooms* de microalgas marinhas é maior (Visciano et al. 2016). Quando os resultados obtidos por estes programas de monitorização revelam concentrações de microalgas e das biotoxinas por si produzidas superiores aos limites impostos pela legislação europeia (Regulamento EC Nº 853/2004), a área de produção em questão deve ser fechada pela autoridade competente e apenas poderá ser reaberta quando após a obtenção de dois resultados consecutivos de concentrações de biotoxinas que cumpram os limites de segurança definidos (Visciano et al. 2016; Murk et al. 2019). Estas medidas têm-se revelado extremamente eficazes na redução do número de casos de intoxicações por biotoxinas marinhas (Visciano et al. 2016). Em Portugal, está implementado um extenso programa de monitorização de saxitoxinas e de outras biotoxinas perigosas para a saúde humana em tecidos de espécies marinhas acumuladoras de biotoxinas (em particular bivalves), a cargo do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA) (Lopes et al. 2014; Moreira et al. 2021).

Em ecossistemas de água doce, os programas de monitorização destas biotoxinas são menos comuns e completos. Na maioria dos países europeus (incluindo Portugal), a ocorrência de *blooms* em rios, albufeiras e outros reservatórios de água potável não é regularmente monitorizada por agências governamentais, sendo as microcistinas a única cianotoxina cujo limite de segurança (1 µg/L) é regulamentado pela legislação, que deixa de fora as restantes cianotoxinas (como as saxitoxinas) (Christensen e Khan, 2020; Moreira et al. 2021; Chorus e Welker, 2021). Tendo em conta a importância dos reservatórios superficiais de água doce na captação de água para consumo humano (a título de exemplo, a albufeira de Castelo-do-Bode é a fonte de captação de água que é tratada e distribuída pela EPAL para abastecimento de vários Concelhos da região de Lisboa e Vale do Tejo), é clara a necessidade de melhorar o panorama da monitorização de biotoxinas em massas de água que têm estas funções.

Para além desta prioridade, é também crítico que sejam implementados sistemas de tratamento nas Estações de Tratamento de Água (ETA) para consumo humano que permitam remover eficazmente as toxinas contaminantes, reduzindo as suas concentrações para níveis seguros, inferiores a 3 µg/L no caso das

saxitoxinas (concentração máxima de saxitoxinas recomendada pela Organização Mundial da Saúde em águas destinadas a consumo humano; (World Health Organization, 2020). Existem diversos métodos de tratamento de águas regulares, como a filtração, a coagulação e a cloração, que não são eficientes na remoção das cianobactérias e das suas toxinas na água (Vasconcelos et al. 1996; Macário et al. 2021). Muitos destes tratamentos, têm ainda o inconveniente de conduzirem à lise da membrana celular das cianobactérias levando à libertação das toxinas para a água (Vasconcelos et al. 1996), o que constitui um grave problema. Assim, deverão ser implementadas novas metodologias nas ETAs, que tenham a capacidade de responder a este problema. Existem já algumas técnicas eficazes na remoção das cianotoxinas mais comuns, como o uso combinado de ozono com forte radiação UV que leva à oxidação e degradação das biotoxinas (Vasconcelos et al. 1996); e a utilização de técnicas de adsorção com carvão ativado que são eficazes na remoção das toxinas na água usada para consumo (Abbas et al. 2020). Embora estas estratégias de tratamento sejam onerosas, o perigo para a saúde pública da água para consumo contaminada com biotoxinas é relevante, pelo que um maior investimento na implementação de sistemas de tratamento flexíveis o suficiente para as integrar em alturas de formação de *blooms* nas zonas de captação deverá ser uma prioridade.



