



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Síndrome parética em gaivotas (Laridae): Qual é a etiologia?

João Carlos Cristóvão Martins Almeida

Coimbra, dezembro 2021



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Síndrome parética em gaivotas (Laridae): Qual é a etiologia?

Coimbra, dezembro 2021

João Carlos Cristóvão Martins Almeida

Aluno do Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Professora Doutora Sofia
Ferreira Anastácio

Arguente: Doutora Alexandra Pais Costa

Orientador: Professora Doutora Anabela Maduro
de Almeida Francisco

Orientador Interno

Professora Doutora Anabela Maduro de
Almeida Francisco

Coorientador Interno

Professora Doutora Manuela Andreia
Gonçalves Carneiro

Orientador Externo

Dra. Maria Carolina Rocha de Medeiros Bento

CRAM / Ecomare – Centro de Reabilitação de
Animais Marinhos

Agradecimentos

Agradeço ao Hospital Veterinário do Baixo Vouga, ao Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens – CERVAS, ao Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos – CIBIO, ao Centro Nacional de Reprodução do Lince Ibérico – CNRLI, ao Centro de Recuperação de Animais Silvestres de Lisboa – LxCRAS, e a todos os médicos veterinários, enfermeiros, auxiliares, tratadores e a todos os animais: dos cães aos lince, passando por golfinhos, gaivotas e águias, por toda a sabedoria, todo o conhecimento e por todas as experiências que me proporcionaram nos diversos estágios ao longo destes anos de curso.

Às professoras e orientadoras, Professora Anabela e Professora Manuela, por terem aceite fazer parte deste estudo comigo, pela ajuda, pela paciência, pelo apoio e por me terem dado nas orelhas algumas vezes! Agradeço também à professora Sofia Duarte pela ajuda na realização da componente prática.

Agradeço em especial à equipa do Centro de Reabilitação de Animais Marinhos – CRAM, por me terem dado a oportunidade de ali realizar o meu estágio final e estudo para a tese. À Ema, à Francisca, à Rita, ao Jorge, à Catarina, à Marisa, à Rute e, claro, à Martinha: Obrigado!

Aos amigos que fiz na Praia da Barra, que continuem a ter sempre boas ondas!

Aos três do costume: Ivan, João e Bruno. Obrigado pela camaradagem, pela amizade e convívio. São de Coimbra, para a vida.

Agradeço também a TODOS os colegas, amigos, professores, auxiliares e restantes funcionários da Escola Universitária Vasco da Gama, por terem feito parte deste caminho.

Aos meus pais, agradeço o apoio, o exemplo de união, a paciência e também por terem acreditado, mesmo quando eu não acreditei.

Às minhas irmãs, agradeço o apoio e o exemplo de garra e superação nas maiores adversidades.

À Matilde e Madalena, por serem a alegria desta casa.

Ao avô Armando e à avó Bia, que ainda assistiram ao começo desta aventura.

A Coimbra... obrigado! Pelo bom, pelo menos bom, por tudo.

Foi aqui que mais cresci. Foi aqui que mais vivi. *Uma vez Coimbra, para sempre Saudade.*

Ao **Shaquille**, por levar à letra o rótulo de “melhor amigo do homem”, pelo amor incondicional, fidelidade e companhia ao longo destes quase 10 anos.

Índice	
Agradecimentos	ii
Índice de tabelas	iv
Lista de abreviaturas	v
Resumo	2
Abstract	3
1.Introdução geral	4
1.1. Síndrome parética	5
1.1.1. Aves marinhas suscetíveis	5
1.1.2. Caracterização clínica	5
1.1.3. Etiologia da síndrome parética	6
1.2. Biotoxinas marinhas	10
1.2.1. Caracterização das biotoxinas	10
1.2.2. Problemática na saúde Humana e Animal	11
1.2.3. Saxitoxina	13
1.3. Biomonitorização	18
2. Objetivo do estudo	19
3. Parte experimental	19
3.1. Materiais e métodos	19
3.1.1. Caracterização da Amostra	19
3.1.2. Metodologia analítica	20
3.2. Resultados	21
3.3. Discussão	23
4. Conclusão	25
Bibliografia	26
Anexos	35

Índice de tabelas

Tabela 1 – Classificação da sintomatologia apresentada por gaivotas com Síndrome Parética	6
Tabela 2 – Diagnósticos diferenciais de paralisia aviária.	9
Tabela 3 – Biotoxinas marinhas: Resumo de espécie de algas, toxinas produzidas e sintomatologia observada em humanos.....	11
Tabela 4 – Limites máximos de biotoxinas marinhas em quantidades totais.....	12
Tabela 5 – Níveis de saxitoxina detetados em ocorrências anteriores	15
Tabela 6 – Caracterização demográfica, clínica e analítica dos animais em estudo	22
Tabela 7 – Síndrome Parética - Casuística CRAM (2017-2020)	35

Lista de abreviaturas

AD – Ácido Domóico

AO – Ácido Ocadaico

ASP – *Amnesic Shellfish Poison*

AST – *Amnesic Shellfish Toxin*

AZP - *azaspiracid poisoning*

AZT - *azaspiracid toxin*

CFP – *Ciguatera Fish Poison*

CFT – *Ciguatera Fish Toxin*

CTX – Ciguatoxina 1

DSP – *Diarrhetic Shellfish Poison*

DST – *Diarrhetic Shellfish Toxin*

DTX – Dinofisistoxinas

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ensaio de imunoabsorção enzimática)

HAB – *Harmful Algal Blooms* (proliferações de algas nocivas)

IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera

NSP – *Neurotoxic Shellfish Poison*

NST – *Neurotoxic Shellfish Toxin*

PSP – *Paralytic Shellfish Poison*

PST – *Paralytic Shellfish Toxin*

PTX – Pectenotoxinas

STX – Saxitoxina

UE – União Europeia

YTX – Iessotoxinas

LD₅₀ – Dose letal (Quantidade necessária para causar a morte de 50% da amostra)

LOD – *Limit of Detection* (Limite de deteção)

LOQ – *Limit of Quantification* (Limite de quantificação).

Síndrome parética em gaivotas (Laridae): Qual é a etiologia?

João Almeida^a, Manuela Carneiro^a, Maria Carolina Bento^{b, c}, Anabela Almeida^{a, d}

^a Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG)/ Departamento de Medicina Veterinária. Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário - Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (joaoalmeida1904@gmail.com; manuela.carneiro@euvq.pt; anabela.almeida@euvq.pt)

^b CRAM-ecomare / Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem, Edifício ECOMARE, Universidade de Aveiro, Estrada do Porto de Pesca Costeira 3830-565 Gafanha da Nazaré, Portugal (mcarolinabento@gmail.com)

^c Vetcondeixa, Rua De Santo António, N.º 5 - Loja A 3150-159 Condeixa-A-Nova, Portugal (mcarolinabento@gmail.com)

^d Coimbra Institute for Biomedical Imaging and Translational Research (CIBIT), University of 10 Coimbra, Edifício do ICNAS, Polo 3 Azinhaga de Santa Comba 3000-548 Coimbra, Portugal. (anabela.almeida@euvq.pt)

Resumo

A síndrome parética, de etiologia desconhecida, é uma das principais causas de admissão nos centros de recuperação de fauna selvagem em Portugal e afeta principalmente aves marinhas, como as gaivotas.

Entre outros, a intoxicação por biotoxinas marinhas paralisantes (PSP- *Paralytic Shellfish Poisoning*), nomeadamente a saxitoxina (STX), tem sido equacionada como um dos principais diagnósticos diferenciais, por desenvolver um quadro clínico compatível com esta síndrome.

O presente estudo teve como objetivo determinar a exposição de duas espécies de gaivotas à STX e correlacionar com a severidade da síndrome apresentada por estas espécies. Para esta finalidade, determinou-se as concentrações de saxitoxina, através de um ensaio imunoenzimático (ELISA), em amostras de fígado (n=23) das espécies de gaivota *Larus fuscus* (n = 17) e *Larus michahellis* (n = 6) admitidas ao Centro de Reabilitação de Animais Marinhos – CRAM / Ecomare entre agosto de 2019 e abril de 2021. Estes animais apresentavam um quadro clínico compatível com a síndrome parética.

Das 23 amostras analisadas, 3 apresentaram concentrações de STX entre 11,1ng/mL e 17,2 ng/mL, com uma frequência de 16% nos animais com suspeita de intoxicação por biotoxinas. Nas restantes amostras os valores de concentração de saxitoxina encontravam-se abaixo do LOQ.

Atendendo à problemática das biotoxinas na saúde humana e animal e tendo em conta os resultados preliminares obtidos neste estudo, reforça a importância da realização de estudos de biomonitorização da STX utilizando as gaivotas como biomonitores (animais no topo da cadeia alimentar e com uma ampla distribuição geográfica). A continuidade da realização destes estudos também se verifica importante para melhorar o conhecimento sobre a etiologia da síndrome parética que afeta estes animais.

Palavras-chave: Aves marinhas, biomonitorização, biotoxina, ELISA, gaivota, Laridae, reabilitação, saxitoxina, selvagem, toxinas paralisantes.

Abstract

The paretic syndrome, of unknown etiology, is one of the main causes of admission to wildlife rescue centres in Portugal and it mainly affects seabirds such as seagulls.

Among others, intoxication by paralytic marine biotoxins (PSP - Paralytic Shellfish Poisoning), namely saxitoxin (STX), has been considered as one of the main differential diagnoses, as it develops a clinical picture compatible with this syndrome.

The present study aimed to determine the exposure of two species of gulls to STX and to correlate with the severity of the syndrome presented by these species.

