

Aspectos sanitarios de las cianotoxinas

Eveline LUCENA

Programa de Doctorado Medicina Preventiva y Salud Pública. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Granada. Facultad de Farmacia. Campus Universitario de Cartuja. 18071 Granada. Correo-e: evelinelucena@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias pueden vivir en varios ambientes en condiciones extremas como en las aguas de fuentes minerales, con temperaturas de aproximadamente 74°C, o en lagos antárticos, con temperaturas próximas de 0°C, y otras resisten una alta salinidad durante los períodos de sequía. Algunas formas son terrestres, viven sobre rocas o suelos húmedos, y pueden ser importantes fijadoras del nitrógeno atmosférico, siendo esenciales para algunas plantas.

Las cianobacterias pueden producir sabor y olor desagradables en el agua, y desequilibrar los ecosistemas acuáticos. Lo más grave es que algunas de ellas son capaces de liberar toxinas, que no pueden ser eliminadas mediante los sistemas convencionales de tratamiento del agua tradicionales y ni por ebullición. Estas toxinas son neurotóxicas o hepatóxicas. Originalmente son una defensa contra los organismos consumidores de algas, pero con la proliferación de las cianobacterias en las fuentes de captación para el agua potable de las ciudades, éstas constituyen un riesgo sanitario y una gran preocupación para las empresas suministradoras del agua de consumo público.

El principal riesgo sanitario del agua es la contaminación fecal, especialmente en regiones con condiciones inadecuadas de saneamiento y escasez de agua.

Otra consecuencia del impacto antrópico en los ecosistemas acuáticos es la ocurrencia de procesos de eutrofización muy rápidos, causando un enriquecimiento artificial de esos ecosistemas por el aumento de las concentraciones de nutrientes en el agua, principalmente compuestos nitrogenados y fosfatos, que resulta en aumento de los procesos naturales de la producción biológica en ríos, lagos y

reservorios. Las causas principales son las descargas de efluentes domésticos e industriales de los centros urbanos y de las regiones agrícolas.

La eutrofización produce cambios en la calidad del agua, incluyendo la reducción del oxígeno disuelto y de la biodiversidad acuática, pérdida de las cualidades organolépticas, muerte de los peces, y aumento de la incidencia de floraciones de microalgas y cianobacterias. Esas floraciones pueden provocar el aumento en el coste del tratamiento del agua del abastecimiento y tener consecuencias relacionadas con la salud de la población abastecida.

Entre los factores que conducen a las cianobacterias a predominar sobre otro tipo de fitoplancton (microalgas), se destacan los caracteres fisiológicos por los cuales las cianobacterias asimilan los nutrientes (N y P) del medio acuático. Las cianobacterias son menos eficientes en la asimilación de estos nutrientes en comparación con las microalgas (algas verdes o diatomeas, por ejemplo), por lo que en condiciones normales crecen más y mejor. Pero cuando se produce una descarga excesiva de nutrientes se facilita la asimilación de éstos y el crecimiento de las cianobacterias.

Varios casos de intoxicación humana por toxinas de cianobacterias, han llamado la atención a nivel mundial. En China, una gran mortalidad humana se produjo por causa de carcinomas hepáticos ocasionados por la ingestión de agua contaminada con *Microcystis*. Síntomas de intoxicación también fueron observados en la población abastecida por el agua del Río Guadiana en Portugal; después de ingerir este agua que contenía una gran cantidad de *Aphanizomenon flos-aquae*, las personas presentaron problemas gástricos y dermatitis (OLIVEIRA et al., 2004).

En Brasil, dos casos de intoxicación humana por cianotoxinas han sido publicados. En el primero, la toxina hepática produjo una epidemia gastroin-

testinal, con 2392 personas afectadas, de las que murieron 88, después de consumir agua con la toxina de *Anabaena* y *Microcystis* (TEIXEIRA et al., 1993). Un segundo caso – el primero que confirmó la muerte por intoxicación humana por *Microcystis* – ocurrió en la ciudad de Caruaru en 1996, cuando pacientes renales sufrieron una intoxicación venosa mientras realizaban el tratamiento de hemodiálisis (OLIVEIRA et al., 2004).

CIANOBACTERIAS

Las algas azules, algas cianofíceas o cianobacterias, no pueden ser consideradas algas, pero tampoco como bacterias comunes. Son consideradas microorganismos con características celulares procariontes (bacterias sin membrana nuclear), pero poseen un sistema fotosintético semejante al de las algas (vegetales eucariontes). Hay una confusión en la nomenclatura de estos seres, puesto que inicialmente se pensó que se trataba de algas unicelulares, pero los estudios posteriores demostraron que poseen características de bacterias. Para unificar la terminología, en este artículo serán denominadas cianobacterias.

Las cianobacterias posiblemente fueran las responsables del aumento de oxígeno en la atmósfera primitiva, lo que permitió la aparición de la capa de ozono, que mediante la retención de parte de la radiación ultravioleta permitió la evolución de los organismos más sensibles a la misma.

Las cianobacterias se pueden encontrar en forma unicelular, como en los géneros *Synechococcus* y *Aphanothece*, en agrupaciones, como *Microcystis*, *Gomphosperia*, *Merismopedim*, o incluso en forma de filamentos, como *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Cylindrospermopsis*, y *Nostoc*.

Las cianobacterias cuando son observadas mediante tinción de Gram, se comportan como bacterias Gram-negativas, con paredes celulares poco permeables a los antibióticos.

La coloración de las cianobacterias puede ser explicada a través de la presencia de los pigmentos clorofila-A (verde), carotenoide (amarillo-naranja), ficocianina (azul) y la ficoeritina (rojo). Todos estos pigmentos realizan la captación de la luz para la fotosíntesis. Algunas especies pueden presentar más de un tipo de pigmento, esto explica la existencia de cianobacterias de diversos colores.

Las cianobacterias son microorganismos autotróficos, es decir, la fotosíntesis es su principal medio para obtener energía y mantener el metabolismo. Sus procesos vitales requieren solamente agua, dióxido de carbono, sustancias inorgánicas y luz.

La reproducción de las cianobacterias no coloniales es asexual, las formas filamentosas pueden reproducirse de forma asexual y algunas especies de colonias filamentosas son capaces de producir esporos resistentes, los acinetos, que

originan nuevas colonias filamentosas cuando se liberan.

De acuerdo con varios estudios realizados en manantiales de agua potable, se conoce que los motivos para el aumento de cianobacterias son:

1) El aumento de los componentes nitrogenados y fosfatados en la agua. Las cianobacterias poseen tres elementos que limitan el crecimiento suyo: el nitrógeno, el oxígeno y el fósforo.

2) El aumento de la materia orgánica favorece el aumento de microorganismos desintegradores libres en el agua y en los sedimentos, que acaban consumiendo el oxígeno disuelto, favoreciendo así la actividad fotosintética de las cianobacterias. Además de eso, en los medios anaeróbicos la disponibilidad de las formas inorgánicas de nitrógeno y fósforo aumentan, facilitando el crecimiento masivo.

El aumento de la interferencia del hombre en el medio ambiente, materializada, por ejemplo, en la utilización de los fertilizantes en la agricultura, en las descargas de aguas residuales urbanas y en el vertido de efluentes de la agricultura industrial y de otros sectores de la industria, es el factor principal conducente al enriquecimiento de las masas de agua en nutrientes, especialmente en forma de amonio, nitratos y fosfatos. La eutrofización de estos sistemas, coadyuvada por temperaturas elevadas y periodos largos de luminosidad, tal como se verifica desde final de la primavera hasta el final de verano, son las condiciones esenciales para que el desenvolvimiento excesivo de las poblaciones de cianobacterias ocurra.