## DESAFIOS FUTUROS NO CONTEXTO DOS HABs

Prevê-se que a ocorrência e a gravidade dos HABs aumentem principalmente devido às alterações climáticas no geral e ao aumento da eutrofização dos ecossistemas aquáticos em particular (Bláha et al. 2009; Stauffer et al. 2019). Como resultado, as biotoxinas aquáticas são já consideradas uma preocupação emergente para a saúde pública e ambiental (Nicolas et al. 2017; Mutoti et al. 2022). É assim expectável que a produção de saxitoxinas e de outras toxinas aumente nos próximos anos e que constitua uma preocupação crescente nos ecossistemas marinhos e de água doce (O'Neill et al. 2016). Se estas previsões se concretizarem, as alterações climáticas podem assim potenciar a ocorrência deste grupo de toxinas tanto em ambientes de água doce como em ambientes marinhos o que irá trazer preocupações acrescidas relativamente à exposição aguda, mas também crónica a baixas doses em ambos os compartimentos (O'Neill et al. 2016).

Apesar de décadas de investigação sobre as causas e efeitos dos HABs ainda existem questões fundamentais sobre a biologia e ecologia dos organismos envolvidos nestes eventos, bem como sobre os efeitos das toxinas por si produzidas (Stauffer et al. 2019; WHO, 2021). Estas questões podem ser agrupadas nos seguintes quatro itens:

### • Caracterização dos HABs

Os HABs apresentam tipicamente um elevado grau de heterogeneidade (temporal e espacial) relativamente à composição em espécies formadoras de *blooms*, fatores não pontuais que contribuem para o aparecimento e desenvolvimento de *blooms* e relações entre biomassa e toxicidade (Altamirano e Sierra-Beltrán, 2008; Stauffer et al. 2019; WHO, 2021). Estas características colocam grandes desafios à compreensão, previsão e mitigação destes eventos (Stauffer et al. 2019).

### • Exposição combinada a múltiplas biotoxinas, entre elas as neurotoxinas

Estes cenários de exposição múltipla estão a tornar-se cada vez mais comum devido às alterações climáticas e à atividade humana, refletida por exemplo no aumento de utilização de fertilizantes na agricultura cujo excedente entra nos sistemas aquáticos (por escorrência e por outros processos) e favorece o crescimento

de microalgas e cianobactérias (Munday e Reeve, 2013; O'Neill et al. 2016; Pulido, 2016; Rodgers et al. 2018; Bittner et al. 2021). A exposição a um *cocktail* de biotoxinas é cada vez mais provável, especialmente em ecossistemas de transição (p.ex. estuários), e sabe-se que a exposição a uma combinação destes compostos pode levar a efeitos tóxicos exacerbados (Munday e Reeve, 2013; Rodgers et al. 2018; Bittner et al. 2021). Estes cenários têm que ser bem caracterizados para que seja possível adequar os programas de monitorização e de gestão de *blooms* de forma eficiente.

• **Conhecimento escasso sobre efeitos toxicológicos e ecotoxicológicos destas biotoxinas**

O conhecimento alargado, com respeito a biotoxinas de água doce e salgada, como resultado da exposição crónica a baixas concentrações é ainda escasso (Visciano et al. 2016; Stauffer et al. 2019; Christensen e Khan, 2020; Metcalf et al. 2021). Os estudos de exposição crónica a baixas concentrações são especialmente relevantes para as neurotoxinas, como é o caso das saxitoxinas, uma vez que se acredita que o principal alvo toxicológico destas biotoxinas (o sistema nervoso e os neurónios) é particularmente suscetível a longo prazo (Metcalf et al. 2021).

