

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA  
ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AMBIENTAL E INDUSTRIAL**

**CIANOACTÉRIAS TÓXICAS E PROCESSOS DE  
REMOÇÃO**

**TAÍSSA DOS SANTOS BARBOSA**

**2009**

**TAÍSSA DOS SANTOS BARBOSA**

**CIANOACTÉRIAS TÓXICAS E PROCESSOS DE  
REMOÇÃO**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, como parte das exigências do Curso de Especialização em Microbiologia Ambiental e Industrial.

Orientadora

Prof. Vera Lúcia Santos

BELO HORIZONTE

MINAS GERAIS – BRASIL

2009

*Ao meu "porto seguro", Neto.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Mestre Vera Lúcia Santos, professora orientadora científica desta monografia, por ter sugerido o tema, pela preciosa orientação em todas as fases do meu trabalho, pela leitura criteriosa dos textos e pela disponibilidade;

Ao meu namorado Neto, pelo apoio;

Aos amigos que me acolheram em Belo Horizonte, pela confiança e presteza;

E em fim, a minha família. Minha mãe, Lenir, e meus irmãos, Tássio e Lauro; pela compreensão, nos momentos em que não pude contribuir com o necessário, por estar dedicada ao curso de especialização que finalizo.

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1- INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>1</b>  |
| <b>2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....   | <b>3</b>  |
| <b>2.1 - CIANOBACTÉRIAS</b> .....  | <b>3</b>  |
| <b>2.2 - CIANOTOXINAS</b> .....  | <b>5</b>  |
| <b>2.2.1 – Neurotoxinas</b> .....  | <b>9</b>  |
| 2.2.1.1 - Anatoxina-a .....  | 9         |
| 2.2.1.2 - Anatoxina-a (s) .....  | 10        |
| 2.2.1.3 - Saxitoxinas .....  | 10        |
| <b>2.2.2 – Hepatotoxinas</b> .....   | <b>15</b> |
| 2.2.2.1 – Microcistinas .....  | 17        |
| 2.2.2.2 - Nodularinas .....  | 19        |
| 2.2.2.3 - Cilindrospermopsina .....  | 20        |
| <b>2.2.3 – Endotoxinas Pirogênicas – Lipolissacarídeos (LPS)</b> .....                       | <b>22</b> |
| <b>2.3 - CONSEQUÊNCIAS ECOLÓGICAS DA OCORRÊNCIA DE CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS</b> .....          | <b>23</b> |
| <b>2.4 - CONSEQUÊNCIAS DA OCORRÊNCIA DE CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS PARA A SAÚDE HUMANA</b> ..... | <b>25</b> |
| <b>2.5 – MÉTODOS DE ANÁLISE, DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CIANOTOXINAS</b> .....              | <b>27</b> |
| 2.5.1 - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) .....                                | 27        |
| 2.5.2 – Técnica MALDITOF- MS .....   | 28        |
| 2.5.3 - Ensaio da Inibição das Fosfatases Protéicas.....                                     | 29        |
| 2.5.4 – Técnica de ELISA.....  | 29        |
| 2.5.5 – PCR e <i>MAG-microarray</i> de DNA .....   | 29        |
| <b>2.6 - REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS</b> .....                                  | <b>31</b> |
| <b>2.6.1 - Remoção com tratamento convencional</b> .....                                     | <b>31</b> |
| 2.6.1.1 – Coagulação química .....   | 31        |
| 2.6.1.2 - Coagulação-Floculação no tratamento convencional.....                              | 34        |
| 2.6.1.3 – Sedimentação.....  | 36        |
| 2.6.1.4 – Flotação.....  | 38        |
| 2.6.1.5 – Filtração.....   | 39        |
| <b>2.6.2 – Outros Processos</b> .....  | <b>41</b> |
| 2.6.2.1 – Adsorção em carvão ativado.....  | 41        |
| 2.6.2.2 – Filtração Lenta.....   | 42        |
| 2.6.2.3 – Oxidação química .....   | 43        |
| 2.6.2.4 – Utilização de bactérias pró-bióticas.....  | 46        |
| 2.6.2.5 – Radiação gama integrada a agentes físicos exógenos .....                           | 49        |
| <b>CONCLUSÃO</b> .....   | <b>50</b> |
| <b>BIBLIOGRAFIA</b> .....  | <b>52</b> |

## 1- INTRODUÇÃO

Uma consequência dos impactos antrópicos nos ecossistemas aquáticos é a ocorrência de processo de eutrofização acelerado, causando um enriquecimento artificial desses ecossistemas pelo aumento das concentrações de nutrientes na água, principalmente compostos nitrogenados e fosfatados, que resulta num aumento dos processos naturais da produção biológica em rios, lagos e reservatórios. As principais fontes desse enriquecimento têm sido identificadas como sendo as descargas de esgotos domésticos e industriais dos centros urbanos e das regiões agricultáveis.

A eutrofização artificial produz mudanças na qualidade da água incluindo a redução de oxigênio dissolvido, da biodiversidade aquática, a perda das qualidades cênicas, a morte extensiva de peixes e o aumento da incidência de florações de microalgas e cianobactérias. Essas florações podem provocar o aumento no custo do tratamento da água de abastecimento e problemas relacionados à saúde pública, podendo gerar danos ao fígado, sistema nervoso e epiderme (AZEVEDO & BRANDÃO, 2003).

A principal preocupação com o aumento da ocorrência de florações de cianobactérias em mananciais de abastecimento de água é a capacidade de esses microrganismos produzirem e liberarem para o meio líquido toxinas (cianotoxinas) que podem afetar a saúde humana. A contaminação pode ocorrer pela ingestão acidental da água, como por contato em atividades de recreação, ou ainda pelo consumo de pescado contaminado. Entretanto, a principal via de intoxicação é pelo consumo oral da água de abastecimento público, que não recebe um tratamento adequado para remoção dessas toxinas.

As cianotoxinas formam um grupo de substâncias químicas bastante diverso, e são caracterizadas de acordo com os diferentes efeitos tóxicos que causam em organismos vertebrados. Algumas cianotoxinas são neurotóxicas e bastante potentes (anatoxina-a, anatoxina-a(s), saxitoxinas), outras são principalmente tóxicas ao fígado (microcistinas, nodularina e cilindrospermopsina) e outras ainda podem ser irritantes ao contato, consideradas como endotoxinas pirogênicas, como as produzidas por bactérias Gram negativas. Algumas dessas cianotoxinas causam a morte de mamíferos, por parada respiratória, após poucos minutos de exposição e por essa ação rápida, têm sido identificadas como alcalóides ou organofosforados neurotóxicos. Outras atuam menos rapidamente e são identificadas como peptídeos ou alcalóides hepatotóxicos.

O controle das cianobactérias em mananciais de abastecimento é importante devido ao seu potencial tóxico. A Portaria nº 518 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2004), relativa às Normas de Qualidade para Água de Consumo Humano (Potabilidade), estabelece que os responsáveis por estações de tratamento de água para abastecimento público devem realizar monitoramento de cianobactérias e controle de cianotoxinas nos mananciais. Também a Resolução CONAMA nº 357 (BRASIL, 2005) contempla o monitoramento desses organismos.

Métodos para evitar alto grau de contaminação dos mananciais devem ser aplicados para que não se tenha proliferação desses microrganismos tóxicos, e se garanta uma boa qualidade da água para consumo. O processo de Lagoas de Estabilização constitui uma tecnologia de tratamento de esgoto atraente para pequenas e médias comunidades, principalmente devido ao baixo custo e simplicidade operacional, boa eficiência de remoção de poluentes orgânicos e patógenos. Entretanto, estes sistemas constituem-se em corpos d'água artificialmente eutrofizados, com o seu efluente apresentando elevada concentração de nutrientes N e P, promovendo condições suscetíveis à intensa proliferação de cianobactérias e conseqüente produção de toxinas. Este fato aponta a necessidade de reavaliação do uso sem critérios deste tipo de tecnologia de tratamento de esgotos, principalmente quando o corpo receptor do efluente tratado for utilizado como manancial de abastecimento.

Assumindo-se que a qualidade de água é um fator limitante para o desenvolvimento social e econômico do país, verifica-se que várias lacunas precisam ser preenchidas para que possamos garantir, de forma segura e confiável, a qualidade da água em nossos mananciais e nos sistemas de abastecimento público. Uma das principais lacunas é a disseminação das informações disponíveis sobre os diferentes aspectos envolvidos, com as causas e conseqüências da ocorrência de cianobactérias em mananciais de abastecimento.

Neste sentido, esta revisão foi elaborada com o objetivo de contribuir com a divulgação do conhecimento nessa área, bem como fornecer informações para dar suporte aos profissionais na gestão dos setores de saúde e de saneamento.

## 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 - CIANOBACTÉRIAS

Cianobactérias são microrganismos aeróbicos fotoautotróficos, procariontes, pertencem predominantemente a comunidades fitoplanctônicas e estruturalmente se assemelham as bactérias, podendo ser unicelulares, coloniais e filamentosas. Quando as cianobactérias estão agrupadas em colônias, muitas vezes, há uma capa mucilaginosa, gelatinosa, envolvendo e protegendo a colônia. Ocorrem nos mais diversos tipos de ambientes, como terrestre, água doce, salobra ou marinha, fontes termais, neve e solos úmidos (MACEDO & MOLINA, 2008), associados simbioticamente a outros organismos (líquens, pteridófitas, gimnospermas, briófitas e protozoários) auxiliando na fixação de nitrogênio.

Por possuírem um pigmento azulado, a ficocianina (MACEDO & MOLINA, 2008), esses organismos são tradicionalmente chamados de algas azuis, mas apesar desta denominação, somente metade das espécies de cianobactérias apresentam cor azul-esverdeada. A coloração desses microrganismos é explicada pela presença dos pigmentos clorofila-A (verde), carotenóides (amarelo-laranja), ficocianina (azul) e a ficoeritrina (vermelho). Todos estes pigmentos atuam na captação de luz para a fotossíntese. Algumas espécies podem apresentar mais de um tipo de pigmento, isto explica a existência de cianobactérias das mais variadas cores.

As cianobactérias apresentam uma ampla diversidade de formas devido às adaptações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas adquiridas ao longo de sua história evolutiva. Acredita-se que a sua origem data de 3,5 bilhões de anos, sendo provavelmente os primeiros produtores primários de matéria orgânica a liberarem oxigênio elementar na atmosfera primitiva (CARMICHAEL, 1994). Apesar deste longo período evolutivo, a primeira referência de casos de intoxicação encontrada na literatura é um relato de 1878, na Austrália, sobre um envenenamento de animais devido à presença de cianobactéria do tipo *Nodularia spumigena* nos mananciais de abastecimento (KARNER *et al.*, 2001).

A capacidade de crescimento nos mais diferentes meios é uma das características marcantes das cianobactérias. Entretanto, ambientes de água doce são os mais favoráveis para o crescimento de cianobactérias, visto que a maioria das espécies apresenta um melhor crescimento em águas, com valores de pH na faixa de 6 a 9, temperatura entre 15 a 30°C, ventos fracos e moderados e alta concentração de nutrientes, principalmente nitrogênio e

fósforo. Seus processos vitais requerem somente água, dióxido de carbono, substâncias inorgânicas e luz, obtendo energia, principalmente, por meio da fotossíntese.

Entre os fatores que levam as cianobactérias predominarem sobre os outros grupos fitoplanctônicos (microalgas), se destacam as características fisiológicas pelas quais as cianobactérias assimilam os macronutrientes, N e P, do meio aquático. De maneira geral, as cianobactérias são menos eficientes na assimilação desses nutrientes, do que as microalgas (algas verdes ou diatomáceas, por exemplo), que em condições normais, crescem mais e melhor. No entanto, ao produzir uma descarga excessiva de nutrientes nos reservatórios, o homem propicia uma maior oferta desses nutrientes, facilitando a assimilação dos mesmos e o crescimento das cianobactérias.

O crescimento intenso desses microrganismos na superfície da água geralmente se dá com predomínio de poucas ou mesmo de apenas uma espécie de cianobactéria produtora de toxinas, ou de outros metabólitos, que inibem a sua predação por microcrustáceos, larvas de peixes, moluscos, entre outros. Esses consumidores primários vão preferir consumir as microalgas não tóxicas e com maior valor nutricional, contribuindo, com isso, para a redução das populações dessas microalgas, o que, por sua vez, resultará numa diminuição drástica da comunidade dos consumidores primários, com conseqüências em toda a cadeia alimentar do ambiente aquático. Portanto, como resultado desses processos, muitas vezes restará no meio aquático apenas as cianobactérias tóxicas como organismos fitoplanctônicos dominantes. Esse meio aquático, apresentando uma diversidade de espécies bastante reduzida e dominância de cianobactérias tóxicas, é, por vezes, o manancial de abastecimento que temos disponível em muitas regiões brasileiras (FUNASA, 2003).

A atividade fotossintética das cianobactérias é maior em ambientes com baixas concentrações de O<sub>2</sub>, característica da atmosfera do Pré-Cambriano, que apresentava baixas concentrações deste gás. Hoje as bactérias vivem numa atmosfera e meios mais oxigenados, mas guardam esta potencialidade.

Outra característica marcante desses organismos é a capacidade de algumas cianobactérias fixarem o nitrogênio do ar, sob condições limitadas de nitrogênio, mas com outros nutrientes disponíveis. Este fato é possível devido à presença de uma estrutura adaptativa chamada heterócito, que diferencia este tipo de célula e também facilita interações de simbiose com outros seres vivos. As cianobactérias que possuem essa capacidade podem ser favorecidas

em termos de crescimento e reprodução. Segundo Mur *et al.* (1999) florações de tais espécies em ambientes de água doce e em ambientes marinhos são comuns em todo mundo.

As florações ou “blooms” formam uma densa camada de células com vários centímetros de profundidade na superfície dos corpos d’água (FUNASA, 2003). Esta capacidade de flutuabilidade é proporcionada devido à presença de uma estrutura celular chamada aerótopo ou vesícula de gás (MÓNACO, 2008), que permite a esses organismos a movimentação ao longo da coluna d’água absorvendo a quantidade de luz ideal para a realização da fotossíntese.

A reprodução das cianobactérias é assexuada, ocorrendo por divisão binária, semelhante à das bactérias, nos tipos não coloniais. Já nas formas filamentosas, ocorre por fragmentação ou por hormogonia, caracterizada pela quebra dos filamentos em vários pontos, originando fragmentos pequenos chamados hormogônios, que por meio da divisão de suas células dão origem a novas colônias filamentosas. Em condições ambientais desfavoráveis, como alterações bruscas na temperatura, algumas cianobactérias podem formar esporos adaptativos chamados acinetos, que permite que a bactéria fique inerte até que melhore suas chances de sobrevivência (MACEDO & MOLINA, 2008). Os acinetos podem dar origem a um novo filamento, constituindo-se também em uma alternativa de reprodução para esses microrganismos (PANOSSO *et. al.*, 2007).

## **2.2 - CIANOTOXINAS**

As principais descobertas sobre a existência, efeitos e ocorrências das cianotoxinas aconteceram nos últimos vinte anos. Tem-se conhecimento que nem todos os gêneros de cianobactérias produzem cianotoxinas, e mesmo dentro de uma mesma espécie, nem todas as estirpes são tóxicas. Por vezes, podem ser encontradas, na mesma florescência, estirpes tóxicas coabitando com outras não tóxicas. No entanto, não se sabe quais os fatores que levam determinada estirpe a produzir, ou não, cianotoxinas. Sabe-se também que uma mesma estirpe pode produzir mais do que uma variante de determinada cianotoxina (FERNANDES, 2008).

Considerando as propriedades toxicológicas em mamíferos, as cianotoxinas podem ser classificadas em neurotóxicas (anatoxina-a, saxitoxina), hepatotóxicas (microcistina, nodularina, cilindrospermopsina) ou irritantes ao contato (PANOSSO *et. al.*, 2007). E também são consideradas citotóxicas, imunotóxicas, embriotóxicas e genotóxicas (VAJCOVÁ; NAVRÁTIL; PALÍKOVÁ, 1998).

Em relação à estrutura química as cianotoxinas podem ser incluídas no grupo dos peptídeos cíclicos (microcistina, nodularina), no grupo dos alcalóides (neurotoxinas, cilindrospermopsina) e no grupo dos lipopolissacarídeos (MSAGATI; SIAME; SHUSHU, 2006). Nos mamíferos o efeito das toxinas depende do seu modo de ação, podendo ocasionar efeitos agudos, como irritação da pele, gastroenterites, e até parada respiratória, ou crônicos, como a formação de tumores devido a ingestão contínua de água contaminada com microscistinas (PANOSSO *et. al.*, 2007).

As toxinas são metabólitos secundários e podem permanecer acumuladas no citoplasma das cianobactérias depois de produzidas. Os motivos que se antecedem à formação das toxinas ainda não são totalmente conhecidos, contudo, há indícios de que ocorre uma correlação entre os fatores: sazonalidade, radiação solar, temperatura da superfície da água, pH, porcentagem de saturação de oxigênio (HAIDER *et al.*, 2003) e quantidade de nutrientes. Sua liberação também pode estar associada a competição entre os organismos fitoplanctônicos e a inibição da predação por consumidores primários (FUNASA, 2003).

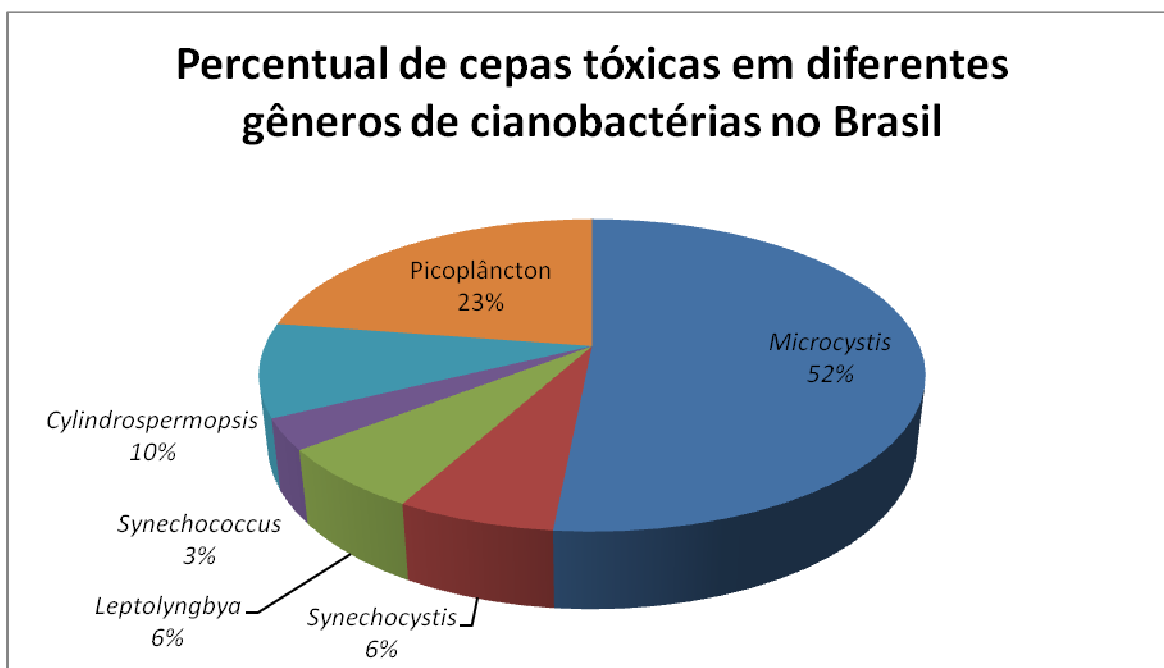
Sivonen (1994) cita que, altas temperaturas (30° C) reduzem a produção de todas as linhagens; que a baixa concentração de fósforo promove a diminuição na produção de hepatotoxina, mas não gera efeito algum na produção de neurotoxina; que o efeito da luminosidade depende da linhagem e da espécie, porém todas as linhagens produzem mais toxinas na intensidade de luz que é mais favorável ao seu crescimento.

Sob condições normais, apenas uma porção dessas toxinas é liberada pelas células viáveis para a água. Contudo quando ocorre a lise da célula, seja pelo decaimento natural ou por ação de agentes químicos que promovem a ruptura da célula, a toxina intracelular é liberada para a coluna d'água (Oliveira, 2005). Neste momento a existência de cianobactérias começa a se transformar em um problema para todos que utilizam um reservatório de água, principalmente em nosso país, onde a liberação de cianotoxinas pode ser intensificada pelo fato de que, a maioria dos reservatórios para abastecimento apresenta as características necessárias para o crescimento intenso de cianobactérias durante o ano todo (FUNASA, 2003).

Existem 150 gêneros possuindo de 2.800 a 3.000 espécies morfológicas (morfoespécies) de cianobactérias no mundo (MACEDO & MOLINA, 2008), das quais 40 são conhecidamente toxigênicas (HAIDER *et al.*, 2003). No Brasil 82% das linhagens de cianobactérias isoladas são toxigênicas, de acordo com dados levantados pelo Laboratório de Ecofisiologia e Toxiologia de Cianobactérias (LETC) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), destas a grande

maioria são hepatotóxicas, 91,3%, e os outros 9,7% representam as cianotoxinas neurotóxicas de acordo com os gêneros representados no gráfico 1 abaixo. As cepas picoplânctônicas foram incluídas em um único grupo em virtude das dificuldades de identificação (SOARES; MAGALHÃES; AZEVEDO, 2004).

GRÁFICO 1



FONTE: LETC/UFRJ

Em todo mundo está se tornando cada vez mais freqüente a ocorrência de florações tóxicas que apresentam os grupos comuns de cianotoxinas, o dos peptídeos cíclicos e dos alcalóides; tipicamente, cerca de 50% de todas as florações testadas em diferentes países mostram-se tóxicas em bioensaios (COSTA & AZEVEDO, 1994). Os países onde esses casos foram registrados estão distribuídos nos diferentes continentes. Entretanto, observa-se uma grande dominância de relatos em países do hemisfério norte, certamente devido ao maior interesse e investimentos nesta área, e conseqüente preocupação com o potencial de ocasionar intoxicações das cianobactérias (FUNASA, 2003).

De acordo com Sant'Anna e Azevedo (2000), já foi registrada a ocorrência de pelo menos 20 espécies de cianobactérias potencialmente tóxicas, incluídas em 14 gêneros, em diferentes ambientes aquáticos brasileiros. De acordo com esses autores, a espécie *Microcystis aeruginosa* (figura 1) apresenta a distribuição mais ampla no Brasil e *Anabaena* (figura 2) é o

gênero com o maior número de espécies potencialmente tóxicas, que são, *A. circinalis*, *A. flos-aquae*, *A. planctonica*, *A. solitaria* e *A. spiroides*.