Las consecuencias de este aumento en la población de cianobacterias son muy diversas. Por un lado, la acumulación en la superficie de grandes masas de cianobacterias disminuye la radiación luminosa que alcanza las aguas más profundas, y por eso ocurre la alteración de todo el ecosistema en términos de productividad. Por otro lado, al final del verano, con la disminución de la temperatura e intensidad de la luminosidad, coincidiendo en la mayoría de los casos con un aumento de nutrientes en el agua, ocurre una gran mortalidad, lo que significa que se produce un enorme excedente de materia orgánica, aumentando el crecimiento de las bacterias quimioheterotróficas, que la decomponen con un gran consumo de oxígeno. Esta desoxigenación de las aguas es responsable de una elevada mortalidad en las poblaciones de animales acuáticos.

Un aumento de la población de cianobacterias también origina la alteración de las características organolépticas del agua y de los animales acuáticos comestibles, originada por la producción de ciertos compuestos químicos aromáticos volátiles producidos por algunas especies de microalgas.

Pero el efecto más grave resultante del florecimiento explosivo de cianobacterias es la producción de toxinas. Sin embargo, esta producción no es más de que un mecanismo defensivo contra el zooplankton y otros herbívoros, disminuyendo en los consumidores la apetencia debido a la toxicidad

acumulada en las células, del mismo modo que hacen las plantas vasculares cuando producen taninos, fenoles, u otras sustancias para defenderse de los herbívoros.

CLASIFICACIÓN Y EFECTOS DE LAS TOXINAS

De acuerdo con los efectos, las toxinas de las cianobacterias pueden ser clasificadas en tres categorías: neurotóxicas, hepatotóxicas y dermatotóxicas.

Las neurotóxicas actúan en la transmisión del impulso nervioso y pueden provocar la muerte por parada respiratoria, como consecuencia de la parálisis muscular.

Las hepatotoxinas son producen lesiones hepáticas, pudiendo conducir a la muerte por hemorragia intrahepática y choque hipovolémico. En dosis no letales, a estas toxinas se le han atribuido efectos carcinogénicos.

Las toxinas dermatotóxicas no son letales para los organismos, pues no son tan peligrosas como las

otras mencionadas, provocando irritación cutánea por contacto.

Los animales más afectados por las cianobacterias tóxicas son los acuáticos (pescados, zooplancton y macroinvertebrados), pudiendo ocurrir una elevada mortalidad debido a las toxinas y a la desoxigenación de las aguas. Esta mortalidad contribuye al empeoramiento de la calidad del agua por la sobrecarga de compuestos nitrogenados y fosfatados resultantes de la descomposición de esta materia orgánica. Los animales que utilizan las fuentes de agua contaminada pueden también verse afectados, presentando principalmente alteraciones hepáticas, gastrointestinales, neurológicas y alérgicas, pudiendo conducir a la muerte. La sintomatología es diversa, dependiendo siempre de la intensidad de la contaminación e del tipo de la toxina implicada. Las cianobacterias pueden, también, constituir un riesgo para la salud pública, por la utilización del agua contaminada para consumo o en actividades de recreo. El consumo de esta agua, sin el tratamiento adecuado para la retención de microorganismos y de sus toxinas, puede ser responsable de enfermedades

TABLA 1. Características generales de las cianotoxinas.

| <i>Toxinas</i> | <i>Punto orgánico de acción</i> | <i>Genero de Cyanobacteria</i> |
|--|---|--|
| PÉPTIDOS CÍCLICOS (HEPATOTOXINAS) | | |
| Microcistinas | Hígado | <i>Mycrocystis, Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Nostoc, Hepalosiiphon, Anabaenopsis</i> |
| Nodularina | Hígado | <i>Nodularia</i> |
| ALCALOIDES (NEUROTOXINAS) | | |
| Anatoxinas | Sinapsis Nerviosa | <i>Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Aphanizomenon</i> |
| Aplisiatoxinas | Piel | <i>Lyngbya, Schizothrix, Planktothrix (Oscillatoria)</i> |
| Cilindrospermopsinas | Hígado | <i>Cylindrospermopsins, Aphanizomenon, Umezakia</i> |
| Lyngbyatoxin-a | Piel, área gastrointestinal | <i>Lyngbya</i> |
| Saxitoxinas | Nervio Axial | <i>Anabaena, Aphanizomenon, Lyngbya, Cylindrospermopsis</i> |
| LIPOPOLISACARIDOS (LPS) | | |
| Dematotoxinas | Potencial irritante. Irritaciones de cualquier tejido expuesto. | Todos los géneros |

agudas o crónicas, dependiendo de la dosis y del tiempo de la exposición. La salud humana puede ser afectada por la inhalación de cianobacterias o de esporos, por la ingestión del agua o por contacto directo. La inhalación y el contacto directo pueden ocurrir accidentalmente o por la práctica de deportes acuáticos. La inhalación puede producir síntomas alérgicos, tales como rinitis, conjuntivitis, disnea o bronquitis aguda. El contacto puede desencadenar irritación ocular, conjuntivitis, dermatitis, obstrucción nasal, asma, etc.

La ingestión accidental del agua con dosis elevadas de toxinas puede provocar intoxicaciones agudas, caracterizadas por un cuadro de gastroenteritis con diarrea, vómitos, náuseas, dolores cólicos abdominales, fiebre, hepatitis con anorexia, astenia y vómitos. La ingestión continuada de bajas dosis de toxinas puede producir alteraciones hepáticas crónicas. Estas situaciones pueden ser también desencadenadas por la ingestión de moluscos filtradores, que acumulan en sus tejidos dosis no letales de estos productos, que pasan a lo largo de las cadenas tróficas y cuyo destino puede ser el hombre.

El conocimiento de los efectos perjudiciales que las cianobacterias pueden tener para el ambiente y para la salud pública justifica la necesidad de abordar la existencia de estos organismos con una mayor atención en el contexto de la gestión de la calidad del agua. El florecimiento en las aguas de superficie utilizadas para el consumo plantea esencialmente dos problemas desde el punto de vista de su tratamiento. Por un lado, siendo organismos de dimensiones muy reducidas y existiendo en gran densidad, pueden pasar por los filtros utilizados en las estaciones de tratamiento del agua potable, alcanzando densidades importantes en la red de distribución. Por otro lado, las toxinas no son eliminadas por los tratamientos usuales (coagulación, floculación, filtración y desinfección), puesto que al existir en gran cantidad en el agua, al final se mantienen grandes niveles en el agua de consumo. Además de esto, los tratamientos de desinfección con cloro pueden aumentar el riesgo de formación de compuestos organoclorados del grupo de los trihalometanos, que actúan como compuestos cancerígenos. Es importante, al menos en los momentos de mayor densidad de cianobacterias tóxicas, no recurrir a la precloración, y utilizar filtros de carbón activado y ozono, que remueve, con una eficacia próxima al 100%, las toxinas presentes en el agua.

Actualmente, los esfuerzos que se realizan en este ámbito, están concentrados en los aspectos de vigilancia y control, y en para la comprensión general de los fenómenos y su posible prevención.