• **Métodos de deteção, quantificação e previsão dos efeitos subletais das cianotoxinas e ficotoxinas**

A deteção de biotoxinas aquáticas é atualmente realizada principalmente recorrendo a ensaios *in vivo* (principalmente o *mouse bioassay* - MBA) e métodos químicos (principalmente utilizando cromatografia líquida - espectrometria de massa e cromatografia líquida de alta eficiência com deteção de fluorescência) (Merel et al. 2013; Nicolas et al. 2017; Morabito et al. 2018; Vogjazi et al. 2019). Foram também desenvolvidas outras metodologias que permitem a rápida deteção destas biotoxinas aquáticas, tais como testes imunocromatográficos de fluxo lateral, biossensores e kits ELISA que permitem o rastreio rápido de várias biotoxinas aquáticas, entre elas saxitoxinas (Nicolas et al. 2017; Cunha et al. 2018; Murk et al. 2019). Apesar de algumas destas metodologias serem eficazes, têm também as suas limitações, tais como a falta de especificidade e sensibilidade em relação a algumas biotoxinas, elevado custo, elevada dificuldade de implementação em grande escala e o facto de levantam preocupações éticas, em particular o ensaio MBA (Merel et al. 2013; Nicolas et al. 2017; Morabito et al. 2018; Murk et al. 2019). Devido as questões éticas que levanta, o ensaio MBA está a ser progressivamente menos utilizado para a deteção de biotoxinas aquáticas, tendo sido já abolido na União Europeia e na Nova Zelândia (Merel et al. 2013; Nicolas et al. 2017; Murk et al. 2019). São assim urgentes soluções alternativas de rastreio capazes de detetar biotoxinas a baixas concentrações, com baixos custos associados e elevada reprodutibilidade. Os recentes avanços em tecnologias baseadas em ómicas (tais como genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica e epigenómica) e a sequenciação e caracterização de vários genomas de organismos modelo facilitam o desenvolvimento de novos biomarcadores moleculares que auxiliam a deteção de toxinas, assim como o estudo dos efeitos tóxicos de toxinas em seres humanos e também em organismos ecologicamente relevantes (Suarez-Ulloa et al. 2015; Perera et al. 2019; Ma et al. 2021). Estes biomarcadores poderão ter uma dupla função: (i) servir como importantes indicadores da presença de biotoxinas em ambientes aquáticos - por exemplo, a deteção de padrões de metilação de DNA alterados em organismos modelo que se saiba serem típicos de exposição a uma determinada toxina, poderá servir de indicador para a presença desta toxina numa determinada amostra de água que se pretende analisar; (ii) auxiliar na avaliação e predição de efeitos tóxicos destas biotoxinas para além dos conhecidos atualmente. A interação entre estes métodos alternativos, as técnicas analíticas químicas já amplamente estabelecidas e novos modelo *in vivo* (por exemplo invertebrados,



que levantam preocupações éticas muito menores), permitirá eventualmente a identificação de toxinas até agora desconhecidas; contribuirá para a melhor compreensão da ocorrência e dos efeitos adversos associados a estas biotoxinas; e lançará as bases para o desenvolvimento de uma nova geração de programas de monitorização de água doce e marinha (Nicolas et al. 2017; Bodero et al. 2018; Perera et al. 2019; Reid et al. 2019). A figura 2 ilustra a estrutura deste tipo de programas.