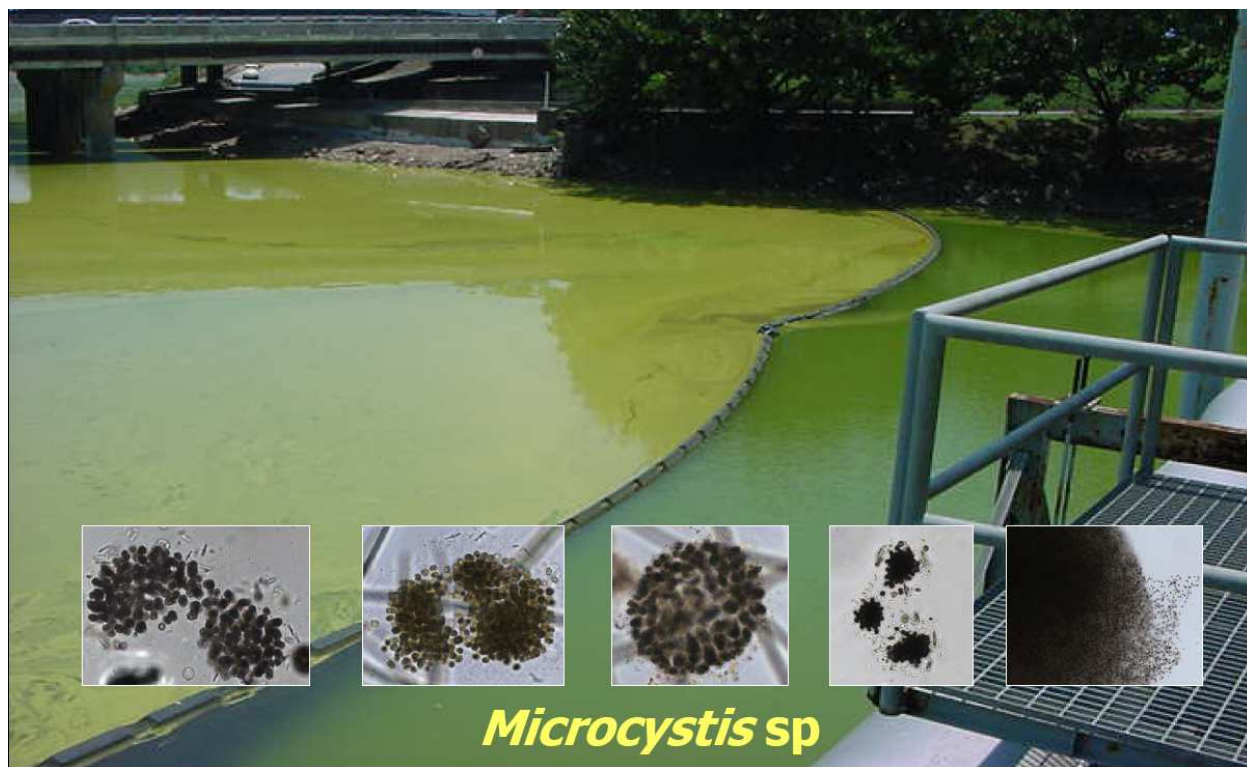


FIGURA 1 – Superfície da água com floração (MACEDO & MOLINA, 2008).



FIGURA 2 – Morfologia da cianobactéria *Anabaena sp.* Detalhe, presença do esporo acineto, com formação de cisto (MACEDO & MOLINA, 2008).

## 2.2.1 – Neurotoxinas

As neurotoxinas já identificadas são produzidas por espécies e linhagens incluídas nos gêneros *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Trichodesmium*, *Lyngbya* e *Cylindrospermopsis* (LAGOS *et al.*, 1999). Essas toxinas atuam no sistema nervoso, podendo ocasionar morte por paralisia dos músculos respiratórios (FERNADES, 2008). São conhecidos três diferentes tipos de neurotoxinas produzidas pelas espécies dos gêneros já citados: anatoxina-a, anatoxina-a(s) e saxitoxina.

### 2.2.1.1 - Anatoxina-a

É um alcalóide neurotóxico, produzido pelo gênero *Anabaena*, que age como um potente bloqueador neuromuscular pós-sináptico de receptores nicotínicos e colinérgicos (OLIVEIRA, 2005) (figura 3). Esta ação se dá porque a anatoxina-a liga-se irreversivelmente à receptores de acetilcolina, pois não é degradada pela acetilcolinesterase. A Dose Letal (DL) 50 por injeção intraperitoneal (i.p.) em camundongos, para a toxina purificada, é de 200 µg/Kg de peso corpóreo, com um tempo de sobrevivência de 1 a 20 minutos (FALCONER, 1998).

Esta molécula é relativamente estável no escuro, mas quando pura em solução ocorre uma rápida degradação fotoquímica com a luz solar. Esta degradação é acelerada por condições alcalinas. A meia-vida para a degradação fotoquímica é de uma a duas horas. Sob condições naturais de iluminação, com pH entre 8 e 10 e concentrações iniciais baixas (10 µg/L), a meia vida da anatoxina-a é de 14 dias (CHORUS & BARTRAM, 1999).

A anatoxina-a parece ser prontamente degradada por bactérias associadas aos filamentos de cianobactérias. Kiviranta *et al.* (1991) isolaram uma cepa de *Pseudomonas* sp. capaz de degradar anatoxina-a a uma taxa de 6 µg/ml a 10 µg/ml a cada três dias. Portanto, na presença de sedimento e bactérias do meio aquático a meia-vida de anatoxina a, em um estudo de laboratório, foi de aproximadamente cinco dias (CHORUS & BARTRAM, 1999).

Os sinais de envenenamento por esta toxina, em animais selvagens e domésticos, incluem: desequilíbrio, fasciculação muscular, respiração ofegante e convulsões. A morte é devida a parada respiratória e ocorre de poucos minutos a poucas horas, dependendo da dosagem e consumo prévio de alimento. O nível tóxico da anatoxina-a gera a morte em animais através da ingestão de poucos mililitros de água da superfície de mananciais (CARMICHAEL, 1994).

### 2.2.1.2 - Anatoxina-a (s)

É um organofosforado natural (N-hidroxiguandina fosfato de metila) e tem um mecanismo de ação semelhante à anatoxina-a, pois inibe a ação da acetilcolinesterase, impedindo a degradação da acetilcolina ligada aos receptores (figura 3). Este composto também é produzido por espécies do gênero *Anabaena*, e devido a intensa salivação observada em animais intoxicados por esta neurotoxina, ela foi denominada anatoxina-a (s). Outras reações visíveis deste tipo de envenenamento, de acordo com relatos de mortes de animais na América do Norte, são: lacrimação, falta de coordenação motora e diarreia.

Sua DL50 (i.p.) em camundongos é de 20 µg/Kg de peso corpóreo e, portanto, dez vezes mais potente que a anatoxina-a. No entanto, não há registro de intoxicação humana por esta toxina, situação que é considerada improvável na água distribuída para o consumo, já que é relativamente instável em temperaturas acima de 4° C. Porém, a anatoxina-a (s) representa um risco potencial se inalada, causando deficiência respiratória devido ao comprometimento de nervos e músculos associados a essa atividade metabólica (FALCONER, 1996).

A anatoxina-a (s) também se decompõe rapidamente em condições alcalinas, mas é relativamente estável sob condições ácidas (MATSUNAGA *et al.*, 1989). Devido a pouca ocorrência deste tipo de neurotoxina, ainda não foi estabelecido um limite máximo aceitável para consumo oral humano (CARMICHAEL, 1994; FALCONER, 1998). Entretanto, no Brasil já foi confirmada a inibição de acetilcolinesterase por florações de *Anabaena spiroides*, no Rio Grande do Sul (MONSERRAT *et al.*, 2001).

### 2.2.1.3 - Saxitoxinas

Este é o nome genérico que se tem adotado para um grupo de neurotoxinas conhecidas como “venenos paralisantes de mariscos” (toxinas do tipo PSP) que foram primeiramente isoladas de dinoflagelados marinhos, responsáveis pela ocorrência de marés vermelhas.

Estas neurotoxinas são um grupo de alcalóides carbamatos que podem ser não sulfatados (saxitoxinas), podem possuir somente um único grupamento sulfato (G-toxinas), ou possuir dois grupamentos sulfatos (C-toxinas). Também podem ser encontradas estruturas com grupamentos decarbamoil (dcSTX ou dcGTX) e novas toxinas relacionadas têm sido recentemente isoladas. A figura 3 mostra a estrutura geral das saxitoxinas, em que alterações radicais R1 a R5 geram mais de 20 variantes com diferentes toxicidades (tabela 1).

A toxicidade desse grupo de alcalóides varia bastante, sendo a saxitoxina a mais potente. A

DL50 (i.p.) em camundongos para saxitoxina purificada é de 10 µg/Kg de peso corpóreo, enquanto que por consumo oral a DL50 é de aproximadamente de 263,0 µg/Kg de peso corpóreo (CHORUS & BARTRAM, 1999). Segundo Kuiper-Goodman *et al.* (1999), as pessoas que consomem mariscos com altas concentrações de PSP podem apresentar sintomas variando desde leves formigamentos e dormência na boca até a completa paralisia e morte por deficiência respiratória.

Essas neurotoxinas inibem a condução nervosa por bloqueamento dos canais de sódio, afetando a permeabilidade ao potássio ou a resistência das membranas. Os sinais clínicos de intoxicação humana incluem tontura, adormecimento da boca e de extremidades, fraqueza muscular, náusea, vômito, sede e taquicardia. Os sintomas podem começar 5 minutos após a ingestão e a morte pode ocorrer entre 2 a 12 horas. Em casos de intoxicação com dose não letal, geralmente os sintomas desaparecem de 1 a 6 dias (CARMICHAEL, 1994). Entretanto, não se tem conhecimento de efeitos crônicos por falta de estudos de longa duração com animais.

Embora a Organização Mundial da Saúde (OMS) considere que ainda não há dados suficientes para o estabelecimento de um limite de concentração máximo aceitável para as saxitoxinas em água potável, uma análise dos dados de eventos de intoxicações humanas demonstra que a maioria dos casos esteve associada ao consumo de aproximadamente 200µg de saxitoxinas (STX) por pessoa. Baseado nesses dados e considerando 60Kg como peso corpóreo, 2L de água como consumo diário e fatores de incerteza para variações entre espécies distintas e entre organismos da mesma espécie, Fitzgerald e colaboradores (1999) propuseram 3µg/L como o limite máximo aceitável de saxitoxinas em água para consumo humano. Este limite já foi adotado por autoridades de saúde do sul da Austrália e é recomendado pela Portaria MS 518/2004 (BRASIL, 2004).

Alguns estudos foram realizados, analisando a influência da intensidade da luz sobre a produção de saxitoxinas, e o que se pode concluir é que, os níveis mais altos de produção dessas toxinas foram descritos entre 100 µmol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (CARNEIRO *et al.*, 2009).

Recentemente, Kellmann e Neilan (2007) relataram a biossíntese “in vitro” de saxitoxina induzida pela luz por *C. raciborskii*. Os autores propuseram que algumas fases da síntese podem ser reguladas por enzimas dissulfídricas como fotofruitoquinase ou sacarose-fosfato sintase, que são reguladas pela luz. A regulação dessas enzimas pode ser semelhante a de enzimas envolvidas no ciclo de Calvin, cuja síntese é induzida pela luz e reduções de níveis de

diosulfatos (NELSON & COX, 2002). Se intensidades de luz ao redor de  $100 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  s\u00e3o favor\u00e1veis \u00e0 bioss\u00edntese de STX sobre condi\u00e7\u00f5es "in vivo", seria razo\u00e1vel esperar que essa intensidade tamb\u00e9m representasse condi\u00e7\u00f5es ideais para melhores atividades enzim\u00e1ticas (CARNEIRO *et. al.* 2009).

V\u00e1rios estudos j\u00e1 foram realizados, descrevendo ritmos circadianos de diferentes atividades metab\u00f3licas em uma grande variedade de eucariotos fotoautotr\u00f3ficos e tamb\u00e9m em procariontos (ANDERSEN, 2005). Os ritmos circadianos referem-se aos ciclos fisiol\u00f3gicos que ocorrem em um determinado ser vivo durante um per\u00edodo de 24 h sob influ\u00eancia de luz solar, como por exemplo, digest\u00e3o ou estado de vig\u00edlia.

Em um estudo realizado por Carneiro *et. Al.* (2009), os dados sugerem a exist\u00eancia de um "rel\u00f3gio biol\u00f3gico" que regula a produ\u00e7\u00e3o de saxitoxina em *C. raciborskii*. Ele demonstrou que *C. raciborskii* T3 cresceu em diferentes intensidades de luz de baixos n\u00edveis, e n\u00e3o modificou o ritmo de produ\u00e7\u00e3o de STX e NSTX. O per\u00edodo de maior s\u00edntese dessas toxinas era sempre no final de um ciclo de 24h.

Os ritmos de Circadianos podem ser perdidos em certas condi\u00e7\u00f5es como no caso de luz intensa constante (ANDERSEN, 2005). Resultados mostrados por Carneiro *et. Al.* (2009) demonstraram que o ritmo circadiano de produ\u00e7\u00e3o de NSTX era perdido na condi\u00e7\u00e3o de luz vermelha. Sob luz azul, o per\u00edodo com o m\u00e1ximo de produ\u00e7\u00e3o de STX e NSTX era mais longo (26 h), que sobre luz branca. A explica\u00e7\u00e3o de como um rel\u00f3gio biol\u00f3gico controla o microrganismo, modulando a produ\u00e7\u00e3o de cianotoxinas ainda n\u00e3o foi elucidada.

Os dados sobre a influ\u00eancia de luz no crescimento e produ\u00e7\u00e3o de saxitoxinas por *C. raciborskii* demonstram o comportamento ecofisiol\u00f3gico desta esp\u00e9cie, importante para uma melhor compreens\u00e3o do seu sucesso em ambientes aqu\u00e1ticos turvos, pois nesta condi\u00e7\u00e3o, onde n\u00e3o se tem penetra\u00e7\u00e3o direta e intensa de luz solar, a produ\u00e7\u00e3o de saxitoxinas pode ser real\u00e7ada e contribuir para o dom\u00ednio desta esp\u00e9cie, reduzindo assim o movimento de nata\u00e7\u00e3o de esp\u00e9cies de zooplâncton como j\u00e1 observado por Ferr\u00e3o-Filho *et al.* (2008).

Em se tratando da estabilidade da toxina, Falconer *et al.* (1989) observaram que as neurotoxinas provenientes do armazenamento de um estrato de *Anabaena circinalis* eram est\u00e1veis quando aquecidas de 30 a 60 minutos em valores de pH abaixo de 6, por\u00e9m eram rapidamente destru\u00eddas quando o valor do pH era elevado para 12, e triplicavam a toxicidade quando aquecidos por 120 minutos no pH 2. Posteriormente, Jones e Negri (1997) mostraram que em meio \u00e1cido, as toxinas C1 e C2 eram convertidas em variantes mais t\u00f3xicas do

grupamento das saxitoxinas, dcGTX-2 e dcGTX-3, respectivamente. Os resultados explicam o aumento dos índices de toxicidade destas toxinas em meio ácido nos estudos anteriores.

O que tem sido observado com relação as saxitoxinas é que as mudanças de toxicidade dependem do pH da amostra, da temperatura e do armazenamento e do tempo de aquecimento. Para a GTX-2 e GTX-3, Indrasena e Gil (1999) verificaram que quanto maiores os valores dessas três variáveis citadas, maior a degradação da toxina.

Entre as variantes do grupo das saxitoxinas tem se verificado que a STX apresenta uma tendência a ser a mais estável das toxinas, seguida pela neoSTX (INDRASENA; GIL, 1999). De acordo com Alfonso *et al.* (1994), em soluções ácidas somente a STX conserva sua toxicidade ao longo do tempo, sendo a neoSTX instável sob estas condições, possivelmente devido a transformações sofridas por essa molécula quando submetida a meios ácidos.

Em temperatura ambiente e no escuro as saxitoxinas sofrem uma série de lentas reações de hidrólise química. As C-toxinas perdem seu grupamento N-carbamoilsulfato e se transformam em decarbamoil goniautoxinas (dc-GTXs). As dc-GTXs, GTXs e STXs lentamente vão sendo degradadas para produtos não tóxicos. O tempo necessário para degradar 50% do total dessas toxinas varia de 1 a 10 semanas, sendo freqüentemente necessários mais de três meses para a degradação de 90% dessas moléculas (JONES & NEGRI, 1997).

Entretanto, é importante salientar que, como as dc-GTXs são muito mais tóxicas que as C-toxinas (10-100 vezes), pode acontecer um aumento da toxicidade da água durante as primeiras três semanas após a ocorrência de uma floração de cianobactérias produtoras de saxitoxinas dos tipos C-toxinas e GTXs-toxinas. Processos de acidificação e fervura também podem levar a um aumento da toxicidade (JONES & NEGRI, 1997). Ainda não há nenhum estudo que tenha demonstrado a degradação de saxitoxinas por atividade bacteriana (FUNASA, 2003).

Em nosso país, a análise desse grupo de neurotoxinas, em amostras de água para consumo humano, é de extrema importância, visto que tem sido observado em vários mananciais de abastecimento, desde a região nordeste até a região sul do país, um grande aumento da ocorrência de linhagens do gênero *Cylindrospermopsis* produtoras deste grupo de neurotoxinas. Em muitos reservatórios, inclusive alguns recém construídos, este gênero já é dominante, atingindo um número de células muito acima dos limites máximos aceitáveis para não conferir risco para a saúde humana, de acordo com o proposto por Chorus e Bartram, 1999.

TABELA 1: Tipos de saxitoxinas caracterizadas a partir de diferentes cepas de cianobactérias, de acordo com Chorus e Bartram, (1999).

| Nome da Toxina | Grupos químicos variáveis nas saxitoxinas |                               |                               |                                  |    |
|----------------|---|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|----|
|                | R1  | R2                            | R3                            | R4                               | R5 |
| STX            | H   | H                             | H                             | CONH <sub>2</sub>                | OH |
| GTX2           | H   | H                             | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | CONH <sub>2</sub>                | OH |
| GTX3           | H   | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | H                             | CONH <sub>2</sub>                | OH |
| GTX5           | H   | H                             | H                             | CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | OH |
| C1             | H   | H                             | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | OH |
| C2             | H   | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | H                             | CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | OH |
| NEO            | OH  | H                             | H                             | CONH <sub>2</sub>                | OH |
| GTX1           | OH  | H                             | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | CONH <sub>2</sub>                | OH |
| GTX4           | OH  | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | H                             | CONH <sub>2</sub>                | OH |
| GTX6           | OH  | H                             | H                             | CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | OH |
| DcSTX          | H   | H                             | H                             | H                                | OH |
| DcGTX2         | H   | H                             | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | H                                | OH |
| DcGTX3         | H   | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | H                             | H                                | OH |
| LWTX1          | H   | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | H                             | COCH <sub>3</sub>                | H  |
| LWTX2          | H   | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | H                             | COCH <sub>3</sub>                | OH |
| LWTX3          | H   | H                             | OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | COCH <sub>3</sub>                | OH |
| LWTX4          | H   | H                             | H                             | H                                | H  |
| LWTX5          | H   | H                             | H                             | COCH <sub>3</sub>                | OH |
| LWTX6          | H   | H                             | H                             | COCH <sub>3</sub>                | H  |

|                    |  |
|--------------------|--|
| STX: saxitoxina    | dcSTX: decarbamoilsaxitoxinas          |
| GTX: goniautoxinas | dcGTX: decarbamoilgoniautoxinas        |
| C: C-toxinas       | LWTX: toxinas de <i>Lyngbya wollei</i> |
| NEO: neosaxitoxina |  |

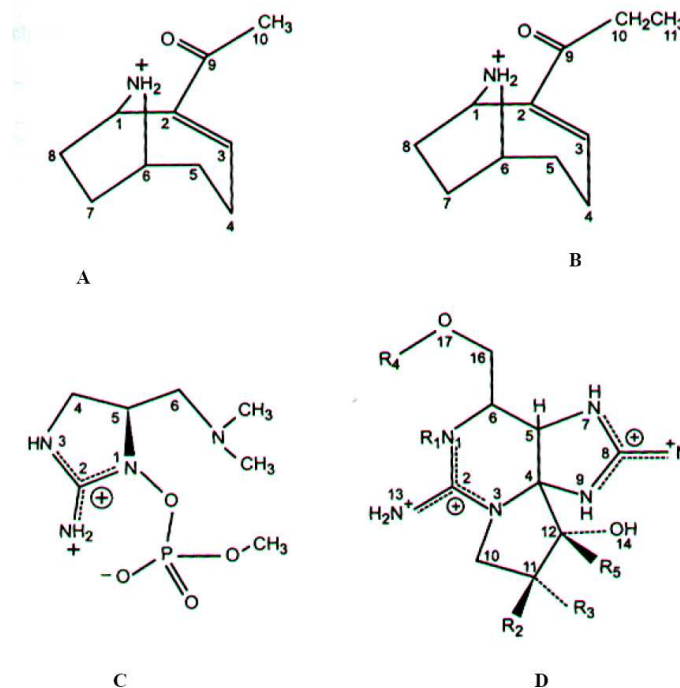


FIGURA 3 – Estruturas químicas das neurotoxinas: (A) anatoxina-a, (B) homoanatoxina-a, (C) anatoxina-a(s) e (D) estrutural geral das saxitoxinas.

Fonte: Chorus e Bartram, (1999)

### 2.2.2 – Hepatotoxinas

O tipo mais comum de intoxicação envolvendo cianobactérias é ocasionado por hepatotoxinas, que apresentam uma ação mais lenta, podendo causar morte num intervalo de poucas horas a poucos dias. Também consistem nas toxinas produzidas por cianobactérias mais comumente relacionadas com casos de envenenamento animal e humano em todo mundo (BITTENCOURT-OLIVEIRA & MOLICA, 2003). Quando inaladas ou ingeridas, os sintomas são: dor abdominal, diarreia, vômitos, aftas, dor de cabeça e tosse seca (FALCONER, 1996). Podem ser divididas em toxinas peptídicas e toxinas alcalóides (cilindrospermopsina). As toxinas peptídicas são representadas pelos heptapeptídeos cíclicos conhecidos como microcistinas e os pentapeptídeos designados como nodularinas. As espécies já identificadas como produtoras dessas hepatotoxinas estão incluídas nos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Nostoc* e *Cylindrospermopsis* (CARMICHAEL, 1994).

Nos animais, o órgão alvo das microcistinas e das nodularinas é o fígado. A maioria das hepatotoxinas, incluindo a microcistina-LR, são hidrofílicas, conseqüentemente não atravessam as membranas celulares, mas são transportadas para o fígado através de transportadores

iônicos multiespecíficos presentes nos canais biliares e no intestino delgado (RUNNEGAR *et al.*, 1991). A ação destas toxinas sobre a estrutura dos hepatócitos pode levar a uma mudança de conformação e atrofiação das células, impedindo o contato entre elas e provocando hemorragias, o que faz aumentar o peso do fígado, sintoma que pode ser fatal.

A grande chamada de sangue ao fígado provoca falhas cardíacas, daí a rápida letalidade (*e.g.* 20 minutos após injeção intraperitoneal de uma estirpe de *Microcystis*) (VASCONCELOS, 1994). Este processo é irreversível, e mesmo não ocasionando a morte, as lesões persistem verificando-se disfunção hepática. O atrofiamento do citoesqueleto dos hepatócitos dá-se devido à ação inibitória que as microcistinas e as nodularinas exercem nas fosfatases protéicas (enzimas reguladoras da síntese protéica), essenciais à sua manutenção (CARMICHAEL, 1994). Essas toxinas se ligam covalentemente às proteínas fosfatases 1 e 2A (PP1 e PP2A) (MACKINTOSH & MACKINTOSH, 1994; DAWSON, 1998), que são enzimas reguladoras de muitos processos, como divisão e crescimento celular, metabolismo, controle hormonal, entre outros, em respostas a sinais do ambiente (MACKINTOSH & MACKINTOSH, 1994). Portanto sua desativação pode promover a divisão celular desordenada, ocasionando a geração de tumores (NISHIWAKI-MATSUSHIMA *et al.*, 1992).