Microcistinas

En los varios incidentes de intoxicación en humanos, en su mayoría, son causados por cianobacterias o sus toxinas, siendo *Mycrocystis* la más frecuente. Sin embargo, aún teniendo una gran

evidencia de la relación causa-efecto de *Mycrocystis*, teniendo en cuenta la variable susceptibilidad, estamos muy lejos de establecer la dosis capaz de constituir un riesgo para el hombre (CHORUS y BARTRAM, 1999).

Hay estudios que muestran que tras la ingestión de dosis no letales de microcistinas en ratones y ratas, cerca de 70 % de la toxina estaba localizada en el hígado. Cerca de 9 % de la dosis administrada se eliminó por vía urinaria y el resto de la dosis se eliminó lentamente – en torno de 1% al día – por vía fecal (RUNNEGAR et al., 1986; BROOKS y CODD, 1987; ROBINSON et al., 1989,1991; CHORUS y BARTRAM, 1999).

La microcistina-LR no atraviesa rápidamente las membranas celulares y tampoco penetran en las membranas de los tejidos. Después de su ingesta oral, la sustancia es transportada hasta el íleo a través del jugo biliar y de la circulación sanguínea. Se verificó la presencia de la microcystin-LR en las células hepáticas y en el intestino delgado (RUNNEGAR et al, 1981).

Nodularinas

Fueron inicialmente identificadas en la especie *Nodularia spumigena*, una cianobacteria de aguas salobres (SIVONEN et al., 1989), teniendo una estructura molecular muy semejante a las microcistinas.

Hasta hoy sólo han sido identificadas ocho nodularinas, clasificadas de acuerdo con las variaciones en su composición e isomerización de aminoácidos (CEBALLOS et al., 2007).

Se han identificado microcistinas y nodularinas de estructura química lineal, con un potencial tóxico 100 veces mayor que las de las formas cíclicas. Es notable la producción de un análogo de las nodularinas por una esponja de mar, *Theonella swinhoe*, lo que sugiere que esas toxinas pueden tener mayor diversidad de organismos productores que los identificados hasta hoy y valiosa importancia ecológica (CHORUS y BARTRAM, 1999).

Cilindrospermopsinas

Son alcaloides con toxicidad hepática, peso molecular de 415, identificadas en los años 90, y aisladas hasta el momento en tres especies de cianobacteria: *Cylindrospermopsis raciborskii* (OHTANI et al., 1992), *Umezakia natans* (HARADA et al., 1994) y *Aphanizomenon ovalisporum* (BANKER et al., 1997; SHAW et al., 1999).

Entre las hepatotoxinas conocidas, las cilindrospermopsinas son las de acción más lenta, requieren mayor tiempo (5 a 7 días) para producir su efecto tóxico máximo, y las de menor toxicidad, ya que se necesita de mayor dosis para provocar daños a la salud. En ratones, la DL₅₀ por inyección intraperitoneal a las 24 horas es de 2mg/Kg de peso, mientras que a los 5 días la DL₅₀ pasa a ser de 0,2

mg/Kg (HARADA et al., 1994). Por administración oral, la DL_{50} a los 5 días es de, aproximadamente, 6mg/Kg (SEAWRIGHT, 1999).

Su mecanismo de acción es mediante la inhibición de la síntesis proteica (TERAO, 1994; FROSCIO, 2001), siendo el hígado el punto principal. También fueron observados daños severos en las células renales, pulmonares y cardíacas en los animales de la experimentación (CHORUS y BARTRAM, 1999), lo que lleva a considerar estas moléculas como un alcaloide citotóxico.

Por otra parte, se ha demostrado que las cilindrospermopsinas pueden causar daños genéticos *in vitro* (HUMPAGE et al., 2000b) e *in vivo* (FALCONER y HUMPAGE, 2001; SHEN et al., 2002).

De acuerdo con CHORUS y BARTRAM (1999), no hay aún datos suficientes para establecer un límite máximo aceptable para las cilindrospermopsinas en aguas para abastecimiento público. Entretanto, estudios toxicológicos realizados por SHAW et al. (2000) sugieren un límite máximo aceptable de 15 $\mu\text{g/L}$ para el agua potable. Entretanto, en un estudio más reciente de HUMPAGE y FALCONER (2003), basado en toxicidad por vía oral, con dosis de efectos crónicos para ratones, llevó estos autores a proponer 1 $\mu\text{g/L}$ como límite máximo aceptable de cilindrospermopsinas en agua potable.

Anatoxina-a y homoanatoxina-a

La anatoxina-a y su homólogo la homoanatoxina-a son neurotoxinas muy potentes. Con bajo peso molecular ($pm = 165$), la anatoxina-a es una amina secundaria producida por *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena ssp* (grupo *flos-aquae-lemmermannii*), *Anabaena planktonica*, *Oscillatoria*, *Aphanizomenon* y *Cylindrospermum*. La homoanatoxina-a es una molécula un poco mayor ($pm = 179$) y producida por *Oscillatoria formosa* (*Phormidium formosum*).

La DL_{50} por inyección intraperitoneal en ratones para esta cianotoxina purificada es de 200 $\mu\text{g/kg}$ de peso, con tiempo de supervivencia de 1 a 20 minutos (CARMICHAEL, 1992; FALCONER, 1998).

La anatoxina-a es un alcaloide neurotóxico que actúa como un potente bloqueador neurológico muscular postsináptico de receptores nicotínicos y colinérgicos. Su acción ocurre por la unión irreversible a los receptores de la acetilcolina, no siendo degradada por la acetilcolinesterasa. En animales salvajes y domésticos, el envenenamiento por esta toxina provoca desequilibrio, fasciculación muscular, respiración jadeante y convulsiones. La muerte es causada por parada respiratoria, y puede ocurrir entre pocos minutos hasta varias horas después de su ingestión, dependiendo de la dosis ingerida y del consumo previo de alimento. Dosis orales en concentraciones mayores pueden causar la muerte. Los animales necesitan ingerir desde mililitros a pocos litros de agua con floraciones para recibir la

dosis letal, dependiendo de la toxicidad y número de células productoras (CARMICHAEL, 1994).

Anatoxina-a(S)

Es un compuesto organofosforado natural (N-hidroxi guanidina fosfato de metilo), con un peso molecular de 252, descrito por vez primera en la familia de *Anabaena flos-aquae*. Descubrimientos más recientes han identificado esa toxina en floraciones de *Anabaena lemmermannii*, aunque hasta el momento no se han encontrado variantes estructurales de la molécula de esta toxina.

La DL_{50} intraperitoneal en ratones es de 20 $\mu\text{g/Kg}$ de peso, por tanto, diez veces más potente que la anatoxina-a, con tiempo de supervivencia de 10 – 30 minutos (CARMICHAEL, 1992). No hay registros de intoxicación humana por esa toxina. Debido a la su escasa frecuencia no se ha establecido un límite máximo aceptable para consumo oral en el hombre (CARMICHAEL, 1994; FALCONER, 1996).

La anatoxina-a(S) tiene una actividad acetilcolinesterasa por unión irreversible a esta enzima. Su mecanismo de acción es semejante a la anatoxina-a, impidiendo la degradación de la acetilcolina ligada a los receptores nerviosos. Su denominación, anatoxina-a(S) es debida a la intensa salivación provocada en animales intoxicados por esa neurotoxina. La intoxicación provoca bradicardia, sudores, vista turbada, lagrimeo, secreción bronquial excesiva, disnea, tos, vómitos, dolor abdominal, diarrea, incontinencia urinaria, taquicardia, hipertensión, dilatación de las pupilas, debilidad muscular, agitación, confusión y coma. La anatoxina-a(S) es análoga a los pesticidas organofosforados (MATSUNAGA et al., 2001). En Rio Grande do Sul (Brasil) fue confirmada la inhibición de la acetilcolinesterasa por aguas con floraciones de 500.000 filamentos por mililitro de *Anabaena spiroides* (MONSERRAT et al., 2001). Actividad inhibidora de la acetilcolinesterasa también fue observada en varios eventos de floraciones, principalmente en el sur de Brasil.

