



NORMA TÉCNICA

L5.322

Jan/1980
7 PÁGINAS

Métodos de amostragem e acondicionamento de moluscos para determinação de toxinas de dinoflagelados

RENOVADA

Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
Avenida Professor Frederico Hermann Jr., 345
Alto de Pinheiros CEP 05459-900 São Paulo SP
Tel.: (11) 3133 3000 Fax.: (11) 3133 3402

<http://www.cetesb.sp.gov.br>

C E T E S B **MÉTODOS DE AMOSTRAGEM E ACONDICIONAMENTO DE MOLUSCOS PA** L5.322
RA DETERMINAÇÃO DE TOXINAS DE DINOFLAGELADOS

SUMÁRIO

	<i>Página</i>
Introdução.....	1
1 Objetivo.....	1
2 Definições.....	1
3 Material para amostragem.....	2
4 Execução da amostragem.....	3
5 Acondicionamento para transporte.....	5
Anexo A.....	7
Anexo B.....	9

INTRODUÇÃO

Nos casos de floração de dinoflagelados tóxicos, várias espécies de moluscos filtradores podem acumular toxinas e, quando ingeridos, provocar sérios danos à saúde ou mesmo a morte de seres humanos e animais marinhos tais como peixes e aves.

Não são raros os casos de intoxicação por ingestão de moluscos; entretanto, nem sempre é possível determinar a presença de toxinas de dinoflagelados, pois vários fatores podem interferir de forma a dificultar a obtenção de resultados confiáveis.

O primeiro fator é o tempo decorrido entre o aparecimento dos primeiros sintomas e a data das amostragens. Muitas vezes, quando são tomadas as providências para a amostragem, o fenômeno de floração já cessou e a presença de toxinas já não pode ser detectada. Por outro lado, frequentemente são colhidos moluscos mortos, já em início de decomposição, cuja análise pode produzir falsos resultados positivos.

As condições de transporte das amostras constituem também um importante fator para que sejam obtidos resultados seguros.

1 OBJETIVO

Esta Norma descreve os métodos de amostragem e acondicionamento para transporte de moluscos, para a determinação de toxinas de dinoflagelados.

2 DEFINIÇÕES

2.1 Substrato

Local ou base fixa onde ou sobre a qual os organismos se desenvolvem.

2.2 Epifauna

Organismos que vivem sobre o substrato.

2.3 Infauna

Organismos que vivem enterrados no sedimento.

2.4 Organismos sésseis

Organismos da epifauna que se fixam ao substrato.

2.5 Bivalvos

Moluscos que possuem duas conchas calcáreas. Exemplo: ostras, mexilhões, berbigões, lambretas, etc.

2.6 Gastrópodos

Moluscos que possuem uma única concha, na maioria dos casos espiralada. Exemplo: taís, bitu, etc.

2.7 Preamar

É a máxima altura atingida pela maré em um período de doze horas.

2.8 Baixamar

É a mínima altura atingida pela maré em um período de doze horas.

3 MATERIAL PARA AMOSTRAGEM

3.1 Material para a programação de amostragem

3.1.1 Tábua de marés, publicadas pela "Diretoria de Hidrografia e Navegação" (DHN).

3.1.2 Mapas da região onde serão colhidas as amostras.

3.2 Material para a amostragem propriamente dita

3.2.1 Espátulas.

3.2.2 Facas.

3.2.3 Martelo.

3.2.4 Talhadeira.

3.2.5 Peneira grande.

3.2.6 Sacos plásticos resistentes (2 para cada amostra).

3.2.7 Fita crepe.

3.2.8 Folhas de jornal.

3.2.9 Gelo.

3.2.10 Sal.

3.2.11 Caixa de isopor.

3.3 Material para a prevenção de acidentes durante a amostragem

3.3.1 Luvas de malha de algodão.

3.3.2 Calçados com sola de corda (tipo alpargatas).

4 EXECUÇÃO DA AMOSTRAGEM

4.1 Programação da amostragem

4.1.1 Localizar em mapa os prováveis pontos de amostragem, verificando as condições de acesso.

4.1.2 Procurar na tábua de marés (da DHN) o horário da baixamar prevista para o porto mais próximo.

4.1.3 Marcar a saída para o campo de tal modo que se chegue ao local de amostragem cerca de 1:30 horas antes da hora prevista para a baixamar.