Quando a toxina entra numa célula e bloqueia a função das proteínas fosfatases, as células perdem o controle normal e respondem inapropriadamente aos sinais, resultando muitas vezes numa doença como o câncer, diabetes ou numa desordem imunológica (MACKINTOSH & MACKINTOSH, 1994). Esta inibição dá-se através de um mecanismo de dois passos (CRAIG *et al.*, 1996). Depois de uma rápida ligação não-covalente inicial, as microcistinas podem formar uma ligação covalente com as subunidades catalíticas das proteínas fosfatases, a Cys273 nas PP1 ou a Cys266 nas PP2A, através do resíduo de N-metildehidroalanina (Mdha) (MACKINTOSH *et al.*, 1995; RUNNEGAR *et al.*, 1995). As hepatotoxinas aumentam assim os níveis básicos de fosforilação protéica nos hepatócitos, devido à inibição das fosfatases. O baixo valor de IC50 (concentração que causa 50% de inibição) para a inibição de PP1 e PP2A através de microcistinas é relativamente baixo, o que demonstra que as interações toxina-fosfatase são extremamente fortes (MACKINTOSH & MACKINTOSH, 1994).

As hepatotoxinas – microcistinas e nodularinas – são as toxinas mais comuns na geração de intoxicações crônicas, registrando-se geralmente um aumento da atividade das enzimas hepáticas no plasma dos indivíduos intoxicados.

### 2.2.2.1 – Microcistinas

A estrutura química dos heptapeptídeos cíclicos é constituída por: três D-aminoácidos β-eritro-β-metil ácido aspártico, alanina e γ-ácido glutâmico (D-βMeAsp, D-Ala e D-Glu) na porção invariável da molécula; dois L-aminoácidos variáveis; e dois aminoácidos raros, N-metildehidroalanina (Mdha) e 3-amino-9-metoxi-10-fenil-2,6,8,trimetildeca-4,6-ácido dienóico (Adda). A hepatotoxicidade da microcistina é atribuída ao Adda (CHORUS & BARTRAM, 1999). A estrutura geral das microcistinas é D-Ala-X-D-MeAsp-Z-Adda-D-Glu-Mdha (CARMICHAEL *et al.*, 1988) e existem mais de 80 análogos de microcistinas diferenciadas pela constituição dos L-aminoácidos, nas posições “2” (ou “X”) e “4” (ou “Z”). Dentre os análogos mais freqüentes e mais tóxicos, destaca-se a microcistina-LR (Figura 4), constituída dos aminoácidos leucina (L) e arginina (R), seguida da microcistina-RR (arginina; arginina) e microcistina-YR (tirosina; arginina) (FIGUEIREDO *et al.*, 2004; FALCONER & HUMPAGE, 2005).

A toxicidade dessas microcistinas em animais de laboratório apresenta DL50 (i.p.) entre 25 e 150mg/Kg de peso corpóreo e entre 5.000 e 10.900 μg/Kg de peso corpóreo por administração oral (CHORUS & BARTRAM, 1999).

Oliveira e colaboradores (2004) descreveram um ritmo circadiano para microcistina-LR e [ASP3]-microcistina-LR produzidas por *Microcystis panniformis*. Kaebernick e colaboradores (2000) mostraram o efeito da qualidade de luz nos genes de expressão de microcistinas. Quando células de *Microcystis aeruginosa* eram movidas de luz branca para luz vermelha durante 2 h, a transcrição dos genes *mcyB* e *mcyD* aumentou para um nível comparável com aquelas vistas para células mantidas em alta intensidade de luz branca. Quando a luz azul foi usada, nenhuma mudança em níveis de transcrição foi observada.

Devido a sua estrutura peptídica cíclica, as microcistinas são muito estáveis e resistentes a hidrólise química e oxidação, em pH próximo da neutralidade. Além disso, microcistinas e nodularinas mantêm sua toxicidade mesmo após a fervura. Em condições naturais, no escuro, as microcistinas podem persistir estáveis por meses ou anos. Em temperatura elevada (40° C) e condições de pH alto ou baixo, foram observadas hidrólises lentas, sendo necessário aproximadamente 10 semanas em pH 1 e mais de 12 semanas em pH 9 para a degradação de cerca de 90% das microcistinas (HARADA *et al.*, 1996).

Porém, já foi observada uma lenta degradação fotoquímica das microcistinas expostas à luz solar. A taxa desta reação é aumentada pela presença de pigmentos fotossintéticos

hidrossolúveis, provavelmente ficobiliproteínas (TSUJI *et al.*, 1993). Na presença desses pigmentos, a degradação fotoquímica de 90% do total das microcistinas pode variar de duas a seis semanas, dependendo da concentração de pigmentos e toxinas. A presença de substâncias húmicas também parece acelerar a degradação das microcistinas sob luz solar.

O fígado é o órgão alvo da microcistina, visto que a citotoxicidade é mais acentuada nos hepatócitos do que em outros tipos celulares (ZHAN *et al.*, 2004). Mas, necrose e/ou apoptose podem ocorrer não somente nestas células. Estudos "*in vitro*" demonstraram os efeitos citotóxicos da microcistina-LR em células humanas como eritrócitos, linfócitos, células endoteliais, epiteliais e fibroblastos (LANKOFF *et al.*, 2004; SICINSKA *et al.*, 2006), bem como em promielócitos de ratos e em linfócitos de galinha e de carpas (LANKOFF *et al.*, 2004; ZHANG, ZHANG, CHEN, 2006). Estudos "*in vivo*" relataram também efeitos nefrotóxicos em ratos (MILUTINOVIC *et al.*, 2003), em carpas (FISCHER & DIETRICH, 2000) e em trutas e ainda, efeitos citotóxicos gastrintestinais em camundongos (BOTHÁ *et al.*, 2004) e em ratos (NOBRE *et al.*, 2004).

Segundo Weng *et al.* (2007), em camundongos inoculados intraperitonealmente com MC-LR, em dose única (60 µg/Kg de peso corporal, por 12 horas), a microcistina induziu estresse oxidativo, diminuição do potencial da membrana mitocondrial e expressão das proteínas Bax e Bid, ativando assim os sinais desencadeadores da apoptose, como a ativação das caspases.

Recentemente, foi também atribuído as microcistinas, ação no estresse oxidativo e na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), bem como nas respostas antioxidantes, mecanismos estes considerados compensadores e/ou protetores (JOS *et al.*, 2005; PRIETO *et al.*, 2006). Estes autores observaram que o estresse oxidativo provocado pelas microcistinas (LR e RR) leva à intensa peroxidação lipídica do fígado, rim e brânquias de tilápias (*Oreochromis sp.*), sendo também responsável pelo aumento da atividade das enzimas superóxido dismutase e da catalase. Sicinska *et al.* (2006) também observaram danos na membrana celular de eritrócitos humanos, quando da exposição "*in vitro*", principalmente na dose de 100 nM de microcistina-LR. As alterações celulares observadas por estes autores poderiam decorrer da ligação covalente da microcistina-LR com resíduos (-SH) de proteínas ou estar associadas ao estresse oxidativo.

Milutinovic *et al.* (2003) relataram que os mecanismos responsáveis pela hepatotoxicidade aguda causada pela microcistina em ratos (*Rattus norvegicus*) foram também responsáveis pela nefrotoxicidade crônica observada nestes animais. Para estes autores, exposições

crônicas à microcistina em baixas doses são, também, potencialmente nefrotóxicas, sendo observado colapso dos capilares glomerulares, corpúsculos renais hipertrofiados com cápsula de Bowman mais delgada e dilatação do espaço de Bowman, além de dilatação de túbulos contorcidos proximais e distais com material eosinofílico no lúmen. Células tubulares com vacuolização citoplasmática, infiltrado inflamatório linfocitário e edema intersticial foram também relatados. A apoptose observada nas células tubulares, segundo os autores, seria decorrente de alterações nos filamentos de actina do citoesqueleto.

Baseado em estudos de toxicidade oral em níveis subcrônicos, realizados com camundongos por Fawell *et Al.* (1994) e com porcos, realizados por Falconer *et Al.*, (1994), foi estabelecida como ingestão diária aceitável (“tolerable daily intake”- TDI), para microcistina-LR, o valor de 0,04 µg/Kg de peso corpóreo (CHORUS & BARTRAM, 1999).

A partir desse valor, um limite máximo aceitável de 1µg/L de microcistinas em água para consumo humano foi adotado pela OMS e incorporado no adendo das Normas para Qualidade da Água Tratada publicado em 1998 (“Guideline for Drinking Water Quality. WHO, 1998). Para o estabelecimento desse limite foi utilizada a seguinte equação:

Valor máximo aceitável = (TDI x pc x P)/V onde:

TDI= 0,04µg/Kg de peso corpóreo;

pc = 60Kg – média de peso corpóreo de um indivíduo adulto;

P= 0,8 – proporção da ingestão diária total de água proveniente da água tratada;

V= 2 – volume de água, em litros, ingerido por dia.

Isso resultou num valor de 0,96µg/L, que foi aproximado para 1µg/L.

Embora as microcistinas sejam resistentes a muitas peptidases de eucariontes e bactérias, elas são suscetíveis à degradação por algumas bactérias encontradas naturalmente em rios e reservatórios. Bactérias capazes de degradar microcistinas já foram isoladas de vários ecossistemas aquáticos e também efluentes de esgotos (CHORUS & BARTRAM, 1999). Este processo pode levar à degradação de 90% do total de microcistinas entre 2 a 10 dias, dependendo principalmente da concentração inicial dessas toxinas e da temperatura da água.

#### 2.2.2.2 - Nodularinas

As nodularinas foram primeiramente identificadas na espécie *Nodularia spumigena* (SIVONEN *et al.*, 1989); atualmente são conhecidas oito nodularinas distintas, classificadas de acordo com

as variações no grau de metilação, composição e isomerização de seus aminoácidos. A DL50 (i.p.) em camundongos varia entre 50 a 200  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de peso corpóreo (RINEHART *et al.*, 1994).

Apesar de essas hepatotoxinas estarem associadas à intoxicação em mamíferos e crustáceos, estudos vêm demonstrando que a toxina gerada pela cianobactéria *Nodularia spumigena* não afeta o crescimento populacional de espécies de comunidades fito e zooplanctônica. Uma pesquisa realizada por Suikkanen *et al.* (2006) comprovou, “*in vitro*”, que um purificado de nodularina não gera nenhum efeito alelopático na Cryptophyta, *Rhodomonas sp.*, mesmo sendo assimilada por ela, não afetando significativamente qualquer parâmetro de crescimento em situação de grande concentração desses metabólitos secundários. Schmidt (2002) demonstrou o desenvolvimento e a reprodução com sucesso, de espécies de Copépodos, *Euphonia affinis*, *Shincaeta sp.*, *Bosmina longispina maritima* e *Acartia bifilosa*, em uma simulação, *in vitro*, de floração de *Nodularia spumigena*.

#### 2.2.2.3 - Cilindrospermopsina

Linhagens de cianobactérias que produzem essa toxina têm sido encontradas em várias partes do mundo, Austrália, Nova Zelândia, Sul e América do Norte, Ásia e a Europa (CARMICHAEL *et al.*, 2001; BURNS *et al.*, 2002, CHONUDDOMKUL *et al.*, 2004, MANTI *et al.*, 2005; QUESADA *et al.*, 2006). O valor recomendado para água potável, de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ , (HUMPAGE & FALCONER, 2003; SUKENIK *et al.*, 2006) é freqüentemente excedido nestes corpos da água (MCGREGOR & FABBRO, 2000; BURNS *et al.*, 2002; RÜCKER *et al.*, 2007).

Toda linhagem de cianobactéria produtora de Cilindrospermopsina (CYN) isolada até agora pertence a duas ordens, Nostocales ou Stigonematales. Ambas as ordens incluem cianobactérias filamentosas com heterocistos que são capazes de formar acinetos. As células da ordem Stigonematales dividem em somente um plano, e as da ordem Nostocales dividem-se em mais de um plano. Esta distinção não é sustentada por análises filogenéticas, ao invés disso, foi sugerido que toda cianobactéria formadora de heterocisto forma um grupo monofilético e que as ramificações padrões dentro deste grupo são polifiléticos (GUGGER & HOFFMANN, 2004).

A maioria das linhagens produtoras de CYN pertencem aos gêneros da ordem Nostocales, como *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, ou *Anabaena* (CHONUDDOMKUL *et al.*, 2004, PREUßEL *et al.*, 2006; WORMER *et al.*, 2008; YILMAZ *et al.*, 2008). Tem-se sugerido que linhagens de *Cylindrospermopsis* formam um grupo monofilético bem sustentado, dentro das

cianobactérias formadoras de heterocistos; enquanto linhagens de *Anabaena* e *Aphanizomenon* possuem um grupo com características internas mais variadas e polifiléticas (GUGGER et Al., 2002; ITEMAN et Al., 2002; RAJANIEMI et Al., 2005). Estudos do grupo *Cylindrospermopsis* têm permitido o agrupamento de linhagens de acordo com a origem geográfica (DYBLE et Al., 2002; NEILAN et Al., 2003; GUGGER et Al., 2005; HAANDE et Al., 2008). Além disso, a análise de síntese da toxina mostrou que esse grupo parece ser geograficamente dependente; somente em território australiano e asiático (LI et Al., 2001; CHONUDOMKUL et Al., 2004) têm sido demonstrada a produção de CYN em isolados, considerando que em nenhum outro continente, europeu (FASTNER et Al., 2003; SAKER et Al., 2003; BRIAND et Al., 2004), africano (BERGER et Al., 2006; HAANDE et Al., 2008) ou Americano (YILMAZ et Al., 2008) foi constatada a produção da toxina em isolados de *Cylindrospermopsis raciborskii* (STÜKEN et al., 2009).

Cilindrospermopsina é uma toxina de ação lenta, requerendo de 5 a 7 dias para produzir seu efeito tóxico máximo. Em camundongos a DL 50 (ip.) após 24 horas é de 2mg/Kg de peso corpóreo, enquanto que após 5 dias a DL50 (ip.) passa a ser de 0,2mg/Kg (TERAO,1994). Por administração por via oral, a DL50 após 5 dias é de aproximadamente 6mg/Kg (SEAWRIGHT et al.,1999). Seu mecanismo de ação se dá por inibição da síntese protéica e já têm sido observados danos severos também em células renais, pulmonares e cardíacas dos animais testados.

Esta toxina é relativamente estável no escuro com uma lenta degradação em temperaturas acima de 50° C. Entretanto, na presença de luz solar e de pigmentos fotossintetizantes a degradação pode ocorrer rapidamente levando à destruição de 90% do total de cilindrospermopsina entre dois e três dias (CHISWEEL et al., 1999).

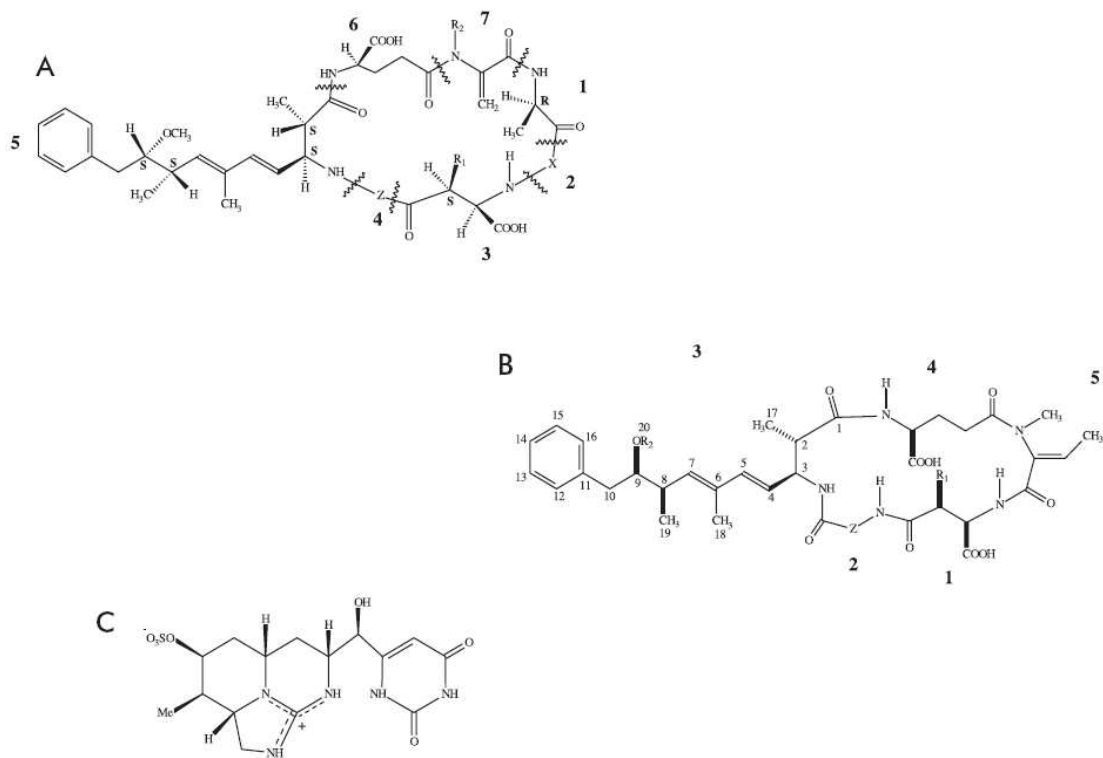


FIGURA 4 - Estruturas químicas das hepatotoxinas: (A) estrutural geral das microcistinas, onde Z e X representam os dois L-aminoácidos variáveis e R1 e R2 são os locais de possíveis metilações; (B) estrutural geral das nodularinas, com as mesmas representações adotadas para microcistinas e (C) estrutura da cilindrospermopsina.

Fonte: Chorus e Bartram (1999).

### 2.2.3 – Endotoxinas Pirogênicas – Lipolissacarídeos (LPS)

Os lipolissacarídeos (LPS) são endotoxinas pirogênicas, encontradas em alguns tipos de cianobactérias (ERRIDGE et al., 2002). Foi demonstrado que LPSs afetam o sistema imunológico de mamíferos, levando a liberação de citosinas pró-inflamatórias incluindo fator de necrose de tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucinas 1 e 6 (IL-1, IL-6) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ). LPSs também podem afetar o fígado adversamente, inibindo a atividade de enzimas, inclusive citocromo P450 (GHEZZI et Al., 1986), epóxido hidrolase e glutatona-S-transferases (CHOI & KIM, 1998).

Estudos realizados por Lindsay e colaboradores (2006) mostraram que os LPSs podem diminuir efeitos tóxicos causados por microcistinas (MC) e cilindrospermosinas (CIN) nos crustáceos *Artemia salina*, *Daphnia magna* e *Daphnia galeata*. No experimento, eles

adicionaram MC e CIN, nos ambientes dos crustáceos, 24 h após terem adicionado LPS, e observaram que a dose letal para esses organismos era maior do que sem a presença prévia de LPSs. Este efeito pode ser atribuído à desintoxicação do tecido onde ocorre a ação da enzima, sendo mediado pela redução de metabólitos reativos e supressão do citocromo P450, pois a CIN só é tóxica após a ativação metabólica pelo sistema do citocromo P450.

### **2.3 - CONSEQUÊNCIAS ECOLÓGICAS DA OCORRÊNCIA DE CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS**

As cianobactérias produtoras de toxinas armazenam-nas durante a maior parte da sua vida, libertando-as apenas quando ocorre a lise celular, consequência da ingestão pelo zooplâncton ou peixes, do processo de tratamento de água para consumo ou pela morte natural da célula.

Os resultados das florescências de cianobactérias são: formação de tapetes na superfície da água, dificultando a entrada de luz e oxigênio na interface ar/água; alteração da viscosidade do meio; diminuição da zona eufótica; alteração do odor e do sabor da água; e situações de anóxia, gerada pela morte massiva das cianobactérias.

O efeito das cianotoxinas no biótopo aquático tem sido alvo de alguns estudos, tal como se verifica para outras substâncias. As cianotoxinas são também bioacumuláveis podendo ser bioamplificadas ao longo da cadeia alimentar. Este processo ficou demonstrado em trabalhos laboratoriais efetuados com moluscos e lagostins, onde se verificou a acumulação de microcistinas e nodularinas, depois de os animais receberem como alimento linhagens tóxicas de cianobactérias (SAKER *et al.*, 2004). O fato das cianotoxinas serem acumuladas nestes organismos sem lhes provocarem efeitos letais, torna-os transportadores de toxinas para os níveis tróficos superiores, incluindo o homem.

As cianobactérias também são responsáveis por alterações nas populações de peixes, com diversos registros de morte massiva em resposta ao aparecimento de florescências (CODD & ROBERTS, 1991). Na maior parte das vezes, é difícil saber qual a razão dessas mortandades de peixes, se é resultado da intoxicação por cianotoxinas ou amônia, ou morte por asfixia (anóxia).

Os peixes apresentam sintomas de intoxicação por microcistinas semelhantes a alguns observados em mamíferos: alterações histológicas do trato gastrointestinal e das brânquias e necrose hepática e renal (CARBIS *et al.*, 1997). Está também demonstrado que a sensibilidade

dos peixes e anfíbios em estado de desenvolvimento inicial é superior à dos organismos juvenis e adultos, podendo assim afetar a dinâmica populacional (OBEREMM, 2001).

O fato dos animais superiores como aves e mamíferos não serem capazes de distinguir uma florescência tóxica, torna-os susceptíveis a intoxicações por ingestão e imersão em águas contaminadas. Existem publicações de casos de morte animal por intoxicação em mananciais que possuíam proliferação de cianobactérias, alguns dos quais foram enumerados por Kuiper-Goodman *et al.* (1999) e Falconer (2001) (Tabela 2).

Relativamente aos níveis tróficos mais baixos, existem vários estudos laboratoriais com zooplânctons (e.g. *Daphnia spp*) que revelam dados pouco consistentes em que a sensibilidade às cianotoxinas difere consoante o gênero, a espécie e até mesmo a linhagem (SIVONEN & JONES, 1999).

Desta forma as cianotoxinas podem afetar várias atividades econômicas que enfocam criação e desenvolvimento de animais aquáticos, como a piscicultura, criação de camarão, entre outras, além de impedir alimentação de várias famílias ribeirinhas que possuem o pescado como fonte de subsistência.