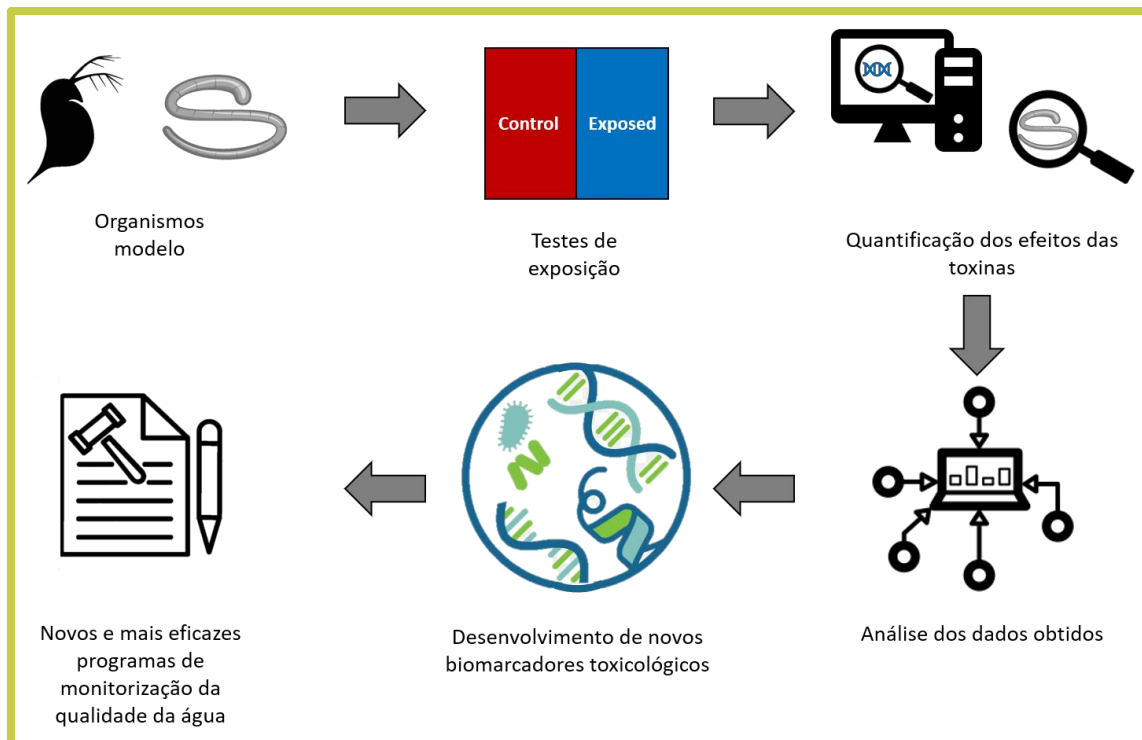


FIGURA 2. Metodologia para o desenvolvimento de novos programas de monitorização de biotoxinas aquáticas. (1) Os bioensaios in vitro e outros bioensaios de toxicidade podem ser feitos numa variedade de organismos, geralmente selecionados pela sua relevância ecológica e sensibilidade às biotoxinas em estudo, atendendo a preocupações éticas. (2) Exposições controladas a biotoxinas e otimização de protocolos de exposição, com comparação entre indivíduos controlo (não expostos) e expostos. (3) Quantificação e análise dos efeitos das biotoxinas aquáticas, utilizando parâmetros químicos, moleculares, celulares, comportamentais, fisiológicos e outros. (4) Processamento, análise e integração de dados, utilizando ferramentas bioinformáticas. (5) Após validação, os dados obtidos podem ser utilizados para desenvolver novos biomarcadores toxicológicos para biotoxinas aquáticas e ajudar-nos a compreender como as espécies se adaptam para lidar com a toxicidade das biotoxinas aquáticas. (6) A interação entre as metodologias emergentes baseadas em ómicas, as técnicas analíticas químicas e in vivo permitir-nos-á compreender melhor os efeitos destas biotoxinas e também desenvolver melhores métodos para detetar e lidar com este problema global.

## NOTAS FINAIS

Os HABs ocorrem em ambientes de água doce, salgada e salobra e a sua frequência, severidade e distribuição geográfica estão a aumentar em todo o mundo. Devido às alterações climáticas e ao aumento dos níveis de poluição, é previsto que a ocorrência de *blooms* de cianobactérias e algas em ambientes aquáticos continue a aumentar. A degradação dos ecossistemas aquáticos levará também a uma maior produção de biotoxinas, podendo igualmente conduzir à produção de novas toxinas atualmente

desconhecidas, o que terá graves consequências a diversos níveis, como saúde pública, ecológico e económico.

