



UNIVERSIDADE  
EDUARDO  
MONDLANE

**FACULDADE DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**LICENCIATURA EM QUÍMICA AMBIENTAL**

**TRABALHO DE LICENCIATURA**

**BIOTOXINAS MARINHAS NA COSTA MOÇAMBICANA:  
TRIAGEM E EPIDEMIOLOGIA NAS CIDADES DE MAPUTO E  
MATOLA**

**Autora:**

Benilde Francisco Chongole

Maputo, Agosto de 2024



UNIVERSIDADE  
E D U A R D O  
M O N D L A N E

**FACULDADE DE CIÊNCIAS**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**LICENCIATURA EM QUÍMICA AMBIENTAL**

**BIOTOXINAS MARINHAS NA COSTA MOÇAMBICANA:  
TRIAGEM E EPIDEMIOLOGIA NAS CIDADES DE MAPUTO E  
MATOLA**

Trabalho de Licenciatura submetido ao  
Departamento de Química da Faculdade de  
Ciências da Universidade Eduardo  
Mondlane para obtenção do grau de  
Licenciatura em Química Ambiental

**Supervisor:** Doutor Isidro José Tamele

**Filiação:** Faculdade de Ciências da Universidade Eduardo Mondlane

**Autora:** Benilde Francisco Chongole

Maputo, Agosto de 2024

## **DEDICATÓRIA**

Este trabalho é dedicado, em primeiro lugar a Deus, por me ter dado saúde e força para superar as dificuldades. E em especial aos meus pais Francisco Uaquene Chongole e Amélia João Novela, que mesmo plenas as dificuldades sempre me apoiaram, me incentivaram na carreira estudantil e depositaram confiança em mim.

## AGRADECIMENTO

Em primeiro lugar, quero agradecer a Deus que sem a vontade e propósito Dele nenhum dos meus objectivos de vida triam-se concretizado incluindo a realização deste trabalho do fim do curso.

Ao meu Supervisor Doutor Isidro Tamele, pelo acompanhamento, paciência esclarecimento de todas as dúvidas para a realização deste trabalho. Agradeço ao Doutor Pedro Costa do Laboratório Nacional de Monitorização de Biotoxinas Marinhas do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA) em Lisboa pela sua disponibilidade para a quantificação de biotoxinas marinhas. A todos os colegas do Departamento de Química e do curso de Química Ambiental, em especial: Hermenegildo Tinga, Arlindo Nhabetse, Francisco Boane, Stela Henrique e Sheila Munguambe.

Agradeço aos meus irmãos Constantino Chongole, Nélia Chongole, Élia Chongole, Liza Chongole, Chirly Chongole e à minha cunhada Margarida Chemene pelo incentivo e todo o apoio ao longo da minha formação. Agradeço também aos meus avós José Langa, Helena Matsimbe e Hermenegildo Langa, pelo sustento em orações, conselhos e muito mais.

Um especial agradecimento aos conselhos comunitários de pesca e a todas instituições de saúde que disponibilizaram o seu tempo respondendo aos inquéritos. Finalmente, quero agradecer ao Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental da Universidade do Porto, gestor do projecto BLUESHELLFISH pelo apoio financeiro para amostragem e aquisição de consumíveis de laboratório e ao IPMA pela disponibilidade de cromatografias e aparelhos para a quantificação de biotoxinas.



## **DECLARAÇÃO DE HONRA**

Eu, Benilde Francisco Chongole, declaro por minha honra que este trabalho de culminação de curso é fruto do trabalho da minha autoria e nunca foi apresentado em nenhuma outra instituição para obtenção de qualquer nível académico. Estão indicadas na página das referências todas as fontes por mim consultadas para a sua elaboração.

Maputo, Agosto de 2024

---

(Benilde Francisco Chongole)

## RESUMO

Vários casos recorrentes de intoxicação alimentar envolvendo organismos marinhos são relatados em Moçambique. De 2018 a 2021, foram confirmados 21 casos de intoxicação humana envolvendo marisco nas províncias de Nampula e Zambézia. Doutro lado, o governo de Moçambique recomenda o controlo de biotoxinas marinhas em bivalves. Assim sendo, o presente trabalho tem como objectivo, avaliar a ocorrência de biotoxinas marinhas (BM) na costa moçambicana bem como estudar a epidemiologia através dos conselhos comunitários de pesca (Katembe, Pescador, Hanhane, Km 16, Escola de Pesca, Triunfo e Macaneta) e instituições de saúde (Centro de saúde da Machava 2 - CSM, Hospital Geral José Macamo - HGJM e Instituto Nacional de Saúde - INS) moçambicanas. Para tal, fez-se o estudo do estado da arte sobre BM em Moçambique, Inquéritos aos conselhos comunitários de pesca (CCP) e instituições de saúde (IS) e amostragem de bivalves em Inhaca (*Opheodosoma* sp., *Pinna murica*, *Pinna* sp.) e no bairro pescador na Costa do Sol (*Anadara antiquata* e *Solen capensis*) em agosto de 2023 para a triagem de BM usando LC-MS/MS em Portugal. Foram encontradas as pinatoxinas (A, D, E, F, G) e espirolides (SPX1) em várias espécies de bivalves nomeadamente *Pinna murica* (PnTX A e D), *Solen capensis* (PnTX E, F, G e SPX1C), *Pinna* sp. (PnTX E, F e G), *Anadara antiquata* (PnTX E, F e G e SPX1C). Dos 7 conselhos comunitários de pesca inquiridos, apenas 2 CCPs contêm sistema de conservação, secagem ou fumigação do marisco e apenas 1 afirmou ter ouvido falar de BM e que são muito tóxicas. Todos os CCPs capturam vários peixes venenosos incluindo, peixe-balão (família *Tetraodontidae*), peixe escrivão (*Eucinostomus gula*). Em relação á instituições de saúde inquiridas, apenas CSM confirmou casos de intoxicação humana envolvendo peixes e camarão na Cidade da Matola enquanto o INS e HGJM confirmaram vários casos de intoxicação envolvendo carnes e vegetais nos últimos 5 anos. O INS possui um departamento específico e pessoal treinado para gestão de casos de intoxicação alimentar. Deste trabalho, recomenda-se a monitorização de BM no marisco, treinamento ao pessoal de saúde na matéria de BM incluindo conscientização e sensibilização sobre o risco das biotoxinas marinhas.

**Palavras-chaves:** Algas nocivas, biotoxinas marinhas, intoxicação, marisco.

## ABSTRACT

Several recurrent cases of food poisoning involving marine organisms are reported in Mozambique. From 2018 to 2021, 21 cases of human poisoning involving shellfish were confirmed in the provinces of Nampula and Zambézia. On the other hand, the government of Mozambique recommends the control of marine biotoxins (MB) in bivalves. Therefore, the present work aims to evaluate the occurrence of MB on the Mozambican coast as well as study the epidemiology through community fishing councils (Katembe, Pescador, Hanhane, Km 16, Escola de Pesca, Triunfo and Macaneta) and health institutions (Machava 2 Health Center - CSM, General Hospital José Macamo - HGJM and National Institute of Health - INS) in Mozambique. For that, a state-of-the-art on MB in Mozambique was carried out, surveys of community fishing councils (CFC) and health institutions (HI) and sampling of bivalves in Inhaca (*Opheodosoma sp.*, *Pinna murica*, *Pinna sp.*) and Costa do Sol zone (*Anadara antiquata* and *Solen capensis*) in August 2023 for MB screening using LC-MS/MS in Portugal. *Pinatoxins* (A, D, E, F, G) and *Espirolides* (SPX1) were found in several species of bivalves, namely *Pinna murica* (PnTX A and D), *Solen capensis* (PnTX E, F, G and SPX1C), *Pinna sp.* (PnTX E, F and G), *Anadara antiquata* (PnTX E, F and G and SPX1C). Among 7 CFCs surveyed, only 2 CFCs contain a system for preserving, drying or fumigating seafood and only 1 stated that they had heard about MB and that they are very toxic. All CFCs capture several poisonous fishes, including pufferfishes (family *Tetraodontidae*), escrivão fish (*Eucinostomus gula*). Regarding the health institutions surveyed, only CSM confirmed cases of human poisoning involving fish and shrimp in City of Matola while INS and HGJM confirm cases of poisoning involving meat and vegetables in the last 5 years. The INS has a specific department and trained staff to manage food poisoning cases. From this work, it is recommended to monitor BM in seafood, training of health staff for BM intoxication recognizing including awareness about the risk of MB.

**Keywords:** intoxication, harmful algae, marine biotoxins, shellfish.

## ÍNDICE

Conteúdo	Página
DEDICATÓRIA .....	i
AGRADECIMENTO .....	ii
DECLARAÇÃO DE HONRA .....	iii
RESUMO .....	iv
ABSTRACT .....	v
ÍNDICE .....	vi
ABREVIATURAS .....	viii
ÍNDICE DE TABELAS .....	x
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
ÍNDICE DE EQUAÇÕES .....	xii
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>- 1 -</b>
<b>1.1. Problematização.....</b>	<b>- 1 -</b>
<b>1.2. Metodologia.....</b>	<b>- 2 -</b>
<b>1.3. Hipóteses.....</b>	<b>- 2 -</b>
<b>1.4. Limitação do Estudo .....</b>	<b>- 2 -</b>
<b>1.5. Objectivos.....</b>	<b>- 3 -</b>
<b>1.5.1. Objectivos Gerais.....</b>	<b>- 3 -</b>
<b>1.5.2. Objectivos Específicos .....</b>	<b>- 3 -</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>- 4 -</b>
<b>2.1. Algas Marinhas Nocivas e Biotoxinas Marinhas.....</b>	<b>- 4 -</b>
<b>2.1.1. Biotoxinas Marinhas Lipofílicas - Grupos das Iminas Cíclicas.....</b>	<b>- 10 -</b>
<b>2.2. Classificação de Biotoxinas Marinhas.....</b>	<b>- 12 -</b>
<b>2.3. Classificação de Ecossistema Aquático e Espécies habitantes no ecossistema aquático.....</b>	<b>- 14 -</b>
<b>2.4. Monitorização e Métodos de Detenção de Algas Nocivas e Biotoxinas Marinhas</b>	<b>- 18 -</b>
<b>2.5. Ocorrência de Algas Nocivas e Biotoxinas Marinhas em Moçambique .....</b>	<b>- 18 -</b>

<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	- 20 -
<b>3.1. Localização Geográfica da Área de Estudo</b> .....	- 20 -
<b>3.2. Trabalho de Campo</b> .....	- 20 -
<b>3.2.1. Inquéritos</b> .....	- 20 -
<b>3.2.2. Amostragem</b> .....	- 22 -
<b>3.3. Trabalho Laboratorial</b> .....	- 23 -
<b>3.3.1. Reagentes e Equipamentos</b> .....	- 23 -
<b>3.3.2. Preparação das Amostras, Extração e Triagem de Biotoxinas Marinhas</b> .-	23 -
<b>3.3.3. Cálculo da Concentração das Biotoxinas Marinhas Lipofílicas</b> .....	- 25 -
<b>4. RESULTADOS</b> .....	- 26 -
<b>4.1. Inquéritos</b> .....	- 26 -
<b>4.1.1. Inquéritos – Conselhos Comunitários de Pesca</b> .....	- 26 -
<b>4.1.2. Inquéritos – Instituições de Saúde</b> .....	- 27 -
<b>4.2. Biotoxinas Marinhas</b> .....	- 28 -
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	- 32 -
<b>5.1. Inquéritos – Conselhos Comunitários de Pesca</b> .....	- 32 -
<b>5.2. Inquéritos – Instituições de Saúde</b> .....	- 33 -
<b>5.3. Biotoxinas Marinhas</b> .....	- 34 -
<b>6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES</b> .....	- 37 -
<b>6.1. Conclusões</b> .....	- 37 -
<b>6.2. Recomendações</b> .....	- 37 -
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	- 38 -
<b>ANEXO I – Inquéritos aos Conselhos Comunitários de Pesca</b> .....	- 44 -
<b>ANEXO II – Inquéritos á Instituições de Saúde</b> .....	- 48 -

## ABREVIATURAS

ANSES	Agência Francesa para Alimentos Seguros
AO	<i>Okadaic Acid</i> (ácido ocadaíco)
ASP	<i>Amnesic shellfish poisoning</i> (envenenamento amnésico por marisco)
AZA	<i>Azaspiracid</i> (Azaspirácidos)
AZP	<i>Azaspiracid poisoning</i> (envenenamento por azaspirácidos)
CCP	Conselho Comunitário de Pesca
CFP	<i>Ciguatoxin fish poison</i> (Intoxicação Ciguatérica por peixe)
Cis	<i>Cyclic imines</i> (iminas cíclicas)
CTX	<i>Ciguatoxins</i> (ciguatoxinas)
CSM	Centro de Saúde da Machava 2
DA	<i>Domoic Acid</i> (ácido domóico)
DSP	<i>Diarrhetic shellfish poisoning</i> (envenenamento diarreico por marisco)
ELISA	<i>Enzyme-linked immuno sorbent assay</i> (imune ensaio enzimático)
EUA	Estados Unidos da América
EU	<i>European Union</i> (União Europeia)
EFSA	<i>Science safe food sustainability</i> (ciência, alimentação segura, sustentabilidade)
FLD	<i>Fluorescence detector</i> (detector de fluorescência)
GYM	<i>Gymnodiminas</i> (gimnodimines)
HABs	<i>Harmful algal blooms</i> (proliferação de algas nocivas)
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> (Cromatografia líquida de alta eficiência)
HGJM	Hospital Geral José Macamo
H	Hidrolisados
IPMA	Instituto Português do Mar e da Atmosfera
IS	Instituições de Saúde
INS	Instituto Nacional de saúde
LC	<i>liquid chromatography</i> (cromatografia líquida)
LMB	<i>Lipophilic marine biotoxins</i> (toxinas marinhas lipofílicas)
MB	<i>Marine biotoxins</i> (biotoxinas marinhas)
MS	Espectrometria de massa
NSP	<i>Neurologic shellfish poisoning</i> (envenenamento neurológico por marisco)
NH	Não Hidrolisados

NZ	Nova Zelândia
PbTXs	Brevetoxinas
PnTX	Pinatoxinas
PSP	<i>Paralytic shellfish poisoning</i> (envenenamento paralisante por marisco)
PtTX	Pteriatoxinas
PTX	Pectenotoxinas
PITXs	Palitoxinas
RP	fase reversa
RRHT	<i>Rapid resolution High Throughput</i> (Alto rendimento de resolução rápida)
SB	<i>Stable Bond</i> (Ligação química estável)
Sínd.	Síndrome
SPE	extração em fase sólida
SPX	Espiroolides
STX	Saxitoxina
TTXs	Tetrodotoxinas
YTX	Yessotoxinas

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Biotoxinas marinhas (BM) mais estudadas no mundo, seus produtores (HABs), mecanismo de ação, sintomas e limites máximos permitidos em várias partes do mundo. UE – União Europeia, EUA – Estados Unidos da América, P-CTX-1 – ciguatoxina 1 do Oceano Pacífico, AO – ácido ocadaíco e derivados, CTX- ciguatoxina e derivados, CI – iminas cíclicas e derivados, SPX - espirolides, PnTX - pinatoxinas, PtTX – pteriatoxinas, GYM – gymnodiminas, PbTX – brevetoxinas, PTX – pectenotoxinas, YTX – yessotoxinas ou iessotoxinas, AZA – Azaspirácidos, DA – ácido domóico, STX-saxitoxinas, TTX – tetrodotoxinas, PITX – palitoxinas .....	- 5 -
<b>Tabela 2.</b> Estruturas química de biotoxinas lipofílicas de grupos das iminas cíclicas. -	10 -
<b>Tabela 3.</b> Tipos de espécies habitantes no ecossistema aquáticos .....	- 16 -
<b>Tabela 4.</b> Resumo de protocolos otimizados para extração e quantificação de BM em extractos de pescado para o consumo humano. Sínd. – síndrome, SPE (extração em fase sólida), RP (fase reversa), LC (cromatografia líquida), FLD (detector de fluorescência), PSP – envenenamento paralisante por marisco, STXs – saxitoxinas, SB –ligação química estável, RRHT – Alto rendimento de resolução rápida. ....	- 24 -