For this purpose, saxitoxin concentrations were determined by an enzyme immunoassay (ELISA) in liver samples (n = 23) of the species *Larus fuscus* (n = 17) and *Larus michahellis* (n = 6) that were admitted to the *Centro de Reabilitação de Animais Marinhos - CRAM / Ecomare*, between August 2019 and April 2021.

Of the 23 samples analyzed, 3 presented saxitoxin values between 11.1 and 17.2 ng/mL, with a frequency of 16% of the animals with suspected saxitoxin poisoning. In the remaining samples, the saxitoxin concentration values were below the LOQ.

Based on these preliminary results, and given the problem of biotoxins in human and animal health, it reinforces the importance of conducting STX biomonitoring studies using seagulls as biomonitors (animals at the top of the food chain and with a wide geographic distribution). The continuity of these studies is also important to improve knowledge about the etiology of the paretic syndrome that affects these animals.

Key words: Biomonitoring, biotoxin, ELISA, gulls, Laridae, paralytic shellfish toxins, rehabilitation, saxitoxin, sea birds, wildlife.

1.Introdução geral

A síndrome parética é uma das principais causas de admissão nos centros de recuperação de fauna selvagem em Portugal. De etiologia desconhecida, afeta principalmente aves marinhas, como as gaivotas, mas também patos e aves limícolas.

As gaivotas são consideradas excelentes biomonitores, não só pela sua ampla distribuição, tanto em mar como em terra, como devido à sua posição no topo da cadeia alimentar, sendo animais predadores e oportunistas, que incluem na sua dieta desde peixe, aves jovens, crustáceos, bivalves a animais mortos e até desperdícios humanos.

Assim, o presente estudo teve como principal objetivo contribuir para o conhecimento desta síndrome, que afeta um elevado número de aves em Portugal (8% e 14,2% das causas de admissão no Centro de Recuperação de Animais Silvestres de Lisboa – LxCRAS em 2018 e 2019 respetivamente; 2432 aves da família Laridae, no Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens – RIAS, entre 2010 e 2019; e 193 aves no Centro de Reabilitação de Animais Marinhos – CRAM / Ecomare entre 2017 e 2020). Assim sendo, foi formulada uma hipótese para dar resposta à pergunta “qual é a etiologia” da síndrome parética. Foi equacionada a possibilidade de se tratar de uma síndrome de causa toxicológica, podendo dever-se à presença de uma biotoxina marinha, a saxitoxina.

Adicionalmente, existem registos da monitorização feita pelo Sistema Nacional de Monitorização de Moluscos Bivalves que nos mostram a presença ocasional desta biotoxina ao longo do território nacional.

Para tal, procedeu-se à quantificação das concentrações de saxitoxina em duas espécies de gaivota admitidas num Centro de Recuperação, que apresentaram um quadro clínico compatível com esta síndrome. Foi ainda objetivo correlacionar a presença da biotoxina usada como biomarcador com a severidade da síndrome nestas espécies.

1.1. Síndrome parética

1.1.1. Aves marinhas suscetíveis

A síndrome parética caracteriza-se pelo desenvolvimento de paresia progressiva, com início nos membros posteriores afetando posteriormente as asas, impossibilitando as aves afetadas de se manterem em estação e desenvolverem a marcha e, conseqüentemente, iniciarem o voo. Esta paresia afeta um elevado número de animais: 2432 aves da família Laridae deram entrada no RIAS – Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens, entre 2010 e 2019 (Ben-Gigirey, et al., 2021), e 193 aves no Centro de Reabilitação de Animais Marinhos – CRAM / Ecomare entre 2017 e 2020. É normalmente acompanhada de dispneia – muito ligeira a severa –, perda de massa muscular e fezes diarreicas e esverdeadas e afeta várias aves marinhas, das quais se destaca a família Laridae, nomeadamente as aves do género *Larus*, do qual fazem parte as comumente conhecidas gaivotas.

As aves marinhas, normalmente, alimentam-se e reproduzem-se em zonas de águas frias, pouco profundas, ao longo da orla continental em estuários ou em ilhas (Monticelli et al., 2007), onde há maior quantidade de alimento disponível (peixes pelágicos, crustáceos, moluscos e bivalves (Montevecchi & Myers, 1996), devido ao facto de serem zonas com maior concentração de clorofila (Ceia et al., 2014; Paiva et al., 2013).

No entanto, as gaivotas, também podem ser observadas em campos agrícolas, aterros sanitários ou salinas, devido aos seus hábitos alimentares oportunistas, alimentando-se regularmente de desperdícios humanos (domésticos, atividades piscatórias), aumentando assim a sua capacidade de sobrevivência e alargando o seu espectro alimentar (Christel et al., 2012; Moreno et al., 2010).

Em Portugal já foram observadas 19 diferentes espécies de gaivotas (Meirinho et al., 2014), sendo que as que ocorrem em maior número são as seguintes: a Gaivota-de-patas-amarelas (*Larus michahellis*) – a única que é considerada residente – e a Gaivota-d’asa-escura (*Larus fuscus*) – maioritariamente migradora invernante (Equipa Atlas et al., 2018; Meirinho et al., 2014).

1.1.2. Caracterização clínica

As aves afetadas pela *síndrome parética* caracterizam-se pela perda de peso e de massa muscular, sinais neurológicos (falta de coordenação motora e a perda da capacidade de locomoção e voo), sinais respiratórios (dispneia e congestão pulmonar), e gastrointestinais (fezes diarreicas de cor esverdeada, inflamação e congestão gastrointestinal), podendo culminar na morte (Gibble & Hoover, 2018). Estes animais podem também apresentar hipotermia, devido ao facto de se manterem molhados, por não conseguirem movimentar-se, para sair da água ou para se abrigarem da chuva.

Devido à falta de estudos *in vivo*, não é possível determinar o grau de toxicidade que cada indivíduo apresenta (Gibble et al., 2021), contudo, de acordo com a severidade da sintomatologia apresentada esta pode ser classificada empiricamente, tal como descrito por Ben-Gigirey et al. (2021) na Tabela 1. De salientar, no entanto, que a classificação depende da avaliação feita em cada Centro de Recuperação, assim como os protocolos terapêuticos implementados.

Tabela 1 – Classificação da sintomatologia apresentada por gaivotas com Síndrome Parética, de acordo com Ben-Gigirey et al., 2021.

Grau	Sintomatologia
1	<ul style="list-style-type: none"> • Mantém a capacidade de locomoção, alimenta-se autonomamente; • Diarreia; • Incapacidade de voo; • Asas caídas.
2	<ul style="list-style-type: none"> • Incapacidade de se manter em estação, apoio nos tarsometatarsos; • Ligeira perda de massa muscular; • Diarreia.
3	<ul style="list-style-type: none"> • Paralisia dos membros posteriores; • Dispneia ligeira; • Paralisia parcial da membrana nictitante; • Anorexia • Diarreia.
4	<ul style="list-style-type: none"> • Dispneia severa; • Dificuldade para manter o pescoço elevado; • Paralisia total da membrana nictitante; • Perda severa de massa muscular; • Diarreia.
5	<ul style="list-style-type: none"> • Paralisia total de todo o corpo; • Respiração muito débil; • Diarreia; • Morte rápida.

1.1.3. Etiologia da síndrome parética

Por se tratar de animais selvagens, a avaliação da exposição dos animais afetados torna-se mais difícil, pois não é possível saber o período de tempo decorrido após exposição, a quantidade de alimento ingerido, a atividade física e a distância percorrida após contacto com o agente causador.

A paralisia em aves pode ter várias causas, que foram resumidas por Sonne et al. (2012) (Tabela 2), podendo ser provocada por deficiências nutricionais, atribuída a causas de natureza infecciosa, ou de origem toxicológica, por exposição a contaminantes ambientais (como metais pesados ou pesticidas) ou a biotoxinas (onde se inclui a toxina botulínica e a saxitoxina). Contudo, no caso das deficiências nutricionais, a hipovitaminose B é caracterizada por uma anorexia extrema (Swayne & Glisson, 2013) e está quase sempre associada a outras patologias (infecção por *Clostridium botulinum* ou intoxicação por chumbo, por exemplo) (Sonne et al., 2012; Swayne &

Glisson, 2013). No caso de deficiência em vitamina D e E/Selênio, as paralisias ocorrem no decorrer da evolução dos outros sinais clínicos (raquitismo e paralisia neural, no caso da vitamina D; e torção do pescoço e prostração, no caso da vitamina E) (Swayne & Glisson, 2013). Nas restantes deficiências nutricionais (vitamina A, magnésio e cálcio) os sinais clínicos diferem bastante dos sinais apresentados por esta síndrome parética (Pattison et al., 2008) (ver Tabela 2).

Relativamente às doenças infecciosas, as mais relevantes são as de Newcastle e de Marek, por terem um quadro clínico mais semelhante. No entanto, no caso da doença de Newcastle, as aves apresentam paralisia unilateral das asas (podendo, ou não, evoluir para bilateral) (Heckert et al., 1996; Thomas et al., 2007) e raramente ocorrem lesões respiratórias (Swayne & Glisson, 2013). Na doença de Marek, quando ocorre parálise, esta é assimétrica e as aves apresentam-se com um dos membros posteriores fletido e o outro estendido, em direções opostas e a paralisia do nervo vago pode causar dificuldades respiratórias (Swayne & Glisson, 2013).