TABELA 2 - Exemplos de morte animal por intoxicação com cianotoxinas (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1999)

| País       | Vítima                                   | Patologia           | Cianobactéria responsável     | Referência bibliográfica       |
|------------|--|---------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Argentina  | gado                                     | hepatotoxicidade    | <i>Microcystis aeruginosa</i> | Odriozola <i>et al.</i> , 1984 |
| Austrália  | gado                                     | hepatotoxicidade    | <i>Microcystis aeruginosa</i> | Jackson <i>et al.</i> , 1984   |
|            | gado                                     | neurotoxicidade     | <i>Anabaena circinalis</i>    | Negri <i>et al.</i> , 1995     |
| Canadá     | gado                                     | neurotoxicidade     | <i>Anabaena flos-aquae</i>    | Carmichael & Gorham, 1978      |
|            | aves aquáticas                           | neurotoxicidade     | <i>Anabaena flos-aquae</i>    | Pybus & Hobson, 1986           |
| Finlândia  | cães                                     | hepatotoxicidade    | <i>Nodularia spumigena</i>    | Pearson <i>et al.</i> , 1984   |
|            | aves aquáticas, peixes, rato almiscarado | hepatotoxicidade    | <i>Planktothrix agardhii</i>  | Eriksson <i>et al.</i> , 1986  |
| Noruega    | gado                                     | hepatotoxicidade    | <i>Microcystis aeruginosa</i> | Skulberg, 1979                 |
| Inglaterra | cães                                     | hepatotoxicidade    | <i>Microcystis aeruginosa</i> | Pearson <i>et al.</i> , 1990   |
| Escócia    | cães                                     | neurotoxicidade     | <i>Oscillatoria spp.</i>      | Gunn <i>et al.</i> , 1992      |
|            | peixes                                   | danos nas brânquias | <i>Microcystis aeruginosa</i> | Bury <i>et al.</i> , 1995      |
| E.U.A.     | cães                                     | neurotoxicidade     | <i>Anabaena flos-aquae</i>    | Mahmood <i>et al.</i> , 1988   |

## 2.4 - CONSEQUÊNCIAS DA OCORRÊNCIA DE CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS PARA A SAÚDE HUMANA

As cianotoxinas provocam efeitos adversos na saúde humana, os quais estão evidenciados em estudos epidemiológicos e toxicológicos. Relativamente ao modo de ação, as cianotoxinas podem apresentar ações agudas ou crônicas, conforme o grau e o tempo de exposição. De todas as cianotoxinas, apenas os polipeptídios cíclicos parecem exercer efeitos crônicos, nomeadamente a promoção do crescimento de tumores hepáticos e outros. Os seus efeitos agudos incluem morte por hemorragia e insuficiência hepática (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1999).

As intoxicações por cianobactérias podem ocorrer via consumo de água de reservatório com a presença de florações, por meio de atividades de recreação em mananciais comprometidos ou pelo consumo de animais contaminados com toxinas.

No primeiro caso, o consumo pela população de água contaminada com cianotoxinas pode ser consequência de falta de conhecimento, consumo acidental ou má operação da estação de tratamento (OLIVEIRA, 2005). Caso não haja sistemas de prevenção e detecção de cianotoxinas, as águas contaminadas podem levar a uma exposição prolongada das populações consumidoras que poderão sofrer efeitos crônicos como é o caso do tumor hepático (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1999). Já a recreação é um perigo a parte, onde se requer políticas de gerenciamento de lagos e rios para advertir e prevenir os usuários. A prática de esportes náuticos em que há contato direto com a água em locais comprometidos pela presença de cianobactérias é considerada como exposição de alto risco devendo, portanto, ser evitada para não se tornar susceptível a irritações alérgicas na pele e nos olhos, a necrose dos tecidos, asma, entre outros efeitos (YOO *et al.*, 1995). De acordo com García *et al.* (2004), já há casos comprovados de morte pela ingestão de alimentos contaminados com elevada concentração de toxinas.

Alguns casos históricos, entre muitos outros, evidenciam o risco que as cianotoxinas representam para a saúde humana. Na Austrália, em 1979, 140 crianças e 10 adultos tiveram de ser hospitalizados por ingestão de água contaminada com *Cylindrospermopsis raciborskii*, tendo manifestado hepatoenterite seguida de fortes diarréias sanguinolentas (BYTH, 1980). García *et Al.* (2004) relataram que dois pescadores na Patagônia chilena, após consumirem de 7 a 9 mariscos que continham uma concentração de 8575 µg de STX equiv/100g marisco, morreram após 3 a 4 horas da ingestão.

No que diz respeito a esses efeitos crônicos das hepatotoxinas, Goodman *et al.* (1999) sugeriram que a alta incidência de câncer na população chinesa está relacionada com o fato de existir nesse país uma grande quantidade de águas que apresentam hepatotoxinas, entretanto ressaltam a necessidade de maiores investigações para que essa hipótese seja confirmada.

Entretanto, o primeiro caso confirmado de mortes humanas causadas por cianotoxinas ocorreu no início de 1996, quando 117 pacientes renais crônicos, após terem sido submetidos a sessões de hemodiálise em uma clínica da cidade de Caruaru (PE), passaram a apresentar distúrbios da visão, náusea e vômitos, hepatomegalia com dores fortes e enfraquecimento muscular (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1999). Desses pacientes, 49 vieram a falecer até 10 meses após o início dos sintomas.

As análises confirmaram a presença de microcistinas e cilindrospermopsina, no carvão ativado utilizado no sistema de purificação de água da clínica, e de microcistinas em amostras de sangue e fígado dos pacientes intoxicados (CARMICHAEL *et al.*, 2001). Além disso, as contagens das amostras do fitoplâncton do reservatório que abastecia a cidade demonstraram uma dominância de gêneros de cianobactérias comumente relacionados com a produção de cianotoxinas como *Microcystis*, *Anabaena* e *Cylindrospermopsis*.

Em termos globais, os relatos clínicos dos danos para a população humana pelo consumo oral de toxinas de cianobactérias em águas de abastecimento indicam que esses danos acontecem como conseqüência de acidentes, desconhecimento ou deficiência na operação dos sistemas de tratamento da água. Como resultado, esses relatos são parcialmente estimados e as circunstâncias originais são freqüentemente de difícil definição.

Em muitos casos, as cianobactérias causadoras dos danos desaparecem do reservatório antes que as autoridades de saúde pública considerem uma floração como o possível risco, pois são geralmente desconhecedoras dos danos possíveis resultantes da ocorrência de florações de cianobactérias e, portanto, assumem que os processos de tratamento da água usuais são capazes de remover qualquer problema potencial. Entretanto, várias toxinas de cianobactérias, quando em solução, são dificilmente removidas por um processo convencional de tratamento, sendo inclusive resistentes à fervura.

Em regiões agricultáveis, ou áreas densamente povoadas, ocorre muitas vezes o aparecimento de florações constantes de cianobactérias em reservatórios de abastecimento público e, usualmente, as autoridades de meio ambiente tentam controlar as florações com aplicação de sulfato de cobre ou outros algicidas. Este método provoca a lise desses organismos, liberando

as toxinas freqüentemente presentes nas células para a água bruta do manancial. Tais ações podem causar exposições agudas às toxinas. Além disso, há evidências que populações abastecidas por reservatórios que apresentam extensas florações podem estar expostas a baixos níveis de toxinas por longo período (LAMBERT *et al.*, 1994).

Essa exposição prolongada deve ser considerada como um sério risco à saúde uma vez que, como já descrito anteriormente, as microcistinas, que são o tipo mais comum de toxinas de cianobactérias, são potentes promotoras de tumores e, portanto, o consumo continuado de pequenas doses de hepatotoxinas pode levar a uma maior incidência de câncer hepático na população exposta. Como consequência é importante que os efeitos crônicos de exposições prolongadas por ingestão oral de baixas concentrações de cianotoxinas sejam avaliados tanto do ponto de vista epidemiológico como toxicológico (FUNASA, 2003).

## **2.5 – MÉTODOS DE ANÁLISE, DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CIANOTOXINAS**

Para proteger os usuários de água é importante saber as ocorrências, ou não, de massas que contenham cianotoxinas ou produtores em potencial de toxinas. A Identificação do organismo responsável pela produção de toxina é especialmente útil para quaisquer planos de mitigação (RANTALA, 2008). A detecção e análise das cianotoxinas podem ser feitas recorrendo a métodos químicos, bioquímicos, biológicos ou imunológicos.

Os métodos que têm se mostrado mais apropriados para a detecção, quantificação, purificação e isolamento de toxinas são os métodos analíticos instrumentais, devido a sua precisão na identificação e quantificação das toxinas e por sua relativa rapidez ao analisar grandes números de amostras (MERILUOTO *et al.*, 2000; DAHLMANN *et al.*, 2001). Citam-se como exemplos de métodos analíticos instrumentais, a eletroforese capilar (CE), bombardeamento atômico rápido (FAB), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e espectrometria de massa *termospray* (TSP). Eles são baseados nas propriedades físico-químicas das cianotoxinas e na reatividade devida à presença de certos grupos funcionais nas moléculas. Dentre os métodos analíticos, o mais empregado é a cromatografia líquida de alta eficiência (HARADA *et al.*, 1999).

### **2.5.1 - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)**

O método de detecção utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foi inicialmente desenvolvido para análise de saxitoxinas em organismos marinhos particularmente em

mariscos, entretanto ele tem se mostrado adequado para avaliação dessas toxinas em cianobactérias (LAGOS *et al.*, 1999).

Nesta técnica faz-se passar a amostra por uma coluna de sílica – C18 (fase reversa), com um gradiente de acetonitrila e água, ambos com ácido trifluoracético (fase móvel). Consoante a polaridade, as microcistinas vão apresentar diferentes tempos de retenção neste sistema. À saída da coluna, está um detector fotodíodo (PDA) que capta a absorção pelas substâncias que por aí passam. As microcistinas caracterizam-se por ter um espectro de absorção máximo a 238 nm (banda UV) devido ao resíduo ADDA. Embora seja uma metodologia semi-seletiva e com um grau de detecção bastante bom, na ordem dos nanogramas (DAHLMANN *et al.*, 2001), essa técnica requer instrumentação especializada, cuidados na preparação das amostras e a comparação com padrões de toxina.

Comercialmente, existem no mercado padrões de Cromatografia para análise de apenas três tipos de cianotoxinas: microcistina-LR, -YR e -RR (RIVASSEAU *et al.*, 1999). Esta técnica também é utilizada para as outras cianotoxinas alterando-se as fases e os comprimentos de onda consoante em cada caso.

A técnica HPLC associada a outras tem permitido aumentar a sua sensibilidade. É o caso de HPLC-MS, que associou ao HPLC a espectrometria de massa (MS) para a análise da cilindrospermopsina, baixando o seu limite de detecção cerca de 5 vezes (DAHLMANN *et al.*, 2001).

### **2.5.2 – Técnica MALDITOF- MS**

Uma técnica mais recente é MALDITOF- MS (matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectroscopy). Com esta técnica obtêm-se pesos moleculares dos polipeptídios cianobacterianos a partir de células inteiras em minutos. As cianotoxinas podem ser identificadas por comparação com padrões, mas também são detectados novos polipeptídios que poderão ser posteriormente caracterizados na mesma análise pela técnica Post-Source-Decay (PSD). Contrapondo com as técnicas de HPLC, MALDI-TOF-MS é mais rápida, não requer preparação da amostra e não necessita de cultura prévia das cianobactérias: uma só célula poderá ser suficiente para a caracterização do seu perfil polipeptídico (ERHARD *et al.*, 2001). Como desvantagem tem o fato de não ser, até o momento, quantitativa.

### **2.5.3 - Ensaio da Inibição das Fosfatases Protéicas**

A característica das cianotoxinas de alterarem o metabolismo enzimático tem sido utilizada para o desenvolvimento de métodos para a sua identificação. As microcistinas e nodularinas inibem as fosfatases protéicas, o que poderá ser detectado e quantificado através de uma reacção colorimétrica ou radioativa. Existem já kits comerciais deste ensaio de fácil e rápida execução. Rivasseau *et al.* (1999) desenvolveram um ensaio deste tipo em que foi possível fazer quantificações colorimétricas de microcistinas na ordem dos microgramas (0,2 - 0,8 µg/l). No entanto, para resultados positivos era necessário confirmar a presença da microcistina com outros métodos. O método de quantificação radioativo é mais sensível do que o colorimétrico, mas exige condições laboratoriais mais específicas (MERILUOTO *et al.*, 2000).

Para An e Carmichael (1994), o ensaio da inibição das fosfatases protéicas na determinação de nodularinas e microcistinas poderá ser complementado com o ensaio imunológico ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) utilizando anticorpos que foram desenvolvidos contra a microcistina-LR.

### **2.5.4 – Técnica de ELISA**

A primeira técnica imunológica baseada em ELISA para microcistinas e nodularinas foi desenvolvida por Chu *et al.* (1989). Hoje existem kits comerciais que são muito utilizados em laboratórios de monitorização de microcistinas e nodularinas na água (EnviroGard® Microcystins Plate Kit e Envirologix). Este ensaio ELISA aproveita a especificidade dos anticorpos de coelho contra microcistina-LR, para detectar de forma seletiva a concentração de moléculas de microcistina-LR, -RR, -YR e nodularinas. A especificidade do anticorpo para estas cianotoxinas deve-se essencialmente aos dois aminoácidos nelas presentes: Adda e arginina (AN & CARMICHAEL, 1994). Através de padrões de microcistina com concentrações conhecidas e de uma reacção colorimétrica anticorpo/antígeno, traça-se uma curva padrão para determinar a concentração de microcistinas na amostra. O kit apresenta um nível de sensibilidade de 0,1 ng/ml.

### **2.5.5 – PCR e *MAG-microarray* de DNA**

Os métodos de análise de Reacção em Cadeia de Polimerase (PCR), polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição (HISBERGUES *et Al.*, 2003; RANTALA *et Al.*, 2006) ou da seqüência, (JUNGBLUT & NEILAN, 2006) são usados para identificação de todos os produtores existentes de microcistinas. Uma alternativa é o uso de um *MAG-microarray* de

DNA, onde a identificação das sequências é baseada na hibridização do gene-específico investigado.

*MAG-microarray* se baseia na captura magnética de híbridos, (MATSUNAGA *et Al.*, 2001) na fita do DNA (RUDI *Et Al.*, 2000), usando a análise de oligonucleotídeos baseadas em sequências de rRNA 16S. Esta técnica foi desenvolvida para estudar a composição de comunidade de cianobactérias e para detectar diferentes gêneros de cianobactérias, respectivamente. Além disso, oligonucleotídeos baseados no gene rRNA 16S têm sido projetados para identificar vários grupos de cianobactérias, usando uma Reação Descoberta de Ligação (LDR) e um *microarray* DNA universal (CASTIGLIONI *et Al.*, 2004). Este método é efetivo em detectar até pequenas mudanças de nucleotídeos (CONSOLANDI *et Al.*, 2003; FOUQUET *et Al.*, 2004; LONG *et Al.*, 2004; QIN *et Al.*, 2005) ou pequenas inserções e deleções (FAVIS *Et Al.*, 2000).

Estudos filogenéticos com o gene rRNA 16S têm mostrado grupamentos dos mais importantes produtores de microcistina, *Anabaena*, *Microcystis* e *Planktothrix* (LYRA *et Al.*, 2001; GUGGER *et Al.*, 2002), porém incluem sempre ambos os grupos, tóxicos e não tóxicos, deste modo não pode ser usado para discriminá-los. Sendo assim, o uso de genes de biossíntese da toxina (*mci/nda*) em uma plataforma de *LDR/universal microarray* (CASTIGLIONI *et Al.*, 2004) não é um método específico e sensível para descobrir e identificar simultaneamente todas as cianobactérias potencialmente produtoras de hepatotoxinas, presentes em amostras ambientais.

Rantala *et al.* (2008) propuseram testes específicos para genes a serem utilizados em uma plataforma de DNA-chip para descobertas e identificações simultâneas de cianobactérias produtoras de hepatotoxinas em amostras ambientais. Os resultados do teste realizado em amostras de um lago finlandês confirmaram que a técnica de DNA-chip se mostrou adequada para a detecção de produtores de microcistinas, onde sua presença também era confirmada com PCR quantitativo em tempo real (qPCR). Também no Mar báltico a descoberta de *Nodularia-ndaF* foi possível através do método de DNA-chip, confirmado previamente por *ndaF*-qPCR (RANTALA *et Al.*, 2004; JUNGBLUT & NEILAN, 2006). Os resultados nestes dois estudos sugerem que o método possa ser aplicado com sucesso em amostras de outros locais, considerando a alta similaridade entre as sequências dos genes de linhagens de cianobactérias originadas em locais geograficamente diversos (RANTALA, *et al.* 2008).

## **2.6 - REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS**

### **2.6.1 - Remoção com tratamento convencional**

Devido principalmente aos riscos relativos à saúde que as cianobactérias oferecem, pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de saber qual o melhor tratamento a ser empregado para remover as toxinas dissolvidas e examinar quais os efeitos dos processos de tratamento sobre as células viáveis de cianobactérias. De uma forma geral, é desejável que os processos de tratamento sejam capazes de remover a biomassa de cianobactérias e a fração dissolvida das cianotoxinas, sem, contudo, promover a ruptura dessas células; pois desta forma se reduz significativamente as concentrações de sabor, odor e dos metabólitos tóxicos.

A remoção dessas substâncias orgânicas pode ocorrer através de processos de separação ou conversão (VOLK, *et al.* 2000). O processo de separação consiste na retirada dos compostos indesejáveis da água, acarretando no acúmulo de resíduos que têm que ser dispostos adequadamente. O processo de conversão baseia-se na utilização de produtos químicos (geralmente oxidantes) para transformar substâncias solúveis e insolúveis em produtos pouco ou atóxicos, muito embora, às vezes, esse procedimento leve a destruição das mesmas.

O tratamento convencional de água contaminada com cianotoxinas, por ser o mais difundido no mundo, dar-se-á maior ênfase. Esse tratamento compreende as etapas de coagulação, floculação, sedimentação e filtração (RAPALA, *et al.* 2002). Em algumas estações de tratamento, existem algumas variações, tais como: a utilização da etapa de flotação em substituição a sedimentação, a utilização da filtração direta ou o uso de sistemas patenteados de mistura e sedimentação. Contudo, o princípio é o mesmo, utilizar a coagulação química para modificar as propriedades do material que se encontra suspenso ou dissolvido na água a ser tratada.

#### **2.6.1.1 – Coagulação química**

As partículas coloidais presentes na água apresentam carga superficial negativa, impedindo que as mesmas se aproximem umas das outras, permanecendo no meio líquido, se suas características não forem alteradas pela coagulação (RAPALA, *et al.* 2002). A coagulação é um processo responsável pela desestabilização das partículas coloidais em um sistema aquoso. Essa desestabilização prepara as partículas para a sua remoção nas etapas subseqüentes do processo de tratamento (KAWAMURA, 1991). A coagulação química é resultado de quatro mecanismos distintos: compressão da camada difusa; adsorção e neutralização de cargas; adsorção/formação de pontes e varredura.

## Compressão da Camada Difusa

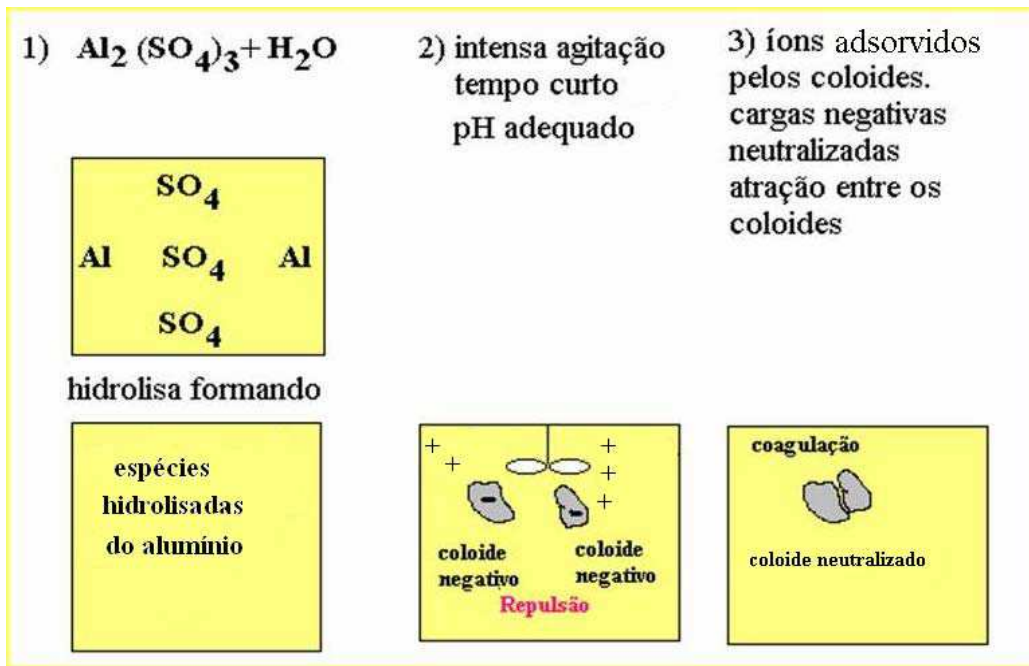
A compressão da camada difusa é o mecanismo em que as forças de repulsão entre os colóides são reduzidas pela adição de eletrólitos indiferentes de carga positiva, com a redução dessas forças repulsivas, as forças de atração entre elas passam a predominar, facilitando a formação do floco (KAWAMURA, 1991).

De acordo com Di Bernardo e Dantas (2005), sais simples, como cloreto de sódio, são considerados eletrólitos indiferentes e não tem característica de hidrólise e adsorção, como ocorre com sais de alumínio ou de ferro. Desta forma, quanto maior a carga do íon positivo, menor a quantidade requerida para a coagulação, por exemplo, considerando os metais Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup>, as concentrações molares 1+ 2+ 3+ desses metais para causar a desestabilização de um colóide negativo variam, aproximadamente, na proporção de 1000:10:1.

Nesse mecanismo pode-se citar como exemplo o encontro de água doce dos rios com pequena força iônica que ao desaguar e misturar-se com a água do mar, promove a formação de depósitos nas desembocaduras.

## Adsorção e Neutralização de Carga

O mecanismo de adsorção e neutralização de cargas ocorre quando íons positivos, geralmente originados da hidrólise do coagulante, são adsorvidos à superfície do colóide em quantidade suficiente para neutralizar a sua carga negativa, reduzindo as forças de repulsão. Nesse mecanismo, pode haver reestabilização da carga da partícula, caso a partícula adsorva uma carga maior que a necessária para neutralizar a sua superfície. Segundo apresentado por Vianna (1997), o mecanismo de coagulação por adsorção e neutralização de carga, quando é utilizado o sulfato de alumínio, pode ocorrer segundo o caminho apresentado na Figura 5.