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Cadeia alimentar aquático..... - 17 -
- Figura 2.** Mapa da província de Maputo indicando as zonas onde foram feitos os inquéritos e amostragens. Círculo a preto indica os locais onde estão localizados os CCPS inquiridos nomeadamente, Katembe, Pescador, Hanhane, Km 16, Escola de Pesca, Triunfo e Macaneta. Círculo a vermelho com cruz indica as instituições de saúde inquiridas respectivamente Centro de saúde da Machava 2, Hospital Geral José Macamo e Instituto Nacional de Saúde. Círculo a preto com cruz indica locais da amostragem, Ilha do Inhaca e Bairro Pescador na Costa do Sol..... - 21 -
- Figura 3.**Imagens de espécies colhidas na Ilha do Inhaca, duas espécies de bivalves e uma estrela do mar..... - 22 -
- Figura 4.**Imagens de espécies de bivalves colhidas na Costa do Sol..... - 22 -
- Figura 5.**Cromatograma de PnTXs detectadas nas amostras *Anadara antiquata*, *Solen capensis*, *Pinna sp.* e *Pinna murica*. O tempo de retenção é 3.4, 3.10, 3.40, 3.2, 3.70 e 3.80 minutos para SPX, PnTX A, PnTX D, PnTX E, PnTX F e PnTX G respectivamente. .... - 29 -
- Figura 6.**Biotoxinas marinhas encontradas em cada espécie. SPX1 –13-desmetill espirolide C; PnTXs (A, D, E, F e G) – pinatoxinas A, D, E, F, e G. barras pretas – extractos não hidrolisados (H), barras transparentes – extractos hidrolisados (NH). Neste trabalho não foram usadas réplicas para cada espécie, mas sim grupo, ou melhor agrupou se vários indivíduos de cada espécie até garantir a quantidade suficiente prevista nos protocolos (5g) para determinação de BM. .... - 30 -

## ÍNDICE DE EQUAÇÕES

**Equação 1.** Fórmula matemática para o cálculo da concentração de pinatoxinas em amostras de pescado usado em laboratórios oficiais de monitorização de BM na UE. Onde: **y** = área do pico do cromatograma, **b** = coeficiente de intercepção linear, **a** = declive da curva de calibração, **V<sub>T</sub>** = volume total do extracto bruto (20mL), **V<sub>H</sub>** = Volume do extracto usado para a hidrólise, **V<sub>F</sub>** = volume final volume do extracto após hidrólise (e lavagem / concentração), **m** = massa da amostra (2 g), **D** = factor de diluição (se o extracto tiver sido diluído). ..... - 25 -

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Problematização

A necessidade de estabelecer os procedimentos específicos referentes aos requisitos hígio-sanitários e respectivos controlos para a produção e colocação no mercado de moluscos bivalves vivos e processados tem sido salientada pelo governo moçambicano através do Diploma Ministerial n.º 200/2011 de 3 de agosto publicado no Boletim da República número 31 I SÉRIE. No artigo 3 do mesmo diploma específica na necessidade do controlo rigoroso de biotoxinas marinhas em moluscos em Moçambique ("Ministério de Pescas," 2011). Em Moçambique, a escassez de estudos relacionados à ocorrência de Algas Marinhas Nocivas (HABs) já foi evidenciada por Tamele e colaboradores (Tamele *et al.*, 2019a). Doutro lado, vários casos recorrentes de intoxicação alimentar envolvendo organismos marinhos são relatados pelas autoridades moçambicanas de saúde (Tamele *et al.*, 2023). Paradoxalmente, a ausência de um Programa de Monitorização e a falta de pessoal de saúde treinado para reconhecer sintomas específicos de intoxicação por marisco tornam-se aparentes. Além disso, a limitação de informação estende-se desde ausência de divulgação nos centros de saúde para a comunidade. A população moçambicana, na sua maioria, não conhece a existência de intoxicação por biotoxinas marinhas e os riscos associados tanto para próprias espécies marinhas assim como para os humanos (saúde pública). O consumo do pescado ocorre sem análise prévia, e a população adquire e consome produtos marinhos sem plena consciência dos perigos associados. Este cenário, no qual a população vive é um risco inconsciente, destaca a urgência de ações preventivas e de conscientização (Tamele *et al.*, 2023).

Diante dessas circunstâncias, no presente trabalho propõe-se crucialmente conscientizar a população moçambicana sobre os riscos associados às biotoxinas marinhas. Considerando a falta de programas estruturados de monitorização e de informação nos centros de saúde, este estudo busca preencher uma lacuna crítica ao promover a conscientização geral e contribuir para a implementação de medidas de proteção para a saúde pública.

## 1.2. Metodologia

O presente trabalho teve a seguinte metodologia:

- **Revisão da Literatura:** Revisão da literatura constituiu basicamente na recolha de informação/dados em artigos científicos publicados em revistas indexadas de elevado factor de impacto tais como biotoxinas, drogas marinhas, tóxico, *EFSA* assim como em *sites* governamentais de vários países que monitoram as biotoxinas marinhas tais como Estados Unidos da América, União Europeia, Nova Zelândia, África do Sul, dentre outros. As palavras-chaves usadas na revisão da literatura foram: biotoxinas marinhas; monitoramento de biotoxinas marinhas, costa Moçambicana, envenenamento por marisco, proliferação de algas nocivas, maré vermelha, marisco seguro, entre outras.
- **Inquéritos:** Inquéritos aos conselhos comunitários de pesca (CCP) e instituições de saúde (IS) foram realizados nas cidades de Maputo e Matola para perceber o nível de consciência e controlo de BM.
- **Amostragem, preparação das amostras de bivalves e triagem de biotoxinas marinhas legisladas e emergentes:** três espécies foram colhidas na Ilha do Inhaca e outras duas no Costa do Sol em agosto de 2023 para triagem de BM.

## 1.3. Hipóteses

Neste trabalho, estudou-se a seguinte hipótese: as biotoxinas marinhas da costa moçambicana constituem uma ameaça à Saúde Pública.

## 1.4. Limitação do Estudo

Por se tratar dum tema bastante emergente em Moçambique e na costa africana do Oceano Índico em geral, houve muita limitação para acesso à informação relacionada á biotoxinas marinhas tanto para a revisão da literatura assim como para dados nas autoridades de saúde e ambientais moçambicanas. Doutro lado, houve também limitação para acesso aos conselhos comunitários de pesca e instituições de saúde nas cidades de Maputo e Matola devido à falta de verbas para a logística de transporte e outros custos associados.

## **1.5. Objectivos**

### **1.5.1. Objectivos Gerais**

- Avaliar a ocorrência de biotoxinas marinhas no marisco da costa moçambicana;
- Estudar a epidemiologia de biotoxinas marinhas e marisco tóxico junto dos conselhos comunitários de pesca e instituições de saúde moçambicanas.

### **1.5.2. Objectivos Específicos**

- Recolher várias espécies de marisco da costa moçambicana, na Ilha do Inhaca e na Costa do Sol;
- Extrair, detectar e quantificar as biotoxinas marinhas legisladas na União Europeia e as não legisladas (emergentes) usando protocolos otimizados em laboratórios oficiais de biotoxinas marinhas em Portugal;
- Inquirir os 7 conselhos comunitários de pesca e 3 instituições de saúde nas cidades de Maputo e Matola sobre algas nocivas e biotoxinas marinhas.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Algas Marinhas Nocivas e Biotoxinas Marinhas

Algas marinhas nocivas (*harmful algal bloom- HABs*) são a proliferação de algas marinhas com um potencial de produzir metabólitos secundários tóxicos designados como biotoxinas marinhas (BM) (Anabtawi *et al.*, 2024; Igwaran *et al.*, 2024). Esta proliferação é comumente designada “maré vermelha” e pode ser causada por eutroficação dos ambientes marinhos (Igwaran *et al.*, 2024), por sua vez pode ser aumentada por mudanças climáticas (temperatura e acidificação dos oceanos) (Feng *et al.*, 2024). As algas nocivas mais destacadas incluem as cianobactérias, diatomáceas, dinoflagelados e bactérias marinhas (Tamele *et al.*, 2019a). As biotoxinas marinhas são produzidas por diferentes organismos, incluindo algas (Lee *et al.*, 2024), que podem produzir uma gama variada de BM com diferentes toxicidades e mecanismos de ação (Tamele *et al.*, 2019a). Infelizmente estas BM são tóxicas não só para ambientes marinhos, mas também em humanos através da cadeia trófica (Tamele *et al.*, 2019a), a principal via de exposição humana às biotoxinas marinhas através do consumo das espécies marinhas contaminadas (Lee *et al.*, 2024), uma vez que elas se bioacumulam em organismos marinhos de consumo humano tais como peixes, bivalves e crustáceos. Os moluscos bivalves são reconhecidos por apresentarem riscos específicos para a segurança alimentar por bioacumularem as biotoxinas marinhas (O’Mahony, 2018).

Devido a essa capacidade de causar danos na saúde humana incluindo mortes, algumas BM são monitoradas em várias partes do mundo tais como União Europeia, Estados Unidos da América, Nova Zelândia, Austrália, Japão, África do Sul (Tamele *et al.*, 2023). A tabela 1, descreve algumas BM mais estudadas no mundo bem como os seus produtores (HABs), mecanismo de ação, sintomas e limites máximos permitidos em vários países. Contudo, existem outras BM menos estudadas tais como *microcistinas*, *anatoxinas*, *homoanatoxinas*, *lingbyatoxinas*, *antillatoxina*, *kalkitoxina*, *cilindrospermopsinas*, *aplisiatoxina*, *debromoaplysiatoxina*, *jamaicamides*, dentre outras.

**Tabela 1.** Biotoxinas marinhas (BM) mais estudadas no mundo, seus produtores (HABs), mecanismo de ação, sintomas e limites máximos permitidos em várias partes do mundo. UE – União Europeia, EUA – Estados Unidos da América, P-CTX-1 – ciguatoxina 1 do Oceano Pacífico, AO – ácido ocadaíco e derivados, CTX- ciguatoxina e derivados, CI – iminas cíclicas e derivados, SPX - espirolides, PnTX - pinatoxinas, PtTX – pteriatoxinas, GYM – gymnodiminas, PbTX – brevetoxinas, PTX – pectenotoxinas, YTX – yessotoxinas ou iessotoxinas, AZA – Azaspirácidos, DA – ácido domóico, STX-saxitoxinas, TTX – tetrodotoxinas, PITX – palitoxinas (Alexander, Jan *et al.*, 2009; Alexander *et al.*, 2008a, b; Alexander, Jan *et al.*, 2009a, b, c; Alexander *et al.*, 2010a, b, c)

<b>BM</b>	<b>HAB</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Sintomas</b>	<b>Limites permitidos</b>
<b>AO</b>	Dinoflagelados: <i>Prorocentrum spp.</i> <i>Dinophysis spp. e</i> <i>Phalacroma</i> <i>rotundatum</i>	Inibição de serina/treonina fosfoproteína fosfatases do tipo 1,2,2B,4,5	Diarreia, náusea, vômitos, dor abdominal e formação de tumor no sistema digestivo	0.16mg AO equivalentes/Kg na EU
<b>CTX</b>	Dinoflagelados: <i>Gambierdiscus</i> <i>toxicus,</i> <i>Ostreopsis siamensis</i> <i>e Prorocentrum</i> <i>Lima</i>	Elevação da concentração de iões de cálcio e activação de canais catiónicos não selectivos em células que causam efeitos neurológicos em humanos	Vômitos, diarreia, náuseas, hipotensão e morte devido a falhas respiratórias em 30 min depois do consumo do peixe	0.01 µg P-CTX-1 equivalentes/kg nos EUA
	Dinoflagelados: SPXs: <i>Alexandrium</i>	Inibição de receptores nicotínicos e muscarínicos de acetilcolina (mAChR	Sintomas inespecíficos, desconforto gástrico e taquicardia em humanos	Não legislados

<b>CI</b>	spp., <i>GYMs</i> : <i>Gymnodium</i> spp., PnTXs: <i>Vulcanodinium</i> <i>rugosum</i> e PtTXs: a partir de PnTXs via transformação hidrolítica e metabólica no pescado	e nAChR, respectivamente) no sistema nervoso e na junção neuromuscular		
<b>PbTX</b>	Dinoflagelados: <i>Karenia</i> spp.	Ligação com alta afinidade ao local recetor 5 dos canais de sódio dependentes de voltagem nas membranas celulares.	Náuseas, vômitos, diarreia, bronco-constricção, paralisia, em 30 min e 3 h	800 µg PbTX-2 equivalentes/kg nos EUA, Nova Zelândia, e Austrália
<b>PTX</b>	Dinoflagelados: <i>Dinophysis acuta</i>	Alteração de estruturas actinas causando morte celular e apoptose.	Sem sintomas específicos	160 µg AO equivalentes/kg na UE
<b>YTX</b>	Dinoflagelados: <i>Protoceratium</i>	Não bem esclarecido, mas parece fazer envolvimento na	Sem sintomas específicos	3.75 mg YTX equivalentes/Kg

	<i>Reticuatum</i> , <i>Lingulodinium</i> <i>polyedrum</i> e <i>Gonyaulax polyhedral</i>	activação da fosfodiesterase e modulação do cálcio em vários níveis, alteração na disposição de proteínas, mudança de forma celular, apoptose e morte celular		na UE
<b>AZA</b>	Dinoflagelados: <i>Azadinium spinosum</i> e <i>Protoberidinium crassipes</i>	Inibição dos canais de potássio	Náuseas, vômitos, diarreia, diminuição da reação a cólicas no estômago, dor profunda, tontura, alucinações, confusão, perda de memória de curto prazo, convulsão	0.16 mg AZA1equivalenets /Kg na UE
<b>DA</b>	Diatomáceas: <i>Pseudo-nitzschia</i> spp. e alga vermelha: <i>Chondria armata</i>	O ácido domóico actua como neurotransmissor do sistema nervoso central, nos receptores do glutamato no nível do sistema nervoso central, induzindo despolarização da membrana pós-sináptica	Náuseas, vômitos, diarreia ou cólicas abdominais dentro de 24 horas e/os sintomas ou sinais neurológicos (confusão, perda de memória ou outros problemas graves sinais como convulsão ou coma ocorrendo dentro de 48 horas	20 mg DA equivalentes/Kg na UE

<p><b>STX</b></p>	<p>Dinoflagelados:  Alexandrium spp.  Gymnodinium  catenatum  Pyrodinium  bahamense e  cyanobacteria  Trichodesmium  erythraeum</p>	<p>Inibição difusa do impulso nos nervos periféricos e no músculo esquelético, impede a propagação do impulso nervoso causando morte por paralisia da musculatura torácica</p>	<p>5 a 30 min ocorre formigamento ou dormência nos lábios, gengivas e língua. 2 a 5 horas desordem neurológica, dificuldade respiratória. O quadro extremo caracteriza-se por fraqueza muscular e causando assim a morte</p>	<p>800µg STX equivalentes/kg na UE</p>
<p><b>TTX</b></p>	<p>Bactéria: <i>Serratia marcescens</i>, <i>Vibrio</i> spp., <i>V. Aeromonas</i> sp., <i>Microbacterium, arabinogalactanolyticum</i> <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Shewanella Putrefaciens</i>, <i>Alteromonas</i> sp.,</p>	<p>Ligação a sódio na superfície das membranas das células nervosas bloqueando a comunicação celular e causando morte por paralisia cardiorrespiratória</p>	<p>Vômito, forte dor de cabeça, fraqueza muscular, insuficiência respiratória, hipotensão e até mesmo morte</p>	<p>2mg TTX equivalentes/kg no Japão e 17µg TTX equivalentes/Kg na UE</p>

	<i>Pseudoalteromonas</i> sp. e <i>Nocardiopsis</i> <i>dassonvillei</i>			
<b>PITXs</b>	Zoantideos: <i>Palythoa</i> spp. e Dinoflagelados: <i>Ostreopsis ovata</i> e <i>possibly</i> cianobactéria: <i>Trichodesmium</i> sp.	Ação sobre ATPase na membrana celular e a perda de conteúdo intracelular para o plasma sanguíneo e consequente lesão causando rabdomiólise	Vasoconstrição, hemorragia, mialgia, ataxia, fraqueza muscular, fibrilação ventricular, isquemia e morte	Proposta na EU 0.25mg PITX equivalente/Kg

Quimicamente as BM podem ser lipofílicas (solúveis em lípidos) e hidrofílicas (solúveis em água) (Tamele *et al.*, 2019a). As biotoxinas marinhas lipofílicas incluem grupo do ácido ocadaíco (AOs), ciguatoxinas (CTXs), iminas cíclicas (CIs: espirolides (SPXs), gimnodimines (GYMs), pinatoxinas (PnTXs)), pteriatoxinas (PtTXs), brevetoxinas (PbTXs), pectenotoxinas (PTXs), yessotoxinas (YTXs), azaspirácidos (AZAs) (Tamele *et al.*, 2023).