4.1.4 Levar para o local todo o material relacionado, inclusive o gelo em isopor que deve ser colocado à sombra, enquanto se efetua a amostragem dos moluscos.

4.2 Amostragem propriamente dita

4.2.1 Caso os moluscos em questão sejam organismos sêsses, tais como ostras e mariscos, estes deverão ser retirados das pedras com o auxílio de faca, talhadeira e martelo ou espátula, com o máximo cuidado para evitar a quebra das conchas.

4.2.2 Todos os moluscos que tiverem suas conchas danificadas durante a amostragem deverão ser desprezados. Também não deverão fazer parte da amostra os que estiverem mortos. São facilmente reconhecidos os moluscos bivalvos mortos, pois, pressionando-se as conchas uma contra a outra, estas tornam a se entreabrir, terminada a pressão, enquanto que os vivos fecham-se firmemente.

4.2.3 Caso os organismos sejam da infauna, serão facilmente amostrados em praias arenosas, arenolodas e lodosas com o auxílio de um pequeno martelo ou pá. A exemplo das amostras de moluscos da epifauna, nas da infauna também os indivíduos mortos ou danificados são desprezados.

4.2.4 Para a análise de toxinas são necessários 200 g de parte mole de cada espécie de moluscos. Para amostras de mexilhões e ostras de tamanho médio, em geral cerca de 200 espécimens são suficientes, entretanto, para amostras de espécies com indivíduos de menor tamanho, deve-se estimar quantos serão necessários para perfazer 200 g de parte mole.

4.2.5 Após a amostragem, os indivíduos devem ser cuidadosamente lavados em peixarias com água do próprio ambiente a fim de que seja eliminada toda a areia ou lodo que estiver sobre as conchas.

4.2.6 A amostra, depois de devidamente lavada, deve ser colocada em sacos plásticos resistentes, duplos, etiquetados e fechados firmemente com fita crepe ou similar.

4.2.7 Deverão ser colhidas amostras de todos os tipos de moluscos comestíveis existentes na região, de modo que cada espécie constitua uma amostra individual, tanto nos casos de suspeita de intoxicação como em amostragens para fins de controle.

4.2.8 As amostragens para fins de controle preventivo deverão ser realizadas periodicamente, a intervalos regulares (no mínimo de 3 em 3 meses), em diversos pontos da costa.

4.2.9 Em casos de suspeita de intoxicação, deverão ser colhidas amostras não só no local de onde provieram os moluscos suspeitos, mas também em regiões próximas para que, caso seja confirmada a presença de toxinas de dinoflagelados, seja possível avaliar a extensão do fenômeno.

4.3 Prevenção de acidentes

4.3.1 Para a retirada de organismos sésseis do substrato, é aconselhada a utilização de luvas de malha de algodão, para evitar acidentes que com frequência ocorrem sem esta medida de proteção.

4.3.2 O calçado aconselhado para ser utilizado pelo coletor é o de sola de corda, para evitar quedas.

4.4 Anotações a serem realizadas

4.4.1 Detalhamento da região onde foram amostrados os moluscos, inclusive modo de acesso e pessoas para contato, caso haja suspeita de intoxicação.

4.4.2 Efetuar as seguintes anotações:

- a) nº da amostra;
- b) data, hora e local de amostragem;
- c) espécie ou nome popular dos moluscos;
- d) condições de acondicionamento (congeladas a -10°C ou em gelo).

Enviar estas anotações junto com as amostras correspondentes.

4.4.3 Em casos de suspeita de intoxicação por ingestão de moluscos contendo toxinas de dinoflagelados, deverão ser anotados fatos anormais tais como mudança de coloração da água, fortes tempestades em dias anteriores ao aparecimento dos primeiros pacientes e mortandade de animais tais como peixes, aves marinhas, etc. Nesses casos, também deverá ser elaborado um pequeno histórico do incidente, se gundo o modelo apresentado no Anexo A.

4.4.4 O envio das amostras aos laboratórios independe da obtenção das informações; entretanto, relatos preliminares poderão acompanhar as amostras, sendo os dados complementares enviados posteriormente.

5 ACONDICIONAMENTO PARA TRANSPORTE

O tipo de acondicionamento dependerá do tempo previsto para o transporte dos moluscos do local de amostragem para o laboratório.