Dentro das causas de exposição ambiental, as intoxicações por metais pesados e pesticidas são comuns e podem apresentar alguns sinais clínicos semelhantes a esta síndrome (Sonne et al., 2012). Os metais pesados acumulam-se nos solos e leitos de rios, lagos e lençóis de água, através de desperdícios de atividades industriais, agrícolas, de pescas, caça ou exploração mineira (He et al., 2005; Schaller et al., 2011). Destes, o chumbo (Pb), o cobre (Cu) e o mercúrio (Hg) são comumente encontrados no meio ambiente e são prejudiciais para a saúde (humana e animal) por apresentarem elevada toxicidade, por se manterem disponíveis no meio ambiente e por sofrerem bioacumulação e biomagnificação nos tecidos dos animais (Edwards et al., 2017; Ferreyra et al., 2009; Godwin et al., 2016; Hollamby et al., 2004). Os metais pesados são arrastados com as correntes, depositando-se nas zonas onde o fluxo aquático é mais fraco (Schaller et al., 2010; Schaller & Machill, 2012).

Nas aves marinhas, a intoxicação por metais pesados pode ocorrer por ingestão de peixes contaminados (Godwin et al., 2016) ou pela ingestão direta de corpos estranhos, como anzóis, chumbos de pesca ou chumbos de caça, por exemplo (Hollamby et al., 2004; Pain et al., 2019; Yoon et al., 2006). No caso da intoxicação por chumbo, a causa de contaminação em aves mais comum é a ingestão de chumbos da caça. As aves inicialmente sofrem paralisia das asas, perdendo assim a capacidade de voo, mas mantêm a capacidade de locomoção (Beyer et al., 2000; Friend & Franson, 1999; Strom et al., 2009).

Relativamente a outras causas de origem toxicológica, podemos destacar a toxina botulínica tipo C e E (Friend & Franson, 1999) e a saxitoxina, uma toxina paralisante (*PST - Paralytic Shellfish Toxin*), como sendo duas etiologias prováveis, com sintomatologia compatível com a que se observa nesta síndrome parética. No entanto, no caso do botulismo, apenas as aves moribundas apresentaram dificuldades respiratórias numa série de eventos de mortalidade em massa que ocorreram na Suécia entre 2000 e 2004 (Friend & Franson, 1999; Neimanis et al., 2007).

Outra biotoxina marinha associada a esta síndrome é o ácido domóico, pela sintomatologia, uma vez que provoca fezes diarreicas e prostração. Esta biotoxina pode ser muitas vezes concomitante com a saxitoxina (Gibble et al., 2021; van Hemert et al., 2020; Work et al., 1993), apesar de não causar paralisia muscular. Os sinais clínicos associados à intoxicação por ácido domóico e saxitoxina podem ser, na prática clínica, difíceis de distinguir (Shumway et al., 2003) nos casos em que a ave não apresente como sintomatologia, a paresia marcada e a dispneia, características da intoxicação por STX (Gibble et al., 2021; Gibble & Hoover, 2018).

Estudos recentes apontam para uma correlação entre a ocorrência da síndrome e o aumento súbito de biotoxinas na água, motivado por *Harmful Algal Blooms* (HAB) (Glibert et al., 2014; Vale, 1999), nomeadamente as neurotoxinas ácido domóico e saxitoxina (Gibble et al., 2021). A proliferação de algas é um fenómeno natural com registos da sua ocorrência ao longo da história, embora mais estudados a partir dos anos 70 (Shumway et al., 2018), sendo atribuídos a várias causas, dependendo da(s) espécie(s) de algas envolvidas (Wells et al., 2020). Nos últimos anos o número de registo de eventos de *HAB* tem aumentado em todo o mundo (McCabe et al., 2016; OBIS, 2017), em parte explicado pelo aumento da temperatura das águas e consequente aumento de nutrientes (Gobler, 2020; Hallegraeff, 1993).

Tabela 2 - Diagnósticos diferenciais de paralisia aviária (adaptado de Sonne et al., 2012).

Etiologia	Agente químico/ biológico/elemento essencial	Quadro clínico característico
Biotoxinas		
Botulismo (Tipos C, E)	Toxina botulínica (<i>Clostridium botulinum</i>)	Perda da função muscular, paralisia/flacidez dos membros posteriores, anteriores, pescoço e pálpebras.
Biotoxinas paralisantes (PSP)	Saxitoxina (cianobactérias e dinoflagelados)	Paralisia espástica, dispneia/taquipneia, incapacidade de se manter em estação, cabeça caída e olhos fechados.
Nutricionais		
Deficiência em Vitamina B	Tiamina	Anorexia, deficiente locomoção, aparente paralisia dos dedos, paralisia de membros posteriores e anteriores.
Deficiência em Vitamina D	Vitamina D	Raquitismo. Paralisia neural.
<i>Encefalomalácia aviária</i>	Vitamina E / Selênio	Torção do pescoço, prostração e ataxia.
Deficiência em Vitamina A	Vitamina A	Hiperqueratose, alterações da mucosa e pele e insuficiência renal podem causar paralisia neural.
Hipocalcemia	Cálcio	Fraqueza muscular, câibras, espasmos, parestesia da extremidade distal e convulsões.
Hipomagnesemia	Magnésio	Fraqueza muscular, câibras, irritabilidade neuromuscular acentuada, convulsões, ataxia, nistagmos e alteração do estado mental. Pode originar deficiência secundária de tiamina.
Contaminantes ambientais		
Metais pesados	Chumbo	Ataxia, convulsões, letargia, fraqueza muscular, incapacidade de voo, dificuldade de locomoção, coma, morte.
	Mercúrio	Parestesia, ataxia, deficiência sensorial.
	Cobre	Anorexia e parálise dos membros posteriores.
Pesticidas	Organoclorados	Ataxia, espasmos, contorções, paralisia, tremores e convulsões.
	Organofosfatos	Tremores, espasmos, dispneia, convulsões, asas descaídas.
Infeciosos		
Encefalomielite aviária	Hepatovírus	Ataxia progressiva, tremor muscular, tremor da cabeça e pescoço, paralisia e morte.
Encefalite fúngica	<i>Aspergillus</i> spp. e <i>Ochroconis gallopava</i>	Paralisia, incoordenação motora, decúbito lateral.
Doença de Marek	Herpes vírus	Paralisia progressiva dos membros posteriores e anteriores, torção do pescoço, perde de peso, dificuldades respiratórias, lesões oculares e deficiência visual, diarreia, fome e morte.
Doença de Newcastle	Paramixovírus aviário	Desconforto respiratório, paralisia dos membros posteriores e anteriores, torção do pescoço e morte.
Mielinopatia vacuolar aviária	Desconhecido - possibilidade de toxina (<i>Aetokthonos hydrillicola</i>)	Incapacidade de locomoção, anisocoria, rigidez muscular e torção do pescoço.

1.2. Biotoxinas marinhas

1.2.1. Caracterização das biotoxinas

As biotoxinas marinhas são classificadas e agrupadas de acordo com a sua atividade tóxica ou sintomas que provocam: Paralisantes, Diarreicas, Amnésicas ou Neurotóxicas. A estas quatro podemos juntar as intoxicações por azaspirácidos e por ciguatera (Sampayo et al., 1997; Vale, 2004; Vale et al., 2008).

A intoxicação paralisante (*PST*) é causada pela saxitoxina (*STX*) (e seus análogos), a qual é considerada como a biotoxina marinha mais perigosa e mais fatal. A intoxicação ocorre apenas por ingestão de alimento contaminado, não sendo conhecida outra forma de exposição (Kao, 1993).

A intoxicação diarreica (*DST*) é causada pelo ácido ocadaico (*AO*) e seus análogos: dinofisistoxinas, pectenotoxinas e iessotoxinas (Reguera et al., 2014; Shumway et al., 2018), embora as últimas duas sejam atualmente consideradas toxinas concomitantes com a primeira, sem que causem toxicidade (Lawrence et al., 2012). O *AO* é um poliéter lipofílico.

No caso da intoxicação amnésica (*AST*) esta ocorre por ação do ácido domóico, um aminoácido solúvel em água (Falk et al., 1991), cujo interesse foi despertado após os primeiros eventos registados de morte por intoxicação em humanos, em 1987, após ingestão de mexilhões-comuns (*Mytilus edulis*) contaminados (Bates, 1989).

Na intoxicação neurotóxica (*NST*) a toxina responsável é a brevetoxina. Estas neurotoxinas ocorrem com frequência no Golfo do México e ao largo da Florida (Shumway et al., 2018; Watkins et al., 2008).

A intoxicação por azaspirácidos (*AZT*) foi descoberta mais recentemente nos Países Baixos, em 1995 (Shumway et al., 2018). Este grupo de toxinas já se encontra incluído nos programas de monitorização de toxinas em Portugal (IPMA, 2021b), mas ainda não é monitorizada nos Estados Unidos da América (Kim et al., 2017; WHOI, 2019).

A intoxicação por ciguatera (*CFT*) ocorre por ingestão de peixe contaminado com ciguatoxinas. A sua monitorização ainda não é feita pelos países membros da União Europeia, apesar de terem sido reportados casos de intoxicação nos arquipélagos da Madeira e Canárias (ASAE, 2016). Em 2016 iniciou-se um projeto para o estudo e caracterização de risco da ciguatera (EFSA, 2016).

Na Tabela 3 estão descritas as espécies de algas responsáveis, toxinas produzidas e sintomatologia apresentada em cada um dos grupos de biotoxinas marinhas.

Tabela 3 - Biotoxinas marinhas: Resumo de espécie de algas, toxinas produzidas e sintomatologia observada em humanos.