As hidrofílicas incluem grupo do ácido domóico (DA), toxinas parálíticas de mariscos (PSTs), tetrodotoxinas (TTXs) e palitoxinas (PITXs) (Tamele *et al.*, 2023). Conforme foi descrito na tabela 1, cada toxina ou grupo de toxinas possuem o seu mecanismo de ação e sintomas, sendo que a intoxicação/envenenamento por algumas BM pode ser reconhecida através do seu quadro sintomático (ex: CTXs) (Tamele *et al.*, 2019a). Estas BM possuem uma estabilidade térmica mesmo após a cozedura do marisco contaminado, daí um perigo à Saúde Pública (Tamele *et al.*, 2023).

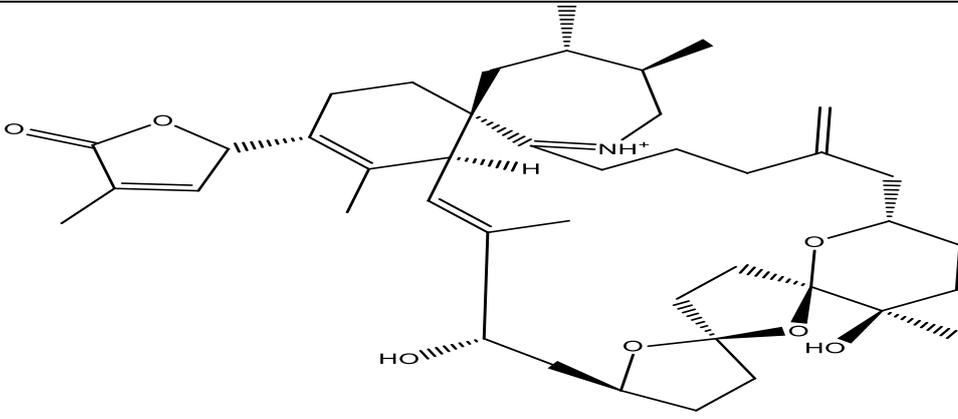
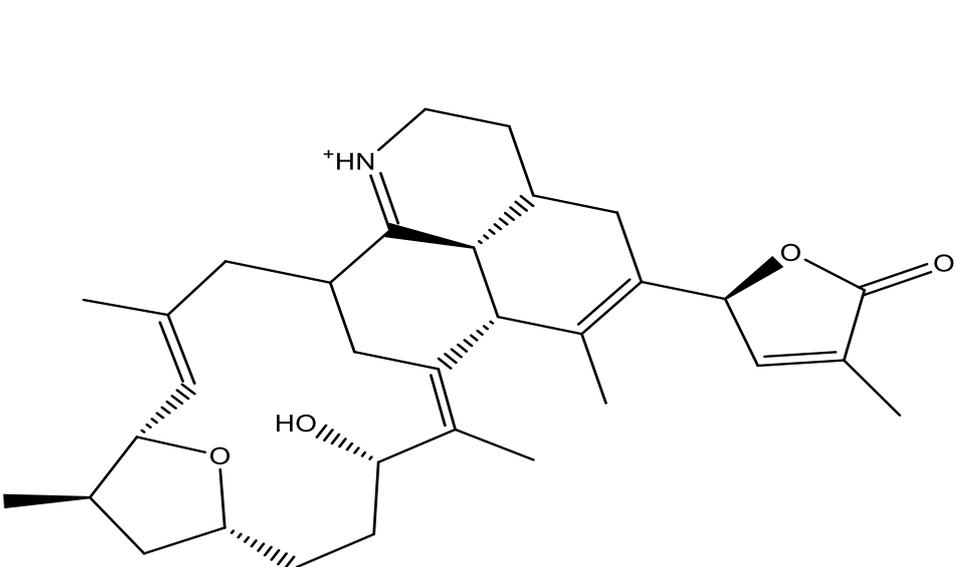
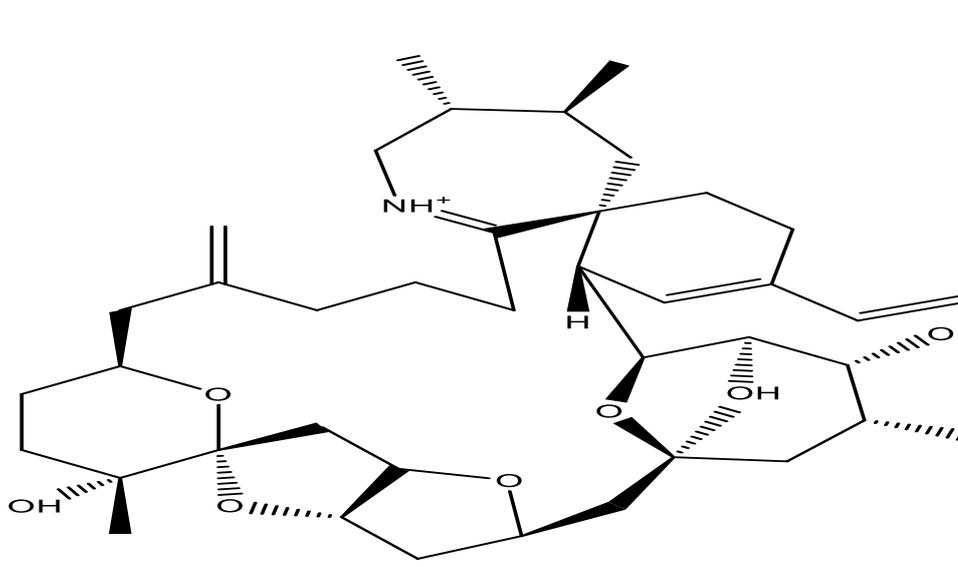
As estruturas químicas das BM são complexas, bem conhecidas e podem ser consultadas nas opiniões científicas sobre as respectivas biotoxinas marinhas publicadas na revista EFSA (Alexander, Jan *et al.*, 2009; Alexander *et al.*, 2008a, b; Alexander, Jan *et al.*, 2009a, b, c; Alexander *et al.*, 2010a, b, c).

### 2.1.1. Biotoxinas Marinhas Lipofílicas - Grupos das Iminas Cíclicas

As iminas cíclicas são biotoxinas emergentes solúveis em solventes orgânicos, eles apresentam um alto grau de similaridade estrutural (Davidson *et al.*, 2015). Elas não são regulamentadas em quase todas as partes do mundo, porém não existem concentrações limites para as iminas cíclicas (Aráoz *et al.*, 2020). O grupo das iminas cíclicas contém vários grupos respectivamente, as espirolides (SPXs), gimnodimines (GYMs), pinatoxinas (PnTXs) (Tang *et al.*, 2020).

**Tabela 2.** Estruturas química de biotoxinas lipofílicas de grupos das iminas cíclicas.

<b>Biotoxinas</b>	<b>Estruturas</b>
Espirolides (SPXs)	

	 <p>The structure of SPX-13 is a complex polycyclic molecule. It features a central ring system with several fused rings. Key features include a protonated nitrogen atom (NH<sup>+</sup>), a hydroxyl group (HO), and a furanose ring. The molecule is highly substituted with various functional groups and stereocenters.</p> <p style="text-align: center;"><b>SPX-13</b></p>
<p>Gimnodimines (GYMs)</p>	 <p>The structure of GYM-A is a complex polycyclic molecule. It features a central ring system with several fused rings. Key features include a protonated nitrogen atom (NH<sup>+</sup>), a hydroxyl group (HO), and a furanose ring. The molecule is highly substituted with various functional groups and stereocenters.</p> <p style="text-align: center;"><b>GYM-A</b></p>
<p>Pinatoxinas (PnTXs)</p>	 <p>The structure of PnTX-G is a complex polycyclic molecule. It features a central ring system with several fused rings. Key features include a protonated nitrogen atom (NH<sup>+</sup>), a hydroxyl group (OH), and a furanose ring. The molecule is highly substituted with various functional groups and stereocenters.</p> <p style="text-align: center;"><b>PnTX-G</b></p>

## 2.2. Classificação de Biotoxinas Marinhas

As biotoxinas Marinhas podem ser classificadas de acordo com os sintomas de envenenamento (Visciano *et al.*, 2016). Envenenamento amnésico por marisco (ASP), envenenamento paralítico por marisco (PSP), envenenamento ciguatera (CFP), envenenamento diarreico por marisco (DSP) e envenenamento neurotóxico por marisco (NSP) (Murk *et al.*, 2019).

**Envenenamento amnésico por marisco (ASP)** - é uma biotoxina cujo composto tóxico maioritário é um aminoácido invulgar chamado ácido domóico ou DA (Krock *et al.*, 2018), um aminoácido neuro-excitatório que potencia o efeito de aminoácidos excitatórios naturais como o glutamato (Murk *et al.*, 2019). O vector de transmissão a humanos foi traçado em culturas de mexilhão (*Mytilus edulis*), apresenta seguinte quadro gastrointestinal nas primeiras 24 horas: náuseas, vômitos, diarreia, cólicas abdominais (Visciano *et al.*, 2016). Entretanto reporta-se também como vectores os peixes herbívoros como a anchova que, aparentemente não afectados pela toxina, acumulam níveis suficientes para dizimarem aves e mamíferos que se alimentam à base de peixe (Murk *et al.*, 2019).

**Envenenamento paralítico por marisco (PSP)** - veneno paralisante de moluscos, cujo nome se deve aos efeitos que produz (Murk *et al.*, 2019), é também chamada de neurotoxina, mitilotoxina ou saxitoxina e faz parte do grupo das biotoxinas hidrofílicas, a psp (toxinas responsáveis por paralisia) geralmente hidrossolúveis (Visciano *et al.*, 2016), termo-estáveis em meio ácido, porém extremamente instáveis e facilmente oxidadas em meio alcalino ou em meio ácido fraco (a partir de pH 4,5) (Murk *et al.*, 2019). Esta biotoxina foi a primeira biotoxina descoberta e estudada, por isso, a mais bem conhecida e tipificada deste grupo. Portanto é uma das intoxicações mais graves em humanos que causa a paralisia respiratória devido ao bloqueio das funções nervosas pela obstrução da passagem dos iões de sódio pela membrana celular, podendo levar à morte por asfixia nas primeiras 24 horas (Krock *et al.*, 2018). Os vectores mais importantes são os moluscos bivalves (MB), designadamente os mitilídeos (mexilhões) e os ostreídeos (ostras), os quais, em determinadas condições e dependendo da espécie, libertam de forma mais ou menos lenta a toxina acumulada, podendo causar intoxicações graves (Visciano *et al.*, 2016).

**Envenenamento ciguatera (CFP)** - causado pelo consumo de peixes de recifes, tropicais e subtropicais, os quais tenham, em sua dieta, acumulado a ciguatoxinas por meio da cadeia trófica (Murk *et al.*, 2019). *Ostreopsis*, *Coolia* e *Amphidinium* fazem parte dos grupos de Dinoflagelados, O quadro neurológico é mais característico e dura entre algumas semanas a meses: dormência nos lábios, mãos e pés, comichão severa localizada na pele, fadiga, dores musculares e nas articulações (Visciano *et al.*, 2016). A intoxicação por Ciguatera foi relatado nas Índias Ocidentais por Peter Martyr de Anghera em 1511, nas ilhas do Oceano Índico por Harmansen em 1601 e nos vários arquipélagos do Oceano Pacífico por De Quiros em 1606 (Krock *et al.*, 2018), é o tipo mais comum de intoxicação alimentar marinha, constitui um problema de saúde global com cerca de 10.000 a 50.000 doentes por ano em todo o mundo (Murk *et al.*, 2019).

**Envenenamento diarreico por marisco (DSP)** - certas espécies de dinoflagelados, principalmente as do género *Dinophysis*, produzem uma série de biotoxinas conhecidas como (toxinas responsáveis por intoxicação causadora de diarreia) (Krock *et al.*, 2018), das quais faz parte o veneno diarreico de moluscos (DSP) ou simplesmente toxina diarreica ou ainda enterotoxina, assim designada pelos efeitos que produz no homem (Murk *et al.*, 2019). O vector destas toxinas que causam problemas gastrointestinais sendo a diarreia, vômitos, dores epigástricas, dores abdominais e fraqueza muscular, ao serem ingeridas são os BM que as acumulam (Manita, 2017). Descobriu-se mais tarde que os bivalves também podiam conter um composto semelhante, designado ácido ocadáico (OA) devido à esponja marinha, *Halichondria okadai*, da qual tinha sido previamente isolado. Sabe-se ainda que nos bivalves qualquer destas toxinas pode existir conjugadas com ácidos gordos, formando os ésteres acilo ou DTX3 (Manita, 2017). Estes ésteres não existem nas microalgas, mas são metabolitos dos bivalves (Visciano *et al.*, 2016).

**Envenenamento neurotóxico por marisco (NSP)** - são sintetizadas pelo dinoflagelado *Ptychodiscus brevis* e têm como vectores os moluscos bivalves (Murk *et al.*, 2019), constituem-se num tipo de toxinas conhecidas como brevetoxinas (Manita, 2017), geralmente está associada ao consumo de mexilhões contaminados (Visciano *et al.*, 2016). Porem caracteriza-se pela libertação de aerossóis tóxicos que originam fenómenos asmáticos em humanos, as brevetoxinas são altamente letais para os

peixes e as marés vermelhas deste dinoflagelado estão também associadas à morte massiva de peixes (Visciano *et al.*, 2016). Sintomas gastrointestinais e neurológicos caracterizam a NSP, incluindo-se formigamento e paralisação dos lábios, língua e garganta, dores musculares, vertigem, reversão da sensação de calor e frio, diarreia e vômitos (Murk *et al.*, 2019). As brevetoxinas actuam por activação persistente do canal de sódio, originando descargas elétricas contínuas (Krock *et al.*, 2018).