Saxitoninas

Ese es el nombre genérico adoptado para un grupo de neurotoxinas aisladas inicialmente de los dinoflagelados marinos que causan las mareas rojas, provocando generalmente intoxicación y muerte de humanos y animales y conocidas como *venenos paralizantes de moluscos* (toxinas del tipo PSP).

Sus estructuras químicas son muy diferentes de las microcistinas y forman parte de un extenso grupo de alcaloides neurotóxicos de la familia de los carbamatos, que pueden presentar o no grupos sulfato en la su molécula. La saxitoxina es un ejemplo de molécula neurotóxica sin la presencia de grupos sulfato. Algunas neurotoxinas poseen un solo radical sulfato, como las G- toxinas, y otras presentan dos o más de esos radicales, como las C- toxinas. Ese grupo

de alcaloides posee toxicidad muy variada, siendo la saxitoxina la más potente. La DL_{50} intraperitoneal en ratones para la saxitoxina purificada es de 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso, y por oral oral, la DL_{50} es de 263 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso (CHORUS y BARTRAM, 1999).

La OMS considera que aún no hay datos suficientes para establecer una concentración máxima aceptable para las saxitoxinas en aguas potables (CHORUS y BARTRAM, 1999). No obstante, los datos de eventos de intoxicaciones humanas evidenciaron que la mayoría de los casos estuvieran asociados a un consumo de aproximadamente 200 μg de saxitoxinas (STX) por persona.

Basándose en estos datos, y considerando 60 Kg como peso corpóreo, 2 L de agua como consumo diario, y los factores de certeza para variaciones entre especies distintas y entre organismos de la misma especie, FITZGERALD et al. (1999), propusieron 3 $\mu\text{g}/\text{L}$ como límite máximo aceptable de saxitoxinas en agua para abastecimiento público.

Dermatotoxinas

Son también conocidas como intratoxinas y son frecuentes en la membrana externa de la pared de las bacterias Gram negativas, como *Salmonella*, *E. coli* y algunas especies de *Pseudomonas* marinas (KELETI y SYKORA, 1982; CHORUS y BARTRAM, 1999). Estas intratoxinas se encuentran formando complejos con proteínas y fosfolípidos de la pared celular. El ácido graso que forma parte del componente sacaroideo es generalmente el agente que causa irritaciones y reacciones alérgicas en humanos y en otros mamíferos. El primer aislamiento de LPS de cianobacteria fue relatado por WEISE et al. (1970), de una cepa de *Anacystis nidulans*. Posteriormente, se describió el aislamiento de estas intratoxinas en otras cianobacterias: *Microcystis flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena circinalis*, *Cylindrospermopsis raciborskii* y *Phormidium* spp. Los escasos estudios sobre esas toxinas en cianobacterias indican menor toxicidad que las de origen bacteriano (CHORUS y BARTRAM, 1999).

Los alcaloides dermatotóxicos son cianobacterias de origen bentónico como *Lingbya majuscula*, *Oscillatoria* y *Schizothrix*, que producen toxinas que causan dermatitis severas en nadadores cuando los filamentos se ponen en contacto con la piel. La acción tóxica de *Lingbya* es causada por toxinas llamadas aplisiatoxinas, potencialmente productoras de tumores, también producidas, junto a otros compuestos orgánicos, en *Schizothrix calcicola* y *Oscillatoria nigroviridis* (CHORUS y BARTRAM, 1999).

DEGRADACIÓN DE CIANOTOXINAS

Los distintos tipos de cianotoxinas poseen una estabilidad química y una degradación microbiológica bastante distinta en los ambientes acuáticos.

Anatoxina-a: Es muy estable en ausencia de luz, pero cuando está pura en solución ocurre una rápida degradación fotoquímica mediante la luz solar. Esta degradación es acelerada por condiciones alcalinas y se produce en 2 horas. Bajo condiciones naturales de iluminación, con pH 8-10 y concentraciones iniciales bajas (1 mg/mL), el tiempo necesario para degradar el 50 % del total de anatoxina-a (media vida) es de 14 días (STEVENS y KRIEGER, 1991). Esa toxina parece ser rápidamente degradada por bacterias asociadas a los filamentos de cianobacteria. KIVIRANTA et al. (1991) aislaron una cepa de *Pseudomonas* capaz de degradar la anatoxina-a desde 10 mg/ml a 6 mg/ml en tres días. En presencia de sedimento y bacterias en el medio acuático, la media vida de degradación de anatoxin-a en un ensayo de laboratorio fue de cinco días aproximadamente (CHORUS y BARTRAM, 1999). Esa molécula es relativamente inestable en temperaturas superiores a 4 °C y se descomponen rápidamente en condiciones alcalinas, pero es relativamente estable en condiciones ácidas (MATSUNAGA et al., 1989).

Saxitoxina: A temperatura ambiente y en ausencia de la luz, las saxitoxinas sufren varias reacciones de hidrólisis química, pierden su radical N-carbonilsulfato y se transforman en decarbonilgoniautoxinas (dc-GTXs). Las dc-GTXs, GTXs e STXs, lentamente van siendo degradadas a productos no tóxicos. El tiempo necesario para degradar el 50 % del total de esas toxinas varía de 1 a 10 semanas, siendo frecuentemente necesarios más de tres meses para la degradación del 90 % de esas moléculas (JONES y NEGRI, 1997).

También es importante señalar que, como las dc-GTXs son mucho más tóxicas que las C-toxinas, puede ocurrir un aumento de la toxicidad del agua durante las primeras tres semanas después de la floración de cianobacterias productoras de saxitoxinas del tipo C-toxinas y GTXs-toxinas. Los procesos de acidificación y hervido también pueden favorecer un aumento de la toxicidad (JONES y NEGRI, 1997).

Aún no hay ningún estudio que haya demostrado la degradación de saxitoxinas por la actividad bacteriana (Ministério da Saúde/Funasa/Brasil, 2003).

Microcistinas: Debido a su estructura peptídica cíclica, las microcistinas son muy estables y resistentes a la hidrólisis química y oxidación a pH próximo a la neutralidad. Además de esto, microcistinas y nodularinas mantienen su toxicidad aún después de la ebullición. En condiciones naturales, en ausencia de luz, las microcistinas pueden persistir durante meses o años. A temperatura elevada (40 °C) y condiciones de pH alto o bajo, se han observado hidrólisis lentas, siendo necesarias aproximadamente 10 semanas a pH 1, y más de 12 semanas a pH 9, para la degradación de cerca de 90 % de la concentración total de microcistinas (HARADA et al., 1996).

Se ha observado una lenta degradación fotoquímica de las microcistinas expuestas a la luz solar. La tasa de esa reacción se ve aumentada por la presencia de pigmentos fotosintéticos hidrosolubles, tales como ficobiliproteínas (TSUJI et al., 1993). En presencia de estos pigmentos, la degradación fotoquímica del 90 % de la concentración total de microcistinas puede variar de dos a seis semanas, dependiendo de la concentración de pigmentos y toxinas. La presencia de sustancias húmicas también parece acelerar la degradación de microcistinas bajo la luz solar.