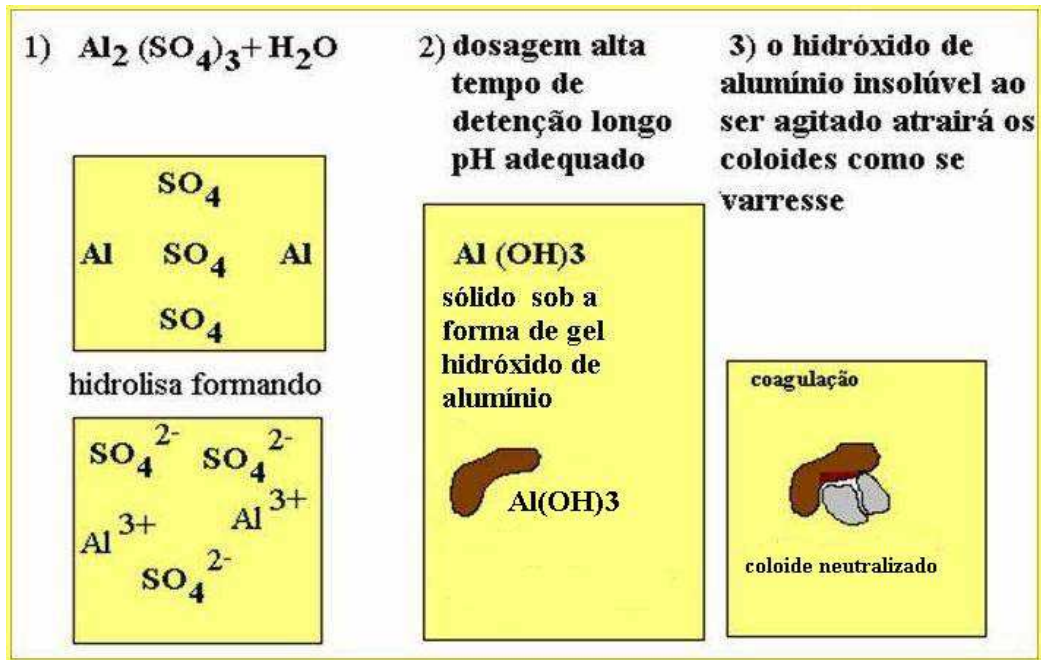
**FIGURA 5:** Esquema mostrando o caminho para a coagulação por adsorção e neutralização de carga.

Fonte: Vianna (1997), modificado por Costa (2003).

### Varredura

O mecanismo da varredura acontece quando a dosagem de um coagulante, que pode ser um sal de ferro ou de alumínio, é suficientemente elevada, a ponto de formar um precipitado, o hidróxido de ferro ou de alumínio. O coagulante reage com a água formando hidróxidos que ao precipitarem envolvem os colóides e as partículas suspensas, formando os flocos.

Os flocos obtidos nesse mecanismo são maiores, facilitando sua sedimentação ou flotação. Segundo Vianna (1997), quando é utilizado o sulfato de alumínio como coagulante, o caminho para o mecanismo da varredura pode ocorrer conforme a Figura 6.



**FIGURA 6:** Esquema mostrando o caminho para a coagulação por varredura.

Fonte: Vianna (1997), modificado por Costa (2003).

#### Adsorção e Formação de Pontes

O mecanismo de adsorção e formação de pontes caracteriza-se por envolver o uso de polímeros de grandes cadeias moleculares como auxiliares de coagulação. Quando se empregam estes polímeros como coagulante ou auxiliar, estes podem vir a ser adsorvidos por mais de uma partícula devido ao seu tamanho, servindo como ponte entre as mesmas.

De acordo com Mendes (1989), existe significativa variedade de compostos orgânicos e sintéticos, caracterizados por apresentar grande cadeia molecular, que desfrutam da propriedade de possuir sítios ionizáveis ao longo de sua cadeia, capazes de agirem como eficientes coagulantes e servirem de ponte entre a superfície à qual estão aderidos e outras partículas. Esses polímeros podem ser catiônicos, aniônicos, não-iônicos e anfotéricos, dependendo da existência e natureza de suas cargas.

#### 2.6.1.2 - Coagulação-Floculação no tratamento convencional

Os mecanismos predominantes na desestabilização das partículas podem variar de acordo com as características das células a serem removidas. Bernhardt e Clasen (1991) relataram que quando as células de algas apresentam formato aproximadamente esférico e superfície lisa, há predominância do mecanismo de neutralização, porém se as células são compridas e

filamentosas, há predomínio da varredura.

A eliminação da matéria orgânica pelos processos de clarificação da água é influenciada por vários fatores, como pH, dosagem e tipo de coagulante, características da matéria orgânica presente na água, a concentração e a natureza dos compostos inorgânicos e pelo processo de tratamento da água. Conseqüentemente, a remoção de matéria orgânica pela coagulação química varia consideravelmente podendo ser de apenas 10 ou até 90% (RANDTKE, 1988).

Em relação à matéria orgânica dissolvida, Volk e colaboradores (2000) verificaram que o emprego de elevadas dosagens de coagulante promovem uma remoção mais efetiva do carbono orgânico dissolvido, atingindo em média 43% de remoção, enquanto ao se utilizar as dosagens usuais empregadas nas Estações de Tratamento de Esgoto, a remoção em média é de 29%. De todos os coagulantes testados por estes autores, o cloreto férrico foi o que apresentou maiores índices de remoção do material dissolvido, seguido do sulfato ferroso, alumínio e policloreto de alumínio. Outra vantagem do cloreto férrico consisti na necessidade de uso de menores dosagens para remover os compostos dissolvidos.

Mouchet e Bonnélye (1998) relatam que a otimização da dosagem do coagulante é essencial, pois dos fitoplânctons, as últimas células a serem removidas são a das cianobactérias e, portanto, se a quantidade de coagulante for insuficiente, não há remoção destas.

Vários estudos vêm sendo realizados nas diversas partes do mundo com o intuito de conhecer a real eficiência do tratamento convencional na remoção de células de cianobactérias e de suas respectivas toxinas. James e Fawell (1991) avaliaram o efeito da coagulação sobre as células de *M. aeruginosa*, usando o sulfato de alumínio como coagulante, sob condições de laboratório que simulavam o tratamento de água. O efeito da coagulação sobre a integridade das células foi monitorado pela medição da concentração de microcistina-LR liberada para a água. O resultado indicou um aumento considerável na concentração da toxina depois da adição do coagulante, sugerindo a ocorrência de lise celular.

Porém, de acordo com Chow e colaboradores (1999), utilizando uma cultura de *M. aeruginosa* para analisar a densidade e viabilidade das células, após a adição do sulfato de alumínio, verificaram que esta substância não causou danos à célula e, portanto, não ocasiona liberação de toxina. O que houve foi um aumento da densidade das células, indicando que a população de cianobactérias cresceu durante o tratamento, e isto pode ter contribuído para aumentar a produção de microcistina-LR e a liberação da mesma na solução. Os autores observaram ainda, que o uso de sulfato de cobre resultou na ruptura das células. Já ao utilizar cloreto férrico, tanto

nas dosagens de 30 mg/L (dosagem ótima) como uma sub-dosagem de 15 mg/L, empregadas nas estações de tratamento, verificou-se que as concentrações pareciam não causar a lise, mas estimulavam o crescimento das culturas de *A. circinalis* e *M. aeruginosa* (CHOW *et al.*,1998).

Os estudos realizados por Hart e colaboradores (1998) sugerem que o tratamento convencional é ineficiente na remoção das toxinas dissolvidas e que as condições de mistura associadas ao tratamento não causaram a lise das células de *Microcystis* ou a liberação de toxinas, como também, as variações de pH entre 5 e 9 em nada afetaram a liberação da toxina intracelular. Os autores utilizaram tanto o sulfato de alumínio, quanto o sulfato de ferro, os quais se mostraram efetivos na redução da concentração total da toxina, provavelmente pela capacidade de remoção das células viáveis e não das toxinas dissolvidas.

Por outro lado, Rapala e colaboradores (2002) verificaram que as endotoxinas são removidas com razoável eficiência pelos mesmos métodos empregados para reduzir a presença de material particulado na água. Nesse estudo, a água bruta apresentava indícios de cianobactérias em uma concentração maior que 430 unidades de endotoxina/mL, depois de submetida ao processo que consistia em coagulação seguida de clarificação e filtração em areia, esse valor baixou para 60 unidades de endotoxina/mL. Quando foi utilizada a seqüência de coagulação com sulfato de alumínio, seguida de flotação, filtração em areia e cloração, a remoção atingiu 91%. Também, neste estudo, os autores atribuíram a eficiência do tratamento à remoção das células de cianobactérias e não das toxinas.

No caso das neurotoxinas, Falconer e colaboradores (1989), utilizando uma dose de 120 mg/L de sulfato de alumínio conjuntamente com vários polieletrólitos, conseguiram remover apenas 20% da toxicidade produzida pela floração de *Anabaena circinalis*.

#### 2.6.1.3 – Sedimentação

As unidades de sedimentação conseguem remover partículas com densidade maior que a da água, ou seja, maior que 1,0, pois estas partículas mais densas ficam depositadas no fundo do decantador, após algum tempo estagnada. Depois do processo de decantação a água da superfície é retirada restando às partículas mais densas no fundo do tanque.

Quando se trata de águas contendo elevadas concentrações de cianobactérias, no geral, a sedimentação não proporciona uma remoção satisfatória das mesmas devido à baixa densidade desses organismos. Porém, se além das cianobactérias, houver também altas concentrações de matéria particulada, a junção desses dois componentes tende a permitir a formação de flocos

com características adequadas para promover a sedimentação (JANSSENS & BUENKENS, 1993).

O emprego da sedimentação para remover *Microcystis aeruginosa* em uma concentração na água de 10 célula/mL foi avaliado por Drikas e colaboradores (2001) empregando equipamento para teste do tipo jarro. A utilização da dosagem de 65 mg/L de sulfato de alumínio no processo de coagulação realizado no pH 7,2 resultou na remoção de 75% das células.

Vlaski e colaboradores (1996), em experimentos de sedimentação em escala de bancada utilizando 10 mg/L de cloreto férrico e pH 8, também verificaram uma boa remoção de *Microcystis aeruginosa*, retirando 87% das células presentes no meio. Os autores observaram um incremento na remoção de células de 7,7% após a filtração da água. Entretanto, Hoeger e colaboradores (2004) observaram que a remoção de células promovida pela filtração dependia da cianobactéria, no caso da *Anabaena circinalis*, que é filamentosa, a remoção após filtração foi praticamente 15% maior que a observada para *Microcystis aeruginosa*, que é menor e apresenta forma esférica.

O emprego de técnicas combinadas à sedimentação resulta numa maior eficiência na remoção de células. Hoeger e colaboradores (2004) relataram a remoção de 99,9% de células de *Aphanizomenon*, ao submeter à água bruta da ETA de Israel, que continha uma concentração de 10 célula/mL, aos processos de floculação-sedimentação seguidos pela cloração. Provavelmente, essa elevada remoção foi devida a oxidação das células da cianobactéria pela ação do cloro.

Em relação aos efeitos dos coagulantes no lodo sedimentado do decantador pairam dúvidas e, conseqüentemente, se fazem necessárias mais análises sobre os impactos dessas substâncias no lodo e na ocorrência de lise celular.

Drikas *et al.* (2001) avaliaram a degradação das células de *Microcystis* no lodo. A densidade das células diminuiu pela metade do valor inicial após dois dias de sedimentação, e continuou decrescendo até que no décimo terceiro dia chegou a zero. No caso da toxina extracelular, a concentração inicial era zero, atingindo valores máximos entre o segundo e o sexto dia. Este decréscimo na densidade celular acompanhado do aumento de toxinas extracelulares é indicativo da ocorrência de lise celular. Também, foi sugerido a ocorrência de degradação da toxina após o sexto dia, sendo que no décimo terceiro dia, as concentrações extracelulares da toxina chegou a zero. Os resultados obtidos por Drikas *et al.* (2001), configuram a importância do conhecimento do efeito do tempo de retenção do lodo nos tanques de sedimentação para

diferentes cianobactérias e cianotoxinas.

No Egito, os decantadores vêm sendo substituídos pelos clarificadores de manta de lodo (HRUDEY et al., 1999) ou Digestores Anaeróbios de Fluxo Ascendente (DAFA), como são conhecidos no Brasil (FERNANDES, 2000). Essa substituição tem apresentado melhores resultados na remoção de algas e cianobactérias, maior eficiência por unidade de área, redução no consumo de coagulante de 15 a 45% e redução no consumo de cloro de 15 a 35% (HRUDEY et al., 1999).

Outro ponto importante a ser observado, diz respeito às estações de tratamento em que o sobrenadante do lodo é recirculado para a entrada da ETA ou é lançado diretamente no curso d'água. Para tal situação, se torna imprescindível o controle desse material de reciclo, pois o mesmo pode conter toxinas em concentrações elevadas. Esse controle adotado para o material de reciclo também deve ser empregado para o lodo quando na sua disposição final, para que assim se evite problemas de ordem ambiental, econômica e sanitária.

#### 2.6.1.4 – Flotação

A flotação por ar dissolvido (FAD) é um processo que vem sendo difundido, principalmente em novas estações, quando se trata de águas eutrofizadas. Este método difere do tratamento convencional propriamente dito, pelo fato de a floculação ser seguida pela introdução de ar saturado na água. Bolhas minúsculas são formadas pelo ar que ao se agregarem aos flocos, levam a flutuação dos mesmos para a superfície de onde são continuamente removidos. Essa característica de remoção contínua pode vir a se configurar como uma grande vantagem da flotação em relação à sedimentação, caso seja confirmado que os coagulantes causam danos à parede celular das cianobactérias em longo prazo.

Quando empregado a flotação por ar dissolvido, é importante considerar que as diversas espécies de cianobactérias podem se comportar de formas diferentes a depender de suas propriedades físicas. Isso pode ser observado pelos dados de remoção de células de cianobactérias apresentado por Drikas e Hrudey (1994) relativos a uma ETA na qual se utilizava a FAD. Para *Microcystis*, a remoção foi de 40-80%, para *Anabaena* ficou entre 90-100%, porém a *Oscillatoria* foi removida somente em 30%.

Segundo Benhardt e Clasen (1991), a remoção de alguns tipos de cianobactérias pode alcançar até 99,9% quando o tratamento é realizado pelos processos de floculação – flotação – filtração. Todavia, o processo pode não apresentar essa eficiência, caso a água a ser tratada apresente

concentrações de 10 cel/mL, pois concentrações nessa ordem de grandeza são típicas de águas altamente eutrofizadas.

Drikas (1994) relatou que a flotação por ar dissolvido é eficiente na remoção de células intactas de cianobactérias, porém ainda se faz necessário avaliar se o processo é mais ou menos efetivo que a utilização das unidades de sedimentação. Ao confrontar a FAD com a sedimentação na ETA de North Richmond, Austrália, esse autor encontrou uma eficiência de 98% de remoção de células intactas com a FAD e de 50-60% para a sedimentação.

Remoção relativamente baixo de células de *Microcystis aeruginosa* foi alcançada por Vlaski *et al.* (1996) em seus experimentos em escala de laboratório, restando um residual no efluente, após a flotação, de quase 30%. Esse baixo índice de remoção pode estar relacionado ao pH da coagulação empregado que foi o pH 8,0, considerando que o processo de flotação é favorecido por valores de pH mais baixos.

Em termos de toxina dissolvida, Hrudehy e colaboradores (1999) acreditam que seja improvável que a flotação seja mais efetiva que o processo utilizando decantadores para remover a toxina extracelular. No geral, a eficiência tanto da flotação, quanto da sedimentação na remoção de cianobactéria depende de vários fatores como, qualidade da água bruta, da espécie da cianobactéria e de suas características morfológicas e fisiológicas, do pH de coagulação, tipo e dosagem do coagulante, entre outros.

#### 2.6.1.5 – Filtração

A filtração rápida é usada como um polimento para remover os flocos de impurezas que não foram retirados nas fases de clarificação. Caso essa unidade seja adequadamente projetada e operada, pode se conseguir valores de turbidez na água filtrada menores que 0,1 uT (HOEGER, *et al.* 2004).

Quando a filtração não é precedida pelas etapas de sedimentação ou flotação, é denominada de filtração direta. Esse tratamento é limitado a águas com concentrações de cianobactérias e turbidez moderadas. Para ampliar a aplicabilidade dessa tecnologia, pré-tratamentos geralmente são necessários. Os pré-tratamentos mais comuns são: cloração, ozonização e flotação.

À medida que o filtro vai funcionando acumula impurezas entre os interstícios do leito filtrante, aumentando progressivamente a perda de carga e redução na sua capacidade de filtração. Quando essa perda atinge um valor preestabelecido ou a turbidez do efluente atinge além do

máximo de operação, deve ser feita a lavagem. O tempo em que o filtro passa trabalhando entre uma lavagem e outra, consecutivamente, é chamado de *carreira de filtração*. (FERNANDES, 2000).

Quando empregada a flotação como pré-tratamento, a filtração direta transforma-se em tratamento convencional. Essa reduz as cargas de sólidos que atingiriam o filtro, conduzindo o aumento de duração das carreiras de filtração e a melhora da eficiência de remoção (HOEGGER, *et al.* 2004).

Segundo Azevedo e Brandão (2003), a curta duração das carreiras de filtração associadas à sobrecarga de sólidos, incluindo as algas, pode tornar a filtração direta impraticável. Porém, no que diz respeito à remoção de células viáveis, a filtração direta pode ser eficaz a depender da existência da condição ótima de coagulação-floculação.

Outro problema, em relação à filtração, é quando há longas carreiras de filtração, pois, caso células de cianobactérias tóxicas fiquem retidas no meio filtrante, a morte e a lise das mesmas podem levar à liberação de toxinas (HRUDEY *et al.*, 1999). Porém, para Mouchet e Bonnélye (1998), a filtração direta, independente de usar um ou dois meios filtrantes, não é recomendada para eliminar algas e cianobactérias, a menos que conjuntamente, utilize-se um pré-tratamento e/ou meios filtrantes artificiais de alta qualidade. Por meio de experimentos com filtração direta sem uso de coagulantes ou oxidantes, esses autores obtiveram reduções das concentrações de algas variando entre 10 e 75%, apresentando um valor médio de 50%, dependendo da espécie analisada.

Vlaski (1997) relata que as características da superfície da célula de *Microcystis aeruginosa*, como sua forma circular e seu pequeno diâmetro (3 a 10  $\mu\text{m}$ ) contribuem para sua permanência na água, mesmo depois da filtração. Por meio de estudos em escala piloto, Schmidt *et al.* (2002), utilizando uma dosagem de 3 mg de Al/L em uma água bruta que continha células de *M. aeruginosa* e toxina intra e extracelular, obtiveram eficiência de remoção tanto de células quanto de microcistina dissolvida entre 87 e 94% ao usar a floculação-filtração, mesmo sendo observado um aumento dos níveis de toxina extracelular durante o processo, atingindo 0,40  $\mu\text{g/L}$  no efluente filtrado.

Para uma seqüência de tratamento que incluía coagulação, floculação, filtração em areia e cloração, utilizando como coagulantes o sulfato de alumínio (36 mg/L) e o cloreto férrico (55 mg/L), Himberg e colaboradores (1989) avaliaram a remoção de toxinas de *Microcystis* e *Oscillatoria*. Para os ensaios com sulfato de alumínio, a remoção máxima de microcistina foi de

apenas 18%, para uma concentração inicial de toxina de  $38 \pm 8 \mu\text{g/L}$ , já para a toxina da *Oscillatoria*, a remoção foi em média de 30% para uma concentração inicial de toxina de  $44 \pm 8 \mu\text{g/L}$ . Quando empregado o cloreto férrico como coagulante, os resultados obtidos foram inferiores, para *Microcystis*, a remoção da toxina variou entre 0-16% e para *Oscillatoria*, o valor da remoção da toxina chegou a ser negativo (-9%). De acordo com esses resultados, conclui-se que o processo convencional provocou apenas um pequeno decréscimo da concentração de toxinas na água. No experimento em que foi usado o cloreto férrico, como já foi mencionado, a remoção chegou a ser negativa, o que sugere que parte das toxinas foi liberada pelas cianobactérias.

O conhecimento científico existente até o momento sugere que, embora o tratamento convencional consiga remover adequadamente as células viáveis de cianobactérias, o mesmo é ineficiente na remoção de toxinas dissolvidas.

## **2.6.2 – Outros Processos**

Várias pesquisas têm sido realizadas no intuito de avaliar a capacidade de outros processos em remover cianobactérias e cianotoxinas. Entre os processos, citam-se, a adsorção em carvão ativado, a filtração lenta, oxidação química e utilização de bactérias pró-bióticas.

### **2.6.2.1 – Adsorção em carvão ativado**

O carvão ativado é empregado no tratamento de água para remover compostos orgânicos naturais e/ou sintéticos, causadores de odor e sabor. Himberg *et al.* (1989) sugerem que o uso do carvão é uma técnica que pode promover, por si só, a remoção das cianotoxinas, como também pode complementar outros tratamentos. O carvão pode ser utilizado sob a forma de pó (CAP) ou granular (CAG).

Newcombe e Nicholson (2004) acreditam que o CAP pode ser eficiente na remoção de todas as toxinas, desde que seja empregado um carvão de boa qualidade e em dosagem adequada. As dosagens para remover cianotoxinas geralmente são superiores às adotadas para remover sabor e odor (BRUCHET *et al.*, 1998). Hart e colaboradores (1998) verificaram que para remover 85% de toxinas presentes na água era necessário adicionar 20 mg/L de CAP, enquanto para remover sabor e odor, essa dosagem variava de 5 a 20 mg/L. Tem sido sugerido que ao especificar a dosagem de CAP para remover cianotoxinas em uma ETA tem que se prever uma quantidade do produto suficiente para adsorver outros compostos orgânicos dissolvidos na água (BRUCHET *et al.*, 1998).

As vantagens do CAP são o de seu uso poder ser intermitente e em dosagens variadas e a sua capacidade de adequar-se facilmente às instalações de uma ETA em funcionamento. Por isso, considera-se numa alternativa viável para situações emergenciais em que há elevações pontuais de concentrações de compostos orgânicos dissolvidos na água. Porém, se houver necessidade de um uso prolongado, o CAP torna-se inviável pelo alto custo (NEWCOMBE & NICHOLSON, 2004).

Azevedo e Brandão (2003) acreditam que o emprego do CAP contribui para a remoção de cianotoxinas, mas dificilmente promoverá a remoção completa desses compostos. Nos experimentos realizados por Brasil (2004), observou-se uma maior eficiência da remoção da microcistina com o emprego de carvões de origem vegetal (madeira e casca de coco). Porém, para concentrações iniciais de 50 µg/L de microcistina e usando dosagens de CAP variando entre 10 e 50 mg/L, nenhum carvão testado mostrou-se capaz de produzir em concentrações residuais inferiores ao que exige a Portaria 518/04/MS, ou seja, menor que 1 µg/L.

Para a escolha do carvão ativado granular (CAG), deve-se considerar o tipo do carvão, a competição com outros compostos orgânicos e inorgânicos e o nível de saturação do carvão (HART *et al.*, 1998). É pertinente dar uma atenção ao nível de saturação do carvão, pois se a presença de altas concentrações de cianotoxinas ocorrer quando o carvão já estiver parcialmente saturado por outros compostos orgânicos, o traspasse de toxinas para água tratada poderá ocorrer.

O CAG é considerado até mais eficiente e seguro que o CAP para remoção de compostos orgânicos dissolvidos. No geral, o GAC é usado como meio filtrante de uma unidade da ETA e é recomendado para tratar águas que apresentam grandes quantidades de poluentes ou flutuações freqüentes na qualidade da água bruta. Acredita-se que o filtro com CAG, além de adsorver os compostos orgânicos dissolvidos, funciona como tratamento biológico, apresentando elevado potencial para realizar a biodegradação (DRIKAS, 1994; NEWCOMBE & NICHOLSON, 2004).