### **2.3. Classificação de Ecossistema Aquático e Espécies habitantes no ecossistema aquático.**

Ecossistema aquático compreendem os ambientes de água doce lênticos como (lagos e lagoas) e lóticos (incluindo rios) e também ambientes marinhos como (os mares e oceanos), porém os ambientes marinhos se diferem com os ambientes de água doce por conter maior concentração de sal (Yang *et al.*, 2019).

**Ecossistema de água doce** – a água ocupa cerca de 70% da superfície terrestre e 2,5% de água é pertencente à água doce (Scopel, 2018), um dos recursos mais preciosos no planeta é a água doce sendo, que ela ajuda a regular a temperatura da terra e do mar, porem é essencial para a natureza (de Souza, 2018). A água doce ela pode ser classificada em várias vertentes, em águas de classe especial e águas de classe 1(Scopel, 2018).

**Águas de classe especial:** essas por sua vez são destinadas ao equilíbrio natural das comunidades aquáticas e preservação dos ambientes aquáticos e ao destinadas para o consumo humano depois da desinfecção e do tratamento (Scopel, 2018)

**Águas da classe 1:** as águas da classe 1 são utilizadas em várias actividades, como no abastecimento para consumo humano (após tratamento normal), Proteção para as comunidades aquáticas, Irrigação de hortaliças (que serão consumidas cruas), irrigação de frutas que se desenvolvem próximo ao solo, e para recreação de contacto primário, tais como (natação, mergulho e ambientes aquático) (Scopel, 2018).

**Os ecossistemas de água doce podem ser classificados em lênticos e lóticos.**

**Lênticos:** como lagos e lagoas são corpos de água paradas, cercados por terra (Scopel, 2018). A lêntica é pertencente a água lenta de uma bacia (de Souza, 2018).

**Lagos e Lagoas:** As lagoas se formam quando canais se enchem de água (Yang *et al.*, 2019), como as águas dos rios e das chuvas como também as águas das drenagens trazem às lagoas elas se desembocam nos lagos considerando assim

reservatórios de águas acumuladas (Scopel, 2018). O ser humano também é responsável pela criação de estanques, para uso recreativo ou para agricultura, indiferentes por sua estrutura física original, possuem os mesmos padrões ecológicos (Yang *et al.*, 2019). As lagoas contêm três grupos de produtores: fitoplâncton (pequenas algas suspensas), plantas e algas bêmicas (do fundo), algumas algas estão aderidas às folhas e talos das plantas (Scopel, 2018). Nas lagoas há criaturas herbívoras que se alimentam de plantas e algas, os peixes (herbívoros e carnívoros) vivem em lagos e lagoas que não se secam, insetos, ovos de zooplâncton, sementes de plantas, esporos de algas, micro-organismos e insetos voadores adultos são arrastados ao estanque por correntes de ar (Attayde *et al.*, 2007).

**Lóticos** como rios, arroios, riachos são corpos de água com fluxo contínua, ecossistemas de águas correntes de uma bacia (Scopel, 2018), geralmente riachos de regiões temperadas, não acomoda os processos de funcionamento dos grandes rios tropicais e de suas planícies de inundação (de Souza, 2018).

**RIOS:** ecossistema de água doce que são formados a partir do ciclo hidrológico (Scopel, 2018). Os rios recebem uma grande quantidade de águas limpas de manancial, que são bastante claros, podendo tornar os atrativos e favoráveis para praticar mergulho e outras recreações aquáticas (Attayde *et al.*, 2007). Os rios são formados por águas que escoam de modo subterrâneo, uma parte da água entra através de áreas de areia porosa, rochas calcárias até águas subterrâneas, seguindo o declive (Scopel, 2018). Como a água é clara, a penetração de luz é boa e se desenvolvem correntes muito produtivas com algas, plantas enraizadas, larvas de insetos e peixes (Attayde *et al.*, 2007).

**Ambientes marinhos como os mares e oceanos:** cobrindo mais de 70% do planeta, os mares e oceanos abrigam uma vasta biodiversidade e se diferenciam, principalmente, pela profundidade e delimitação (Correia, 2005). Existem vários elementos radionuclídeos das famílias do urânio ( $^{238}\text{U}$ ,  $^{235}\text{U}$ ), do tório ( $^{232}\text{Th}$ ), e o trítio ( $^3\text{H}$ ), são continuamente introduzidos nos mares e oceanos através dos rios, da atmosfera e da actividade vulcânica submarina (de Souza, 2018). O ambiente marinho pode dividir-se em dois grandes domínios, o pelágico (coluna de água) e o bentónico (fundo do mar) (Colaço *et al.*, 2017).

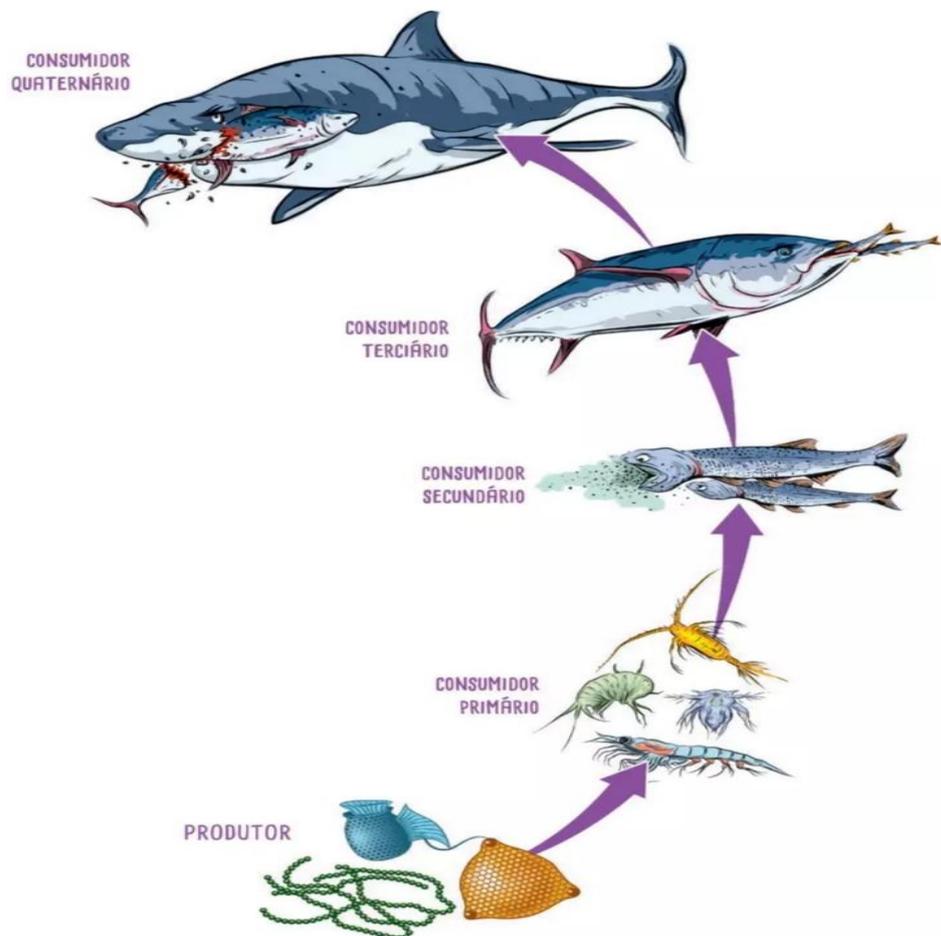
**O ambiente oceânico:** ecossistema de aquária salgada que recobre praticamente (Scopel, 2018), caracteriza-se por extensões enormes no planeta e compreende quase 90% de toda a água existente, este ambiente oceânico é formado pelos fundos a mais de 200 metros de profundidade e pela massa de água acima dos mesmos (Colaço *et al.*, 2017). Possui uma porção de água contínua, formando, portanto, um único oceano, porém, é dividido em Atlântico, Índico, Pacífico, Glacial Ártico e Glacial Antártico (Scopel, 2018).

**Mares:** as águas ocupam cerca de 70% da superfície terrestre e está ocupada por mar, sendo que 67.5% são porções de água salgada (Scopel, 2018). O mar profundo tem características ambientais gerais muito próprias, as mais distintas são: Luz, pressão, salinidade, temperatura, oxigênio e Alimento (Colaço *et al.*, 2017). Os mares se localizam no interior de alguns locais de trechos costeiros. Podem estar totalmente isolados dos oceanos (Mar Cáspio) ou podem possuir ligações com ele, por meio de estreitos (Mar Vermelho, Mar Mediterrâneo) (Scopel, 2018).

**Tabela 3.** Tipos de espécies habitantes no ecossistema aquáticos (Colaço *et al.*, 2017; da Silva *et al.*, 2013; Geraldles, 1999).

<b>Categoria</b>	<b>Nome comum</b>	<b>Nome científico</b>
<b>Peixes</b>	Tainha garrento	<i>Liza ourata</i>
	Linguado	<i>Solea senegalensis</i>
	Salema	<i>Sarpa salpa</i>
	Peixe-rei	<i>Atherina presbyter</i>
	Bodião vulgar	<i>Symphodus melops</i>
	Judia	<i>Coris Julis</i>
	Peixe vermelho	<i>Carassius auratus</i>
	Góbio	<i>Góbio góbio</i>
	Carpa	<i>Cyprinus carpio</i>
<b>Mamíferos</b>	Roaz corniveiro	<i>Tursiops truncats</i>
<b>Crustáceos</b>	Caranguejo preto	<i>Pachyropus marmoratus</i>
	Caranguejo morraceiro	<i>Eriphia verrucosa</i>
	Cracas	<i>Chthomalus stellatus</i>
<b>Moluscos</b>	Choco	<i>Sépiea officinalis</i>

	Bivalve	<i>Limaria hians</i>
	Lapa	<i>Patella ulyssiponensis</i>
	Barué	<i>Gibbata umbilicalis</i>
<b>Algas</b>	Dictyota	<i>Dictyota dichotama</i>
	Pavonica	<i>Padina pavonica</i>
	Jania	<i>Jania rubens</i>
	Codium-tapete	<i>Codium adhaerens</i>
<b>Equinodermes</b>	Ouriço-do-mar	<i>Paracentrotus lividus</i>
	Estrela do mar	<i>Marthasterias glacialis</i>
	Ofiurídeo	<i>Ophiothrix</i>
	Pepino do mar	<i>Halathuria forskali</i>



**Figura 1.** Cadeia alimentar aquático (Correia, 2005).

## **2.4. Monitorização e Métodos de Detecção de Algas Nocivas e Biotoxinas Marinhas**

A identificação das espécies produtoras de biotoxinas (algas nocivas) constitui uma ferramenta muito importante para verificar se existe uma possibilidade de ocorrências de BM (Peng *et al.*, 2024). A detecção de algas nocivas pode ser realizada por métodos de biologia molecular ou microscópicos (Smith *et al.*, 2024).

Em relação às BM, existem vários métodos para detectar e quantificar, tanto na água assim como no marisco contaminado e os mais recomendados incluem a cromatografia líquida (LC) e gasosa (GC) acoplada ao detector de massas e/ou fluorescência (Biotoxins, 2005, 2015, 2017; Tamele *et al.*, 2023; Tamele *et al.*, 2019a, b; Tamele, Isidro José *et al.*, 2022; Tamele, Isidro José; *et al.*, 2022) devido à sua especificidade e reprodutividade. Entretanto, existem outras alternativas nomeadamente bioensaios, testes de toxicidade (bio e imunoquímico), e ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) (Tamele *et al.*, 2019a). Os ensaios biológicos das toxinas em ratos constituem um método de referência, embora sejam fáceis e baratos, são pouco específicos e não qualitativos, e dum lado, ainda levantam problemas éticos sérios devido ao sacrifício dos animais e doutro lado, requerem a utilização de grandes quantidades de solventes tóxicos (Wang *et al.*, 2024).

Os bioensaios são baseados na bioactividade das toxinas, nas actividade enzimática e interações imunológicas. O bioensaio tem sido muito utilizado na determinação da toxicidade de extractos tanto de marisco contaminado assim como de algas nocivas. Também podem ser usados para avaliar o mecanismo de acção das BM (Zhu *et al.*, 2024).

## **2.5. Ocorrência de Algas Nocivas e Biotoxinas Marinhas em Moçambique**

Em Moçambique, estudos sobre a ocorrência e dinâmica de algas nocivas e biotoxinas são muito limitados (Tamele *et al.*, 2023; Tamele *et al.*, 2019a; Tamele, Isidro José *et al.*, 2022; Tamele, Isidro José; *et al.*, 2022). O primeiro estudo foi realizado em 1989 onde foram detectadas espécies de cianobactérias (*Phormidium ambiguum*, *Lyngbya majuscula*, e *Lyngbya cf. putealis*) na ilha de Bazaruto, Inhambane (Pienaar, 1999). Espécies de dinoflagelados do género *Pseudo-nitzschia*

também foram encontradas na Curva de Delagoa e Banco de Sofala em 2007 (Pienaar, 1999) e na praia do Tofo, (Inhambane) em 2017 - 2018. No mesmo estudo de 2017 – 2018, foi encontrado ácido domóico (DA) em concentrações que variavam de 0.241 a 49.4 pgDA L<sup>-1</sup> na água (Kelchner *et al.*, 2021).

BM em marisco foram relatadas pela primeira vez na costa moçambicana, em amostras de bivalves e peixe-balão colhidas em janeiro e abril de 2020 na Ilha do Inhaca, Cidade de Maputo (Tamele, Isidro José *et al.*, 2022). As BM encontradas incluem pinatoxinas (PnTXs) G, E e F, em concentrações que variaram entre 2.4 e 14.3 µg PnTX kg<sup>-1</sup> em bivalves *Atrina vexillum*, *Pinctada imbricata* e *Anadara antiquata* (Tamele, Isidro José; *et al.*, 2022). Na espécie *Atrina vexillum* foram detectados ainda níveis residuais de toxinas paralisantes (PSP), nomeadamente dcSTX, GTX2+3, e STX (Tamele, Isidro *et al.*, 2022). TTXs e seus análogos (4-epiTTX, 11-deoxiTTX e 4,9-anidroTTX) foram encontrados na pele, gonadas, fígado e músculo de peixes *Diodon hystrix* e *Arothron hispidus* em concentrações que variam de 33.0 a 144.4 µgTTX kg<sup>-1</sup> e 261.8 a 15287.2 µgTTX kg<sup>-1</sup> respectivamente (Tamele, Isidro José *et al.*, 2022).

Igualmente, importa referir os vários casos de intoxicação alimentar, alguns fatais, após o consumo do peixe marinho. Estes casos foram confirmados pelas autoridades de saúde nas províncias costeiras de Nampula, Zambézia, Cabo Delgado e Sofala (Tamele *et al.*, 2023).