Aunque las microcistinas son resistentes a varias peptidasas de eucariontes y bacterias, son más fáciles de degradar por algunas bacterias que se encuentran de forma natural en ríos y manantiales. Bacterias capaces de degradar las microcistinas ya fueron aisladas de varios ecosistemas acuáticos y también efluentes fecales. Ese proceso puede llevar de 2 a 10 días, dependiendo principalmente de la concentración inicial de esas toxinas y de la temperatura del agua (CHORUS y BARTRAM, 1999).

Cilindrospermina: Es relativamente estable en ausencia de luz, con una lenta degradación a temperaturas inferiores a 50 °C. En cambio, en presencia de luz solar y de pigmentos fotosintéticos la degradación puede ocurrir rápidamente, ocasionando la destrucción de 90 % del total de cilindrospermopsina entre dos y tres días (CHORUS y BARTRAM, 1999).

CONTROL Y ELIMINACIÓN DE ALGAS, CIANOBACTERIAS Y CIANOTOXINAS EN LOS SISTEMAS DE ABASTECIMIENTO DE AGUA

La ordenación y control de algas, cianobacterias y cianotoxinas en los sistemas de abastecimiento de agua engloban acciones de carácter preventivo y correctivo, que deben ser desarrolladas de acuerdo con criterios de prioridad. Las acciones de prevención del proceso de eutrofización en los manantiales de abastecimiento deben ser prioritarias, y están en relación con el manejo de los factores que controlan el crecimiento de las algas y cianobacterias, principalmente del aporte de nutrientes.

Los principales orígenes de los nutrientes que fertilizan el agua son: escorrentía superficial y erosión en áreas de agricultura fertilizada, erosión como consecuencia de la deforestación, y aguas residuales. Así, para reducir la carga de nutrientes que llega a un cuerpo de agua, se hace necesario el ordenamiento territorial y uso del suelo en la cuenca hidrográfica, adopción de buenas prácticas en la agricultura (agricultura orgánica, control de la erosión, sistema de irrigación apropiado, período correcto para la aplicación de los fertilizantes en función de los cultivos, etc.) y agroindustria, y minimización y tratamiento adecuado de aguas residuales domésticas y industriales.

Para acelerar la recuperación de una masa de agua eutrofizada, las medidas de control de las fuentes externas de nutrientes pueden ser completadas por medidas de control interno de nutrientes y cianobacterias, es decir, acciones que supongan el tratamiento del agua. Las medidas de control interno pueden ser divididas en: 1) Métodos físicos, englobando la circulación artificial del agua, la aeración del hipolimnio (parte más fría, más densa y más profunda de un lago térmicamente estratificado), retirada (exportación) de agua del hipolimnio, y dragado de los sedimentos, entre otros; 2) Métodos químicos, tales como precipitación e inactivación del fósforo y uso de algicidas (sulfato de cobre, permanganato de potasio, etc.); y 3) Métodos biológicos, como uso de cianófagos y myxobacterias.

YOO et al. (1995), y CHORUS y MUR (1999), hablan de manera detallada de las medidas preventivas de control externo e interno de las fuentes de nutrientes y de cianobacterias, sus aplicabilidades, y aspectos positivos y negativos.

Entre las medidas de control interno del manantial, una de las más utilizadas por todo el mundo, y también en el Brasil, es la aplicación de algicidas, principalmente sulfato de cobre. Es necesario decir que esa técnica debe ser usada de manera cuidadosa, pues lleva a la liberación de toxinas intracelulares de las cianobacterias presentes en el agua, de modo que se eviten cantidades excesivas de toxinas y/o compuestos que produzcan olor y sabor. En las situaciones en que un gran número de cianobacterias esté presente en el agua, el uso de algicidas sólo se podrá hacer cuando el manantial alternativo de agua pueda ser usado hasta que las toxinas y otros compuestos se degraden, o si el tratamiento de agua disponible fuera capaz, con absoluta certeza, de eliminar las toxinas disueltas a la concentración en que se encuentran presentes (HRUDEY et al., 1999).

Los procesos de coagulación, cuando son optimizados y asociados a los procesos de separación sólido-líquido y/o a la predesinfección, pueden eliminar de forma eficaz las células de cianobacterias. Sin embargo, de acuerdo con HART et al. (1998), varios estudios muestran que los procesos convencionales de tratamiento (coagulación, floculación, sedimentación y filtración) no serán efectivos en la eliminación de la fracción disuelta de las cianotoxinas.

FALCONER et al. (1989) encontraron una reducción de toxicidad de apenas 20 % cuando coagularon con sulfato de aluminio un agua rica en neurotoxinas procedentes de una floración de *Anabaena circinalis*, incluso utilizando dosis elevadas del coagulante (120 mg/L). La adición de diferentes polielectrolitos como coadyuvantes de la floculación no produjo una mejora en la reducción de la toxicidad por neurotoxina. Bajas disminuciones de anatoxina-a también fueron descritas por KEIJOLA et al. (1988), en experimentos que incluían la

coagulación seguida de filtración y cloración. Para altas concentraciones de toxinas (200 g/L), el uso del cloruro férrico como coagulante se mostró más eficaz que el sulfato de aluminio, pero para una concentración de toxinas cerca de diez veces menor, prácticamente ninguno de los dos coagulantes, presentó eficacia.

HIMBERG, et al. (1989), frente a resultados de experimentos en escala de laboratorio, el tratamiento a escala real que incluye la coagulación/floculación, filtración rápida y cloración, no es capaz de una eliminación significativa de hepatotoxinas procedentes de especies tóxicas de *Microcystis* y *Oscillatoria*. Los autores destacan que en algunas experiencias la secuencia de tratamiento presentó una reducción de toxina igual a cero o negativa, lo que sugiere que las toxinas pueden ser liberadas durante la coagulación/floculación.

De acuerdo con las observaciones anteriores, HART et al. (1998) afirman que la coagulación con sulfato de aluminio reduce significativamente la concentración total de microcistina LR (hepatotoxina). La reducción se producía en función de la eliminación de las células y no como resultado de la reducción de la microcistina extracelular. Los datos mostraban que la fracción disuelta (extracelular) permaneció prácticamente constante al margen de la dosis utilizada (0 a 7 mg Al/L). Estos autores señalan que, en los experimentos realizados, no se produjeron evidencias que insinuasen que el tratamiento convencional provocó la muerte de las células y liberación de toxina intracelular.

Ese aspecto es discutido por HRUDEY et al. (1999) en una revisión a cerca de las investigaciones que habían evaluado la muerte de las células de cianobacterias cuando son sometidas a coagulación/floculación. La literatura presenta resultados contradictorios a cerca de esta cuestión, pues los estudios más nuevos apuntan en la dirección de que, para las dosis usualmente adoptadas en los tratamientos convencionales, las células de las cianobacterias, más específicamente *Microcystis*, no son dañadas en el proceso de coagulación/floculación. También se observa que en los lodos producidos en los procesos de separación, ocurre primeramente la liberación de toxinas y posteriormente la reducción de las mismas. En investigaciones realizadas por estos autores, después de dos días, toda la toxina de las células de *Microcystis aeruginosa* presentes en los lodos colectado en una instalación piloto de tratamiento había sido liberada en el agua. Después de cinco días, se observó una reducción del 80 %, y después de trece días, la eliminación de las toxinas fue total. Esta observación tiene implicaciones prácticas relacionadas con el tiempo de acumulación de los lodos en los decantadores y espesadores de lodos, particularmente cuando el agua clarificada en esas unidades retorna al proceso de tratamiento.