Síndrome	Espécie de alga	Toxina produzida	Sintomas	Referências
Intoxicação Amnésica (AST)	<i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	Ácido domóico	Gastrointestinais: náuseas, vômitos, cólicas e diarreia; Neurológicos: dor de cabeça, tonturas, convulsões, perda de memória de curto prazo e coma.	Lelong et al., 2012
Intoxicação Diarreica (DST)	<i>Dinophysis</i> spp., <i>Prorocentrum</i> spp.	Ácido ocadaico e análogos	Gastrointestinais: Diarreia intensa, vômitos e dor abdominal.	Reguera et al., 2014; Shumway et al., 2018
Intoxicação Neurotóxica (NST)	<i>Karenia brevis</i> , <i>Chattonella</i> spp.	Brevetoxinas	Gastrointestinais: diarreia, vômitos, dor abdominal; Neurológicos: dor muscular, tonturas, prurido, suores, tremores e "formigueiro" dos lábios e boca e sensação térmica invertida.	Shumway et al., 2018; Watkins et al., 2008
Intoxicação Paralisante (PST)	<i>Alexandrium</i> spp., <i>Gymnodinium catenatum</i> , <i>Pyrodinium bahamense</i>	Saxitoxina e análogos	Neurológicos: parestesias orais, fala incoerente, disartria, ataxia e paralisias; Gastrointestinais: Náuseas e vômitos; Respiratórios: dispneia/taquipneia.	Kao, 1993; Shumway et al., 2018
Intoxicação por azaspirácidos (AZT)	<i>Azadinium spinosum</i> , <i>Amphidoma</i>	Azaspirácidos	Neurológicos; Gastrointestinais: diarreia, vômitos e náuseas.	Krock et al., 2012; Shumway et al., 2018
Intoxicação por ciguatera (CFT)	<i>Gambierdiscus</i> spp	Ciguatoxina	Gastrointestinais: diarreia, vômitos, dor abdominal; Neurológicos: dor muscular, tonturas, prurido, suores, tremores e "formigueiro" dos lábios e boca; Cardiovasculares: Choque cardiovascular	Fire & Dolah, 2012; Friedman et al., 2008, 2017

1.2.2. Problemática na saúde Humana e Animal

A ingestão de biotoxinas provenientes da ingestão de moluscos bivalves afeta toda a cadeia alimentar: moluscos bivalves, peixes herbívoros, cefalópodes, focídeos, cetáceos, aves e humanos (Shumway et al., 2018).

Existem registos de mortes em massa atribuídas ao consumo de alimento contaminado devido a surtos de HAB (Lefebvre et al., 2016; Shumway et al., 2003), com diferentes espécies de aves como o Zarro-americano (*Aythya affinis*) (Forrester et al., 1977), a torda-miúda-de-kittlitz (*Brachyramphus brevirostris*) (Shearn-Bochsler et al., 2014), o pelicano-pardo (*Pelecanus occidentalis*) ou o corvo-marinho-de-Brandt (*Phalacrocorax penicillatus*) (Work et al., 1993).

Em Chubut, na Argentina, está documentada a ocorrência de eventos frequentes de HAB (Montoya, 2019; Sastre et al., 2018) e há inúmeros registos como os que ocorreram em 2003 e 2006, com morte em larga escala de aves marinhas: Pinguins de Magalhães (*Spheniscus magellanicus*), trinta-réis-de-bico-vermelho (*Sterna hirundi nacea*), corvos-marinhos (*Phalacrocorax spp.*) e mergulhões-grandes (*Podiceps major*). Estes casos foram associados à intoxicação por saxitoxinas, apesar de não ter sido testada a presença destas em 2003, devido ao histórico da sua presença no local (Shumway et al., 2003) e aos resultados pouco específicos para a presença de saxitoxina (mas que excluíram a presença de ácido domóico) em 2006 (Montoya & Carreto, 2007).

Em Portugal, o programa de monitorização de toxinas paralisantes foi implementado em 1986. No ano seguinte iniciou-se a monitorização das toxinas diarreicas e em 1996 a monitorização das toxinas amnésicas (Sampayo et al., 1997). Atualmente, a monitorização regular dos níveis destas 3 categorias de toxinas está a cargo do Sistema Nacional de Monitorização de Moluscos Bivalves, do Instituto Português do Mar e Atmosfera (IPMA, 2021a).

A *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) adicionou, em 2008, os bivalves e moluscos ao seu *Codex Alimentarius*, de forma a regulamentar o seu consumo, alertar e prevenir a contaminação com estas biotoxinas (FAO, 2015).

Na União Europeia foram estabelecidos limites máximos de biotoxinas marinhas para comércio de moluscos bivalves através do *Regulamento (CE) nº 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29/04/2004* (cujo anexo III foi posteriormente corrigido através do *Regulamento (UE) nº 786/2013 da Comissão de 16 de agosto de 2013*, relativamente às iessotoxinas). Estes limites máximos estão resumidos na Tabela 4.

Tabela 4 - Limites máximos de biotoxinas marinhas em quantidades totais (Instituto Português do Mar e da Atmosfera, 2019)

Classificação	Limite Máximo	Referência
Toxinas Paralisantes (PST)	800 µg de STX e equivalentes/kg	(União Europeia, 2004)
Toxinas Amnésicas (AST)	20 mg de ácido domóico e epímero (AD+AE)/kg	
Ácido ocadáico, dinofisistoxinas e pectenotoxinas (DST)	160 µg de equivalentes de ácido ocadaico/kg	
Azaspirácidos (AZA)	160 µg de equivalentes de azaspirácidos/kg	
Iessotoxinas (YTX)	3,75 mg de equivalente de iessotoxinas/kg	(União Europeia, 2013)

1.2.3. Saxitoxina

As toxinas paralisantes são produzidas por dinoflagelados (que são maioritariamente marinhos, mas também de água doce (Petruzzello, 2017)) do género *Alexandrium* (como *A. tamarense* e *A. catenella* (Lefebvre et al., 2008) e das espécies *Gymnodinium catenatum* (ambos em regiões temperadas) e *Pyrodinium bahamense* (regiões tropicais) (Basti et al., 2018; Bolch & de Salas, 2007; I. L. Carvalho et al., 2019; Vale, 2019) e por cianobactérias (Gad, 2014; Pereira et al., 2000; WHO, 2019) dos géneros *Lyngbya*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Anabeana*, *Planktothrix*, e *Rivularia* (Wiese et al., 2010). Estas acumulam-se no organismo de seres vivos que se alimentam por filtração, como os bivalves (ameijoas, mexilhões, berbigões) e outros invertebrados filtradores (Lefebvre et al., 2008; Wiese et al., 2010), que são os seus principais vetores, mas também de várias espécies de peixes como a galeota (ou sandilho), da família Ammodytidae.

A saxitoxina (STX) é a principal e mais potente toxina paralisante, e foi primeiramente reconhecida em 1957 (Schantz et al., 1957) numa espécie de bivalve endémica da costa oeste dos Estados Unidos da América, a ameijoia-amarela do Alasca – *Saxidomus gigantea*, de onde teve origem o nome da toxina. Existem 57 análogos da STX descritos até ao momento (Wiese et al., 2010), designadamente a neosaxitoxina (neoSTX), as goniatoxinas (GTX) e a descarbamolsaxitoxina (dc-STX). Esta biotoxina é lipofílica e, por isso, poderá sofrer bioacumulação (Wiese et al., 2010).

Segundo Hallegraef et al. (2004) ocorrem anualmente perto de 2000 casos de intoxicação, em humanos, por ingestão de alimento contaminado com toxinas paralisantes, com uma taxa de mortalidade de 15%. É importante ter em consideração que estes valores dependem do nível de intoxicação, da assistência prestada e da monitorização dos indivíduos que sofrem exposição, como refere Kao (1993).

Em Portugal, sabe-se que as intoxicações paralisantes são raras nos humanos (Vale, 2019) e acontecem em casos de ingestão de alimentos contaminados com a toxina. O mesmo autor refere que em Portugal os casos de intoxicação em que necessitaram de internamento hospitalar, ocorreram sempre no outono (altura em que a temperatura média da água do mar na costa oeste europeia é mais elevada), havendo uma correlação com os valores medidos pelo Sistema Nacional de Monitorização de Moluscos Bivalves (Vale, 2019).

A sintomatologia apresentada em casos de intoxicação em humanos é, tal como nos casos descritos em aves, maioritariamente neurológica, com parestesias orais, fala incoerente, ataxia, tonturas e náuseas, vômitos, disfagia e disartria (Etheridge, 2010; Gessner et al., 1997), dispneia ou mesmo apneia, como acontece nos casos fatais (Vale, 2019). Em 2002, na Patagónia chilena foi registada, na autópsia, a presença de edema pulmonar em duas vítimas mortais causadas pela ingestão de mexilhão-de-Magalhães (*Aulacomya ater*) (García et al., 2004). Dependendo da quantidade ingerida, além de causar paralisia pode também ser fatal (Vale, 1999), o que levou a que esta toxina tenha sido produzida e usada como arma química nos Estados Unidos da

América nas décadas de 50 e 60 do século XX. O LD₅₀ da STX em humanos é 5.7 µg/kg (Nguyen et al., 2021; Patwa & Flora, 2020) sendo, por isso, cerca de 1000 vezes mais tóxica do que, por exemplo, o gás sarin (Stewart, 2006) e faz parte da lista da Convenção sobre as Armas Químicas (United Nations, 1993). Após a exposição à STX, a morte pode ocorrer em 3 a 4 horas (García et al., 2004).

Em pombos, o LD₅₀ por ingestão é 91 µg/kg, em ratos é 263 µg/kg, em gatos é 254 µg/kg e em galinhas é de 3 µg/kg (injetável) (Llewellyn, 2006).