Entre as diversas biotoxinas produzidas por cianobactérias e algas marinhas, as saxitoxinas são particularmente preocupantes, devido aos seus fortes efeitos neurotóxicos e ao facto de serem produzidas tanto em água doce como em ambientes marinhos. Em ecossistemas de transição (ambientes com água salobra) existe também a possibilidade de exposição a concentrações mais elevadas de saxitoxinas uma vez que poderão ocorrer eventos de exposição concomitantes a saxitoxinas de origem de ambientes de água doce e salgada.

Apesar da dificuldade na remoção de *blooms* tóxicos de cianobactérias e algas de ambientes aquáticos, as suas repercussões negativas podem ser geridas e mitigadas através da implementação de estratégias de monitorização destes eventos, devendo também haver uma aposta contínua e reforçada em linhas de investigação científica que nos podem ajudar a compreender melhor estas biotoxinas aquáticas, a sua dinâmica e a sua especificidade, que por sua vez alimentarão por exemplo o desenvolvimento de estratégias de monitorização mais eficazes do que as que se encontram implementadas atualmente.

---

**agradecimentos** • São devidos agradecimentos à FCT/MCTES pelo apoio financeiro ao CESAM (UIDP/50017/2020 + UIDB/50017/2020 + LA/P/0094/2020) através de fundos nacionais. Patrícia Pereira é financiada por fundos nacionais através da FCT, no contexto do Estímulo ao Emprego Científico [CEECIND/01144/2017].

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, T., Kajjumba, G. W., Ejjada, M., Masrura, S. U., Marti, E. J., Khan, E., & Jones-Lepp, T. L. (2020). Recent advancements in the removal of cyanotoxins from water using conventional and modified adsorbents—A contemporary review. *Water*, 12(10), 2756.
- Altamirano, R. C., & Sierra-Beltrán, A. P. (2008). Biotoxins from freshwater and marine harmful algal blooms occurring in Mexico. *Toxin Reviews*, 27(1), 27–77. <https://doi.org/10.1080/15569540701883437>
- Bittner, M., Štern, A., Smutná, M., Hilscherová, K., & Žegura, B. (2021). Cytotoxic and Genotoxic Effects of Cyanobacterial and Algal Extracts-Microcystin and Retinoic Acid Content. *Toxins*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/toxins13020107>
- Bláha, L., Babica, P., & Maršálek, B. (2009). Toxins produced in cyanobacterial water blooms - toxicity and risks. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(2), 36–41. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0006-2>
- Bodero, M., Bovee, T. F. H., Wang, S., Hoogenboom, R. L. A. P., Klijnstra, M. D., Portier, L., Hendriksen, P. J. M., & Gerssen, A. (2018). Screening for the presence of lipophilic marine biotoxins in shellfish samples using the neuro-2a bioassay. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 35(2), 351–365. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1368720>
- Boyer, G. L. (2008). Cyanobacterial Toxins in New York and the Lower Great Lakes Ecosystems. In: Hudnell, H.K. (eds) Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 619. Springer, New York, NY, pp. 135-165. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-75865-7\\_7](https://doi.org/10.1007/978-0-387-75865-7_7)
- Calado, S. L. de M., Santos, G. S., Vicentini, M., Bozza, D. C., Prodócimo, V., de Magalhães, V.F., Cestari, M. M., & de Assis, H. C. S. (2020). Multiple biomarkers response in a Neotropical fish exposed to paralytic shellfish toxins (PSTs). *Chemosphere*, 238, 124616. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124616>
- Carvalho, I. L. de Pelerito, A., Ribeiro, I., Cordeiro, R., Núncio, M. S., & Vale, P. (2019). Paralytic shellfish poisoning due to ingestion of contaminated mussels: A 2018 case report in Caparica (Portugal). *Toxicon X*, 4. <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2019.100017>