En las investigaciones de FALCONER et al. (1989) y de HIMBERG et al. (1989), citadas anteriormente, evalúan también la eliminación de toxinas por carbón activado, en polvo y granular. Los resultados obtenidos sugieren que el carbón activado es capaz de eliminar cianotoxinas por sí mismo o de modo combinado con el tratamiento convencional.

KEIJOLA et al. (1998), presentan el carbón activado granular como un proceso de tratamiento efectivo en la remoción de hepatotoxinas y neurotoxinas (anatoxina-a), pero no relatan resultados buenos con el carbón activado en polvo. La poca eficiencia del carbón activado en polvo investigado en este estudio, puede estar asociada a la poca concentración usada en los experimentos (5 mg/L). HART et al. (1998) resaltan que la efectividad del carbón activado en polvo es altamente dependiente del tipo y de la dosis utilizada. Experimentos realizados en investigaciones anteriores, para el tipo de carbón más efectivo, muestran que son necesarias dosis mayores a 20 mg/L (dosis similares a las usadas por Falconer et al.) para conseguir reducciones mayores al 85%. Según estos mismos autores, las dosis de carbón activado en polvo usualmente adoptadas en el tratamiento del agua (5 a 20 mg/L), probablemente contribuirán a la reducción de toxinas, pero difícilmente se alcanzará la eliminación completa de estos compuestos.

Las cianotoxinas se encuentran principalmente en el interior de las células viables de las cianobacterias tóxicas (toxinas intracelulares). En condiciones normales, apenas una pequeña proporción de estas toxinas es liberada por las células al agua (toxinas extracelulares). Sin embargo, cuando ocurre la muerte de la célula, sea de forma natural o por la acción de ruptura ejercida por los agentes químicos como el sulfato de cobre y oxidantes, la toxina intracelular es significativamente liberada al agua (YOO et al., 1995). De este modo, los procesos y secuencias del tratamiento del agua para abastecimiento público deben ser analizados en función de su capacidad para remover las células viables y de no promover su muerte.

La remoción de biomasa de las algas ha sido objeto de estudio de varios investigadores, y son varias las líneas que abordan el problema: Desde el uso de filtros rápidos de pequeña granulometría sin previa coagulación (NAGAVI y MALONE, 1986), hasta la adopción de una etapa de preoxidación utilizando cloro, ozono y otros oxidantes (JANSSENS et al, 1998; PETRUSEVSKY et al., 1996; LAGE FILHO y FERREIRA FILHO, 1997). Esa última opción se ha mostrado capaz de promover una mayor eficiencia de remoción de microalgas. Por ello, una de las opciones que la literatura viene indicando como más recomendada para la remoción de microalgas es la flotación por aire disuelto, seguida de filtración rápida (HYDE et al., 1977; EDZWALD y WINGLER, 1990; EDZWALD, 1993; JANSSENS y BUEKENS, 1993; REALI y

GIANOTTI, 1993). Este proceso, por su pretratamiento (coagulación/floculación), es también muy eficiente en la remoción de la materia orgánica disuelta (GEHR et al., 1993).

No hay muchos trabajos que abordan la eliminación de la fracción extracelular de las cianotoxinas. La mayoría de los trabajos publicados abordan la remoción de las cianotoxinas en un proceso de tratamiento y son pocos los trabajos que evalúan las secuencias de tratamientos más comunes, que implican la coagulación-floculación y una o más etapas de la clarificación (sedimentación, flotación y filtración rápida). Otro aspecto es que la gran mayoría de esas investigaciones relatan experimentos realizados a escala de laboratorio o instalaciones piloto, siendo pocos los resultados obtenidos a escala real (HRUDEY et al., 1989).

PREVENCIÓN DE FLORACIONES DE CIANOBACTERIAS EN CAPTACIONES PARA EL ABASTECIMIENTO PÚBLICO

De acuerdo con YOO et al. (1995), y CHORUS y BARTRAM (1999), los métodos de prevención de las floraciones de cianobacterias incluyen técnicas como: 1) Control de la cuenca hidrográfica, para minimizar la entrada de nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo; 2) Tratamiento de agua represada con técnicas de aeración y/o eliminación de los nutrientes disueltos para crear condiciones de menor disponibilidad para la población de cianobacterias; 3) Control mediante manipulación biológica para el cambio de la estructura de la comunidad acuática.

En algunas regiones continentales áridas, el nitrógeno puede ser el principal factor limitante para el crecimiento del fitoplancton. Por eso, la relevancia del nitrógeno para la limitación del crecimiento de cianobacterias es siempre discutible, porque varios géneros de esos microorganismos son capaces de compensar la deficiencia de nitrógeno por fijación biológica del nitrógeno atmosférico. Por tanto, la deficiencia de nitrógeno inorgánico puede permitir la dominancia de algunas especies de cianobacterias, por ejemplo de los géneros *Anabaena*, *Aphanizomenon* y *Cylindrospermopsis*. Pero, estas especies pueden también presentarse en condiciones de altas concentraciones de nitrógeno inorgánico (REYNOLDS, 1997).

La concentración del fosfato soluble ha sido relacionada con el aumento del fitoplancton, porque esa fracción del fósforo total está siempre disponible para ser absorbida. Además, se ha demostrado que el reciclaje de las moléculas de fosfato dentro de la comunidad fitoplanctónica es extremadamente rápida (5 a 100 minutos), y que el fosfato liberado por la degradación de sustancias orgánicas es reabsorbido por las bacterias y algas más rápidamente que la

capacidad analítica para detectarlo (CHORUS y BARTRAM, 1999).

Por tanto, si el fósforo soluble supera los límites superiores de detección, eso significa que existe una disponibilidad de fosfato mayor que la requerida por la comunidad fitoplanctónica. La única información importante de esa determinación es que el crecimiento fitoplanctónico está limitado por otro factor diferente del fosfato. El límite máximo de biomasa que las cianobacterias u otro grupo fitoplanctónico pueden alcanzar en una masa de agua es, por tanto, frecuentemente determinado por la cantidad de fósforo intracelular y el total de fósforo en forma de fosfato, es la variable que necesita ser conocida para el control de esa biomasa.

Eso no es equivalente para el fósforo total, ya que incluye las formas minerales que no son biológicamente absorbibles. Pero, por una cuestión de simplificación, el término fósforo total ha sido muy utilizado para la forma de fosfato (CHORUS y BARTRAM, 1999).

Varios modelos ya fueron propuestos para la previsión de la densidad fitoplanctónica mediante el fósforo total. Uno de los modelos que ha sido más utilizado fue desarrollado por VOLLENWEIDER y KEREBES (1982) en un estudio coordinado por la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD). En ese modelo la concentración de clorofila fue usada como una medida de la densidad fitoplanctónica y los resultados de este estudio indicaron que aproximadamente para 1 µg de fósforo total, la media anual de la biomasa de fitoplancton correspondía a 0,25 µg de clorofila *a* (con un máximo esperado de 1 µg).

La experiencia adquirida en las dos últimas décadas con la restauración de los ecosistemas acuáticos, indican que para la reducción de floraciones de cianobacterias, las concentraciones de fósforo deben ser de 30-50 µg/L como máximo (CHORUS y BARTRAM, 1999). De acuerdo con estos autores, en varias masas de agua con esos valores puede ser obtenida una reducción substancial de la densidad de las poblaciones de cianobacterias y fitoplancton en general.