#### 2.6.2.2 – Filtração Lenta

Diversos estudos têm apresentado resultados satisfatórios na remoção de cianobactérias e cianotoxinas empregando a filtração lenta. Grützmacher *et al.* (2002) demonstraram a efetividade da filtração lenta em remover células de *Planktothrix agardhii*, porém a toxina dissolvida não foi totalmente removida. Em se tratando da experiência brasileira, citam-se os trabalhos de Sá (2002) e Arantes (2004). Em ambos os trabalhos, a filtração lenta configurou-se

como uma alternativa viável. Sá (2002) aplicando taxas de filtração inferiores a 3 ml/dia, removeu 99% das células de *Microcystis aeruginosa*, e quando a concentração na água bruta de microcistina intracelular foi inferior a 60 g/L, verificou-se também remoção superior a 99%. Entretanto, ao aumentar a concentração de microcistina para 265 g/L, a remoção diminuiu pra 90%. Em relação à fração dissolvida da microcistina, a filtração lenta promoveu a completa oxidação desses compostos.

Empregando as mesmas taxas de filtração utilizadas por Sá (2002), Arantes (2004) conseguiu remoção de 98% de células de *Cylindrospermopsis raciborskii* para uma concentração inicial de aproximadamente 30 g/L e não detectou a presença de toxinas dissolvidas na água filtrada.

Keijola *et al.* (1998) acreditam que o processo físico da filtração por si só não é capaz de atingir altos níveis de remoção de toxinas, mas sugerem que a efetividade do processo está associada aos mecanismos de bioadsorção e/ou biodegradação. Segundo Langlais *et al.* (1991), o uso do carvão ativado na filtração lenta proporciona aumento de remoção de cor, sabor e odor no efluente do filtro lento, reduzindo também os subprodutos da desinfecção. A camada de carvão ativado granular em geral localiza-se sob uma camada de areia, que protege o carvão de uma carga excessiva de matéria orgânica particulada, sendo que a camada superior de areia funciona como filtro lento natural e o carvão como adsorvedor.

A filtração em múltiplas etapas (FiME) apresenta-se como melhor alternativa para ampliar o espectro da aplicação da filtração lenta, no que tange à qualidade dos efluentes e à duração das carreiras. A inserção de carvão ativado granular como camada intermediária no filtro lento tem se mostrado eficiente na adsorção de compostos orgânicos naturais e sintéticos, descortinando-se seu emprego também para adsorção de cianotoxinas. Com o intuito de facilitar a limpeza e prolongar a duração das carreiras, o emprego de mantas não-texturizadas como primeira camada do meio filtrante apresentou bons resultados na remoção de sólidos suspensos e algas (TANGERINO, 2001).

#### 2.6.2.3 – Oxidação química

A oxidação química vem sendo considerada uma técnica tão efetiva quanto o carvão ativado na remoção de cianotoxinas. A escolha do ponto de aplicação do agente oxidante no tratamento é de fundamental importância, pois se por um lado sabe-se que a pré-oxidação melhora a eficiência de algumas técnicas de tratamento, ela também pode causar a lise celular, levando à liberação de toxinas na água. Segundo Yoo *et al.* (1995), a pré-oxidação torna-se um problema quando a dosagem do oxidante é suficiente para promover a ruptura das células, mas

insuficiente para destruir as toxinas.

O cloro é o desinfetante mais utilizado em todo o mundo por sua reconhecida capacidade oxidante, porém, a sua aplicação com o objetivo de remover toxinas tem gerado dúvidas quanto a sua eficiência. Keijola *et al.* (1988) e Himberg *et al.* (1989) relataram que a cloração não foi eficaz na remoção de toxinas na sequência de tratamento convencional nem na filtração direta. Em contrapartida, Nicholson *et al.* (1994) relataram a rápida destruição de toxinas pela cloração.

A eficiência da cloração é diretamente afetada pelos níveis de matéria orgânica e inorgânica presente na água e por sua demanda por cloro. Em estudos realizados por Hart *et al.* (1998), a fonte de cloro (hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio ou cloro puro) e o pH da água interferem significativamente na destruição desses compostos.

Uma questão a refletir é sobre a aplicação de elevadas doses de cloro em águas contendo grande quantidade de matéria orgânica, como é o caso de águas com florações de algas, pois essa prática pode levar a formação de trihalometanos (THM) que são compostos, segundo Macedo e Andrade (1995) potencialmente cancerígenos. Análises realizadas por Mondardo, Sens e Filho (2006) mostraram a presença de THM em níveis significativos formados naturalmente nas águas de um manancial. Os precursores de THM aparecem na água bruta devido à decomposição do material vegetal existente nos leitos de rios e lagos, sendo mais abundantes em mananciais protegidos e que possuem maior quantidade de vegetação em suas margens (MACEDO & ANDRADE, 1995). E, segundo Fonseca (1991), a concentração de íon cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), em lagoas costeiras, é influenciada fortemente pelos aerossóis marinhos, sendo que a sua intensidade depende da distância do mar.

No Brasil, a Portaria nº 518 (Ministério da Saúde) estabelece o valor máximo permitido para a concentração de THM em  $100\mu\text{g/L}$ . Essa legislação ressalta ainda que esse valor poderá ser revisto, em função de estudos toxicológicos, que ainda estão em período de conclusão. Em 1998, a EPA reduziu em 20% os valores preconizados para THM, passando para  $80\mu\text{g/L}$ , como concentração máxima aceitável.

Mondardo, Sens e Filho (2006) demonstraram que o desempenho dos ensaios realizados com pré-ozonização em relação à formação de trihalometanos foi superior aos ensaios com pré-cloração, sendo que para todas as dosagens de ozônio a concentração de THM, após o tratamento completo (pré-oxidação – coagulação – filtração – desinfecção final com cloro), foi inferior a  $40\mu\text{g/L}$ , o que vem ao encontro das tendências normativas futuras para tal composto. Quando a pré-oxidação e a desinfecção final são feitas somente com cloro, a concentração de

THM aumenta significativamente, mesmo para doses de cloro na ordem de 3,0 a 3,5 mg/L, alcançando valores superiores a 98µg/L. Os resultados comprovaram que os ensaios com pré-ozonização e sem a realização da cloração na etapa da desinfecção obtiveram uma menor concentração de THM, valores inferiores a 12µg/L, bem menores que as concentrações dos mesmos ensaios realizados com a etapa de desinfecção, mostrando a importância do cloro na formação dos trihalometanos.

A ozonização técnica efetiva para destruição de toxinas tem sido utilizada extensivamente como oxidante e desinfetante em tratamento de águas superficiais para a produção de água potável na Europa e está cada vez mais, sendo aplicado como pré-oxidante nos Estados Unidos. É considerada mais vantajosa que a cloração, pois para promover remoções significativas de toxinas precisa-se de uma concentração relativamente baixa se comparada à quantidade de cloro necessária (HIMBERG *et al.*, 1989).

Segundo Keijola *et al.* (1989), a pós-ozonização é melhor que a pré-ozonização para remover toxinas de águas contendo elevados níveis de células de cianobactérias, pois para a primeira alternativa a capacidade do ozônio seria usada para oxidar praticamente só as toxinas. Diferentemente, na pré-oxidação, o ozônio é consumido por outros compostos orgânicos e inorgânicos, como as células, demandando por isso uma maior dosagem do agente oxidante para garantir a remoção das toxinas.

Estudos realizados por Mondardo, Sens e Filho (2006) na lagoa do Peri, Santa Catarina comprovaram essa teoria, eles observaram que as águas submetidas ao pré-tratamento com ozônio apresentaram melhor qualidade em comparação às águas dos ensaios que utilizaram a pré-cloração. Em relação à redução da concentração de clorofila *a* e fitoplâncton, por exemplo, a pré-ozonização realizada com a dosagem de 2,0 mg de O<sub>3</sub>/L produziu água, após tratamento completo, com concentração de clorofila *a* não detectada pelo método analítico utilizado, e densidade de fitoplâncton inferior a 600 Ind./mL ou 0,04 mm<sup>3</sup>/L.

Os resultados demonstraram que a realização da pré-ozonização com as dosagens de ozônio, utilizadas nesta pesquisa (1,5; 2,0; 2,5 mg de O<sub>3</sub>/L), removeu o fitoplâncton presente nas amostras da água bruta, em mais de 99%, superando em muito a pré-cloração, que com a dosagem de 2,5 mg Cl<sub>2</sub>/L não alcançou 55% de remoção. Observa-se também que o número de fitoplâncton é menor nos ensaios, onde não foi feita a pré-oxidação quando comparado aos ensaios com a pré-cloração. Tal resultado pode ser explicado por uma possível interferência do

cloro no mecanismo de coagulação-química, prejudicando, assim, a remoção de fitoplâncton no processo de clarificação da água.

O emprego do permanganato de potássio foi relatado por Hart *et al.* (1998) e Hrudey *et al.* (1999) como eficiente na remoção de microcistina-LR. Porém, Lam *et al.* (1995) advertem que o uso desse oxidante causa lise das células e liberação de toxinas. Agentes oxidantes tais como peróxido de hidrogênio, raios ultravioletas, dióxido de cloro e cloroaminas não demonstraram efetividade na remoção de cianotoxinas segundo Hart *et al.* (1998) e Nicholson *et al.* (1994).

#### 2.6.2.4 – Utilização de bactérias probióticas

As bactérias probióticas normalmente são bactérias Gram-positivas, microaerófilas, fermentadoras de carboidratos e que produzem ácido lático, razão pela qual também são consideradas “bactérias ácido lácticas” (SALAZAR & MONTROYA, 2003). Essas bactérias são habitantes naturais do trato intestinal humano e também possuem uma história de séculos de uso em comida e produtos fermentados. Um probiótico é definido como: “suplemento alimentar microbiano vivo, que afeta de forma benéfica seu receptor, por meio da melhoria do balanço microbiano intestinal” (HENKER *et al.*, 2007).

Algumas linhagens de bactérias dos grupos, lactobacilos, bifidobactérias e também propionibactérias são comumente utilizadas como probióticos, e recentemente, um grupo de pesquisadores realizaram estudos para a utilização de uma linhagem de *Escherichia coli* com características probióticas (UKENA *et al.*, 2007). Além de linhagens de bactérias o fungo leveduriforme *Saccharomyces boulardii* também é introduzido com frequência (CANANI *et al.*, 2007). Esses probióticos formam os alimentos funcionais que geram efeitos benéficos a saúde humana, através da mucosa intestinal, estando inclusos neste grupo o iogurte, leites fermentados e alguns biscoitos (BOOBIER; BAKER; DAVIES, 2006).

Atualmente, as bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* apresentam maior importância (SALAZAR & MONTROYA, 2003), estando presentes em vários produtos probióticos. As bifidobactérias são bacilos Gram-positivos em forma de V, normalmente encontradas no tubo gastrintestinal da criança e do adulto (TRABULSI *et al.*, 1999), sendo as espécies presentes em adultos e em bebês diferentes (HANSON & YOLKEN, 1999). São anaeróbios, sendo que algumas espécies podem tolerar O<sub>2</sub> somente na presença de CO<sub>2</sub>. A temperatura ótima para o crescimento fica entre 37°C e 41°C, com mínimas entre 25°C e 28°C e máximas de 43°C a 45°C. Desenvolvem-se bem entre pH 6,5 e 7,0 (KRIEG *et al.*, 1984).

Os lactobacilos também são Gram-positivos e em culturas velhas ou na variação acentuada do pH do meio, podem exibir Gram-labilidade. São usualmente finos e relativamente longos muitas vezes produzindo cadeias. Microaerófilos ou anaeróbios, sendo fortes produtores de ácido láctico (BIER, 1990). Normalmente não são móveis, mas quando são, movimentam-se por meio de flagelos peritríquios. Não formam esporos (PRESCOTT *et al.*, 1999). Crescem desde 2°C até 53°C, sendo o ótimo entre 30°C e 40°C. São consideradas bactérias acidúricas, uma vez que o pH ótimo para o crescimento fica entre 5,5 e 6,2, ocorrendo ainda crescimento em pH inferior a 5,0 (SIQUEIRA, 1995). São catalase e citocromo negativos, mas certas cepas conseguem decompor o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por meio de uma pseudocatalase (KRIEG *et al.*, 1984). São encontrados em produtos lácteos, grãos, carnes e pescados, água, esgotos, cerveja, vinho, frutas e sucos de fruta, vegetais em conserva e silagem, além de fazerem parte da flora normal da boca, tubo digestório e vagina (TRABULSI *et al.*, 1999).

Os possíveis mecanismos de ação dos probióticos incluem a síntese de substâncias microbianas contra as bactérias patogênicas, a competição por nutrientes necessários para o crescimento dos microrganismos patogênicos, a inibição da sua adesividade à mucosa intestinal, a modificação do pH do meio intestinal, o aumento da secreção da mucosa, a inativação das toxinas e seus receptores e a estimulação da fagocitose e das respostas imunológicas específicas ou inespecíficas contra os agentes patogênicos (PANT *et al.*, 2007).

Linhagens específicas de bactérias probióticas foram previamente demonstradas como sendo efetivas na remoção de Microcistinas, toxinas produzidas por fungos como Ochratoxinas e Aflatoxinas (TURBIC, *et al.* 2002) e também metais pesados como cádmio e chumbo (HALTTUNEN, *et al.*, 2007). As linhagens de bactérias pró-bióticas *L. rhamnosus* GG e LC-705; *B. lactis*, linhagens 420 e Bb12 e *B. longum* 46 foram recentemente demonstradas como sendo eficientes na remoção de MC-LR (NYBOM *et al.*, 2007). Em Nybom *et al.* (2008<sup>b</sup>), estas linhagens foram escolhidas para avaliar a remoção simultânea de diferentes microcistinas e CYN em solução. As microcistinas escolhidas representaram toxinas com diferentes hidrofobicidades: MC-RR é hidrófila, enquanto MC-LF e MC-LW são mais hidrofóbicas.

As bactérias probióticas foram eficientes na remoção de todas as cianotoxinas testadas. A remoção máxima de microcistinas foi ao redor de 45–80% e de CYN ao redor de 20–30% depois de 24 h de incubação à 37° C. Linhagens de lactobacillos demonstraram ser ligeiramente mais eficientes que a linhagem de bifidobactéria, mas nenhuma diferença significativa podia ser observada entre estas linhagens. As remoções de maior eficiência foram observadas para MC-LF e MC-LW (73 e 80%, respectivamente), eles atribuíram esse

resultado, ao fato, de que, estas microcistinas têm uma estrutura mais hidrofóbica quando comparada com MC-RR ou MC-LR. MC-LF e MC-LW são análogas de MC-LR com fenilalanina e triptofano no lugar de arginina, e foram sugeridas como possuindo células mais permeáveis que a microcistina mais hidrofílica (KUIPER-GOODMAN et Al., 1999).

MC-LF e MC-LW também têm sido demonstradas como tendo atividades de superfície mais altas em modelo de lipídeo de membrana com monocamada, quando comparado a aquela mais hidrófila MC-LR (VESTERKVIST & MERILUOTO, 2003) e deste modo elas poderiam penetrar mais facilmente neste tipo membrana. Estas microcistinas poderiam, então, neste estudo estar mais facilmente disponíveis para reconhecimento e transporte das células probióticas bacterianas, e assim estarem mais prontamente disponíveis para degradação pela bactéria.

Foi demonstrado também que a bactéria probiótica é relativamente efetiva na remoção de CYN, mas a eficácia de remoção foi mais baixa que aquela observada para microcistinas. A estrutura da molécula de CYN, uma guanidina tricíclica ligada a um hidroximetiluracil, podia afetar o possível reconhecimento e degradação da toxina. Microcistinas consistem de um anel peptídico, que diferem da estrutura da CYN. A degradação bacteriana de microcistina-LR por uma linhagem de *Sphingomonas* foi descrita como sendo iniciada por uma abertura do anel peptídico da molécula de microcistina (BOURNE et al., 1996). Devido à estrutura da CYN, a degradação pela bactéria probiótica pode ser mais complicada. Estudos adicionais precisam ainda determinar o mecanismo exato(s) de remoção das toxinas.

Foi demonstrado também por Nybom et al. (2008<sup>b</sup>) que a remoção das toxinas era mais eficiente quando várias microcistinas diferentes estavam presentes na solução. Isto indica que não existe competição entre as toxinas. Os extratos das toxinas aumentavam durante as primeiras horas e então gradualmente diminuía em consequência da adição da bactéria probiótica. O mesmo fenômeno tem sido demonstrado para remoção de MC-LR (NYBOM et al., 2007). A explicação plausível é a viabilidade da bactéria probiótica durante a incubação em solução de PBS, que por sua vez afeta a eficácia de remoção. A viabilidade dessa bactéria foi previamente comprovada como sendo um requisito para a eficiência na remoção de microcistinas em solução (NYBOM et al., 2008<sup>a</sup>).

Como resultado de variações na eficiência de remoção de toxina por diferentes linhagens probióticas, combinações de bactérias podem ser benéficas para a remoção eficiente de microcistinas em solução. Em um estudo efetuado por Nybom et al. (2008<sup>b</sup>) uma mistura de

três linhagens probióticas realçou a habilidade de remoção se comparada com as propriedades das linhagens utilizadas individualmente. Com a combinação probiótica, a remoção de microcistinas podia ser observada em porcentagens de até 80%. Em uma mistura de várias linhagens, as células podem ficar viáveis em solução por mais tempo, o que poderia melhorar suas habilidades de remoção.

Em conclusão, há eficiência na remoção de cianotoxinas, observada em todos os estudos de linhagens probióticas e para todas as cianotoxinas testadas, a bactéria probiótica mostra um resultado promissor, neste sentido elas poderiam ser usadas em desinfecção de cianotoxinas em água potável, ou não e como uma defesa pessoal contra cianotoxinas na área gastrointestinal.

#### 2.6.2.5 – Radiação gama integrada a agentes físicos exógenos

As radiações ionizantes são agentes deletérios do material genético e, por vezes, são capazes de promover quebras nas moléculas de DNA (DSB), as quais, se reparadas inadequadamente ou não reparadas, podem produzir mutações ou levar a apoptose. Determinadas doses de radiação gama podem ser utilizadas para controle de populações de cianobactérias tóxicas se a integridade da membrana celular for preservada, não havendo, portanto, a liberação da toxina ao ecossistema aquático (CAVALCANTE-SILVA e colaboradores, 2006).

Algumas espécies de cianobactérias são menos afetadas pela radiação que outras, a alta resistência apresentada deve-se a eficiência da capacidade de reparo da dupla quebra do DNA (LEVIN-ZAIDMAN, et al., 2003; RAJAN & BELL, 2004). Os mecanismos de defesa e reparo ainda não foram totalmente esclarecidos (IMAMURA, 2002; LEVIN-ZAIDMAN, et al., 2003; RAJAN & BELL, 2004). A alta tolerância das cianobactérias às radiações pode ser entendida por sua origem remota, cerca de 3.8 bilhões de anos atrás, quando radiações ionizantes atingiam o planeta, devido à ausência de proteção através da camada de ozônio (RAWAT, 1998).

Cavalcante-Silva e colaboradores (2006) concluíram em suas análises que a utilização da radiação gama é uma tecnologia promissora que poderá ser direcionada ao manejo de populações de cianobactérias tóxicas, se adequadamente ajustada. Foi observado nesse trabalho que o tratamento que associa radiação gama e posterior aquecimento provoca mais danos celulares do que se aplicados separadamente. A agitação térmica provavelmente interfere destrutivamente nos processos de deslocamento de enzimas reparadoras, impedindo o reparo do DNA e conseqüentemente induzindo a apoptose.

### **3-CONCLUSÃO**

Como verificado nesta revisão, as cianobactérias tóxicas estão presentes em todo mundo, e em vários países há registros de intoxicações causadas por elas, tanto em animais quanto em seres humanos. Nestes registros podemos encontrar também relatos de tragédias que resultaram em mortes de dezenas de pessoas, que acreditavam estar utilizando água provinda de estações geradoras de água própria para consumo humano, ou seja, potável.

As intoxicações com cianotoxinas ocorrem quando a poluição gerada pela ação do homem resulta em uma eutrofização nos cursos d'água, que são utilizados como fonte de abastecimento de água para diferentes seres vivos. Esse excesso de nutrientes causa a proliferação dessas bactérias, que conseqüentemente liberam suas toxinas ao ambiente onde estão.

Estudos recentes visando à identificação dos melhores métodos para remoção de cianobactérias e cianotoxinas são de extrema importância, para ajudar a evitar proliferações e intoxicações, por isso devem ser incentivados. No meu ponto de vista, o investimento em uma solução com utilização de controle biológico, como a utilização de bactérias probióticas, é o que deve ser focado por especialistas, por ser uma remediação natural.

A conscientização da população também é importante para que se possa identificar um manancial recreativo com floração, através da coloração, ou até mesmo sintomas que podem estar sendo causados pela água, mesmo que seja somente para balneabilidade.

Acredito que o incentivo à implantação de Estações de Tratamento de Esgoto em municípios brasileiros, como está sendo realizado através da Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba - CODEVASF e financiamentos de projetos de proteção aos cursos d'água, como os realizados pelo Fundo de Desenvolvimento dos Recursos Hídricos - FIDRHO, juntamente com ações de cobrança vindas de órgãos estaduais, como a exigência de implantação das ETEs nos municípios de Minas Gerais até Agosto do ano de 2010, constituam medidas mitigadoras do problema. Iniciativas como estas tem tido repercussão positiva, resultando em um número cada vez maior de municípios preocupados com a implantação de Estações de Tratamento de Esgotos, reduzindo o impacto dos resíduos gerados pela sua população.

Ademais, ao lado de medidas de implantação de ETE(s) e ETA(s), os órgãos gestores e fiscalizadores devem estar atentos a operações destas unidades de tratamento, visando a

garantia da qualidade da água. Por fim, a população também é um elo importante e essencial para a manutenção da sustentabilidade dos ecossistemas, em especial, o aquático. Neste contexto, medidas como o uso racional da água, redução na produção de rejeitos líquidos e cobrança dos representantes da adoção de soluções eficientes para minimizar o impacto ambiental dos efluentes produzidos são essenciais para que o Brasil não perca toda essa riqueza hídrica que possui em pouco tempo, por falta de atitude. Lutar pelos recursos naturais é lutar pela nossa qualidade de vida.