- Chen, G., Jia, Z., Wang, L., & Hu, T. (2020). Effect of acute exposure of saxitoxin on development of zebrafish embryos (*Danio rerio*). *Environmental Research*, 185, 109432. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109432>
- Chorus, I., & Welker, M., Eds. (2021). *Toxic Cyanobacteria in Water; A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. World Health Organization, CRC Press, 859 pp.
- Chorus, I., Fastner, J., & Welker, M. (2021). Cyanobacteria and cyanotoxins in a changing environment: Concepts, controversies, challenges. *Water*, 13(18). <https://doi.org/10.3390/w13182463>
- Christensen, V. G., & Khan, E. (2020). Freshwater neurotoxins and concerns for human, animal, and ecosystem health: A review of anatoxin-a and saxitoxin. *Science of the Total Environment*, 736, 139515. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139515>
- Cunha, I., Biltes, R., Sales, M. G. F., & Vasconcelos, V. (2018). Aptamer-based biosensors to detect aquatic phycotoxins and cyanotoxins. *Sensors*, 18(7). <https://doi.org/10.3390/s18072367>
- Cusick, K. D., & Sayler, G. S. (2013). An overview on the marine neurotoxin, saxitoxin: Genetics, molecular targets, methods of detection and ecological functions. *Marine Drugs*, 11(4), 991–1018. <https://doi.org/10.3390/md11040991>
- Ferrão-Filho, A. da S., Soares, M. C. S., de Magalhães, V. F., & Azevedo, S. M. F. O. (2010). A rapid bioassay for detecting saxitoxins using a *Daphnia* acute toxicity test. *Environmental Pollution*, 158(6), 2084–2093. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.03.007>
- Gaboriau, M., Ponton, D., Darius, H. T., & Chinain, M. (2014). Ciguatera fish toxicity in French Polynesia: Size does not always matter. *Toxicon*, 84, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.03.006>
- García, C., Bravo, M. D. C., Lagos, M., & Lagos, N. (2004). Paralytic shellfish poisoning: Post-mortem analysis of tissue and body fluid samples from human victims in the Patagonia fjords. *Toxicon*, 43(2), 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.11.018>
- Hess, P. (2010). Requirements for screening and confirmatory methods for the detection and quantification of marine biotoxins in end-product and official control. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(5), pp. 1683–169. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3444-y>
- Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M. H., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471–483. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0040-1>
- Lopes, V. M., Baptista, M., Repolho, T., Rosa, R., & Costa, P. R. (2014). Uptake, transfer and elimination kinetics of paralytic shellfish toxins in common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquatic Toxicology*, 146, 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.11.011>
- Ma, Y., Liu, H., Du, X., Shi, Z., Liu, X., Wang, R., Zhang, S., Tian, Z., Shi, L., Guo, H., & Zhang, H. (2021). Advances in the toxicology research of microcystins based on Omics approaches. *Environment International*, 154, 106661. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106661>
- Macário, I. P. E., Ventura, S. P. M., Gonçalves, F. J. M., Torres-Acosta, M. A., & Pereira, J. L. (2021). The “bright Side” of Cyanobacteria: Revising the Nuisance Potential and Prospecting Innovative Biotechnology-Based Solutions to Integrate Water Management Programs. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 9(21), 7182–7197. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c00458>
- Mat, A. M., Haberkorn, H., Bourdineaud, J. P., Massabuau, J. C., & Tran, D. (2013). Genetic and genotoxic impacts in the oyster *Crassostrea gigas* exposed to the harmful alga *Alexandrium minutum*. *Aquatic Toxicology*, 140–141, 458–465. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.07.008>
- Melegari, S. P., de Carvalho Pinto, C. R. S., Moukha, S., Creppy, E. E., & Matias, W. G. (2015). Evaluation of Cytotoxicity and Cell Death Induced in Vitro by Saxitoxin in Mammalian Cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 78(19), 1189–1200. <https://doi.org/10.1080/15287394.2015.1072069>
- Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., & Thomas, O. (2013). State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment International*, 59, 303–327. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.06.013>
- Metcalf, J. S., & Codd, G. A. (2009). Cyanobacteria, neurotoxins and water resources: Are there implications for human neurodegenerative disease? *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, 10(SUPPL. 2), 74–78. <https://doi.org/10.3109/17482960903272942>
- Metcalf, J. S., Tischbein, M., Cox, P. A., & Stommel, E. W. (2021). Cyanotoxins and the nervous system. *Toxins*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/toxins13090660>
- Morabito, S., Silvestro, S., & Faggio, C. (2018). How the marine biotoxins affect human health. *Natural Product Research* 32(6), 621–631. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1329734>
- Moreira, C., Campos, A., Martins, J. C., Vasconcelos, V., & Antunes, A. (2021). Review on cyanobacterial studies in Portugal: Current impacts and research needs. *Applied Sciences* 11(10). <https://doi.org/10.3390/app11104355>
- Munday, R., & Reeve, J. (2013). Risk assessment of shellfish toxins. *Toxins* 5(11), 2109–2137. <https://doi.org/10.3390/toxins5112109>