Es importante decir que gran parte de esos estudios sólo consideran ambientes de regiones templadas, por eso hay pocas informaciones disponibles sobre estos mecanismos en regiones tropicales y subtropicales. Por tanto, es evidente que se necesitan estudios que comprueben si las relaciones observadas en regiones templadas pueden también ser verificadas en otros ecosistemas acuáticos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2003).

CONSIDERACIONES FINALES

No hay mecanismos viables a corto y medio plazo para evitar la presencia de contaminantes orgánicos toxigénicos en el ambiente que pueden

afectar a los seres vivos y en particular al hombre, particularmente en el agua de los manantiales de uso múltiple. Sin embargo, hay medidas preventivas y paliativas que deben ser practicadas. Esas medidas se extienden desde la protección del manantial, pasando por modificaciones técnicas de los métodos de captación de agua, y terminando en las diferentes etapas del tratamiento, incluida la desinfección (CEBALLOS et al, 2007).

Políticas públicas de prevención y control de la eutrofización, con monitorización estricta de esos componentes, registros sistemáticos de la calidad del agua de los manantiales, de sus tratamientos y de su distribución, son importantes para disminuir las posibilidades de exposición de la población a las sustancias tóxicas.

Un aspecto que debe ser abordado con bastante rapidez se refiere a la creación de normas de calidad para el agua con fines recreativos, limitando la concentración de cianobacterias. Relatos de casos de intoxicación vía intranasal de personas que practicaban deportes acuáticos en aguas con floraciones de cianobacterias (FALCONER, 1991), son alertas importantes en ese sentido, considerando que la ingestión intranasal tiene equivalencia con la administración intraperitoneal (FALCONER, 1996).

Tecnologías alternativas e innovadoras de captación de agua en los manantiales que sufren eutrofización son nuevos desafíos a los que los técnicos del sector deben enfrentarse. Entre ellos, destacan por su simplicidad, el uso de barreras de concentración, tales como las barreras flotantes o cortinas de aire, que pueden evitar la entrada de cianobacterias o, al menos, disminuir su densidad (NICHOLSON y BURCH, 2001; GOMES et al., 2005).

BIBLIOGRAFÍA

- BANKER, R.; CARMELI, S.; HADAS, O.; TELSCH, B.; PORAT, R.; SUKENIK, A. Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon Ovalisporum* (Cyanophyceae) isolated from Lake Kinneret, Israel. *J Phycol*, **33**: 613-616, 1997.
- BROOKS, W.P and CODD, G.A. Distribution of *Mycrocystis aeruginosa* peptide toxin and interactions with hepatic microsomes in mice. *Pharmacol. Toxicol*, **60**: 187-91, 1987.
- CARMICHAEL, W.W. Cyanobacteria secondary metabolites – The Cyanotoxins. *J Appl Bact*, **72**: 445-459, 1992.
- CARMICHAEL, W. W. The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*, **270**: 78-86, 1994.
- CEBALLOS, B. S. O. de; OLIVEIRA AZEVEDO, S. M. F. de; BENDATE, M. M. Fundamentos biológicos e ecológicos relacionados as cianobacterias. In: Contribuição ao estudo da remoção de cianobacterias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano. Organizador; Valter Lucio de Pádua. Editora SEMOGRAF/PROSAB/CEF/CNPq/CT-HIDRO-MCT. BRASIL, 2007, 23-81.
- CHOURS, I. BARTRAM, J. Toxic Cyanobacteria in Water. A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management. E and FN Spon, London, 1999.
- CHORUS I, MUR L. Preventive measures. In: Chorus I, Bartram J, editors. Toxic Cyanobacteria in Water. London: E&FN Spon; 1999.
- EDZWALD, J. K. e WINGLER, B. J. Chemical and physical aspects of dissolved air flotation for the removal of algae. *Journal Water SRT - Aqua*, **39**: 24-35, 1990.
- EDZWALD, J. K. Algae, bubbles, coagulants and dissolved air flotation. *Water Science & Technology*, **27**: 67-81, 1993.
- FALCONER IR, RUNNEGAR MTC, BUCKLEY T, HUYN VL, BRADSHAW P. Using activated carbon to remove toxicity from drinking water containing Cyanobacterial blooms. *Journal of The American Water Works Association*, **81**: 102-105, 1989.
- FALCONER, I. R. Tumor promotion and liver Injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environmental Toxicology and Water Quality*, **6**: 177-184, 1991.
- FALCONER, I. R. Potencial impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia*, **35**: 6-11, 1996.
- FALCONER, I. R. Algal toxic and humans health . In: Hrubec, J. (Ed.). *The Handbook of Environmental Chemistry*, vol.5, part C. Quality and Treatment of Drinking Water II. Springer, Berlin, p. 53-82, 1998.
- FALCONER, I. R.; HUMPAGE, A. R. Preliminary evidence for in vivo tumour Initiation by oral administration of Extracts of the blue-Green algal *Cylindrospermopsis raciboeskii* containing the toxin Cylindrospermopsin. *John Wiley & Sons*, **16**: 192-195, 2001.
- FROSCIO, S. M., HUMPAGE, A. R., BURCHAM, P. C., FALCONER, I. R. Cell-Free protein synthesis inhibition assay for the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin. *Enviromental Toxicology*, **16**: 408-412, 2001.
- GEHR, R., SWARTZ, C. E., OFFRINGA, O. Removal of trihalomethane precursors from eutrophic water by dissolved air flotation. *Water Research*, **27**: 41-49, 1993.
- GOMES, L.N.L., FIRPO, F.D., NASCIMENTO, F.A., VON SPERLING, F.D., PÁDUA, V.L. (2005). Estudo da viabilidade da implantação de uma cortina de ar como método físico de contenção de florações de cianobactérias no manancial. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Campo Grande, MS.