O mecanismo de ação da saxitoxina baseia-se no bloqueio dos canais de sódio ao longo das células nervosas, suprimindo a transmissão de impulsos nervosos (Cusick & Saylor, 2013; O'Neill et al., 2016), podendo dar origem a parálise motora e respiratória (Chorus & Bartram, 1999). García et al., em 2010, demonstrou, laboratorialmente, que a metabolização da saxitoxina ocorre no fígado humano, através da oxidação e da conjugação por ácido glucurónico.

Apesar de ser considerada uma neurotoxina, a saxitoxina apresenta não apenas sintomas neurológicos, mas também gastrointestinais.

1.2.3.1. Ocorrências reportadas

Em Portugal o primeiro caso reportado de intoxicação por toxinas paralisantes, em humanos – e um dos primeiros na Europa –, aconteceu na zona das Caldas da Rainha, com a contaminação a ter origem na Lagoa de Óbidos. Aconteceu em 1946 e afetou “cerca de 100 pessoas”, tendo sido fatal para 6 pessoas (5 eram crianças) após “ingestão de marisco” (Correia, 1946). Na localidade de Reguengo da Parada, também no concelho de Caldas da Rainha, em 1955, ocorreu a intoxicação de 21 pessoas (e a morte de uma criança), com origem em bivalves provenientes da Lagoa de Óbidos, levando à implementação do primeiro estudo com bioensaios *in vivo* (em murganhos) para pesquisa de toxinas paralisantes (Pinto & e Silva, 1956) em Portugal. Em outubro de 1994, já depois de implementado o plano nacional de monitorização de biotoxinas (para as PSP e DSP), ocorreu novo surto, na zona da Ericeira, onde 9 pessoas foram hospitalizadas com sintomatologia neurológica após ingestão de bivalves, apesar da proibição por parte das autoridades (M. de Carvalho et al., 1998). Mais recentemente, no outono de 2018 ocorreu um aumento significativo (IPMA, 2018b) de contaminação por toxinas paralisantes, com interdição de apanha de moluscos na região de Lisboa e Setúbal (IPMA, 2018a), resultando na hospitalização de dois indivíduos, após ingestão de mexilhão-comum (*Mytilus spp.*) (Carvalho et al., 2019).

Relativamente à ocorrência em aves, os dados relativos aos principais eventos de morte por intoxicação por saxitoxina foram compilados por Ben-Gigirey et al. (2021) e estão resumidos na Tabela 5, onde é possível observar quais as espécies afetadas, assim como a localização do evento, a data, qual o tecido que foi sujeito a análise laboratorial e quais as concentrações registadas (µg STX•eq•kg⁻¹). O valor registado mais elevado foi detetado no trato digestivo de uma Gaivota-tridáctila (*Rissa tridactyla*), em 2008 em Quebec, no Canadá com a concentração de 1340 µg STX/kg⁻¹ (Starr et al., 2017).

Tabela 5 - Níveis de saxitoxina detetados em ocorrências anteriores (adaptado de Ben-Gigirey et al., 2021)

Nome científico (comum)	Local/Ano	Tecido testado	Intervalo de concentrações registadas ($\mu\text{g STX}\cdot\text{eq}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Referência
<i>Alca torda</i> Torda-mergulheira	Quebec 2008	Trato digestivo	<LOD–960,0	(Starr et al., 2017)
		Fígado	<LOD–150,0	
<i>Brachyramphus brevirostris</i> Torda-miúda-de-kittlitz	Kodiak Island, Alaska 2011-2012	Conteúdo gástrico superior	<LOD–216,0	(Shearn-Bochsler et al., 2014)
		Fígado	56,3–106,4	
		Rim	27,9	
<i>Cephus grylle</i> Airo-de-asa-branca	Quebec 2008	Trato digestivo	64,0–700,0	(Starr et al., 2017)
		Fígado	<LOD–410,0	
<i>Fratercula cirrhata</i> Papagaio-do-mar adornado	St. Paul Island, Alaska 2016	Conteúdo gástrico e cloacal	3,1–9,5	(Jones et al., 2019)
<i>Fulmarus glacialis</i> Pardela-branca	North Berin Sea, Alaska 2017	Conteúdo gástrico e cloacal	46,0	(van Hemert et al., 2021)
		Conteúdo gástrico	<LOQ–149,0	
		Estômago	12,0–53,0	
		Conteúdo intestinal	21,0–111,0	
		Intestino	15,0–129,0	
		Fígado	<LOQ–59,0	
		Músculo	<LOQ–15,0	
	Pribilof Islands, Alaska 2017	Conteúdo gástrico e cloacal	46,0–305,0	
		Conteúdo gástrico	<LOD–633,0	
		Intestino	<LOD–145,0	
		Fígado	<LOD–44,0	
	San Luis Obispo, California 2018	Vários tecidos	<LOQ	
		Fígado	6,9	
		Rim	8,8–9,6	
		Bílis	21,0	

Tabela 5 - (continuação) Níveis de saxitoxina detetados em ocorrências anteriores (adaptado de Ben-Gigirey et al., 2021).

<i>Gavia immer</i> Mobelha-grande	Quebec 2008	Trato digestivo	45,0-19,0	(Starr et al., 2017)
		Fígado	<LOD	
<i>Gavia stellate</i> Mobelha-pequena	Quebec 2008	Trato digestivo	61,0	
		Fígado	<LOD	
<i>Larus argentatus</i> Gaivota prateada	Quebec 1996	Intestino	110,0	(Levasseur et al., 1996)
		Cérebro	48,0	
	Quebec 2008	Trato digestivo	47,0-690,0	(Starr et al., 2017)
		Fígado	100,0	
<i>Larus delawarensis</i> Gaivota-de-bico-riscado	Quebec 2008	Trato digestivo	420,0	(Gibble et al., 2021)
		Fígado	<LOD	
	Rhode Island 2016	Conteúdo cloacal	<LOD	(Ben-Gigirey, Casero, et al., 2021)
<i>Larus fuscus</i> Gaivota-d'asa-escura	Ria Formosa, Olhão 2020	Vários tecidos	<LOD	(Ben-Gigirey, Casero, et al., 2021)
<i>Larus marinus</i> Gaivotão-real	Quebec 2008	Vários tecidos	<LOD	(Starr et al., 2017)
<i>Larus michahellis</i> Gaivota-de-patas- amarelas	Ria Formosa, Olhão 2020	Vários tecidos	<LOD	(Ben-Gigirey, Casero, et al., 2021)
<i>Larus philadelphia</i> Gaivota-de-bonaparte	Quebec 2008	Trato digestivo	<LOD-31,0	(Starr et al., 2017)
<i>Larus sp.</i> (subespécie não identificada)	Quebec 2008	Fígado	337,0	
		Trato digestivo	54,7	
<i>Melanita deglandi</i> Escoteiro de asas brancas	Washington 2009	Fígado	<LOD-6,4	(Gibble et al., 2021)
		Bílis	<LOD-6,2	
		Vários tecidos	<LOD	
<i>Melanita perspicillata</i> Pato-careto	Washington 2009	Conteúdo intestinal	<LOD-4,7	
<i>Morus bassanus</i> Ganso-patola	Quebec 2008	Trato digestivo	110,0-850,0	(Starr et al., 2017)
		Fígado	850,0	
		Rim	<LOD-63,0	
		Músculo	<LOD-87,0	
<i>Phalacrocorax auritus</i> Corvo-marinho-de- orelhas	Quebec 2008	Trato digestivo	<LOD-370,0	(Gibble et al., 2021)
		Fígado	<LOD-58,0	
	Rhode Island 2016	Conteúdo gástrico	<LOD	
<i>Phalacrocorax penicillatus</i> Corvo-marinho-de- Brandt	California 2015-2016	Conteúdo gástrico	<LOD-2,0	

Tabela 5 - (continuação) Níveis de saxitoxina detetados em ocorrências anteriores (adaptado de Ben-Gigirey et al., 2021).

<i>Rissa tridactyla</i> Gaivota-tridáctila	Quebec 2008	Trato digestivo	<LOD-1340,0	(Starr et al., 2017)
		Trato digestivo e fígado	<LOD-520,0	
		Fígado	<LOD-88,0	
	Gulf of Alaska 2015-2017	Cloaca	<LOQ	(van Hemert et al., 2020)
		Conteúdo gástrico superior	46,0	
Fígado		27,0		
Músculo		37,0		
Vários tecidos	<LOD			
<i>Somateria mollissima</i> Eider comum	Quebec 2008	Trato digestivo	<LOD-740,0	(Starr et al., 2017)
		Fígado	<LOD	
<i>Sterna hirundo</i> Garajau-comum	Massachusetts 1978	Fígado	<LOD	(Nisbet, 1983)
<i>Uria aalge</i> Airo	Quebec 2008	Vários tecidos	<LOD	(van Hemert et al., 2020)
	Washington 2009	Conteúdo gástrico	<LOD	
	Gulf of Alaska 2015-2016	Proventrículo e cloaca	1,4-3,9	
	Gulf of Alaska 2015-2017	Cloaca	48,0	
		Conteúdo gástrico superior	10,0	
		Fígado	108,0	
	Vários tecidos	<LOQ		
	North Berin Sea, Alaska 2017	Conteúdo gástrico e cloacal	<LOQ	(van Hemert et al., 2021)
Vários tecidos		<LOD		
California 2018	Fígado	<LOD		
	Rim	<LOD-4,9		

1.3. Biomonitorização

A biomonitorização refere-se a um conjunto de técnicas científicas que avaliam a poluição ambiental com base na amostragem e análise de tecidos e fluídos de organismos individuais (Markert & Wünschmann, 2011). Os resultados destas medições fornecem informações sobre a quantidade de contaminantes que entraram e permaneceram nos organismos e os efeitos induzidos correspondentes (Kyle, 2019). Muitos destes estudos são realizados com aves, as quais são particularmente sensíveis à contaminação antropogénica ou a qualquer outra alteração ambiental.