Actualmente, Moçambique não apresenta qualquer Plano de Monitorização de biotoxinas, contudo uma opinião científica recomendando a monitorização de BM escrita por Tamele e colaboradores foi publicada na revista *Mozambican Journal of Applied Science* (Tamele, Isidro José; *et al.*, 2022) em 2023 (Tamele *et al.*, 2023). Essa opinião descreve a periodicidade de amostragem, espécies usadas, instituições a serem envolvidas na monitorização, bem como os eventuais limites máximos para o controlo das BM que ocorrem em Moçambique.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

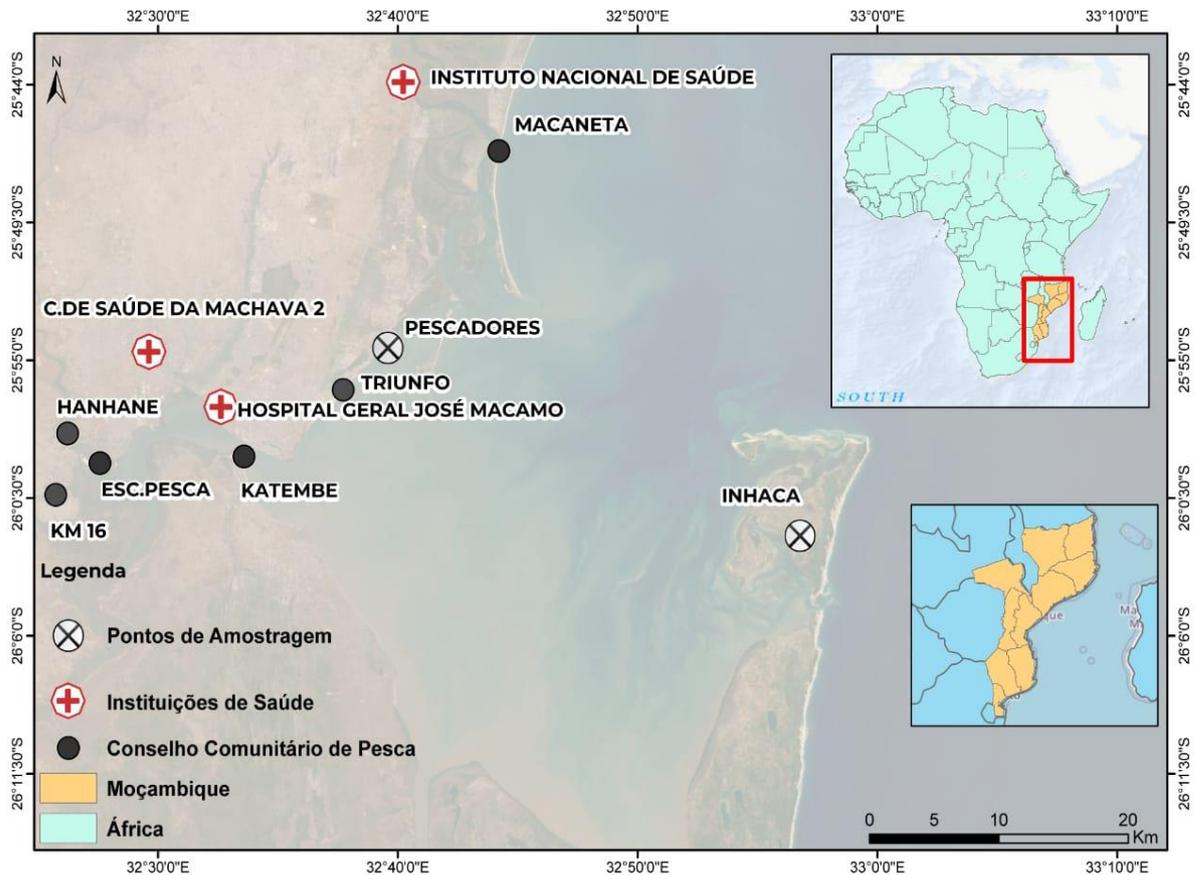
#### **3.1. Localização Geográfica da Área de Estudo**

A figura 2 mostra a área de estudo. A praia dos pescadores localiza-se na Costa de Sol, 6 Km do centro da cidade de Maputo no distrito urbano Kamavota (Beja da Costa, 2019) enquanto a Ilha da Inhaca está localizada a 32Km a este da cidade de Maputo, sul de Moçambique, e faz parte da costa oriental da baía de Maputo (Nhantumbo, 2001).

#### **3.2. Trabalho de Campo**

##### **3.2.1. Inquéritos**

A pesquisa realizada, é caracterizada como descritiva e utilizou como técnica de recolha de dados as entrevistas semiestruturadas: inquéritos para conselhos comunitários de pesca (CCP) e instituições de saúde (IS), sobre BM e algas nocivas uma vez que os CCPs são os intermediários entre o pescado/marisco e os consumidores (a população) enquanto as ISs são o guardião e a proteção da população contra possível ameaça à saúde pública. Os Inquéritos para os CCPs (ANEXO I) e ISs (ANEXO II) foram realizados na cidade de Maputo e Matola tal como pode ser visto no mapa da figura 2. Para tal, 7 CCPs e 3 ISs foram selecionados de acordo com a logística de acesso (fundos para transporte) e facilidade pessoal para o contacto das instituições. Uma vez que os CCPs são instituições com autonomia própria e altamente competitivas entre elas, neste trabalho foi decidido omitir os respectivos nomes para resultado e sua discussão, diferentemente das IS que são completamente públicas com autonomia pública.



**Figura 2.** Mapa da província de Maputo indicando as zonas onde foram feitos os inquéritos e amostragens. Círculo a preto indica os locais onde estão localizados os CCPS inquiridos nomeadamente, Katembe, Pescador, Hanhane, Km 16, Escola de Pesca, Triunfo e Macaneta. Círculo a vermelho com cruz indica as instituições de saúde inquiridas respectivamente Centro de saúde da Machava 2, Hospital Geral José Macamo e Instituto Nacional de Saúde. Círculo a preto com cruz indica locais da amostragem, Ilha do Inhaca e Bairro Pescador na Costa do Sol.

As questões colocadas nos inquéritos estavam relacionadas ao ano da criação dos CCPs, tipo de marisco capturado, sistema de conservação usado, potenciais compradores do marisco, captura e consumo de marisco venenoso, tratamento prévio antes de ser consumido. Também pretendia-se saber se os CCPs já ouviram falar de BM e casos de intoxicação humana envolvendo tais biotoxinas. Nos inquéritos às instituições de saúde, pretendeu se saber o histórico de intoxicação alimentar em geral e por BM em particular, prontidão em relação ao controlo de intoxicação alimentar envolvendo marisco tóxico.

### 3.2.2. Amostragem

As espécies de BM utilizadas neste estudo foram colectadas na Ilha de Inhaca e Costa do Sol. A escolha foi feita, utilizando-se os seguintes critérios: abundância das espécies e facilidade de obtenção. 3 espécies sendo 2 de bivalves e 1 estrela do mar foram colhidas na Ilha do Inhaca: *Opheodosoma* sp. - (Pepino do mar), *Pinna murica* - (Âmbar), *Pinna* sp. - (Âmbar) e outras 2 na Costa do Sol: *Anadara antiquata* - (Berbigão), *Solen capensis* - (Canivetes), em agosto de 2023 para triagem de BM. O tamanho de bivalves variou de 9.8g a 24.0g e 27.9g a 96.1g para *Anadara antiquata* menor e maior respectivamente, 16.0g a 121.6 g para *Pinna murica*, 245g *Pinna* sp., individuo não inteiro para *Opheodosoma* sp. e 1.1g a 29g para *Solen capensis*.

As amostras da Ilha do Inhaca foram colhidas directamente na costa enquanto as do bairro Pescador na Costa do Sol foram compradas directamente dos pescadores e conservadas em sacos plásticos. Estas amostras foram congeladas e transportadas para Portugal em agosto de 2023 para a extração e quantificação de BM no Laboratório Nacional de Monitorização de Biotoxinas Marinhas do Instituto Português do Mar e da Atmosfera em Lisboa.



***Pinna murica***



***Pinna* sp.**



***Opheodosoma* sp.**

**Figura 3.**Imagens de espécies colhidas na Ilha do Inhaca, duas espécies de bivalves e uma estrela do mar.



***Anadara antiquata***



***Solen capensis***

**Figura 4.**Imagens de espécies de bivalves colhidas na Costa do Sol.

### **3.3. Trabalho Laboratorial**

#### **3.3.1. Reagentes e Equipamentos**

A triagem das biotoxinas foi feita no Laboratório Nacional de controlo de biotoxinas marinhas do Instituto Português do Mar e da atmosfera, em Portugal. Todos os reagentes usados incluindo os equipamentos estão descritos nos protocolos optimizados da União Europeia para PST (Biotoxins, 2005), TTX (Biotoxins, 2017) e toxinas lipofílicas (Biotoxins, 2015).

#### **3.3.2. Preparação das Amostras, Extração e Triagem de Biotoxinas Marinhas**

As amostras foram dissecadas e organizadas em grupo, em número de indivíduos suficientes de modo a garantir a biomassa prevista nas respectivas técnicas de cada grupo de BM. A extração e triagem das BM foi feita de acordo com os protocolos optimizados e usados em laboratórios oficiais da UE (Biotoxins, 2005, 2015, 2017). Basicamente, a extração de BM lipofílicas (AO, CI, AZA, YTXs, PTXs) é feita por metanol enquanto as hidrofílicas (STXs e TTXs) são extraídas por ácido acético.

A identificação das BM legisladas foi feita pela comparação dos cromatogramas das amostras e dos padrões existentes no laboratório enquanto as emergentes foram identificadas através das transições envolvidas entre o íão molecular e os respectivos fragmentos descritos na literatura. Para as PnTXs, o íão molecular e os respectivos fragmentos estão listados no respectivo protocolo juntamente com todos os padrões disponíveis no laboratório (Biotoxins, 2015). A tabela 3 resume os protocolos optimizados para extração e quantificação de BM.

**Tabela 4.** Resumo de protocolos otimizados para extração e quantificação de BM em extractos de pescado para o consumo humano. Sínd. – síndrome, SPE (extração em fase sólida), RP (fase reversa), LC (cromatografia líquida), FLD (detector de fluorescência), PSP – envenenamento paralisante por marisco, STXs – saxitoxinas, SB – ligação química estável, RRHT – Alto rendimento de resolução rápida (Biotoxins, 2005, 2015, 2017).

Sínd	BM	Massa	Extração	Limpeza	Fase móvel	Coluna	Detector
PSP	STXs	5.0g	Ácido acético	Cartuchos de SPE C18	Gradiente de ácido fórmico e acetonitrilo	RP C18-LC	FLD
TFP	TTX			Cartuchos de carbono grafitizado SPE	Gradiente de água, hidróxido de amónio e ácido fórmico	C18-LC	MS/MS
	PTX, AZA e YTX	2.0g	Metanol	Cartuchos de SPE C18	Gradiente de formato de amónio, ácido fórmico e acetonitrilo	Zorbax SB-C18 RRHT	MS/MS
DSP	AO						
-	CI						
ASP	DA	5.0g	Metanol	-	Gradiente de ácido fórmico e acetonitrilo	C18-LC	MS/MS

### 3.3.3. Cálculo da Concentração das Biotoxinas Marinhas Lipofílicas

A concentração das BM lipofílicas foi calculada usando o protocolo em vigor no Laboratório Nacional do controlo da BM em Portugal (Biotoxins, 2015).

$$\text{Concentração } \left( \frac{\mu\text{g biotoxina}}{\text{Kg}} \right) = \frac{y-b}{a} \times \frac{\frac{V_F(\text{mL})}{V_H(\text{mL})} \times V_T(\text{mL})}{m(\text{g})} \times D \quad \text{Equação 1}$$

**Equação 1.** Fórmula matemática para o cálculo da concentração de pinatoxinas em amostras de pescado usado em laboratórios oficiais de monitorização de BM na UE. Onde: **y** = área do pico do cromatograma, **b** = coeficiente de intercepção linear, **a** = declive da curva de calibração, **V<sub>T</sub>** = volume total do extracto bruto (20mL), **V<sub>H</sub>** = Volume do extracto usado para a hidrólise, **V<sub>F</sub>** = volume final volume do extracto após hidrólise (e lavagem / concentração), **m** = massa da amostra (2 g), **D** = factor de diluição (se o extracto tiver sido diluído).

A concentração de todas as pinatoxinas (PnTXs) foi calculada usando a curva de calibração da pinatoxinas G (PnTX G), uma vez que apenas o padrão desta BM estava disponível no laboratório. A curva para PnTX G foi  $Y = 13132.87C - 3493.68$  ( $R^2 = 0.9985$ ) que foi gerada a partir 5 pontos, no intervalo de 0.5 a 12ngmL<sup>-1</sup>. Para as espirolides (SPXs), usou a curva  $y = 9636.81C + 102.42$  ( $R^2 = 0.9994$ ), gerada também a partir de 5 pontos com intervalo de 0.35 a 5.6 ngmL<sup>-1</sup>. Neste trabalho não foram usadas réplicas para cada espécie, mas sim *pools*, ou melhor agrupou em se vários indivíduos de cada espécie até garantir a quantidade suficiente prevista nos protocolos (5g) para determinação de BM.

## 4. RESULTADOS

Neste trabalho foram inquiridas 10 instituições (7 CCPs pesca e 3 ISs) (figura 2). Os CCPs incluíram Escola de Pesca, Hanhane, Km 16, Katembe, Triunfo, Bairro Pescador e Macaneta e as IS, Instituto Nacional de saúde, Hospital Geral José Macamo e Centro de Saúde da Machava 2.

### 4.1. Inquéritos

#### 4.1.1. Inquéritos – Conselhos Comunitários de Pesca

Os CCPs inquiridos foram criados desde 2002, excepto um que foi criado em 1988 que ficou inactivo e só foi revitalizado em 2020. Estes conselhos de pesca capturam quase todo o tipo de marisco desde os crustáceos, peixes e bivalves seguindo as orientações do Ministério de Pescas. Apenas 2 CCPs contêm um sistema de conservação que constitui basicamente em congelar, secar ou fumigar o marisco, os restantes 5 capturam e vendem imediatamente. A falta de sistema de conservação constitui uma ameaça grave à Saúde Pública uma vez que os potenciais compradores do marisco são a população e não indústrias.

Em relação á captura do marisco venenoso, 100% dos CCPs responderam que capturam vários peixes venenosos que são vendidos e consumidos pela população. Os peixes venenosos incluem, nome local (nome científico): peixe-sapo (*Diodon.sp.*), mpfumbane (*Synodus indicus*), bwibwe (*Lagocephalus sp.*), peixe-balão (família *Tetraodontidae*), peixe escrivão (*Eucinostomus gula*). Segundo alguns CCPs, estes peixes são preparados removendo-se a cabeça, tripas e fígado que são os potenciais órgão biocumuladores de BM. Outros CCPs afirmam que a retirada de espinhos no peixe escrivão pode reduzir ou minimizar o potencial tóxico deste peixe. Apenas 1 CCP afirmou ter ouvido falar de BM e que estas são muito tóxicas.

Em relação a intoxicações humanas, 2 CCPs confirmaram casos envolvendo marisco. 1 CCP afirmou ter acompanhado 2 casos após o consumo do peixe localmente conhecido por magumba (*Hilsa Kelle*) em 1994 -1996. As vítimas de ambos em casos, que não foram fatais, apresentaram borbulhas como sinais de intoxicação. O segundo CCP também confirmou 1 caso de intoxicação após o consumo do peixe-sapo, este caso também não foi fatal e a vítima apresentou tonturas como sinal de intoxicação.

Em ambos episódios de intoxicação, os dois CCPs afirmaram não terem tido mais detalhes sobre as intoxicações por parte das autoridades de saúde ou ambiente.

#### **4.1.2. Inquéritos – Instituições de Saúde**

Foram inquiridas 3 instituições de saúde (IS), nomeadamente: Instituto Nacional de saúde (INS), Hospital Geral José Macamo (HGJM) e Centro de Saúde da Machava 2 (CSM). Segundo os respectivos departamentos de pesquisas epidemiológicas, estas instituições confirmaram nos últimos 5 anos casos de intoxicação alimentar envolvendo principalmente vegetais e carnes, sendo diarreias e vômitos os sintomas mais apresentados.