- Murk, A. J., Nicolas, J., Smulders, F. J. M., Bürk, C., & Gerssen, A. (2019). Marine biotoxins: types of poisoning, underlying mechanisms of action and risk management programmes. In *Chemical hazards in foods of animal origin*, ECVPH Food safety assurance, Vol. 7, pp. 207–239. [https://doi.org/10.3920/978-90-8686-877-3\\_09](https://doi.org/10.3920/978-90-8686-877-3_09)
- Murray, S. A., Mihali, T. K., & Neilan, B. A. (2011). Extraordinary conservation, gene loss, and positive selection in the evolution of an ancient neurotoxin. *Molecular Biology and Evolution*, 28(3), 1173–1182. <https://doi.org/10.1093/molbev/msq295>
- Mutoti, M., Gumbo, J., & Jideani, A. I. O. (2022). Occurrence of cyanobacteria in water used for food production: A review. *Physics and Chemistry of the Earth*, 125, 103101. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2021.103101>
- Nicolas, J., Hoogenboom, R. L. A. P., Hendriksen, P. J. M., Boderó, M., Bovee, T. F. H., Rietjens, I. M. C. M., & Gerssen, A. (2017). Marine biotoxins and associated outbreaks following seafood consumption: Prevention and surveillance in the 21st century. *Global Food Security*, 15, 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2017.03.002>
- O'Neill, K., Musgrave, I. F., & Humpage, A. (2016). Low dose extended exposure to saxitoxin and its potential neurodevelopmental effects: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 48, 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.09.020>
- Ordás, M. C., Fraga, S., Franco, J. M., Ordás, A., & Figueras, A. (2004). Toxin and molecular analysis of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) strains from Galicia (NW Spain) and Andalucía (S Spain). *Journal of Plankton Research*, 26(3), 341–349. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbh037>
- Paerl, H. W., & Otten, T. G. (2013). Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls. *Microbial Ecology*, 65(4), 995–1010. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0159-y>
- Pereira, P., Onodera, H., Andrinolo, D., Franca, S., Araújo, F., Lagos, N., & Oshima, Y. (2000). Paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae*, isolated from Montargil reservoir, Portugal. *Toxicon*, 38(12), 1689–1702. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(00\)00100-8](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(00)00100-8)
- Perera, B. P. U., Svoboda, L. K., & Dolinoy, D. C. (2019). Genomic tools for environmental epigenetics and implications for public health. *Current Opinion in Toxicology*, 18, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2019.02.008>
- Perreault, F., Seleme Matias, M., Pedroso Melegari, S., de Carvalho Pinto, C. R. S., Ekué Creppy, E., Popovic, R., & Gerson Matias, W. (2011). Investigation of animal and algal bioassays for reliable saxitoxin ecotoxicity and cytotoxicity risk evaluation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(4), 1021–1026. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.01.016>
- Pulido, O. M. (2016). Phycotoxins by Harmful Algal Blooms (HABS) and Human Poisoning: An Overview. *International Clinical Pathology Journal*, 2(6), 145–152. <https://doi.org/10.15406/icpj.2016.02.00062>