As biotoxinas (ex.: saxitoxina) são de grande preocupação por apresentarem uma pronunciada bioacumulação nos organismos e biomagnificação na cadeia alimentar e pelos efeitos potencialmente fatais que podem causar, tanto em animais como em humanos (Gad, 2014; Visciano et al., 2016).

Por estas razões, há uma necessidade extrema de monitorização constante destes elementos tóxicos no meio ambiente, através de estudos de biomonitorização.

Contudo, apesar de muito documentada a importância e fiabilidade de biomonitorização das diferentes espécies de aves marinhas (Durant et al., 2009; Piatt et al., 2007), e de ser possível fazer a monitorização de alterações e condições de alimentação e poluição (Cairns, 1987; Furness & Camphuysen, 1997), é escassa a monitorização de substâncias tóxicas em espécies selecionadas de aves de determinada área. Esta biomonitorização poderá ser útil para avaliar não só o estado de saúde das espécies envolvidas, assim como o grau de contaminação do ecossistema onde vivem (Gibble & Hoover, 2018b).

Entre as várias espécies de aves, as gaivotas são consideradas excelentes biomonitores, não só pela sua ampla distribuição (tanto em mar como em terra) como devido à sua posição no topo da cadeia alimentar, sendo animais predadores e oportunistas, que incluem na sua dieta desde peixe, aves jovens, crustáceos, bivalves a animais mortos e desperdícios humanos (Clatterbuck et al., 2017; Verreault et al., 2010).

2. Objetivo do estudo

O presente estudo teve como principal objetivo contribuir para o conhecimento sobre a etiologia da síndrome parética, uma paresia progressiva identificada em gaivotas, a qual tem sido identificada como uma das causas de admissão mais frequentes nos Centro de Recuperação em Portugal.

Considerando a hipótese desta síndrome ser provocada por biotoxinas, designadamente pela saxitoxina, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

1. Quantificar os níveis de saxitoxina em amostras de fígado de gaivotas, utilizando um método analítico imunoenzimático;
2. Correlacionar a presença da biotoxina com a severidade da síndrome nestes animais.

3. Parte experimental

3.1. Materiais e métodos

Para a realização deste estudo, foram utilizados os dados e amostras (fígado) de 23 animais, representando 2 espécies: *Larus fuscus* (n = 17) e *Larus michahellis* (n = 6) que foram admitidos no CRAM, entre agosto de 2019 e abril de 2021. Destes, 4 foram escolhidos para o estudo por terem sido admitidos com fraturas e sem sintomatologia compatível com a síndrome parética e os restantes 19 indivíduos foram escolhidos com base no quadro clínico apresentado, no grau de classificação que lhes foi atribuído na triagem e também a data da sua morte, para que fossem amostras recentes.

3.1.1. Caracterização da Amostra

Entre janeiro de 2017 e dezembro de 2020, deram entrada no CRAM / Ecomare 193 aves – representando 13 espécies diferentes – com esta síndrome, das quais 183 pertenciam à família Laridae, 5 à família Scolopacidae, 4 à família Charadriidae e 1 da família Anatidae. Dentro das 183 aves da família Laridae, com 7 espécies representadas, 100 indivíduos (51,8%) pertenciam à espécie *Larus fuscus* e 65 (33,7%) pertenciam à espécie *Larus michahellis*. O CRAM / Ecomare (2017 PT 11/CR) faz parte da Rede Nacional de Centros de Reabilitação Animal, credenciada pelo Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF) e apenas recolhe amostras que permitam auxiliar no diagnóstico e tratamento de cada animal.

No âmbito dos procedimentos foram utilizadas amostras recolhidas após necropsia, ao invés de biopsias feitas em animais vivos. Todos os investigadores responsáveis pelas necropsias no CRAM possuem acreditação legal emitida pelo ICNF.

Foram colhidas amostras de fígado dos animais que morreram durante o internamento, após terem sido resgatados ou entregues no Centro de Reabilitação. Estas amostras foram colhidas

de forma não invasiva, permitindo dados ecológicos e de história de vida, que de outra forma não seriam possíveis de obter.

As amostras foram armazenadas nas instalações do CRAM / Ecomare e posteriormente transportadas, sob condições adequadas de temperatura, até às instalações da Escola Universitária Vasco da Gama, e armazenadas no Laboratório de Imunologia - Toxicologia, onde decorreu a análise. O transporte obedeceu aos procedimentos já instituídos para o transporte de amostras na EUVG. As amostras foram posteriormente eliminadas de acordo com o protocolo de eliminação de amostras/cadáveres instituído nos Laboratórios da EUVG.

De salientar que as amostras disponibilizadas pelo CRAM / Ecomare foram utilizadas exclusivamente para deteção/quantificação de saxitoxina, não tendo sido utilizadas para qualquer outro fim. Nenhuma das colheitas de amostras foi realizada com vista unicamente a ser usada neste estudo, mas sim em contexto de diagnóstico clínico (*ante* ou *post-mortem*) da patologia apresentada pelo animal, seu tratamento e recuperação.

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da Escola Universitária Vasco da Gama, com o parecer Nº 002/2021.

3.1.2. Metodologia analítica

Preparação de amostras

A extração da saxitoxina a partir das amostras de fígado foi realizada de acordo com o preconizado pelo fabricante do KIT (Europroxima), seguindo as indicações no que concerne à preparação das amostras de bivalves, tendo sido utilizado o tampão acetato de sódio como solvente de extração.

Após pesagem de uma grama de fígado, foram adicionados 5 mL de tampão acetato de sódio 0,2M, a pH5, procedendo à agitação em vortex durante um minuto, ao que se seguiu a centrifugação das amostras (3000g 10min a 20°). O sobrenadante foi recuperado e diluído (1:50), para ulterior utilização nas placas de ELISA.

Dado que o KIT disponível no mercado está indicado para matrizes de moluscos/bivalves/marisco, procedeu-se a uma prévia avaliação para avaliar o efeito matriz. O fator de diluição utilizado foi de 1/1500, tendo também em consideração o recomendado no trabalho de Gibble et al. (2021).

Método analítico

A determinação de saxitoxina nas amostras de fígado de gaivota foi realizada através técnica imunoenzimática (ELISA) de formato competitivo de acordo com as instruções recomendadas pelo fabricante (EuroProxima®), através do KIT 5191SAXI[5]04.20. O ensaio apresenta limite de deteção (LOD) de 10 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) e uma capacidade de deteção ($\text{CC}\beta$) de 4 ppb, em amostras

de mexilhão. Este método foi avaliado/validado por Dubois, et al (2010). Todas os padrões e amostras foram analisados em duplicado.

As amostras foram conservadas a -20° C em arca congeladora, no Centro de Reabilitação de Animais Marinhos / Ecomare (CRAM-Ecomare), no Banco de Tecidos de Animais Marinhos (registado com o código 13 PT 0124/S ao abrigo da portaria 7/2010 de 5 de janeiro).

A curva de calibração foi obtida através dos valores de densidade ótica obtidos após medição padrões de saxitoxina (0,00125, 0,025, 0,05, 0,1, 0,2 e 0,3 ng/mL), os quais foram divididos pela média do valor do padrão zero, que multiplica por 100 para obter a % em relação ao padrão zero (considerado o 100%). A curva de calibração obtida deve ser linear entre 0,00125 e 0,3 ng/mL.

Assim, foi obtida a seguinte reta de calibração: $y = -23,85\ln(x) - 13,138$, $r^2=0,99$, em que y representa a % máxima de densidade ótica e o x concentração em escala logarítmica (ng/mL).

3.2. Resultados

Foram analisadas amostras de 23 animais, 19 (n = 5 *L. michahellis* e n = 14 *L. fuscus*) dos quais foram admitidos no centro de recuperação por suspeita de intoxicação e 4 (n = 1 *L. michahellis* e n = 3 *L. fuscus*) foram admitidos por fraturas irrecuperáveis.

Dos 19 animais suspeitos de intoxicação, 3 foram recolhidos ou capturados na região da Figueira da Foz, 2 em Mira, 1 em Ovar e os restantes 13 na região de Aveiro e os seus pesos variavam entre 545 g e 980 g, com um valor médio de 735 g. Relativamente ao sexo, 11 eram fêmeas, 7 eram machos e 1 não foi possível determinar o sexo por se tratar de um animal jovem (1º ano). Em termos de *score* de condição corporal, a avaliação da musculatura peitoral variou entre 2 (14 indivíduos) e 3 (5 indivíduos), numa escala de 0 a 3 (van Franeker, 2004). Dos 19 animais, 3 foram eutanasiados, 15 morreram durante a reabilitação e 1 deu entrada já morto. Estes animais deram entrada em 2019 (n=11), em 2020 (n=6) e em 2021 (n=2).

Os dados obtidos cumpriram os critérios do fabricante (cumpre: Padrão H (branco) <0,2 OD; Padrão 0,00125>0,8 OD). Os padrões foram analisados em duplicado.

Os resultados obtidos neste estudo encontram-se resumidos na tabela 6, juntamente com a caracterização demográfica e clínica destes animais. Dos 23 animais analisados, 3 apresentam valores compreendidos entre 11,1 e 17,2 ng/mL STX equiv. Nas restantes amostras os valores de concentração de saxitoxina encontravam-se abaixo do LOQ, definido como 10 ng/mL para a técnica utilizada.