## BIBLIOGRAFIA

- AN, J. & CARMICHAEL, W. W. Use of a colorimetric protein phosphatases inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularins. *Toxicon*, v.32, p.1495-1507, 1994.
- ALFONSO, A.; LOUZAO, M. C.; VIEYTES, M. R.; BOTANA, L. M. "Comparative study of the stability of saxitoxin and neosaxitoxin in acidic solutions and lyophilized samples." *Toxicon*, v.32 (12), p.1593-1598, 1994.
- ANDERSEN R. A.; KAWACHI M. Traditional microalgae isolation techniques. In: In Algal Culturing Techniques—Andersen R. A., ed. London: Elsevier Academic Press. p.90–91, 2005.
- ARANTES, C. *Uso da Filtração Lenta para a Remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* e Saxitoxinas*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília Departamento de Ciências Fisiológicas, Brasília, DF, 2004.
- AZEVEDO, S. M. F. O.; BRANDÃO, C.C.S. *Cianobactérias Tóxicas na Água para Consumo Humano na Saúde Pública e Processos de Remoção em Água para Consumo Humano*. FUNASA/MS, Brasília, Brasil, 56p, 2003.
- BENHARDT H.; CLASEN J. Flocculation of microorganisms. *Journal Water SRT–Aqua*; v.40(2), p.76-86, 1991.
- BERGER C.; BA N.; GUGGER M.; et al. Seasonal dynamics and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* in lake Guiers (Senegal, West Africa). *FEMS Microbiol. Ecol.* v.57, p.355–366, 2006.
- BIER, O. *Microbiologia e imunologia*. 26. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1990. 1234p.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; MOLICA, R. "Cianobactéria invasora." *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, v.30 (Jan-Jun), p.82-90, 2003.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; KUJBIDA, P.; CARDOZO, K. H. M. et al. A novel rhythm of microcystin biosynthesis is described in the cyanobacterium *Microcystis panniformis* Komare'k et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.326, p.687–694, 2004.
- BOOBIER, W. J.; BAKER, J. S.; DAVIES, B. Development of a healthy biscuit: an alternative approach to biscuit manufacture. *Nutrition Journal*, London, v. 5, n. 7, p. 1-7, 2006.
- BOTHA, N.; VAN DE VENTER, M.; DOWNING, T. G.; SHEPHARD, E. G.; GEHRINGER, M. M. The effect of intraperitoneally administered microcystin-LR on the gastrointestinal tract of Balb/c mice. *Toxicon*, England, v.43, n.3, p.251-254, 2004.
- BOURNE, D. G.; JONES, G. J.; BLAKELEY, R. L.; JONES, A.; NEGRI, A.P.; RIDDLES, P. Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. *Appl. Environ. Microbiol.* v.62, p.4086–4094, 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 29 de dezembro de 2004. "Procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade." *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 de março de 2004.
- BRASIL, CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. RESOLUÇÃO CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Publicada no Diário Oficial da União*, nº 53, de 18 de março de 2005, Seção 1, páginas 58-63. Disponível em: SILVA. M. Qualidade da Água – Resoluções do CONAMA. 280-303.
- BRIAND J. F.; LEBOULANGER C.; HUMBERT J. F.; et al. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming? *J. Phycol.* V.40, p.231–238, 2004.
- BRUCHET, A.; BERNAZEAU, F.; BAUDIN, I. e PIERONNE, P. "Algal toxins in surface waters: analysis and treatment." *Water Supply*, v.16 (1-2), p.619-623, 1998.

BURNS J.; WILLIAMS C.; CHAPMAN A. Cyanobacteria and their toxins in Florida surface waters. Johnson D., Harbison R. D., eds. Proceedings of Health Effects of Exposure to Cyanobacteria Toxins, *State of Science*, Saratoga, 13–14 (Agosto), p.16–21, 2002.

BYTH, S. Palm Island mystery disease. *Medical Journal of Australia*, v.2, p.40-42, 1980.

CANANI, B.; CIRILLO, P.; TERRIN, G.; CESARANO, L.; SPAGNUOLO, M. I.; VINCENZO, A.; ALBANO, F.; PASSARIELLO, A.; MARCO, G.; MANGUSO, F.; GUARINO, A. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. *British Medical Journal*, London, v. 335, n. 7614, p. 340, 2007.

CARBIS, C. R.; RAWLIN, G. T.; GRANT, P.; MITCHELL, G. F.; ANDERSON, J. W.; McCAULEY, I. A study of feral carp *Cyprinus carpio* L., exposed to *Microcystis aeruginosa* at lake Mokoan, Australia, and possible implication on fish health. *Journal of Fish Disease*, England, v.20, n.2, p.81-91, 1997.

CARMICHAEL W. W.; BEASLEY V. R.; BUNNER D. L.; ELOFF J. N.; HALCONER I. R.; GORHAM I. R.; HARADA K. I.; YU M. J.; KRISHNAMURTHY T.; MOORE R. E.; RINEHART K. L.; RUNNEGAR M. T. C.; SKULBERG O. M.; WATANABE M. Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae). *Toxicon*; v.26, p.971-3, 1988.

CARMICHAEL W. W. The toxins of Cyanobacteria. *Scientific American*; v.270(1), v.78-86, 1994.

CARMICHAEL W. W.; AZEVEDO S. M. F. O.; AN J. S.; MOLICA R. J. R.; JOCHIMSEN E. M.; LAU S.; RINEHART K. I.; SHAW G. R.; EAGLESHAM G. K. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*; v.109 (7). In Press, 2001.

CARNEIRO, R. L.; SANTOS, M. E. V.; PACHECO, A. B. F.; AZEVEDO, S. M. F. O. Effects of light intensity and light quality on growth and circadian rhythm of saxitoxins production in *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria). *Journal of Plankton Research* doi:10.1093/plankt/fbp006.

CASTIGLIONI, B., RIZZI, E., FROSINI, A., SIVONEN, K., RAJANIEMI, P., RANTALA, A., *et al.* Development of a universal microarray based on the ligation detection reaction and 16S rRNA gene polymorphism to target diversity of cyanobacteria. *Appl Environ Microbiol*, v.70, p.7161 – 7172, 2004.

CAVALCANTE-SILVA, E., HEREMAN, T. C., BUCH, B., GOUVÊA-BARROS, S., ARTHUR, V., BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C., ARRUDA-NETO, J. D. T. CONTROLE POPULACIONAL DE CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS ATRAVÉS DE RADIAÇÃO GAMA INTEGRADA A AGENTES FÍSICOS EXÓGENOS. IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. 2006.

CHISWEEL, R. K.; *et al.* Stability of cylindrospermopsin, the toxin from Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. Effects of pH, temperature and sunlight on decomposition. In: *Environmental toxicology*, v.14 (1), p.155-161, 1999.

CHOI S. H.; KIM, S. G. Lipopolysaccharide inhibition of rat hepatic microsomal epoxide hydrolase and glutathione-S-transferase gene expression irrespective of nuclear factor  $\kappa$ B activation, *Biochem. Pharmacol*, v.56, p. 1427–1436, 1998.

CHONUDOMKUL D., YONGMANITCHAI W., THEERAGOOL G., *et al.* Morphology, genetic diversity, temperature tolerance and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, cyanobacteria) strains from Thailand and Japan. *FEMS Microbiol. Ecol.*, v.48, p.345–355, 2004.

CHORUS I.; BARTRAM J.; editors. Toxic Cyanobacteria in Water. A Guide to their public health consequences, monitoring and management. London: E&FN Spon; 1999.

CHOW, C. W. K.; HOUSE, J.; VELZEBOER, R. M. A.; DRIKAS, M. e BURCH, M. D. E STEFFENSEN, D. A. "The effect of ferric chloride flocculation on cyanobacterial cells." *Water Research*, v. 32 (3), p.808-814, 1998.

CHOW, C. W. K.; DRIKAS, M.; HOUSE, J.; BURCH, M. D. e VELZEBOER, R. M. A. "The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis Aeruginosa*." *Water Research*, v. 33 (15), p. 3253-

3262, 1999.

CHU, F. S.; HUANG, X.; WEI, R. D. & CARMICHAEL, W. W. Production and characterization of antibodies against microcystins. *Applied Environmental Microbiology*, v. 55, p. 1928-1933, 1989.

CODD, G. A. & ROBERTS, C. (Eds) Public health aspects of cyanobacteria (blue-green algae). Proceedings of a seminar. Public Health Laboratory Service. Association of Medical Microbiologists. *PHLS Microbiology Digest*, v.8, p.78-100, 1991.

CONSOLANDI, C.; BUSTI, E.; PERA, C.; DELFINO, L.; FERRARA, G.B.; BORDONI, R.; *et al.* Detection of HLA polymorphisms by ligase detection reaction and a universal array format: a pilot study for low resolution genotyping. *Hum Immunol*, v. 64, p.168-178, 2003.

COSTA S. M.; AZEVEDO S. M. F. O. Implantação de um Banco de Culturas de Cianofíceas Tóxicas. *Iheringia Série Botânica*, v. 45, p. 69-74, 1994.

CRAIG, M.; LUU, H. A.; MCCREADY, T. L.; WILLIAMS, D.; ANDERSEN, R. J.; HOLMES, C. F. B. Molecular mechanisms underlying the interaction of motuporin and microcystins with type-1 and type-2A protein phosphatases. *Biochemistry and Cell Biology*, v.74, p. 569-578, 1996.

DAHLMANN, J.; RÜHL, A.; HUMMERT, C.; LIEBEZEIT, G.; CARLSSON, P. & GRANALI, E. Different methods for toxin analysis in the cyanobacterium *Nodularia spumigena* (Cyanophyceae). *Toxicon*, v.39, p. 1183-1190, 2001.

DAWSON, R. M. The toxicology of microcystins. *Toxicon*, v.36, p. 953-962, 1998.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. *Métodos e Técnicas de Tratamento de Água*. São Carlos, RiMA, 2 ed., 2. v, 1565 p, 2005.

DRIKAS, M. "Control and/or removal of algal toxins." In: Steffensen, D.A. e Nicholson, B. C. (eds.) *Toxic Cyanobacteria Current Status of Research and Management*. Proceedings of an International Workshop, Austrália, p. 93-102, 1994.

DRIKAS, M. e HRUDEY, S. "Management of cyanobacteria within raw water sources." In: Steffensen, D.A. e Nicholson, B.C. (eds.) *Toxic Cyanobacteria Current Status of Research and Management* . Proceed. of an Internation.Workshop, Austrália, p.125-126, 1994.

DRIKAS, M.; CHOW, C. W. K.; HOUSE, J. e BURCH, M. D. "Using coagulation, flocculation and settling to remove toxic cyanobacteria." *Journal AWWA*, v.93 (2), p.100-111, 2001.

DYBLE J.; PAERL H. W.; NEILAN B. A. Genetic characterization of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolates from diverse geographic origins based on *nifH* and *cpcBA*-IGS nucleotide sequence analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.68, p. 2567-2571, 2002.

ERRIDGE, G.; BENNETT-GUERRERO, E.; POXTON, I.R. Structure and function of lipopolysaccharides, *Microbes Infect.*, v.4, p. 837-851. 2002.

ERHARD, M.; DÖHREN, H. & JUNGBLUT, P. Rapid typing and elucidation of new secondary metabolites of intact cyanobacteria using MALDI-TOF mass spectrometry. In Chorus, I. (Ed), 2001. *Cyanotoxins: occurrence, causes, consequences*. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg, New York, p. 344-353, 2001.

FALCONER, I. R.; RUNNEGAR, M. T. C.; BUCKLEY, T.; HUYN, V. L.; BRADSHAW, P. "Using activated carbon to remove toxicity from drinking water containing cyanobacterial blooms." *Journal AWWA*, v.81 (2), p. 102-105, 1989.

FALCONER, I. R. Health implications of Cyanobacterial (blue-green algae) toxins. In: STEFFENSEN, D.A; NICHOLSON, B. C. *Toxic cyanobacteria current status of research and management*. Proceedings for an International Workshop. Adelaide: American Water Works Association Research Foundation, p.39-44, 1994.

FALCONER, I. "Potential impact on human health of toxic cyanobacteria." *Phycologia*, v.35 (6), p.6-11, 1996.

FALCONER I. R. Algal toxins and human health. In: Hrubec J, editor. The handbook of Environmental Chemistry - Vol.5 - Part C - Quality and Treatment of Drinking Water II. Springer-Verlag. Berlin; p. 53-82, 1998..

FALCONER, I. R. & HUMPAGE, A. R. Preliminary evidence for *in vivo* tumour initiation by oral administration of extracts of the blue green alga *Cylindrospermopsis raciborskii* containing the toxin cylindrospermopsin. *Environmental Toxicology*, v.16, p.192-195, 2001.

FALCONER, I. R.; HUMPAGE, A. R. Health risk assessment of Cyanobacterial (Blue-Green Algal) toxins in drinking water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Basel, v.2, n.1, p.43-50, 2005.

FASTNER J.; HEINZE R.; HUMPAGE A. R.; et al. Cylindrospermopsin occurrence in two German lakes and preliminary assessment of toxicity and toxin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolates. *Toxicon* v. 42, p. 313–321, 2003.

FAVIS, R.; DAY, J.P.; GERRY, N.P.; PHELAN, C.; NAROD, S.; e BARANY, F. Universal DNA array detection of small insertions and deletions in *BRCA1* and *Brca2*. *Nat Biotechnol* v.18, p. 561–564, 2000.

FAWELL J. K.; JAMES C.; JAMES H. A. Toxins from blue-green algae: Toxicological assessment of microcystin-LR and a method for its determination in water. Medmenham: Water Research Centre; 1994.

FERNANDES, C. (2000) REATORES "UASB" - Parte ½. Disponível em: <<http://www.dec.ufcg.edu.br/saneamento/UASB01.html>> Acesso em: 20 de Outubro de 2009, 20:00 hs.

FERNANDES, C. (2000) CAPÍTULO VIII - NOÇÕES SOBRE TRATAMENTO DE ÁGUA (08/13) - Filtração rápida. Disponível em: <[http://www.dec.ufcg.edu.br/saneamento/Tratam08\\_rap.htm](http://www.dec.ufcg.edu.br/saneamento/Tratam08_rap.htm)> Acesso em: 20 de Outubro de 2009, 20:30 hs.

FERNANDES, S. S. *Biodisponibilidade de Cianotoxinas em Bivalves*. Tese de Mestrado em Ecologia Aplicada, Departamento de Zoologia-Antropologia, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2008, 51p.

FERRÃO-FILHO, A. S.; COSTA, S. M.; RIBEIRO, M. G. L. et al. Effects of a saxitoxin-producer strain of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) on the swimming movements of cladocerans. *Environ. Toxicol*, v.23, p. 161–168, 2008.

FIGUEIREDO, D. R.; AZEITEIRO, U. M.; ESTEVES, S. M.; GONÇALVES, F. J.; PEREIRA, M. J. Microcystin-producing blooms-a serious global public health issue. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, New York, v.9, n.2, p.151-163, 2004.

FISCHER, W. J.; DIETRICH, D. R. Pathological and biochemical characterization of microcystin-induced hepatopancreas and kidney damage in carp (*Cyprinus carpio*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, San Diego, v.164, n.1, p.73-81, 2000.

FITZGERALD D. J.; CUNLIFFE D. A.; BURCH M. D. Development of health alerts for cyanobacteria and related toxins in drinking water in South Australia. *Environmental Toxicology*, v.14(1), p. 203-7, 1999.

FONSECA, O. J. M. *Aspecto limnológicos do lago Emboaba, planície costeira setentrional do rio Grande do Sul : morfometria, hidroquímica e degradação de *Scircus californicus* (C.A.MEYER) Stud.* Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de São Carlos. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais. São Carlos, 1991, 247p.

FOUQUET, C.; ANTOINE, M.; TISSERAND, P.; FAVIS, R.; WISLEZ, M.; COMMO, F., et al. Rapid and sensitive p53 alteration analysis in biopsies from lung cancer patients using a functional assay and a universal oligonucleotide array: a prospective study. *Clin Cancer Res* v.10, p. 3479–3489, 2004.

FUNASA. *Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano*. – Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2003. 56 pg.

GARCÍA, C.; BRAVO, M.C.; LAGOS, M.; LAGOS, N. "Paralytic shellfish poisoning: post-mortem analysis of tissue and

body fluid samples from human victims in the Patagonia fjords." *Toxicon*, v. 43, p. 149 – 158, 2004.

GHEZZI, P.; VILLA, P.; ROSSI, V.; BIACHI M.; DINAREALLO, C.A. Role of interleukins-1 in the depression of liver drug metabolism by endotoxin, *Infect. Immun.*, V.54, p. 837–840, 1986.

GOODMAN, E. J.; MD, HUDSON, I. M. D. O.; e DOUGLAS, A. C. R. N. A. Desflurane Vaporizer Uses Minimal Electricity. *Anesth Analg*, v.88, p.1189, 1999

GUGGER M.; LYRA C.; HENRIKSEN P.; et al. Phylogenetic comparison of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, v.52, p. 1867–1880, 2002

GUGGER M. F.; HOFFMANN L. Polyphyly of true branching cyanobacteria (Stigonematales). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* v. 54, p. 349–357, 2004.

GUGGER M.; MOLICA R.; LE BERRE B.; et al. Genetic diversity of *Cylindrospermopsis* strains (Cyanobacteria) isolated from four continents. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.71, p. 1097–1100, 2005.

Guideline for Drinking Water Quality, World Health Organization – WHO, Geneva, 1998.

HAANDE S.; ROHRLACK T.; BALLOT A.; et al. Genetic characterisation of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) isolates from Africa and Europe. *Harmful Alga*, v.7, p. 692–701, 2008.

HAIDER, S.; NAITHANI, V.; VISWANATHAN, P. N.; KAKKAR, P. Cyanobacterial toxins: a growing environmental concern. *Chemosphere*, Oxford, v.52, n.1, p.01-21, 2003.

HALTTUNEN, T., SALMINEN, S., TAHVONEN, R. Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, v. 114, p. 30–35, 2007.

HANSON, L.A.; YOLKEN, R.H. *Probiotics, Other Nutritional Factors, and Intestinal Microflora*. Lippincott: Raven Publishers, 1999.

HARADA K. I.; TSUJI K; WATANABE M. F. Stability of microcystins from cyanobacteria. III. Effect of pH and temperature. *Phycologia*, v.35(6), p.83-8, 1996.

HARADA, K.; KONDO, F. e LAWTON, L. "Laboratory analysis of cyanotoxins." In: Chorus, I. e Bartram, J. (eds.) *Toxic cyanobacteria in water - A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management* . E&FN Spon, Londres, p.369-405, 1999.

HART, J.; FAWEL, J. K. e CROLL, B. "Algal toxins in surface waters: origins and removal during drinking water treatment processes." *Water Supply*, v.16 (1-2), p.611-623, 1998.

HENKER, J.; LAASS, M.; BLOKHIN, B. M.; BOLBOT, Y. K.; MAYDANNIK, V. G.; ELZE, M.; WOLFF, C.; SCHULZE, J. The probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 (EcN) stops acute diarrhoea in infants and toddlers. *European Journal of Pediatrics*, Berlin, v. 166, n. 4, p. 311–318, 2007.

HIMBERG, K.; KEIJOLA, A. M.; HISSVIRTA, L.; PYYSALO, H. e SIVONEN, K. "The effect of water treatment process on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: a laboratory study." *Water Research*, v.23 (8), p.979 – 984, 1989.

HISBERGUES, M., CHRISTIANSEN, G., ROUHIAINEN, L., SIVONEN, K., e BÖRNER, T. PCR-based identification of microcystin-producing genotypes of different cyanobacterial genera. *Arch Microbiol*, v.180, p.402–410, 2003.

HOEGER, S. J.; HITZFELD, B. C. e DIETRICH, R. "Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in drinking water treatment plants." *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2004.

HRUDEY, S.; BURCH, M.; DRIKAS, M. e GREGORY, R. "Remedial measures." In: Chorus, I. e Bartram, J. (eds.) *Toxic cyanobacteria in water - A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management* . E&FN Spon, Londres, p.275-312, 1999.

HUMPAGE A. R., FALCONER I. R. Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss albino mice: determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value. *Environ. Toxicol*, v.18, p.94–103, 2003.

IMAMURA, M., SAWADA, S.; KASAHARA-IMAMURA, M.; HARIMA, K. AND HARADA, K. Synergistic cell-killing effect of a combination of hyperthermia and heavy ion beam irradiation: In expectation of a breakthrough in the treatment of refractory cancers (Review). *Int. J. Mol. Medicine*, v.9, p. 11-18, 2002.

INDRASENA, W. M.; GILL, T. A. "Thermal degradation of paralytic shellfish poisoning toxins in scallop digestive glands." *Food Research International*, v.32, p.49-57, 1999.

ITEMAN I.; RIPPKA R.; DE MARSAC N. T.; et al. rDNA analyses of planktonic heterocystous cyanobacteria, including members of the genera *Anabaenopsis* and *Cyanospira*. *Microbiology-Sgm*, v.148, p.481–496, 2002.

JAMES, H. e FAWELL, J. *Detection and removal of cyanobacterial toxins from freshwaters*. FR O211, Foundation for Water Research, Marlow,1991.

JANSSENS J. G.; BUEKENS A. Assessment of process selection for particle removal in surface water treatment. *Journal Water SRT – Aqua*, v.42(5), p.279-88, 1993.

JONES, G. J.; NEGRI, A. P. "Persistence and degradation of cyanobacterial paralytic shellfish poisons (PSPs) in freshwaters." *Water Research*, v.31(3), p.525-533, 1997.

JOS, A.; PICHARDO, S.; PRIETO, A. I.; REPETTO, G.; VÁZQUEZ, C. M.; MORENO, I.; CAMEÁN, A. M. Toxic cyanobacterial cells containing microcystins induce oxidative stress in exposed tilapia fish (*Oreochromis sp.*) under laboratory conditions. *Aquatic Toxicology*, Amsterdam, v.72, p.261-271, 2005.

KAEBERNICK M.; NEILAN, B. A.; BORNER T.; DITTMAN, E. Light and the transcriptional response of the microcystin biosynthesis gene cluster. *Applied and Environmental Microbiology*, v.66, p.3387-3392, 2000.

JUNGBLUT, A. D.; e NEILAN, B.A. Molecular identification and evolution of the cyclic peptide hepatotoxins, microcystin and nodularin, synthetase genes in three orders of cyanobacteria. *Arch Microbiol*, v.85, p.107–114, 2006.

KARNER, D.; STANDRIGE, J.H.; HARRINGTON, G.W.; BARNUM, R.P. "Microcystin algal toxins in source and finished drinking water." *Journal AWWA*, v.31(8), p.72-81, 2001.

KAWAMURA S. *Integrated design of water treatment facilities*. New York: John Wiley & Sons; 1991.

KEIJOLA, A. M.; HIMBERG, K.; ESALA, A. L.; SIVONEN, K. e HIISVIRTA, L. "Removal of Cyanobacterial Toxins in Water Treatment Processes: Laboratory and Pilot-Scale Experiments." *Toxicity Assessment: An International Journal*, v.3, p.643-656, 1988.

KELLMANN, R.; NEILAN, B. A. Biochemical characterization of paralytic shellfish toxin biosynthesis in vitro. *J. Phycol.*, v.43, p.497–508, 2007.

KIVIRANTA J.; SIVONEN K.; LUUKKAINEN R.; LAHTI K.; NIEMELA S. I. Production and biodegradation of cyanobacterial toxins: A laboratory study. *Arch Hydrobiology*, v.121, p.281-94, 1991.

KRIEG, N. R.; HOLT, J. G.; et al. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 4v, 1984.

KUIPER-GOODMAN, T.; FALCONER, I.; FITZGERALD, Jim. "Human health aspects." In: Chorus, I. e Bartram, J. (eds.) *Toxic cyanobacteria in water - A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management* . E&FN Spon, Londres, p.113-153, 1999

LAGOS N.; ONODERA H.; ZAGATTO P. A.; ANDRINOLO D.; AZEVEDO S. M. F. O.; OSHIMA Y. The first evidence of paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* isolated from Brazil. *Toxicon*, v.37, p.1359-73, 1999.