5.1 Quando o tempo previsto para o transporte for menor que 12:00 horas

5.1.1 Os sacos plásticos contendo as amostras devem ser envolvidos em várias camadas de papel de jornal para evitar o contato direto dos organismos com o gelo, o que pode provocar morte por congelamento.

5.1.2 As amostras envoltas em papel de jornal devem ser acondicionadas em caixas de isopor com gelo.

5.1.3 A caixa de isopor deve ser vedada completamente com fita crepe.

5.1.4 As amostras devem ser enviadas com a máxima urgência ao laboratório, devendo o seu envio ser comunicado com antecedência, para que sejam tomadas as devidas providências.

5.2 Quando o tempo previsto para o transporte for maior que 12:00 horas

5.2.1 As amostras devem ser preferencialmente congeladas em "freezer" antes de serem acondicionadas para o transporte.

5.2.2 No caso de impossibilidade de se proceder o congelamento, as amostras, contidas em sacos plásticos, devem ser colocadas diretamente sobre o gelo em camadas alternadas, sendo que neste caso deverão ser colocadas menos amostras em uma caixa de isopor do que no caso de transporte por curto período de tempo (item 5.1). Deve-se acrescentar sal ao gelo, principalmente na última camada, a fim de manter a temperatura baixa por mais tempo.

5.2.3 Quando houver possibilidade de obtenção de gelo seco, este deve ser utilizado preferencialmente.

ANEXO A - FORMULÁRIO PARA A ELABORAÇÃO DO HISTÓRICO DE OCORRÊNCIA DE INTOXICAÇÃO

Nome _____
 Endereço _____
 Sexo _____ Idade _____ Peso _____
 Data dos primeiros sintomas _____
 Hora do início _____
 Duração da doença _____ (horas ou dias)
 Data em que a doença foi comunicada _____
 Estado de saúde _____
 A quem foi comunicado _____
 Como? (entrevista, etc.) _____
 Origem dos moluscos _____
 Tipos de moluscos ingeridos _____
 Outros alimentos ou bebidas ingeridas _____
 Modo de preparação dos moluscos (crú, cozido, defumado, enlatado, etc.) _____
 Qual o volume do alimento ingerido _____
 Número de moluscos ingeridos _____ Hora _____ Data _____

SINTOMAS

Sublinhe os sintomas observados e indique a ordem na qual eles surgiram:

Dormência {	Lábios	Dificuldade respiratória
	Face	
Dificuldade de fala		Dificuldade de {
		Levantar-se
		Sentar-se
Dormência dos {	dedos das mãos	Enjões estomacais _____
	dedos dos pés	Vômitos _____
Tontura ou vertigem		Cefaléia _____
Dormência dos {	braços	Dor nas costas _____
	pernas	
Outros sintomas		
Outras informações ou anotações		

ANEXO B - BIBLIOGRAFIA

B-1 ANDERSON, D.M. 1979 - CETESB - Curso de Dinoflagelados Tóxicos, abril de 1979 (comunicação pessoal).

B-2 DALE, B. 1979 - CETESB - Curso de Dinoflagelados Tóxicos, abril de 1979 (comunicação pessoal).

B-3 HUNT, D. 1979 - CETESB - Curso de Dinoflagelados Tóxicos, abril de 1979 (comunicação pessoal).

B-4 MIESCIER, J.J. and ADAMS, W.N. 1974 - Proposed changes for the American Public Health Association, Recommended procedures for the examination of sea water and shellfish, Fourth Edition, 1970 - Bioassay for Shellfish Toxins. In: Wilf, D.S. (ed) Proc.8th National Shellfish Sanitation Workshop. U.S. Dept. Health, Ed. and Welfare, P.H.S., F.D.A., S.S.B.

B-5 PRAKASH, A., MEDCOF, J.C., TENNANT, A.D. 1971 - Paralytic Shellfish Poisoning in Eastern Canada. J. Fish. Res. Bd. Canada, 177, 87 pp.

B-6 QUAYLE, D.B. 1969. Paralytic Shellfish Poisoning in British Columbia. J. Fish. Res. Bd. Canada, 168, 68 pp.

B-7 SHIMIZU, Y. 1979 - CETESB - Curso de Dinoflagelados Tóxicos, abril de 1979 (comunicação pessoal).