Tabela 6 – Caracterização demográfica, clínica e analítica dos animais em estudo

Código de amostra	Espécie	Data de entrada no CRAM	Local da recolha / captura	Peso (g)	Idade	Sexo	Condição Corporal (peitoral)	Quadro Clínico	Observações	STX (ng/mL)
B1	<i>L. michahellis</i>	14/08/2019	Aveiro	740	3ºano	F	2	-	Trauma/Eutanásia	<LOQ
B2	<i>L. fuscus</i>	29/09/2020	Aveiro	620	1ºano	I	1	-	Trauma/Eutanásia	<LOQ
B3	<i>L. fuscus</i>	22/01/2020	Aveiro	660	2ºano	F	3	-	Trauma/Eutanásia	<LOQ
B4	<i>L. fuscus</i>	31/08/2019	Aveiro	795	3ºano	F	2	-	Trauma/Eutanásia	<LOQ
S1	<i>L. fuscus</i>	25/08/2019	Figueira da Foz	612	adulto	F	3	Paralisia posterior, dispneia	Eutanásia	17,2
S2	<i>L. fuscus</i>	31/08/2019	Aveiro	790	2º ano	M	2	Dados não disponíveis	Morte durante reab.	<LOQ
S3	<i>L. fuscus</i>	11/05/2020	Aveiro	720	2ºano	F	2	Dispneia severa	Morte durante reab.	<LOQ
S4	<i>L. michahellis</i>	03/11/2019	Aveiro	880	1ºano	M	3	Dispneia severa	Morte durante reab.	<LOQ
S5	<i>L. fuscus</i>	02/12/2020	Aveiro	700	adulto	F	2	Dispneia	Morte durante reab.	<LOQ
S6	<i>L. fuscus</i>	26/08/2019	Aveiro	645	adulto	F	2	Dispneia severa	Morte durante reab.	<LOQ
S7	<i>L. fuscus</i>	29/08/2019	Aveiro	800	adulto	M	3	Incapacidade de se sustentar, debilidade	Morte durante reab.	<LOQ
S8	<i>L. michahellis</i>	26/08/2019	Ovar	705	1ºano	M	2	Dificuldades respiratórias	Morte durante reab.	11,1
S9	<i>L. fuscus</i>	01/02/2020	Figueira da Foz	738	adulto	F	2	Dificuldades respiratórias / Dispneia	Morte durante reab.	<LOQ
S10	<i>L. michahellis</i>	10/10/2019	Aveiro	695	1ºano	I	2	Dados não disponíveis	Morte durante reab.	<LOQ
S11	<i>L. fuscus</i>	03/09/2020	Aveiro	825	adulto	M	3	Dispneia leve	Morte durante reab.	<LOQ
S12	<i>L. fuscus</i>	27/08/2019	Aveiro	660	2º ano	F	3	Paralisia, dispneia, não segurava a cabeça	Eutanásia	11,2
S13	<i>L. fuscus</i>	19/04/2021	Aveiro	730	adulto	F	2	Dispneia, não segura a cabeça	Morte durante reab.	<LOQ
S14	<i>L. fuscus</i>	23/04/2020	Aveiro	545	2ºano	F	2	Dados não disponíveis	Morte durante reab.	<LOQ
S15	<i>L. michahellis</i>	01/10/2019	Figueira da Foz	980	3º ano	F	2	Dados não disponíveis	Entrada morto	<LOQ
S16	<i>L. fuscus</i>	24/08/2019	Mira	760	2º ano	M	2	Dados não disponíveis	Morte durante reab.	<LOQ
S17	<i>L. michahellis</i>	23/08/2019	Aveiro	670	adulto	F	2	Dispneia	Morte durante reab.	<LOQ
S18	<i>L. fuscus</i>	18/04/2021	Ovar	860	adulto	M	2	Dispneia severa	Morte durante reab.	<LOQ
S19	<i>L. fuscus</i>	08/08/2020	Mira	645	adulto	F	2	Dispneia leve	Eutanásia	<LOQ

LOQ= Limite de quantificação (10ng/mL)

3.3. Discussão

A paresia progressiva em gaivotas é uma das causas mais frequentes de admissão no Centro de CRAM-ecomare, assim como em outros centros de recuperação de animais selvagens. A etiologia desta síndrome é ainda desconhecida, devido aos escassos estudos realizados até ao momento. A intoxicação por saxitoxinas poderá ser um dos principais diagnósticos diferenciais a equacionar, pela potencial exposição às toxinas e pelo quadro clínico apresentado.

Neste estudo, as espécies que foram escolhidas para a sua realização são *Larus michahellis* e *Larus fuscus*, por serem as duas espécies com as maiores populações no território nacional e por serem, assim, as espécies com maior representação. *Larus michahellis* ou Gaivota-de-patas-amaras apresenta-se com uma população em crescimento, sem ameaças relevantes à sua conservação (embora possa ser vítima de captura ou dano acidental com artes de pesca (Cooper et al., 2003) como redes, linhas ou anzóis), sendo classificada com o estado de conservação *Pouco Preocupante* (LC), segundo a Lista Vermelha Europeia para Aves (BirdLife International, 2015). É a única gaivota considerada residente em Portugal (Meirinho et al., 2014), com uma distribuição ao longo de toda a costa continental e também em todas as ilhas. Relativamente à *Larus fuscus*, ou Gaivota-d'asa-escura, é considerada uma ave migradora de passagem, maioritariamente proveniente do norte da Europa, nomeadamente do Reino Unido e encontra-se ao longo de toda a costa continental durante os meses de inverno, altura em que chega a ocorrer em maior número do que as residentes *gaivotas-de-patas-amaras*. Tal como a *gaivotas-de-patas-amaras*, esta gaivota não sofre ameaças significativas, também pode ser vítima de captura ou dano acidental com artes de pesca e o seu estatuto de conservação a nível global é, também, *Pouco Preocupante* (BirdLife International, 2019), embora a população residente tenha sido classificada como *Vulnerável* (Almeida et al., 2005).

No presente estudo, das 19 amostras provenientes de gaivotas com suspeitas de intoxicação por biotoxinas, após diagnóstico de síndrome parética, apenas 3 (16%) dos animais revelaram valores de saxitoxina acima do LOQ, resultado que pode ser comparado com o apresentado por Gibble em 2021, onde foi detetada a presença de saxitoxina em 11 das 47 amostras analisadas (23%) - de indivíduos das espécies Gaivota-de-bico-riscado (*Larus delawarensis*), Pardela-branca (*Fulmarus glacialis*), Pato-careto (*Melanitta perspicillata*), Corvo-marinho-de-orelhas (*Phalacrocorax auritus*), Corvo-marinho-de-Brandt (*Phalacrocorax penicillatus*) e Airo (*Uria aalge*). Importa referir que nesse estudo, nenhum dos animais foi sujeito a qualquer protocolo terapêutico, pois todos foram encontrados mortos.

Foi detetada a presença de saxitoxina no fígado dos indivíduos S8 e S12 da espécie *L. michahellis* e da espécie *L. fuscus* (S1). Estes 3 animais deram entrada no CRAM na mesma altura (S1, S8 e S12, nos dias 26, 25, 27 de agosto de 2019, respetivamente), sendo a sua recolha/captura realizada em localidades diferentes (Figueira da Foz, Ovar e Aveiro, respetivamente). Relativamente à idade destes animais, as amostras positivas foram detetadas em adulto (S1), juvenil de 1º ano (S8) e de 2º ano (S12) (Tabela 6). De referir ainda que os

indivíduos S1 e S12 foram eutanasiados, e o S8 morreu durante a reabilitação, durante as primeiras 24 horas após a sua admissão no CRAM.

Relativamente aos outros indivíduos do estudo que deram entrada durante o mês de agosto de 2019 (S2, S6, S7, S16 e S17), importa referir que todos iniciaram o protocolo terapêutico, pelo que apesar de não terem sido detetadas concentrações acima do LOQ, esse aspeto poderá dever-se à sua eliminação/metabolização. De acordo com o estudo de Garcia *et al.*, a sua metabolização ocorre por oxidação e conjugação do ácido glucurónico. O S6, o S7 e o S16 morreram durante as primeiras 24 horas, o S2 e o S17 morreram durante o segundo dia de internamento.

De referir ainda que, nas análises de controlo feitas pelo Sistema Nacional de Monitorização de Moluscos Bivalves, em agosto de 2019 não foram registadas ou não foram observadas medições de STX nas regiões próximas dos locais onde as aves foram recolhidas/capturadas. Durante este mês, apenas foram quantificadas amostras mais a sul (Algarve, Alentejo, Setúbal e Almada, com valores entre 8 e 143 µg STX equiv/kg em amostras de mexilhão (*Mytilus* spp.) e pé de burrico (*Chamelea gallina*), em Lagos e Comporta, respetivamente (IPMA, 2019b). Assim sendo, não foi possível identificar qualquer relação entre os casos observados e os níveis de saxitoxina quantificada pelo IPMA.

Através da análise da casuística do CRAM entre 2017 e 2020, das 193 aves que foram admitidas com esta síndrome parética, observa-se que 23% (n = 44) entraram no mês de setembro (Tabela 7 em anexo), coincidindo com o reportado por Paulo Vale, relativamente aos casos graves de intoxicação em humanos em Portugal (2019).

4. Conclusão

Neste estudo foi possível identificar a presença de saxitoxina em amostras de fígado de gaivotas admitidas no CRAM / Ecomare em agosto de 2019, e que apresentaram suspeita de intoxicação por biotoxinas após diagnóstico de síndrome parética. Foi observada uma frequência de positivos de 16% (3/19 animais com suspeita de intoxicação por saxitoxina).