Das 3 instituições, apenas o INS possui o departamento específico e pessoal treinado para gestão de casos de intoxicação alimentar. A gestão de casos de intoxicação é feita desde a identificação de causas que inclui o diagnóstico laboratorial para investigação da intoxicação por possíveis agentes etiológicos biológicos, anti-histamínicos inclui biotoxinas marinhas. A proposta de recomendações para evitar mais casos também é feita pelo mesmo departamento no INS. As restantes IS não possuem qualquer departamento ou secção específico para investigar casos de intoxicação alimentar e nem pessoal qualificado para casos de intoxicação humana. Isto não só dificulta muito a identificação de casos de intoxicação alimentar em Moçambique como também a tomada de medidas adequadas para prevenção e tratamento de vários casos que já foram reportados incluindo os confirmados pelo próprio INS (Tagwireyi *et al.*, 2016). Segundo o INS, em média são registados até 10 casos de intoxicação alimentar por mês nas cidades de Maputo e Matola.

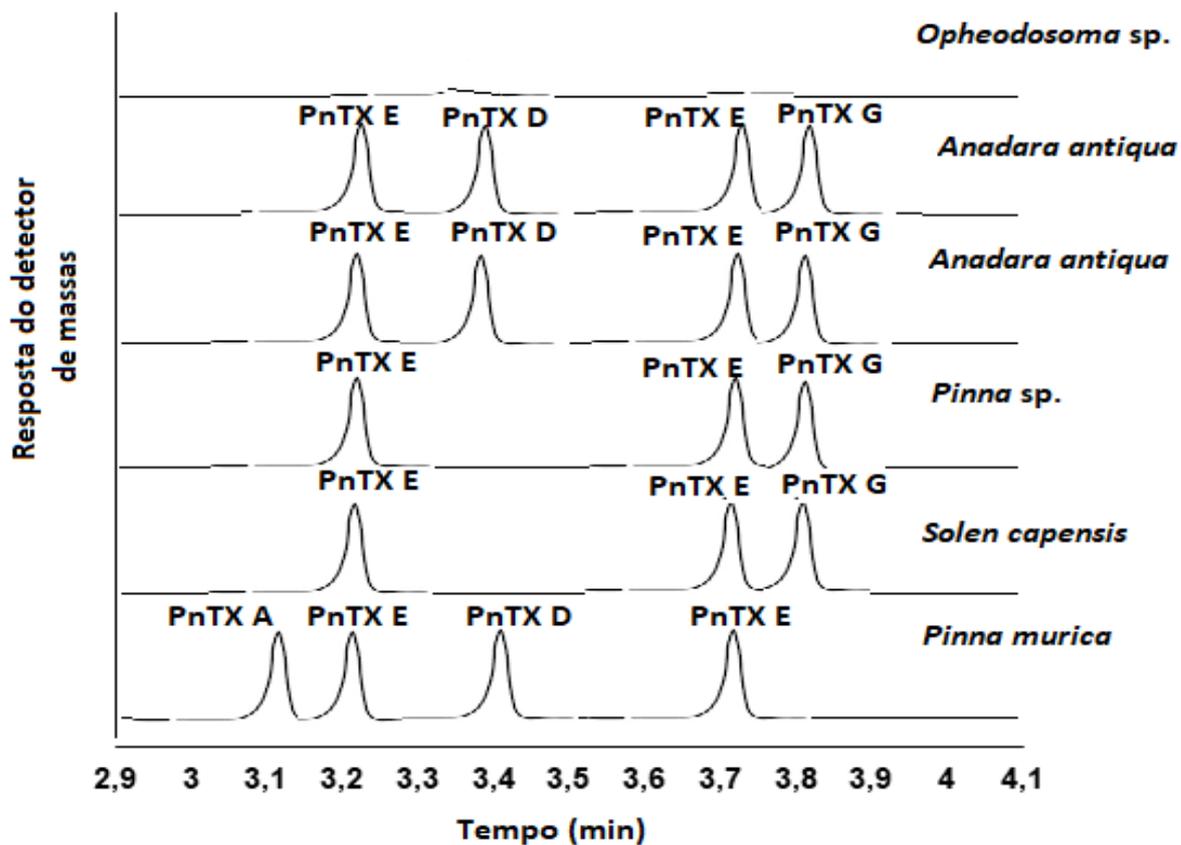
Em relação aos casos de intoxicação alimentar envolvendo pescado, apenas o CSM confirmou casos de intoxicação envolvendo peixes e camarão na Cidade Matola. Não foram identificadas as espécies nem de camarão e nem de peixe consumido, apenas foi concluído que se tratou de camarão marinho e peixes de água doce e salgada. Os sintomas apresentados incluem prurido, irritação de pele, diarreia, irritação ocular, inchaço, dor abdominal e vômitos.

Todas as IS inquiridas afirmaram não ter registado casos confirmados de intoxicação alimentar envolvendo BM. Isto pode não significar necessariamente ausência de tais intoxicações uma vez que vários casos, alguns fatais, já foram reportados por

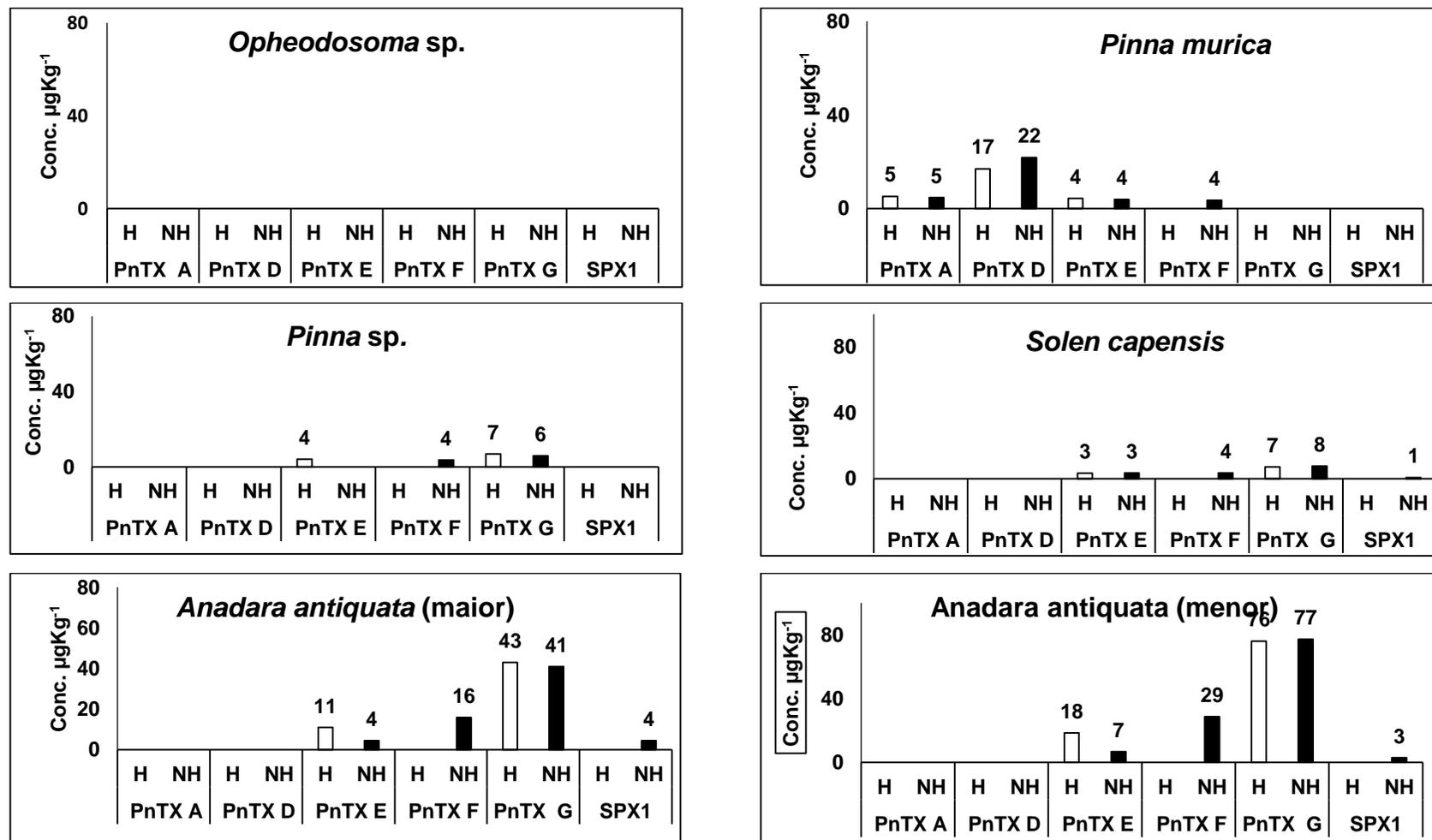
autoridades de saúde locais nas províncias (Zambézia, Sofala, Nampula e Cabo Delgado) costeiras após o consumo do peixe capturado no mar (Tamele *et al.*, 2023). Doutro lado as IS afirmaram que não se faz qualquer divulgação às comunidades em relação a intoxicação por mariscos. A falta de divulgação pode constituir uma ameaça grave à Saúde Pública em Moçambique. Dos inquéritos, conclui se também que o grupo vulnerável a doenças transmitidas por alimentos incluindo marisco são crianças de ambos os sexos tanto da zona rural e zonas urbana.

#### **4.2. Biotoxinas Marinhas**

Neste trabalho, foi investigada a presença de todas as BM (monitoradas na região da UE) nas amostras de bivalves da costa moçambicana. Também foi investigada a presença de BM emergentes, as pinatoxinas, um grupo de BM pertencentes às iminas cíclicas. As BM lipofílicas foram investigadas em ambos extractos hidrolisados (H) e não hidrolisados (NH) de modo a avaliar a possível esterificação das lipofílicas, principalmente o AO e PnTXs. A figura 4 mostra os cronogramas das BM enquanto a figura 5 mostra níveis de BM, detectados nas amostras em ambos os extractos.



**Figura 5.** Cromatograma de PnTXs detectadas nas amostras *Anadara antiquata*, *Solen capensis*, *Pinna sp.* e *Pinna murica*. O tempo de retenção é 3.4, 3.10, 3.40, 3.2, 3.70 e 3.80 minutos para SPX, PnTX A, PnTX D, PnTX E, PnTX F e PnTX G respectivamente.



**Figura 6.** Biotoxinas marinhas encontradas em cada espécie. SPX1 –13-desmetil espirolide C; PnTXs (A, D, E, F e G) – pinatoxinas A, D, E, F, e G. barras pretas – extractos não hidrolisados (H), barras transparentes – extractos hidrolisados (NH). Neste trabalho não foram usadas réplicas para cada espécie, mas sim grupo, ou melhor agrupou se vários indivíduos de cada espécie até garantir a quantidade suficiente prevista nos protocolos (5g) para determinação de BM.

Na espécie não identificada do género *Opheodosoma* (*Opheodosoma* sp.) não foi detectada qualquer BM, tanto as monitoradas assim como as emergentes. As BM monitoradas incluem PST, AST, DST e TTXs. Das BM emergentes, foram encontradas as PnTX A e D (teor max.) na *Pinna murica* (5 µg PnTX A Kg<sup>-1</sup> e 22 µg PnTX D Kg<sup>-1</sup> 4 µg PnTX E Kg<sup>-1</sup> 4 µg PnTX F Kg<sup>-1</sup>) e as PnTX E, PnTX F e PnTX G nas amostras *Anadara antiquata* em ambos tamanhos maiores (7 µg PnTX E Kg<sup>-1</sup>, 16 PnTX F Kg<sup>-1</sup> e 43 µg PnTX G Kg<sup>-1</sup>) e menor (18 µg PnTX E Kg<sup>-1</sup>, 29 µg PnTX F Kg<sup>-1</sup> e 77 µg PnTX G Kg<sup>-1</sup>), *Solen capensis* (3 µg PnTX E Kg<sup>-1</sup> e 4 µg PnTX F Kg<sup>-1</sup> e 8 µg PnTX G Kg<sup>-1</sup>) e espécies não identificadas do género *Pinna* (*Pinna* sp.) (4 µg PnTX E Kg<sup>-1</sup>, 4 µg PnTX F Kg<sup>-1</sup> e 7 µg PnTX G Kg<sup>-1</sup>). 13-desmetil espirolide C (SPX1) foi detectada, na *Anadara antiquata* (3 e 4 µg Kg<sup>-1</sup> em tamanho menor e maior respectivamente) e *Solen capensis* (1 µg SPX1 Kg<sup>-1</sup>).

As transições envolvidas para a confirmação das PnTXs, uma vez que os padrões não estavam disponíveis no laboratório, excepto para PnTX G, são: SPX1: 692.5>444.3 e 692.5>164.1; PnTX A: 712.4>458.3>164.1; PnTX D: 782.5>446.3>164.1; PnTX E: 784.5>446.3>164.1; PnTX F: 766.5>446.3>164.1. Os respectivos espectros não são apresentados neste trabalho uma vez que são bem conhecidos na literatura. A amostra *Anadara antiquata* apresentou níveis elevados das pinatoxinas em ambos extractos hidrolisados e não hidrolisados e isto pode sugerir uma maior ameaça para a saúde pública e para a biodiversidade marinha.

## 5. DISCUSSÃO

Neste trabalho, foram inquiridos 7 conselhos comunitários de pesca (CCP) e 3 instituições de saúde (IS) nas cidades de Maputo e Matola. Duma forma geral, a questão de BM em Moçambique ainda não é levada em consideração para a proteção da saúde pública embora algumas associações de pesca reconhecem a existência de marisco venenoso que é capturado e consumido pela população.

### 5.1. Inquéritos – Conselhos Comunitários de Pesca

Dos 7 CCPs inquiridos, apenas 2 contêm um sistema de conservação que constitui basicamente em congelar, secar ou fumigar o marisco. Isto implica que a falta deste sistema de conservação nos restantes 5 constitui sem dúvida um elevado risco à saúde pública uma vez que o pescado é um alimento perecível e vulnerável à deterioração e decomposição que pode ocorrer por meio de processos enzimáticos ou microbiológicos (Alexandre *et al.*, 2021). De facto, segundo o relatório das Nações Unidas, mais 500 mil casos de diarreia causados por consumo de alimentos inseguros são confirmados em Moçambique. Dos 500 mil casos, 100 e 7 corresponderam a disenteria e cólera respectivamente e os restantes têm causas não conhecidas ("Em Moçambique, mais de 500 mil pessoas tiveram doenças causadas por consumo de alimentos inseguros," 2019). Isto implica que uma parte dos 393 mil casos com causas não conhecidas pode ser atribuída ao consumo do marisco contaminado por BM.

Doutro lado, é uma recomendação legal em Moçambique, (Diploma Ministerial n.º 200/2011 de 3 de agosto publicado no Boletim da República número 31 I SÉRIE) inspecionar as actividades de manuseamento, conservação, processamento, distribuição e comércio de pescado ("Ministério de Pescas," 2011).

Em relação á captura do marisco venenoso, 100% dos CCPs responderam que capturam vários peixes venenosos que são vendidos e consumidos pela população. Um dos peixes altamente venenoso inclui espécies da família *Tetraodontidae* (peixe balão) que contem uma neurotoxina fatal denominada TTX que causa formigamento nos braços e pernas, sonolência, fala incoerente, ausência de coordenação muscular, paralisia respiratória, podendo em alguns causar a morte (Tamele *et al.*, 2019b).

Todos os CCPs inquiridos neste trabalho capturam o peixe balão para o consumo, apesar de terem afirmado que remove-se a parte venosa que inclui o fígado, intestino e cabeça, o risco á saúde ainda é eminente porque por exemplo, a TTX encontra-se em todas a partes do peixe (Tamele, Isidro José *et al.*, 2022). De facto, concentrações consideráveis (acima do limite máximo da UE) de TTX já foram encontradas em espécies do peixe balão capturados na Ilha do Inhaca em estudos realizados em 2022. Nesses estudos, TTXs e seus análogos (4-epiTTX, 11-deoxiTTX e 4,9-anidroTTX) foram encontrados na pele, gonadas, fígado e músculo de peixes *Diodon hystrix* e *Arothron hispidus* em concentrações que variam de 33.0 a 144.4 µgTTX kg<sup>-1</sup> e 261.8 a 15287.2 µgTTX kg<sup>-1</sup> respetivamente (Tamele, Isidro José *et al.*, 2022).