LAM, A. K. Y.; PREPAS, E. E.; SPINK, D. e HRUDEY, S. E. "Chemical control of hepatotoxic phytoplankton blooms: implications for human health." *Water Research*, v.29(8), p.1845-1854, 1995.

LAMBERT TW, BOLAND MP, HOLMES CFB, HRUDEY SE. Quantitation of the microcystin hepatotoxins in water at environmentally relevant concentrations with the protein phosphate bioassay. *Environmental Science & Technology*, v.28(4), p.753-5, 1994.

LANGLAIS, B.; RECKHOW, D. A.; BRINK, D. R. *Ozone in water treatment. Application and engineering*. Lewis Publishers, Inc., Chelsea, Micg., 1991. 569 p.

LANKOFF, A.; CARMICHAEL, W. W.; GRASMAN, K. A.; YUAN, M. The uptake kinetics and immunotoxic effects of microcystin-LR in human and chicken peripheral blood lymphocytes in vitro. *Toxicology*, Ireland, v.204, n.1, p.23-40, 2004.

LEVIN-ZAIDMAN, S.; ENGLANDER, J.; SHIMONI, E.; SHARMA, A. K.; MINTON, K. W. e MINSKY, A. Ringlike structure of the *Deinococcus radiodurans* genome: a key to radioresistance? *Science*, v.299, p.254-256, 2003.

LI R.; CARMICHAEL W. W.; BRITTAIN S.; et al. Isolation and identification of the cyanotoxin cylindrospermopsin and deoxy-cylindrospermopsin from a Thailand strain of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria). *Toxicon*, v.39, p.973-980, 2001.

LINDSAY J.; METCALF J.S.; CODD G.A. *Protection against the toxicity of microcystin-LR and cylindrospermopsin in Artemia salina and Daphnia spp. by pre-treatment with cyanobacterial lipopolysaccharide (LPS)*. Division of Environmental and Applied Biology, School of Life Sciences, University of Dundee, Dundee DD1 4HN, UK, 2006.

LYRA, C.; SUOMALAINEN, S.; GUGGER, M.; VEZIE, C.; SUNDMAN, P.; PAULIN, L.; e SIVONEN, K. Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *Int J Syst Evol Microbiol*, v.51, p.513-526, 2001.

LONG, W.-H.; XIAO, H.-S.; GU, X.-M.; ZHANG, Q.-H.; YANG, H.-J.; ZHAO, G.-P.; AND LIU, J.-H. A universal microarray for detection of SARS coronavirus. *J Virol Methods*, v.121, p. 57-63, 2004.

MACEDO, J. A. B. e ANDRADE, N.J. *Formação de Trihalometanos em águas cloradas para abastecimento público e indústria de alimentos*. In: 13º CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, Juiz de Fora, Anais... Juiz de Fora – MG: Centro de Pesquisa e Ensino Instituto Cândido Tostes, 1995. 324p. p.45-48, 1995.

MACEDO, A.; MOLINA, A. J. *Controle da floração de cianobactérias e a redução de incidências de gosto e odor na água tratada do Sistema Produtor Alto Tietê*. Sistema de Abastecimento de Água do Estado de São Paulo – SABESP. Divisão de Recursos Hídricos Metropolitanos Leste – MARL, São Paulo – SP, 2008.

MANTI G.; MATTEI D.; MESSINEO V.; et al. First report of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Italy. *Harmful Algal News*, v.28, p.8-9, 2005.

MCGREGOR G. B., FABBRO L. D. Dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanoprokaryota) in Queensland tropical and subtropical reservoirs: implications for monitoring and management. *Lake. Reserv. Manage*, v.5, p.195-205, 2000.

MACKINTOSH, C.; MACKINTOSH, R. W. The inhibition of protein phosphatases by toxins: implications for health and an extremely sensitive and rapid bioassay for toxin detection. In Codd, G. A., Jefferies, T. M., Keevil, C. W., Potter, E. (Eds.), *Detection Methods for Cyanobacterial Toxins*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p.90-99, 1994.

MACKINTOSH, R. W.; DALBY, K. N.; CAMPBELL, D. G.; COHEN, P. T. W.; COHEN, P.; MACKINTOSH, C. The cyanobacterial toxin microcystin binds covalently to cysteine- 273 on protein phosphatase 1. *FEBS Letters*, v.371, p.236-240, 1995.

MATSUNAGA S.; MOORE R.E.; MIEZCZURA W.P.; CARMICHAEL W. W. Anatoxin-a(s), a potent anticholinesterase from *Anabaena flos-aquae*. *Journal of American Chemical Society*, v.111, p.8021-3, 1989.

MATSUNAGA, T.; NAKAYAMA, H.; OKOCHI, M.; e TAKEYAMA, H. Fluorescent detection of cyanobacterial DNA using bacterial magnetic particles on a MAG-microarray. *Biotechnol Bioeng*, v.73, p.400–405, 2001.

MENDES, C. G. N. *Estudo da Coagulação e Floculação de Águas Sintéticas e Naturais com Turbidéz e Cor Variáveis*. 244 p. 2 v. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1989.

MERILUOTO, J.; LAWTON, L. & HARADA K. -I. Isolation and detection of microcystins and nodularins, cyanobacterial peptide hepatotoxins. *Methods in Molecular Biology*, v.145, p.65-87, 2000.

MILUTINOVIC, A.; ZIVIN, M.; ZORC-PLESKOVIC, R.; SEDMAK, B.; SUPUT, D. Nephrotoxic effects of chronic administration of microcystins -LR and -YR. *Toxicol*, Elmsford, v.42, n.3, p.281-288, 2003.

MONDARDO, R. I.; SENS, M. L. e FILHO, L. C. M. Pré-tratamento com cloro e ozônio para remoção de cianobactérias. *Eng. sanit. ambient*. Vol.11 - Nº 4 - out/dez, p.337-342, 2006.

MONSERRAT J. M.; YUNES J. S.; BIANCHINI A. Effects of Anabaena spiroides (cyanobacteria) aqueous extracts on the acetylcholinesterase activity of aquatic species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.20(6). In Press, 2001.

MÓNACO L. Cianobactérias - Algas Azuis. La Atmósfera, Geoquímica, 2008. Disponível em: <www.aquahobby.com> Acesso em: 10 de Janeiro de 2009.

MOUCHET P.; BONNELYE V. Solving algae problems: French expertise and world-wide applications. *Journal Water SRT – Aqua*, v.47(3), p.125-41, 1998.

MSAGATI, T. A. M.; SIAME, B. A.; SHUSHU, D. D. Evaluation of methods for the isolation, detection and quantification of cyanobacterial hepatotoxins. *Aquatic Toxicology*, Amsterdam, v.78, n.4, p.382-397, 2006.

MUR, L. R.; SKULBERG, O. M.; UTKILEN, H. "Cyanobacteria in the environment." In: Chorus, I. e Bartram, J. (eds.) *Toxic Cyanobacteria in Water – A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E&FN Spon, Londres, p.15-39, 1999.

NEILAN B. A.; SAKER M. L.; FASTNER J.; et al. Phylogeography of the invasive cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Mol. Ecol.*, v.12, p.133–140, 2003.

NELSON, D. L. AND COX, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Third edn. Sarvier, São Paulo, 2002.

NEWCOMBE, G e NICHOLSON, B. "Treatment options for the saxitoxin class of cyanotoxins." *Water Science and Technology: Water Supply*, v.2 (5-6), p.271-275, 2002.

NEWCOMBE, G. e NICHOLSON, B. "Water treatment options for dissolved cyanotoxins." *Journal of Water Supply: Research and Technology - AQUA*, v.53 (4), p.227-239, 2004.

NICHOLSON, B.C., ROSITANO, J. E BURCH, M.D. "Destruction of cyanobacterial peptide hepatotoxins by chlorine and chloramine." *Water Research*, v.28 (8), p.1297-1303, 1994.

NISHIWAKI-MATSUSHIMA, R.; OHTA, T.; NISHIWAKI, S.; SUGANUMA, M.; KOHYAMA, K.; ISHIKAWA; CARMICHAEL, W. W.; FUJIKI, H. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, v.118, p.420-424, 1992.

NOBRE, A. C.; NUNES-MONTEIRO, S. M.; MONTEIRO, M. C.; MARTINS, A. M.; HAVT, A.; BARBOSA, P. S.; LIMA, A. A.; MONTEIRO, H. S. Microcystin-LR promote intestinal secretion of water and electrolytes in rats. *Toxicol*, Elmsford, v.44, n.5, p.555-559, 2004.

NYBOM, S. M. K.; SALMINEN, S. J.; MERILUOTO, J. A. O. Removal of microcystin-LR by strains of metabolically active probiotic bacteria. *FEMS Microbiol.*, v. 270, p.27–33, 2007.

NYBOM, S. M. K.; COLLADO, M. C.; SURONO, I. S.; SALMINEN, S. J. e MERILUOTO, J. A. O. Effect of glucose in removal of microcystin-LR by viable commercial probiotic strains and strains isolated from dadih fermented milk. *J. Agric. Food Chem.*, v.56, p.3714–3720, 2008. (a)

NYBOM, S. M. K.; SALMINEN, S. J.; MERILUOTO, J. A. O. Specific strains of probiotic bacteria are efficient in removal of several different cyanobacterial toxins from solution. *Toxicon*, v.52, p.214–220, 2008. (b)

OBEREMM, A. Effects of cyanotoxins on early life stages of fish and amphibians. In Chorus, I. (Ed), 2001. *Cyanotoxins: occurrence, causes, consequences*. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg, New York. 2001pp. 241-248.

OLIVEIRA, J. M. B. Remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* por meio de Sedimentação e Flotação: Avaliação em Escala de Bancada. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DT-085/05, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2005, 122p.

PANOSSO, R.; COSTA I. A. S.; SOUZA, N. R.; ATTAYDE, J. R.; CUNHA, R. S. R.; GOMES, F. C. F. Cianobactérias e Cianotoxinas em Reservatórios do Estado do Rio Grande do Norte e o Potencial Controle das Florações pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Oecol. Bras.*, 11 (3): 443-449, 2007.

PANT, N.; MARCOTTE, H.; BRÜSSOW, H.; SVENSSON, L.; HAMMARSTRÖM, L. Effective prophylaxis against rotavirus diarrhea using a combination of *Lactobacillus rhamnosus* GG and antibodies. *Microbiology*, Edinburgh, v. 7, n. 86, p. 1-9, 2007.

*Percentual de Cepas Tóxicas em Diferentes Gêneros de Cianobactérias no Brasil*. Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias – LETC, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ.

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. *Microbiology*. 4.ed. Boston: McGraw-Hill, 1999. 963p.

PREUßEL K., STÜKEN A., WIEDNER C., et al. First report on cylindrospermopsin producing *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) isolated from two German lakes. *Toxicon*, v.47, p.156–162, 2006.

PRIETO, A. I.; JOS, A.; PICHARDO, S.; MORENO, I.; CAMEÁN, A. M. Differential oxidative stress responses to microcystins LR and RR in intraperitoneally exposed tilapia fish (*Oreochromis* sp.). *Aquatic Toxicology*, Amsterdam, v.77, n.3, p.314-321, 2006.

QUESADA A.; MORENO E.; CARRASCO D.; et al. Toxicity of *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanobacteria) in a Spanish water reservoir. *Eur. J. Phycol.*, v.41, p.39–45, 2006

QIN, S.; ZHAO, X.; PAN, Y.; LIU, J.; FENG, G.; FU, J.; et al. An association study of the *N*-methyl-D-aspartate receptor NR1 subunit gene (*GRIN1*) and NR2B subunit gene (*GRIN2B*) in schizophrenia with universal DNA microarray. *Eur J Hum Genet*, v.13, p.807–814, 2005.

RAJAN, R. e BELL, C. E. (2004) Crystal structure of RecA from *Deinococcus radiodurans*: Insights into the structural basis of extreme radioresistance. *J. Mol. Biol.*, v.344, p. 951-963, 2004.

RAJANIEMI P.; HROUZEK P.; KASTOVSKA K.; et al. Phylogenetic and morphological evaluation of the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Trichormus* and *Nostoc* (Nostocales, Cyanobacteria). *Intl. J. Syst. Evol. Microbiol.*, v.55, p.11–26, 2005.

RANDTKE, S. J. "Organic contaminant removal by coagulation and related process combinations." *Journal AWWA*, v.80(5), p.40-56, 1988.

RANTALA, A.; FEWER, D. P.; HISBERGUES, M.; ROUHIAINEN, L.; VAITOMAA, J.; BÖRNER, T.; e SIVONEN, K. Phylogenetic evidence for the early evolution of microcystin synthesis. *Proc Nat Acad Sci USA*, v. 101, p.568–573, 2004.

RANTALA, A., RAJANIEMI-WACKLIN, P., LYRA, C., LEPISTÖ, L., RINTALA, J., MANKIEWICZ-BOCZEK, J., AND SIVONEN, K. Detection of microcystin-producing cyanobacteria in Finnish lakes with genus-specific microcystin synthetase gene E (*mcyE*) PCR and associations with environmental factors. *Appl Environ Microbiol*, v.72, p.6101–6110, 2006.

- RANTALA, A.; RIZZI E.; CASTIGLIONI, B.; BELLIS, G.; SIVONEN, K. Identification of hepatotoxin-producing cyanobacteria by DNA-chip. *Environmental Microbiology*, v.10(3), p.653–664, 2008.
- RAPALA, J.; LAHTI, K.; RASANEN, L.A.; ESALA, A.; NIEMELA, S.I. e SIVONEN, K. "Endotoxins associated with cyanobacteria and their removal during drinking water treatment." *Water Research*, v.36, p.2627-2635, 2002.
- RAWAT, K. P.; SHARMA, A. e RAO, S. M. Microbiological and Physical Analysis of Radiation Disinfected Municipal Sewage. *Water Res.*, v.32, p. 737-740, 1998.
- RINEHART K. L.; NAMIKOSHI M.; CHOI B. M. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *Journal of Applied Phycology*, v.6, p.159, 1994.
- RIVASSEAU, C.; RACAUD, P.; DEGUIN, A. & HENION, M. C. Development of a bioanalytical phosphatase inhibition test for monitoring of microcystins in environmental water samples. *Analytica Chimica Acta*, v.394, p.243-257, 1999.
- RÜCKER J., STÜKEN A., NIXDORF B., et al. Concentrations of particulate and dissolved cylindrospermopsin in 21 *Aphanizomenon* dominated temperate lakes. *Toxicon*, v.50, p. 800–809, 2007.
- RUDI, K.; SKULBERG, O.M.; SKULBERG, R.; e JAKOBSEN, K.S. Application of sequence-specific labeled 16S rRNA gene oligonucleotide probes for genetic profiling of cyanobacterial abundance and diversity by array hybridization. *Appl Environ Microbiol*, v.66, p. 4004–4011, 2000.
- RUNNEGAR M. T. C.; FALCONER I. R.; SILVER J. Deformation of isolated rat hepatocytes by a peptide hepatotoxin from the blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. *Archives of Pharmacology*, v.317, p.268-72, 1991.
- RUNNEGAR, M., BERNDT, N., KONG, S.-M., LEE, E.Y.C. & ZHANG, L. In vivo and in vitro binding of microcystin to protein phosphatases 1 and 2A. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.216, p.162-169, 1995.
- SÁ, J. C. *Remoção de Microcystis aeruginosa e microcistina pelo processo de filtração lenta*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Brasília, DF, 2002.
- SAKER M. L.; NOGUEIRA I. C. G.; VASCONCELOS V. M.; et al. First report and toxicological assessment of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* from Portuguese freshwaters. *Ecotox. Environ. Safety*, v.55, p.243–250, 2003.
- SAKER, M. L., METCALF, J. S., CODD, G. A.; VASCONCELOS, V. M. Accumulation and depuration of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the freshwater mussel *Anodonta cygnea*. *Toxicon*, v.43, p.185-194, 2004.
- SALAZAR, B.; MONTOYA, C. O. Importancia de los probióticos y prebióticos en la salud humana. *Vitae (Medellín)*, v.10, n.2, p.20-26, 2003.
- SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P. Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. *Nova Hedwigia*, Zeitschrift Für Kryptogamenkunde, Alemanha, v.71, n.3-4, p.359-385, 2000.
- SCHMIDT, K.; KOSKI, M.; ENGSTRÖM-ÖST, J.; ATKINSON, A. Development of Baltic Sea zooplankton in the presence of a toxic cyanobacterium: a mesocosm approach. *Journal of Plankton Research*, Vol.24 n.º.10. p.979-992, 2002.
- SEAWRIGHT A. A.; NOLAN C. C.; SHAW G. R.; CHRISWELL R. K.; NORRIS R. L.; MOORE M. R.; SMITH M. J. The oral toxicity for mice of the tropical cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska). *Environmental Toxicology*, v.14, p.135-42, 1999.
- SICINSKA. P.; BUKOWSKA, B.; MICHALOWICZ, J.; DUDA, W. Damage of cell membrane and antioxidative system in human erythrocytes incubated with microcystin-LR in vitro. *Toxicon*, Elmsford, v.47, n.4, p.387-397, 2006.
- SIQUEIRA, R. S. *Manual de Microbiologia de Alimentos*. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, 1995. 159p.

SIVONEN, K. "Occurrence of toxic cyanobacteria in Finnish fresh waters and the Baltic sea." In: Steffensen, D.A. e Nicholson, B. C. (eds.) *Toxic Cyanobacteria Current Status of Research and Management*. Proceedings of an International Workshop, Austrália, 1994, p.15-18.

SIVONEN, K. & JONES, G. Cyanobacterial toxins. In Chorus, I. & Bartram, J. (Eds). *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. E & FN Spon. London. New York. 1999. p. 41-111.

SOARES, R. M.; MAGALHAES, V. F.; AZEVEDO, S. M. Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions. *Aquatic Toxicology*, Amsterdam, v.70, n.1, p.1-10, 2004.

STÜKEN A.; RÜCKER J.; ENDRULAT T.; et al. Distribution of three alien cyanobacterial species (Nostocales) in northeast Germany: *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Anabaena bergii* and *Aphanizomenon aphanizomenoides*. *Phycologia*, v.45, p.696-703, 2006

SUIKKANEN, S.; ENGSTRÖM-ÖST, J.; JOKELA, J.; SIVONEN, K.; VIITASALO, M. Allelopathy of Baltic Sea cyanobacteria: no evidence for the role of nodularin. *Journal of Plankton Research*, v.28(6), p.543-550, 2006.

SUKENIK A., REISNER M., CARMELI S., et al. Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in mice: Long-term exposure to low doses. *Environ. Toxicol.*, v.21, p.575-582, 2006.

TANGERINO, E. P.; MATSUMOTO, T.; OLIVEIRA, J. N.; LOLLO, J. A. A. *Utilização da Filtração em Múltiplas Etapas, com o Uso de Carvão Ativado Granular e Mantas não Texturizadas na Remoção de algas e Cianobactérias*. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – FEIS, Universidade Estadual de São Paulo – UNESP, 2001.

TERAO K.; OHMORI S.; IGARASHI K.; OHTANI I.; WATANABE M. G.; HARADA K. I.; ITO E.; WATANABE M. Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia natans*. *Toxicon*, v.32, p.833-43, 1994.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. *Microbiologia*. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 586p.

TSUJI K.; NAITO S.; KONDO F.; ISHIKAWA N.; WATANABE M. F.; SUZUKI M.; HARADA K. I. Stability of microcystins from cyanobacteria: effect of light on decomposition and isomerization. *Environmental Science and Technology*, v.28, p.173-7, 1993.

TURBIC, A., AHOKAS, J.T., HASKARD, C.A. Selective in vitro binding of dietary mutagens, individually or in combination, by lactic acid bacteria. *Food Addit. Contam.*, v. 19, p.144-152, 2002..

UKENA, S. N.; SINGH, A.; DRINGENBERG, U.; ENGELHARDT, R.; SEIDLER, U.; HANSEN, W.; BLEICH, A.; BRUDER, D.; FRANZKE, A.; ROGLER, G.; SUERBAUM, S.; BUER, J.; GUNZER, F.; WESTENDORF, A. M. Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 inhibits leaky gut by enhancing mucosal integrity. *Public Library of Science ONE*, Cambridge, v. 2, n. 12, p. 1-9, 2007.

VAJCOVÁ, V.; NAVRÁTIL, S.; PALÍKOVÁ, M. The effect of intraperitoneally applied pure Microcystin-LR on haematological, biochemical and morphological indices of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.). *Acta Veterinária (Brno)*, Brno, v.67, n.4, p. 281-287, 1998.

VASCONCELOS. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Portuguese freshwaters. In Codd, G. A., Jefferies, T. M., Keevil, C. W. & Potter, E. (Eds.). *Detection methods for cyanobacterial toxins*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, 1994, p. 133-135.

VESTERKVIST, P.S., MERILUOTO, J.A. Interaction between microcystins of different hydrophobicities and lipid monolayers. *Toxicon*, v.41, p.349-355, 2003.

VIANA, M. R. *Hidráulica Aplicada às Estações de Tratamento de Água*. 3 ed. 1997.

VLASKI, A.; VAN BREEMEN, A.N. e ALAERTS, G. J. "Optimisation of coagulation conditions for the removal of

cyanobacteria by dissolved air flotation or sedimentation." *Journal Water SRT - Aqua*, v.45(5), p.253-261, 1996.

VOLK, C.; BELL, K.; IBRAHIM, E.; VERGES, D.; AMY, G. e LECHEVALLIER, M. "Impact of enhanced and optimized coagulation on removal of organic matter and its biodegradable fraction in drinking water." *Water Research*, v.34(12), p.3247-3257, 2000.

WENG, D.; LU, Y.; WEI, T.; LIU, Y.; SHEN, P. The role of ROS in microcystin-LR-induced hepatocyte apoptosis and liver injury in mice. *Toxicology*, Ireland, v.232, p.15-23, 2007.

WORMER L., CIRES S., CARRASCO D., et al. Cylindrospermopsin is not degraded by co-occurring natural bacterial communities during a 40-day study. *Harmful Algae*, v.7, p.206–213, 2008.

YILMAZ M., PHLIPS E. J., SZABO N. J., et al. A comparative study of Florida strains of *Cylindrospermopsis* and *Aphanizomenon* for cylindrospermopsin production. *Toxicon*, v.51, 130–139, 2008.

YOO R. S.; CARMICHAEL W. W.; HOEHN R. C.; HRUDEY S. E. Cyanobacterial (Blue-Green Algal) toxins: A resource guide. AWWA Research Foundation and American Water Works Association; 1995.

ZHAN, L; SAKAMOTO, H.; SAKURABA, M.; WU DE S.; ZHANG, L.S.; SUZUKI, T.; HAYASHI, M.; HONMA, M. Genotoxicity of microcystin-LR in human lymphoblastoid Tk6 cells. *Mutation Research*, v.557, n.1, p.01-06, 2004.

ZHANG, J.; ZHANG, H.; CHEN, Y. Sensitive apoptosis induced by microcystins in the crucian carp (*Carassius auratus*) lymphocytes in vitro. *Toxicology in Vitro*, Oxford, v.20, p.560-566, 2006.