- HARADA, K. I.; OHTANI, I.; IWAMOTO, K.; SUZUKI, M.; WATANABE, M.; WATANABE, M.; TERAU, K. Isolation of Cyndrospermopsin from a Cyanobacterium *Umezakia natans* and its screening method. *Toxicon*, **32**: 73-84, 1994.
- HARADA KI, TSUJI K, WATANABE MF. Stability of microcystins from cyanobacteria. III. Effect of pH and temperature. *Phycologia* 1996; **35**: 83-8.
- HART J, FAWELL JK, CROLL B. The fate of both intra- and extracellular toxins during drinking water treatment. *Water Supply* 1998; **16**: 611-6.
- HIMBERG K, KEIJOLA AM, HIISVIRTA L, PYYSAALO H, SIVONEN K. The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: A laboratory study. *Water Research* 1989; **23**: 979-84.
- HRUDEY S, BURCH M, DRIKAS M, GREGORY R. REMEDIAL MEASURES. In: Chorus I, Bartram J, editor. *Toxic Cyanobacteria in Water*. London: E&FN Spon; 1999.
- HUMPAGE, A. R., FENECH, M., THOMAS, P., FALCONER, I. R. Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action of the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Mutation Research*, **472**: 155-161, 2000.
- HUMPAGE, A. R. E FALCONER, I. R. Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male swiss albino mice: Determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value. *Environmental Toxicology*, **18**: 94-103, 2003.
- HYDE, R.A.; MILLER, D.G.; PACKHAM, R.F. e RICHARDS, W.N. Water clarification by flotation. *Journal of the American Water Works Association*, **69**: 369-374, 1977.
- JANSSENS, J.G. e BUEKENS, A. Assessment of process selection for particle removal in surface water treatment. *Journal Water SRT – Aqua*, **42**: 279-288, 1993.
- JANSSENS, J.G.; MUS, I. e DELIRE, C. Special Subject 11 – Practice of rapid filtration. *Proceedings of The IWSA Congress*, Rio de Janeiro, Brasil, 1998.
- JONES GJ, NEGRI AP. Persistence and degradation of cyanobacterial paralytic shellfish poisons (PSPs) in freshwaters. *Water Research*, 1997; **31**:525-33.
- KEIJOLA AM, HIMBERG K, ESALA AL, SIVONEN K, HIISVIRTA L. Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: Laboratory and pilot scale experiments. *Toxicity Assessment International Journal* 1988; **3**: 643-56.
- KELETI, G. AND SYKORA, J.L. Production and properties of cyanobacterial endotoxins. *Appl Environ Microbiol*, **43**: 104-109, 1982.
- KIVIRANTA J, SIVONEN K, LUUKKAINEN R, LAHTI K, NIEMELA SI. Production and biodegradation of cyanobacterial toxins: A laboratory study. *Arch Hydrobiology*, 1991; **121**: 281-94.
- LAGE FILHO, F.A. E FERREIRA FILHO, S.S. Estudo piloto de tratabilidade de águas eutrofizadas: efeitos da pré-oxidação com cloro livre no processo de filtração. *Anais do 19 Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, CD, 1997.
- MATSUNAGA S, MOORE RE, MIEZCZURA WP, CARMICHAEL WW. Anatoxin-a(s), a potent anticholinesterase from *Anabaena flos-aquae*. *Journal of American Chemical Society* 1989; **111**: 8021-3.
- Ministério da Saúde/Fundação Nacional da Saúde. *Cianobactérias Tóxicas na Água para Consumo Humano. Impactos na Saúde Pública e Processos de Remoção em Água para Consumo Humano*. FUNASA/MS, Brasília, Brasil, 56p, 2003.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2004. Portaria Nº 518/GM Em 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Ministério da Saúde. 2004.
- MONSERRAT, J. M., YUNES, J. S., BIANCHINI, A. Effects of *Anabaena Spiroides* (Cyanobacteria) aqueous extracts on the acetylcholinesterase activity of aquatic species. *Environ Toxicology & Chemistry*, **20**: 87-94, 2001.
- NAGAVI, B. E MALONE, R.F. (1986). Algae removal by fine sand/silt filtration. *Water Research*, **20**: 377-383.
- NICHOLSON, B.C. e Burch, M.D. Evaluation of analytical methods for detection and quantification of cyanotoxins in relation to Australian drinking water guidelines. Report for the National Health and Medical Research Council of Australia, the Water Services Association of Australia, and the Cooperative Research Centre for water Quality and Treatment, 2001.
- OHTANI, I.; MOORE, R.; RUNNEGAR, M. Cyndrospermopsin: A potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *J Am Chem Soc*, **114**: 7942-7944, 1992.
- OLIVEIRA, E J A, et al. Occurrence of Saxitoxins andn na Anatoxin –a (s) – like anticholinesterase in Brazilian drinkin water supply. In: wwá.i.saciencedirect.com, 2004.
- PETRUSEVSKI, A.N.; VAN BREEMEN, A.N. E ALAERTS G.J. Effect of permanganate pre-treatment and coagulation with dual coagulants on algal removal in direct filtration. *Journal Water SRT – Aqua*, **45**: 316-326, 1996.
- REALI, M.A.P. e GIANOTTI, E.P. Remoção de algas por flotação: Testes de laboratório. *Anais do*

- 17o Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, vol. II, pp. 229-242, 1993.
- REYNOLDS CS. Vegetation process in the pelagic: A model for ecosystem theory. Excellence in Ecology. Vol. 9. Oldendorf/Luhe: Ecology Institute; 1997.
- RUNNEGAR MTC, et al. Deformation of isolated rat hepatocytes by a peptide hepatotoxin from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **317**: 268-72, 1981.
- SEAWRIGHT, A., NOLAN, C., SHAW, G., CHISWELL, R., NORRIS, R., MOORE, M., SMITH, M. The oral toxicity for mice of the tropical Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska). *Environmental Toxicology*, **14**: 135-142, 1999.
- SHAW, G.; SUKENIK, A.; LIVNE, A.; CHISWELL, R.; SMITH, M.; SEAWRIGHT, A.; NORRIS, R.; EAGLESHAM, G.; MOORE, M. Blooms of the Cylindrospermopsin containing cyanobacterium, *Aphanizomenon ovalisporum* (Forti), in Newly Constructed Lakes, Queensland, Australia. *Environmental Toxicology*, **14**: 167-177, 1999.
- SHAW, G., SEAWRIGHT, A., SHAHIN, M., SENOGLES, P., MUELLER, J., MOORE, M. The cyanobacterial toxin, Cylindrospermopsin: Human health risk assessment. National Research Center for Environmental Toxicology, Australia, 2000.
- SHEN, X. Y., LAM, P. S. K. S., SHAW, G., WICKRAMASINGHE, W. Genotoxicity investigation of a cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Toxicon*, **40**: 1499-1501.
- SHEPHARD, G., STOCKENSTRUM, S., VILLIERS, D., ENGELBRECHT, W., SYDENHAM, E., WESSELS, G. (1998). Photocatalytic degradation of cyanobacterial microcystin toxins in water. *Toxicon*, **36**: 1895-1901, 2002.
- SIVONEN, K., HIMBERG, K., LUUKKAINEN, R., NIEMELA, S., POON, G. K., CODD, G. A. Preliminary characterization of neurotoxic cyanobacterial blooms and strains from Finland. *Toxicity Assessment*, **4**: 339-352, 1989.
- STEVENS DK, KRIEGER RI. Stability studies on cyanobacterial nicotinic alkaloid anatoxin-A. *Toxicon*, **29**: 167-179.
- TEIXEIRA MGLC, COSTA MCN, CARVALHO VLP, PEREIRA MS, HAGE E. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica, Bahia, Brazil. *Bulletin of PAHO*, **27**: 244-53, 1993.
- TERAO, K., OHMORI, S., IGARASHI, K., OHTANI, I., WATANABE, M. G., HARADA, K.-I., ITO, E., WATANABE, M. Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green algae *Umezakia natans*. *Toxicon*, **32**: 833-843, 1994.
- TSUJI K, NAITO S, KONDO F, ISHIKAWA N, WATANABE MF, SUZUKI M, HARADA KI. Stability of microcystins from cyanobacteria: effect of light on decomposition and isomerization. *Environmental Science and Technology*, **28**: 173-7, 1993.
- UNNEGAR MTC. and FALCONE, I.R. Effect of toxin from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on ultrastructural morphology and actin ápolimerization in isolated hepatocytes. *Toxicon*, **24**: 109-115, 1986.
- VOLLENWEIDER R, KERÉKES J. Euthophication of waters, monitoring, assessment, control. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development; 1982.
- WEISE, G.; DREWS, G.; JANN, B.; JANN, K. Identification and analysis of lipopolysaccharill walls of blue-grenn algae *Anacystis nidulans*. *Arch. Microbiol.* 71, 89-98, 1970.
- YOO RS, CARMICHAEL WW, HOEHN RC, HRUDEY SE. Cyanobacterial (Blue-Green Algal) toxins: A resource guide. AWWA Research Foundation and American Water Works Association; 1995.