A gestão do consumo destes peixes pode ser feita através da implementação dum programa de monitorização que estabelece limites máximos de TTX no pescado como em outros países do mundo nomeadamente Japão (2mgTTX kg<sup>-1</sup>) (Katikou, 2019) e UE (17µgTTX kg<sup>-1</sup>) (Katikou, 2019). Para além de espécies do peixe balão, os CCPs confirmaram a captura e consumo de outras espécies de peixes venenosas, cujos efeitos tóxicos já foram confirmados na população. De facto, o Oceano indico, tendo um clima tropical, possui uma biodiversidade de fitoplâncton tóxico produtor de várias biotoxinas tais como CTXs, STXs, DA cujo envolvimento em intoxicações humanas incluindo fatais já foi confirmado na África do Sul, Madagáscar, Ilha Reunião, Tanzânia (Tamele *et al.*, 2023; Tamele *et al.*, 2019a, b).

## **5.2. Inquéritos – Instituições de Saúde**

As ISs inquiridas incluem Instituto Nacional de Saúde (INS), Hospital Geral José Macamo (HGJM) e Centro de Saúde da Machava 2 (CSM) e apenas o INS possui um departamento de pesquisas epidemiológicas que gere também casos de intoxicação alimentar. Apesar do INS e outras ISs não terem confirmado ainda casos de intoxicação humana envolvendo biotoxinas marinhas, vários casos de intoxicação envolvendo o marisco em geral já foram confirmados nas províncias costeiras de Moçambique pelas próprias ISs locais. Por exemplo, nas províncias de Nampula e Zambézia já foram confirmados 21 casos de intoxicação humana de 2018 a 2021, envolvendo peixes e tartarugas marinhas (Tamele *et al.*, 2023). Desses casos, 19 foram fatais e infelizmente não foram identificadas as espécies do marisco envolvido nem os sintomas apresentados. As respectivas autoridades provinciais de saúde

afirmaram não haver qualquer indício de intoxicação intencional. Isto pode implicar que uma parte destes casos de intoxicação humana após o consumo de marisco, pode ser causada por BM tal como já foi verificado na vizinha África do Sul (Tamele *et al.*, 2023) e Tanzânia (Tamele *et al.*, 2019a).

E uma maneira de gerir a ameaça à Saúde Pública por BM é a implementação da monitorização a nível nacional. Este plano já foi sugerido por Tamele (Tamele *et al.*, 2023) Nesse artigo, sugere-se duas amostragens, uma no período frio (abril - setembro) e outra no quente (outubro - março), bivalves como espécies indicadoras uma vez que bioacumulam excelentemente as BM, limites máximos a serem implementados para o controlo das BM que ocorrem em Moçambique.

### **5.3. Biotoxinas Marinhas**

No presente trabalho, foi investigada a presença de biotoxinas marinhas legisladas na UE e as não legisladas em 5 espécies de bivalves colhidas na Costa do Sol (*Anadara antiquata* e *Solen capensis*) e na ilha de Inhaca (*Opheodosoma sp.*, *Pinna murica* e *Pinna sp.*) na Cidade de Maputo, sul de Moçambique, em agosto de 2023. Quase todas as BM legisladas em várias partes do mundo não foram detectadas nas amostras. Este resultado pode não sugerir necessariamente uma ausência de BM legisladas na EU (PST, AST, DST). No marisco de Moçambique uma vez que a amostragem feita para este estudo pode não ser representativa porque foi feita num único local e uma e única vez. Sugere-se que a investigação da presença de BM em bivalves deve ser feita de 15 em 15 dias, uma vez que os bivalves têm a capacidade desintoxicar as BM, naturalmente nesse intervalo de tempo (Alexander, Jan *et al.*, 2009; Alexander *et al.*, 2008a, b; Alexander, Jan *et al.*, 2009a, b, c; Alexander *et al.*, 2010a, b, c; Tamele *et al.*, 2023; Tamele, Isidro José *et al.*, 2022; Tamele, Isidro José; *et al.*, 2022). Isto pode possibilitar uma hipótese de as amostras terem sido colhidas num período de desintoxicação, o que pode justificar a não deteção das BM em algumas amostras em estudo. Doutro lado, a amostragem para o presente (mês frio) estudo devia ter sido feita também em meses quentes, para se avaliar uma possível ocorrência de BM nesse período uma vez que as BM têm uma ocorrência sazonal (Tamele *et al.*, 2023).

A possibilidade de os resultados deste estudo não implicar necessariamente a ausência de BM legisladas também pode ser justificada por estudos anteriores

realizados na costa sul moçambicana. Por exemplo, a diatomácea *Pseudo-nitzschia* sp. (produtor do ácido domóico) já foi encontrado na Curva de Delagoa e Banco de Sofala em 2007 (Pienaar, 1999) e na praia do Tofo, (Inhambane) em 2017 - 2018 assim como o próprio ácido domóico (DA) em concentrações que variavam entre 0.241 e 49.4 pgDA L<sup>-1</sup> na água (Kelchner *et al.*, 2021). Níveis residuais de BM paralisantes (PSP), nomeadamente dcSTX, GTX2+3, e STX também já foram encontrados na *Atrina vexillum* colhida em janeiro (mês quente em Moçambique) de 2020 na Ilha do Inhaca, Cidade de Maputo (Tamele, Isidro *et al.*, 2022). Assim sugere-se mais estudos sobre BM em Moçambique periodicamente de modo a se ter dados suficientes para se avaliar o risco das PST, AST e DST à Saúde Pública.

Biotoxinas não legisladas (emergentes) encontradas neste estudo PnTX A, D (*Pinna murica*), PnTX E, F, PnTX G (*Anadara antiquata*, *Solen capensis* e *Pinna* sp) e SPX1 (*Anadara antiquata* e *Solen capensis*) são BM pertencentes ao grupo de iminas cíclicas. Neste trabalho não foram detectadas PnTXs na *Opheodosoma* sp. e de facto estudos que sustentam que esta estrela do mar seja vectora de BM são muito limitados, o que pode sugerir que ela não tenha capacidade de bioacumulação de BM.

Nas amostras de *Pinna* Sp, *Solen capensis* e *pinna Murica* foram identificadas PnTX em níveis moderados de concentração, cujo perfil de toxinas é dominado pelas formas esterificadas, não se observou um aumento das toxinas hidrolisadas e não hidrolisadas após o processo digestivo (Manita, 2017). Quanto ao tempo de observação, recomenda-se a rejeição de amostras com um tempo mediano de sobrevivência inferior a 24 horas, para ser possível a detenção dos ésteres, que apresentam uma letalidade inferior à das toxinas livres (Artigas *et al.*, 2007).

A *Anadara antiquata* por intermédio da cromatografia levou à obtenção de concentrações de toxinas mais elevadas do que as outras espécies. No entanto, as concentrações de *Anadara antiquata* obtidos, possuem toxinas não hidrolisadas em concentrações mais elevadas do que as hidrolisadas, parece existir uma certa reacção do anticorpo com os ésteres que permanecem na fase metanólica (Artigas *et al.*, 2007). O aumento do PnTX não hidrolisadas na fração das amostras *Anadara Antiquata* é acompanhado de uma marcada diminuição dos ésteres derivados de PnTX. De um modo similar, pode-se observar um aumento do PnTX e a diminuição

dos respetivos ésteres nas amostras de *Anadara Antiquata* (Manita, 2017). A bioacumulação das BM pela *Anadara antiquata* parece ser influenciada pelo tamanho/idade, uma vez que nos organismos menores foram encontradas BM em quantidade maioríssima que nos organismos maiores. Isto poder ser explicado em parte, pela capacidade de desintoxicação que pode ser elevada nos organismos maiores. A discussão da diferença de BM nos organismos maiores e menores da *Anadara antiquata* pode ser detalhada fazendo se bioensaios de exposição laboratorial de BM em vários organismos destas espécies de bivalves.

As PnTXs e SPXs são produzidas em *Vulcanodinium rugosum* (Rhodes *et al.*, 2011) e *Alexandrium spp.* (MacKinnon, 2003) respectivamente e ambos agem no sistema nervoso e na junção neuromuscular inibindo os receptores nicotínicos e muscarínicos de acetilcolina (Hellyer, 2014). As BM iminas cíclicas ainda não são legisladas (emergentes) devido à limitação de dados toxicológicos tanto agudos assim como crónicos. Contudo, a Agência Francesa para Alimentos Seguros (ANSES) recomenda a implementação dum programa de monitorização de PnTXs em bivalves, sugerindo um limite máximo de 23  $\mu\text{gKg}^{-1}$  de PnTX G, uma vez que foi verificado em ensaios laboratoriais que uma concentração acima desse limite, pode causar efeitos adversos (Genet, 2019). Baseando nesse limite, pode se dizer que o nível de PnTXs encontrado nas amostras de Moçambique pode não constituir uma ameaça à Saúde Pública pelo menos para exposição aguda, o que pode ser diferente para exposição crónica.

Algumas PnTXs encontradas neste estudo (PnTXs E, F e G) já foram relatadas em estudos anteriores realizados na costa moçambicana em amostras de bivalves colhidas na Ilha do Inhaca nomeadamente *Atrina vexillum*, *Pinctada imbricata* e *Anadara antiquata* com nível de PnTXs variando de 2.4 e 14.3  $\mu\text{g PnTX kg}^{-1}$  em ambos extractos hidrolisados e não hidrolisados (Tamele, Isidro José; *et al.*, 2022).

## 6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

### 6.1. Conclusões

Neste trabalho, foram encontradas as pinatoxinas (A, D, E, F, G) e espirolides (SPX1) em várias espécies de bivalves nomeadamente *Pinna murica* (PnTX A e D), *Solen capensis* (PnTX E, F, G e SPX1C), *Pinna sp.* (PnTX E, F e G), *Anadara antiquata* (PnTX E, F e G e SPX1C).

Dos 7 conselhos comunitários de pesca inquiridos (Escola de Pesca, Hanhane, Km16, Katembe, Triunfo, Pescador e Macaneta), apenas 2 CCPs contêm sistema de conservação, secagem ou fumigação do marisco e apenas 1 afirmou ter ouvido falar de BM e que são muito tóxicas. Todos os CCPs capturam vários peixes venenosos incluindo, peixe-balão (família *Tetraodontidae*), peixe escrivão (*Eucinostomus gula*).

Em relação á instituições de saúde inquiridas (INS, HGJM e CSM), apenas CSM confirmou casos de intoxicação humana envolvendo peixes e camarão na Cidade Matola enquanto o INS e HGJM confirmaram casos de intoxicação envolvendo carnes e vegetais. O INS possui um departamento específico e pessoal treinado para gestão de casos de intoxicação alimentar.

### 6.2. Recomendações

O Governo Moçambicano deve investir na criação de laboratórios para a monitorização de BM, esse programa é necessário pelo facto de o marisco ser altamente vulnerável á contaminação por BM, o que ameaça Saúde Pública. Alguns países africanos do Oceano Índico como África do Sul já possuem um programa específico de monitorização BM. A questão de BM é problema ambiental emergente em Moçambique, por isso, neste trabalho recomenda-se um treinamento do pessoal de saúde na matéria de BM e criação de laboratórios para a triagem,

Recomenda-se também a conscientização aos conselhos comunitários de pesca sobre o risco das BM assim como a população em geral. Isto pode ser feito através de divulgação de cartazes com espécies de marisco potenciais vectores de BM.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander, J., Benford, D., Boobis, A., Ceccatelli, S., Cravedi, J.-P., Di, A., . . . Farmer, P. (2009). Marine biotoxins in shellfish—Summary on regulated marine biotoxins Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA journal*, 1306, 1-23.
- Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., & Cravedi, J.-P. (2008a). Marine biotoxins in shellfish-okadaic acid and analogues-Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. *EFSA journal*, 6(1), 589-651.
- Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., & Cravedi, J.-P. (2008b). Marine biotoxins in shellfish—Azaspiracid group-Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. *EFSA journal*, 6(10), 723-775.
- Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., & Cravedi, J.-P. (2009a). Marine biotoxins in shellfish—Saxitoxin group. *EFSA journal*, 7(4), 1019-1091.
- Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., & Cravedi, J.-P. (2009b). Marine biotoxins in shellfish—Yessotoxin group-Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. *EFSA journal*, 7(2), 907-969.
- Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., & Cravedi, J.-P. (2009c). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish—Palytoxin group. *EFSA journal*, 7(12), 1393-1431.
- Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., & Cravedi, J.-P. (2010a). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish—Cyclic imines (spirolides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriatoxins). *EFSA journal*, 8(6), 1628-1667.
- Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., & Cravedi, J.-P. (2010b). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish—Emerging toxins: Brevetoxin group. *EFSA journal*, 8(7), 1677-1706.
- Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., & Cravedi, J.-P. (2010c). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish—Emerging toxins: Ciguatoxin group. *EFSA journal*, 8(6), 1627-1665.
- Alexandre, A. C. S., Albergaria, F. C., Venâncio, A. H., Ribeiro, A. P. L., Haddad, F. F., Tanaka, M. S., . . . de Souza Gomes, M. E. (2021). *Qualidade de peixes: Uma breve revisão*. Paper presented at the Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

- Anabtawi, H. M., Lee, W. H., Al-Anazi, A., Mohamed, M. M., & Aly Hassan, A. (2024). Advancements in Biological Strategies for Controlling Harmful Algal Blooms (HABs). *Water*, 16(2), 224-248.
- Aráoz, R., Barnes, P., Séchet, V., Delepierre, M., Zinn-Justin, S., Molgó, J., . . . Servent, D. (2020). Cyclic imine toxins survey in coastal european shellfish samples: Bioaccumulation and mode of action of 28-O-palmitoyl ester of pinnatoxin-G. first report of portimine-A bioaccumulation. *Harmful Algae*, 98, 101887.
- Artigas, M. L., Vale, P. J. V., Gomes, S. S., Botelho, M. J., Rodrigues, S. M., & Amorim, A. (2007). Profiles of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish from Portugal explained by carbamoylase activity. *Journal of Chromatography A*, 1160(1-2), 99-105.
- Attayde, J. L., Okun, N., Brasil, J., Menezes, R., & dos Santos Mesquita, P. (2007). Impactos da introdução da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, sobre a estrutura trófica dos ecossistemas aquáticos do Bioma Caatinga. *Oecologia Brasiliensis*, 450-461.
- Beja da Costa, A. (2019). Uma paisagem em mutação: o caso do Bairro dos Pescadores em Maputo, Moçambique. *Finisterra*.
- Biotoxins, E. U. R. L. f. M. (2005). EU-Harmonised Standard Operating Procedure for Simplified version for thr screening and semi-quantitative of PSP toxins. In: Biotoxins, E. U. R. L. f. M. (2015). EU-Harmonised Standard Operating Procedure for Determination of Lipophilic Marine Biotoxins in Molluscs by LC-MS/MS. In: European Union Reference Laboratory for Marine Biotoxins Vigo, Spain.
- Biotoxins, E. U. R. L. f. M. (2017). Determination of tetrodotoxin by HILIC-MS/MS. In: EURL MB Vigo, Spain.
- Colaço, A., Carreiro e Silva, M., Giacomello, E., Gomes-Pereira, J., Menezes, G., Gordo, L., . . . Barros, I. (2017). Ecossistemas do Mar Profundo. In: Portugal Correia, D. (2005). *Ecossistemas marinhos: recifes, praias e manguezais*: Edufal Maceió.
- da Silva, M. R., de Campos, A. C. E., & Bohm, F. Z. (2013). Agrotóxicos e seus impactos sobre ecossistemas aquáticos continentais. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, 8(2).
- Davidson, K., Baker, C., Higgins, C., Higman, W., Swan, S., Veszelszki, A., & Turner, A. D. (2015). Potential threats posed by new or emerging marine