- Reid, A. J., Carlson, A. K., Creed, I. F., Eliason, E. J., Gell, P. A., Johnson, P. T. J., Kidd, K. A., MacCormack, T. J., Olden, J. D., Ormerod, S. J., Smol, J. P., Taylor, W. W., Tockner, K., Vermaire, J. C., Dudgeon, D., & Cooke, S. J. (2019). Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. *Biological Reviews*, 94(3), 849–873. <https://doi.org/10.1111/brv.12480>
- Rodgers, K. J., Main, B. J., & Samardzic, K. (2018). Cyanobacterial Neurotoxins: Their Occurrence and Mechanisms of Toxicity. *Neurotoxicity Research*, 33(1), 168–177. <https://doi.org/10.1007/s12640-017-9757-2>
- Rutkowska, M., Płotka-Wasyłka, J., Majchrzak, T., Wojnowski, W., Mazur-Marzec, H., & Namieśnik, J. (2019). Recent trends in determination of neurotoxins in aquatic environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry* 112, 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.01.001>
- Stauffer, B. A., Bowers, H. A., Buckley, E., Davis, T. W., Johengen, T. H., Kudela, R., McManus, M. A., Purcell, H., Smith, G. J., Woude, A. vander, & Tamburri, M. N. (2019). Considerations in harmful algal bloom research and monitoring: Perspectives from a consensus-building workshop and technology testing. *Frontiers in Marine Science* 6. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00399>
- Suarez-Ulloa, V., Gonzalez-Romero, R., & Eirin-Lopez, J. M. (2015). Environmental epigenetics: A promising venue for developing next-generation pollution biomonitoring tools in marine invertebrates. *Marine Pollution Bulletin* 98 (1–2), 5–13. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.06.020>
- Testai, E., Scardala, S., Vichi, S., Buratti, F. M., & Funari, E. (2016). Risk to human health associated with the environmental occurrence of cyanobacterial neurotoxic alkaloids anatoxins and saxitoxins. *Critical Reviews in Toxicology* 46(5), 385–419. <https://doi.org/10.3109/10408444.2015.1137865>
- Toyofuku, H. (2006). Joint FAO/WHO/IOC activities to provide scientific advice on marine biotoxins (research report). *Marine Pollution Bulletin*, 52(12), 1735–1745. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.07.007>
- Trainer, V. L., & Hardy, F. J. (2015). Integrative monitoring of marine and freshwater harmful algae in Washington state for public health protection. *Toxins*, 7(4), 1206–1234. <https://doi.org/10.3390/toxins7041206>
- Vasconcelos, V. M., Sivonen, K., Evans, W. R., Carmichael, W. W., & Namikoshi, M. (1996). Hepatotoxic microcystin diversity in cyanobacterial blooms collected in Portuguese freshwaters. *Water Research*, 30(10), 2377–2384.
- Visciano, P., Schirone, M., Berti, M., Milandri, A., Tofalo, R., & Suzzi, G. (2016). Marine Biotoxins: Occurrence, Toxicity, Regulatory Limits and Reference Methods. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01051>

Vogiazzi, V., de La Cruz, A., Mishra, S., Shanov, V., Heineman, W. R., & Dionysiou, D. D. (2019). A Comprehensive Review: Development of Electrochemical Biosensors for Detection of Cyanotoxins in Freshwater. *ACS Sensors*, 4(5), 1151–1173. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b00376>

World Health Organization. (2020). *Cyanobacterial toxins: saxitoxins Background document for development of WHO*. <http://apps.who.int/bookorders>.

Žegura, B., Štraser, A., & Filipič, M. (2011). Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins - a review. In *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* 727(1–2), 16–41). <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2011.01.002>