- biotoxins in UK waters and examination of detection methodologies used for their control: Cyclic imines. *Marine drugs*, 13(12), 7087-7112.
- de Souza, R. A. L. (2018). *Ecossistemas aquáticos: tópicos especiais*. Belém: EdUfra, Universidade Federal Rural da Amazônia.
- Em Moçambique, mais de 500 mil pessoas tiveram doenças causadas por consumo de alimentos inseguros. (2019, 7 de junho). *ONU News. Perspectiva Global Reportagens Humanas*. Retrieved from <https://news.un.org/pt/story/2019/06/1675251>
- Feng, Y., Xiong, Y., Hall-Spencer, J. M., Liu, K., Beardall, J., Gao, K., . . . Gao, G. (2024). Shift in algal blooms from micro-to macroalgae around China with increasing eutrophication and climate change. *Global Change Biology*, 30(1).
- Genet, R. (2019). OPINION of the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety on the assessment of the health risks associated with pinnatoxins in shellfish In. Maisons-Alfort, France: French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety
- Geraldes, A. M. (1999). *Peixes de água doce*. Miradela João Azevedo Editores.
- Hellyer, S. D. (2014). *Mechanism of action of pinnatoxins E, F and G*. (PhD PhD thesis in Pharmacology). University of Otago, Dunedin, New Zealand. 231pp.
- Igwaran, A., Kayode, A. J., Moloantoa, K. M., Khetsha, Z. P., & Unuofin, J. O. (2024). Cyanobacteria Harmful Algae Blooms: Causes, Impacts, and Risk Management. *Water, Air, & Soil Pollution*, 235(1), 71-97.
- Katikou, P. (2019). Public health risks associated with tetrodotoxin and its analogues in European waters: Recent advances after the EFSA scientific opinion. *Toxins*, 11(5), 240-265.
- Kelchner, H., Reeve-Arnold, K. E., Schreiner, K. M., Bargu, S., Roques, K. G., & Errera, R. M. (2021). Domoic Acid and Pseudo-nitzschia spp. Connected to Coastal Upwelling along Coastal Inhambane Province, Mozambique: A New Area of Concern. *Toxins*, 13(12), 903-923.
- Krock, B., Ferrario, M. E., Akselman, R., & Montoya, N. G. (2018). Occurrence of marine biotoxins and shellfish poisoning events and their causative organisms in Argentine marine waters. *Oceanography*, 31(4), 132-144.
- Lee, M. J., Henderson, S. B., Clermont, H., Turna, N. S., & McIntyre, L. (2024). The health risks of marine biotoxins associated with high seafood consumption:

- Looking beyond the single dose, single outcome paradigm with a view towards addressing the needs of coastal Indigenous populations in British Columbia. *Heliyon*.
- MacKinnon, S. L. (2003). The Characterization of Two Novel Spirolides Isolated from Danish Strains of *Alexandrium ostenfeldii*. *Harmful Marine Algae*, 88.
- Manita, D. F. P. (2017). *Bioacessibilidade in Vitro das Biotoxinas Marinhas Ácido Ocadaico Dinofisistoxina-2 e Seus Derivados em Bivalves Crus e Cozinhados*. Universidade de Lisboa Portugal., 56pp.
- Ministério de Pescas, Diploma Ministerial n.º 200/2011 de 3 de Agosto C.F.R. (2011).
- Murk, A. J., Nicolas, J., Smulders, F. J., Bürk, C., & Gerssen, A. (2019). *Marine biotoxins: Types of poisoning, underlying mechanisms of action and risk management programmes*. In *Chemical hazards in foods of animal origin*: Wageningen Academic Publishers.
- Nhantumbo, D. L. (2001). *Comportamento diurno e uso do habitat pelos golfinhos Sousa chinensis na costa ocidental e sul da ilha da Inhaca, baía de Maputo*. Retrieved from Maputo
- O'Mahony, M. (2018). EU regulatory risk management of marine biotoxins in the marine bivalve mollusc food-chain. *Toxins*, 10(3), 118.
- Peng, Y., Zhang, W., Yang, X., Zhang, Z., Zhu, G., & Zhou, S. (2024). Current status and prospects of algal bloom early warning technologies: A Review. *Journal of Environmental Management*, 349, 119-510.
- Pienaar, S. (1999). Benthic Marine Cyanophyceae of Moçambique. *South African Journal of Marine Science*, 21, 259-270.
- Rhodes, L., Smith, K., Selwood, A., McNabb, P., Munday, R., Suda, S., . . . Hallegraeff, G. (2011). Dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum* identified as the causative organism of pinnatoxins in Australia, New Zealand and Japan. *Phycologia*, 50(6), 624-628.
- Scopel, J. M. (2018). *O aquário como estratégia de ensino para a ocorrência da aprendizagem significativa na escola*. (Mestrado). Universidade de Caixas de Sul, Caixas do sul 45pp.
- Smith, K. F., Stuart, J., & Rhodes, L. L. (2024). Molecular approaches and challenges for monitoring marine harmful algal blooms in a changing world. *Frontiers in Protistology*, 1, 130-5634.

- Tagwireyi, D., Chingombe, P., Khoza, S., & Maredza, M. (2016). Pattern and epidemiology of poisoning in the East African region: a literature review. *Journal of toxicology*, 2016(1), 878-9624.
- Tamele, I., Timba, I., Costa, P., & Vasconcelos, V. (2022). *Screening of marine toxins in seafood species from the Inhaca Island: First report of Tetrodotoxins and Pinnatoxins in pufferfishes and bivalves species from the Mozambique coast – South Indian Ocean*. Paper presented at the XIV Reunião Ibérica sobre Microalgas Nocivas e Biotoxinas Marinhas, Lisbon, Portugal.
- Tamele, I. J., Chemane, L., Garrine, N., Vasconcelos, V., & Costa, P. R. (2023). Management of marine toxins in Mozambique - A monitoring program is needed: An opinion. *Mozambican Journal of Applied Sciences*, 1(1), 1-10. doi:<https://doi.org/10.53224/mjas/ispq/2022v1n5>
- Tamele, I. J., Silva, M., & Vasconcelos, V. (2019a). The incidence of marine toxins and the associated seafood poisoning episodes in the African countries of the Indian Ocean and the Red Sea. *Toxins*, 11(1), 58-108.
- Tamele, I. J., Silva, M., & Vasconcelos, V. (2019b). The incidence of tetrodotoxin and its analogs in the Indian Ocean and the Red Sea. *Marine drugs*, 17(1), 28-44.
- Tamele, I. J., Timba, I., Costa, P. R., & Vasconcelos, V. (2022). Tetrodotoxin and analogues in two local pufferfish species from Inhaca Island–South of Mozambique: First report in the Mozambican coast. *Toxicon*, 216, 88-91.
- Tamele, I. J., Timba, I., Vasconcelos, V., & Costa, P. R. (2022). First Report of Pinnatoxins in Bivalve Molluscs from Inhaca Island (South of Mozambique)—South of the Indian Ocean. *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(9), 1215-1241.
- Tang, P., Wang, H., Zhang, W., & Chen, F.-E. (2020). Asymmetric catalytic hydrogenation of imines and enamines in natural product synthesis. *Green Synthesis and Catalysis*, 1(1), 26-41.
- Visciano, P., Schirone, M., Berti, M., Milandri, A., Tofalo, R., & Suzzi, G. (2016). Marine biotoxins: occurrence, toxicity, regulatory limits and reference methods. *Frontiers in microbiology*, 7, 1051.
- Wang, Y., Javeed, A., Jian, C., Zeng, Q., & Han, B. (2024). Precautions for seafood consumers: An updated review of toxicity, bioaccumulation, and rapid detection methods of marine biotoxins. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 274, 116-201.

- Yang, Q., Liu, G., Casazza, M., Hao, Y., & Giannetti, B. F. (2019). Emergy-based accounting method for aquatic ecosystem services valuation: A case of China. *Journal of cleaner production*, 230, 55-68.
- Zhu, X., Zhao, Y., Wu, L., Gao, X., Huang, H., Han, Y., & Zhu, T. (2024). Advances in Biosensors for the Rapid Detection of Marine Biotoxins: Current Status and Future Perspectives. *Biosensors*, 14(4), 203-217.

## **ANEXOS**

### **ANEXO I – Inquéritos aos Conselhos Comunitários de Pesca**

**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
Licenciatura em Química Ambiental**

Trabalho do Fim do curso da estudante Benilde Francisco Chongole

Título: Biotoxinas Marinhas na costa moçambicana: triagem e epidemiologia nas cidades de Maputo e Matola.

#### **INQUÉRITO - Recolha de experiências sobre biotoxinas marinhas/algas marinhas nocivas junto das Associações de Pescadores nas Cidades de Maputo e Matola**

Este inquérito destina-se exclusivamente a recolher ou partilhar experiências relacionadas a ocorrência de biotoxinas marinhas e ou algas marinhas nocivas no marisco da costa de Moçambique juntos das associações dos pescadores nas Cidades de Maputo e Matola. O resultado deste estudo será para uso exclusivamente científico e académico na Universidade Eduardo Mondlane

**NOME DA ASSOCIAÇÃO/CENTRO DE PESCA:**

**NÚMERO DE MEMBROS:**

**DATA DA CRIAÇÃO:**

**GPS DO ESCRITÓRIO:**

**OUTROS DADOS RELEVANTES:**

#### **Perguntas**

1. Qual é o pescado capturado?

---

---

---

2. Existem sistemas de conservação?

Sim\_\_\_\_\_ Não\_\_\_\_\_,

Se sim:2.1. Quais?

---

---

---

2.2. Quem são os potenciais compradores?

---

---

---

3. Associação conhece algum marisco venenoso (peixe, camarão, amêijoa, etc.)?

Sim\_\_\_\_\_ Não\_\_\_\_\_

Sem sim: 3.1. Quais é esse marisco venenoso (nome local e em português)?

---

---

---

---

---

---

---

3.2. Pode se comer esse marisco venenoso após alguma preparação especial?

Sim\_\_\_\_\_ Não\_\_\_\_\_

Se sim: 3.3. Como se retira a parte venenosa?

---

---

3.4. Como se faz essa preparação?

---

---

4. Associação já ouviu falar de algas marinhas nocivas?

Sim\_\_\_\_\_ Não\_\_\_\_\_

Se sim: 4.1. Quais são essas algas marinhas nocivas (nome local e em português)?

---

---

---

---

---

\_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_,

4.2. Como essas algas marinhas nocivas ocorrem?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

5. Associação já ouviu falar de biotoxinas marinhas?

Sim \_\_\_\_\_ Não \_\_\_\_\_

Se sim: 5.1. Quais são essas biotoxinas marinhas?

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_,  
\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_,  
\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_,

5.2. Como essas biotoxinas marinhas ocorrem?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

6. Associação já ouviu falar de casos de intoxicação, após o consumo de algum pescado?

Sim \_\_\_\_\_ Não \_\_\_\_\_

Se sim; 6.1. Quando?

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_;

6.2. Quantas pessoas foram intoxicadas?

\_\_\_\_\_

6.3. Qual foi o marisco que comeram?

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_,

6.4. Quais os sintomas que essas pessoas apresentaram?

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_,  
\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_,  
\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_,

7. Existem questões culturais relacionadas ao consumo de mariscos que podem fazer mal em alguma fase da vida ou período do ano ou outra razão?

Sim \_\_\_\_\_ Não \_\_\_\_\_

Se sim:

7.1. Pode explicar?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

---

---

## **ANEXO II – Inquéritos á Instituições de Saúde**

**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**Licenciatura em Química Ambiental**

Trabalho do Fim do curso da estudante Benilde Francisco Chongole

Título: Biotoxinas Marinhas na costa moçambicana: triagem e epidemiologia nas cidades de Maputo e Matola.

### **INQUÉRITO - Recolha de experiências sobre toxinas marinhas/algas nocivas junto das Unidades hospitalares/saúde nas Cidades de Maputo e Matola**

Este inquérito destina-se exclusivamente a recolher ou partilhar experiências relacionadas á ocorrência de biotoxinas marinhas e ou algas nocivas no pescado/costa de Moçambique junto das unidades hospitalares/saúde nas Cidades de Maputo e Matola. O resultado deste estudo será para uso exclusivamente científico e académico na Universidade Eduardo Mondlane

**NOME DA UNIDADE HOSPITALAR/SAÚDE:**

**GPS DA UNIDADE HOSPITALAR/SAÚDE:**

**OUTROS DADOS RELEVANTES:**

#### **Perguntas**

1. A unidade já registou algum doente envenenado por marisco venenoso (peixe, camarão, amêijoa, etc.)?  
1.1 Sim \_\_\_\_\_ 1.2 Não \_\_\_\_\_  
1.3. Se sim: quais os mariscos que mais são registados com algum envenenamento/intoxicação?  
1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_  
4. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_
2. Existe algum tipo de divulgação em relação á intoxicação por mariscos marinhos para a comunidade?

2.1 Sim\_\_\_\_\_ 2.2 Não\_\_\_\_\_

3. A unidade já registou casos de intoxicação humana após o consumo de algum pescado?

3.1 Sim\_\_\_\_\_ 3.2 Não\_\_\_\_\_

Se sim: 3.3 Com que frequência são registados casos de intoxicação por toxinas marinhas? 1.Nunca\_\_\_\_\_ 2. Pouco frequente\_\_\_\_\_ 3. Muito frequente\_\_\_\_\_ 4. Quase sempre\_\_\_\_\_

4. Quantas se apresentam com intoxicação em média intoxicadas por mês?

1-10\_\_\_\_\_ 10-20\_\_\_\_\_ 20-30\_\_\_\_\_ mais de 50\_\_\_\_\_

5. Quais os mariscos mais frequentes relacionados á intoxicações?

1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_  
4. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_

6. Quais as intervenções realizadas em casos de intoxicação por toxinas marinhas?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

7. Quais são os principais sintomas que foram detectados nas pessoas intoxicadas por toxinas marinhas ou algas nocivas?

1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_  
4. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_

8. A unidade faz alguns diagnósticos para saber se trata de uma intoxicação por toxinas marinhas?

a. Sim\_\_\_\_\_ b Não\_\_\_\_\_

8.1. Se sim: Quais são os métodos de diagnósticos?

1. Sintomático\_\_\_\_\_ 2. Laboratorial\_\_\_\_\_ 3. Ambos\_\_\_\_\_

9. A unidade já registou caso de morte por intoxicação por toxinas marinhas

9.1 Sim\_\_\_\_\_ 9.2 Não\_\_\_\_\_

9.1. Se sim, quais os principais mariscos associados a mortes por intoxicação por toxinas marinhas

1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_  
3. \_\_\_\_\_ 4. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_

10. Quais são os grupos de pessoas mais vulneráveis a doenças transmitidas por alimentos (como toxinas marinhas?)

1. Crianças \_\_\_\_\_
  - 1.1 Mulheres \_\_\_\_\_
  - 1.2 Homens \_\_\_\_\_
2. Adultos \_\_\_\_\_
  - 2.1 Mulheres \_\_\_\_\_
  - 2.2 Homens \_\_\_\_\_
3. Idosos \_\_\_\_\_
  - 3.1 Mulheres \_\_\_\_\_
  - 3.2 Homens \_\_\_\_\_