Com base nestes resultados preliminares, e dadas as características das gaivotas, constituindo estas importantes biomonitorios, cremos que a biomonitorização da saxitoxina pode contribuir para melhorar o conhecimento sobre a etiologia da síndrome parética que afeta estes animais e que o estudo de animais não sujeitos a protocolo terapêutico poderá ajudar na possível detecção e quantificação da toxina.

Bibliografia

- Almeida, J., Pacheco, C., Franco, C., Moreira, F., Ramos, J., Granadeiro, J. P., Silva, L., Pinto, M., Groz, M. J. P., Onofre, N., Catry, P., Oliveira, P., Lopes, R. J., & Encarnação, V. (2005). Aves: Livro vermelho dos vertebrados de Portugal. In *Livro vermelho dos vertebrados de Portugal*. Instituto da Conservação da Natureza.
- ASAE. (2016). *Projeto CIGUATERA*. Cientistas Europeus Unem Forças Contra Intoxicação Por CIGUATERA. <https://www.asae.gov.pt/newsletter2/asaenews-n-99-julho-2016/projeto-ciguatera.aspx>
- Basti, L., Hégaret, H., & Shumway, S. E. (2018). *Harmful Algal Blooms and Shellfish Poisonings*. 135–190.
- Bates, S. S. (1989). Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46(7), 1203–1215. <https://doi.org/10.1139/f89-156>
- Ben-Gigirey, B., Casero, M. v, Mazuet, C., Riobó, P., & Rodriguez, F. (2021). Paretic syndrome in gulls from southern Portugal: searching for the causative agent. *1st International Electronic Conference on Toxins (IECT2021), February, 2–3*.
- Ben-Gigirey, B., Soliño, L., Bravo, I., Rodríguez, F., & Casero, M. V. M. (2021). Paralytic and amnesic shellfish toxins impacts on seabirds, analyses and management. In *Toxins* (Vol. 13, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/toxins13070454>
- Beyer, W. N., Audet, D. J., Heinz, G. H., Hoffman, D. J., & Day, D. (2000). Relation of waterfowl poisoning to sediment lead concentrations in the Coeur d'Alene River Basin. *Ecotoxicology*, 9(3), 207–218. <https://doi.org/10.1023/A:1008998821913>
- BirdLife International. (2015). *Larus michahellis* - The IUCN Red List of Threatened Species. *BirdLife International - European Red List of Birds*.
- BirdLife International. (2019). *Larus fuscus* - The IUCN Red List of Threatened Species. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T22694373A155594163.en>
- Bolch, C. J. S., & de Salas, M. F. (2007). A review of the molecular evidence for ballast water introduction of the toxic dinoflagellates *Gymnodinium catenatum* and the Alexandrium “tamarensis complex” to Australasia. *Harmful Algae*, 6(4), 465–485. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2006.12.008>
- Cairns, D. K. (1987). Seabird as indicators of marine food supplies. In *Biological Oceanography*. <https://www.researchgate.net/publication/247457042>
- Carvalho, I. L., Pelerito, A., Ribeiro, I., Cordeiro, R., Nuncio, M. S., & Vale, P. (2019). Paralytic shellfish poisoning due to ingestion of contaminated mussels: A 2018 case report in Caparica (Portugal). *Toxicon: X*, 4. <https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2019.100017>
- Ceia, F. R., Paiva, V. H., Fidalgo, V., Morais, L., Baeta, A., Crisóstomo, P., Mourato, E., Garthe, S., Marques, J. C., & Ramos, J. A. (2014). Annual and seasonal consistency in the feeding ecology of an opportunistic species, the yellow-legged gull *Larus michahellis*. *Marine Ecology Progress Series*, 497, 273–284. <https://doi.org/10.3354/meps10586>
- Chorus, Ingrid., & Bartram, Jamie. (1999). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management*. E & FN Spon.

- Christel, I., Navarro, J., del Castillo, M., Cama, A., & Ferrer, X. (2012). Foraging movements of Audouin's gull (*Larus audouinii*) in the Ebro Delta, NW Mediterranean: A preliminary satellite-tracking study. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 96(1), 257–261. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.11.019>
- Clatterbuck, C. A., Lewison, R. L., Dodder, N. G., Zeeman, C., & Schiff, K. (2017). *Seabirds as regional biomonitors of legacy toxicants on an urbanized coastline*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.057>
- Cooper, J., Baccetti, N., Belda, E. J., Borg, J. J., Oro, D., Papaconstantinou, C., & Sánchez, A. (2003). Seabird mortality from longline fishing in the Mediterranean Sea and Macaronesian waters: A review and a way forward. *Scientia Marina*, 67(SUPPLEMENT 2), 57–64. <https://doi.org/10.3989/scimar.2003.67s257>
- Correia, F. S. (1946). Um caso raro de intoxicação alimentar colectiva. In *BOLETIM do Instituto Superior de Higiene Doutor Ricardo Jorge - VOLUME III - 1946* (Vol. 3, pp. 216–221). Bol. Inst. Sup. Higiene Dr. Ricardo Jorge.
- Cusick, K. D., & Saylor, G. S. (2013). An overview on the marine neurotoxin, saxitoxin: Genetics, molecular targets, methods of detection and ecological functions. *Marine Drugs*, 11(4), 991–1018. <https://doi.org/10.3390/md11040991>
- de Carvalho, M., Jacinto, J., Ramos, N., de Oliveira, V., Pinho e Melo, T., & de Sá, J. (1998). Paralytic shellfish poisoning: clinical and electrophysiological observations. *Journal of Neurology* 1998 245:8, 245(8), 551–554. <https://doi.org/10.1007/S004150050241>
- Durant, J. M., Hjermand, D., Frederiksen, M., Charrassin, J. B., le Maho, Y., Sabarros, P. S., Crawford, R. J. M., & Stenseth, N. C. (2009). Pros and cons of using seabirds as ecological indicators. *Climate Research*, 39(2), 115–129. <https://doi.org/10.3354/CR00798>
- Edwards, J. R., Fossum, T. W., Nichols, K. J., Noah, D. L., Tarpley, R. J., & Prozialeck, W. C. (2017). One Health: Children, Waterfowl, and Lead Exposure in Northwestern Nigeria. *The Journal of the American Osteopathic Association*, 117(6), 370–376. <https://doi.org/10.7556/JAOA.2017.075>
- EFSA. (2016). *Fighting ciguatera food poisoning - European Food Safety Authority*. <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/fighting-ciguatera-food-poisoning-european-scientists-join>
- Equipa Atlas, Sociedade Portuguesa para o Estudo das Aves, LabOr- Laboratório de Ornitologia – ICAAM - Universidade de Évora, Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, Instituto das Florestas e Conservação da Natureza (Madeira), Secretaria Regional da Energia, A. e T. (Açores), & Associação Portuguesa de Anilhadores de Aves. (2018). *Atlas das Aves Invernantes e Migradoras de Portugal 2011-2013* (Sociedade Portuguesa para o Estudo das Aves, Ed.).
- Etheridge, S. M. (2010). Paralytic shellfish poisoning: Seafood safety and human health perspectives. *Toxicon*, 56(2), 108–122. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.12.013>
- Falk, M., Seto, P. F., & Walter, J. A. (1991). *Solubility of domoic acid in water and in non-aqueous solvents* 1.
- FAO. (2015). Codex Alimentarius: standard for live and raw bivalve molluscs. In *Codex Alimentarius*.
- Ferreira, H., Romano, M., & Uhart, M. (2009). Recent and chronic exposure of wild ducks to lead in human-modified wetlands in Santa Fe province, Argentina. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(3), 823–827. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.3.823>

- Fire, S. E., & van Dolah, F. M. (2012). *Marine Biotoxins: Emergence of Harmful Algal Blooms as Health Threats to Marine Wildlife*. <https://www.researchgate.net/publication/229150982>
- Forrester, D. J., Henderson, E., & Woodardeu, C. (1977). *AN EPIZOOTIC OF WATERFOWL ASSOCIATED WITH A RED TIDE EPISODE IN FLORIDA*. 160–167.
- Friedman, M. A., Fernandez, M., Backer, L. C., Dickey, R. W., Bernstein, J., Schrank, K., Kibler, S., Stephan, W., Gribble, M. O., Bienfang, P., Bowen, R. E., Degrasse, S., Quintana, H. A. F., Loeffler, C. R., Weisman, R., Blythe, D., Berdalet, E., Ayyar, R., Clarkson-Townsend, D., ... Fleming, L. E. (2017). An updated review of ciguatera fish poisoning: Clinical, epidemiological, environmental, and public health management. *Marine Drugs*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/MD15030072>
- Friedman, M. A., Fleming, L. E., Fernandez, M., Bienfang, P., Schrank, K., Dickey, R., Bottein, M. Y., Backer, L., Ayyar, R., Weisman, R., Watkins, S., Granade, R., & Reich, A. (2008). Ciguatera fish poisoning: Treatment, prevention and management. *Marine Drugs*, 6(3), 456–479. <https://doi.org/10.3390/MD6030456>
- Friend, M., & Franson, J. C. (1999). Avian Botulism. In E. A. Ciganovich (Ed.), *Field Manual of Wildlife Diseases: Birds* (pp. 271–281). U.S. Geological Survey.
- Furness, R. W., & Camphuysen, K. C. (1997). Seabirds as monitors of the marine environment. In *ICES Journal of Marine Science* (Vol. 54).
- Gad, S. E. (2014). Saxitoxin. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 218–220. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00925-8>
- García, C., Barriga, A., Díaz, J. C., Lagos, M., & Lagos, N. (2010). Route of metabolization and detoxication of paralytic shellfish toxins in humans. *Toxicon*, 55(1), 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.07.018>
- García, C., Bravo, M. D. C., Lagos, M., & Lagos, N. (2004). Paralytic shellfish poisoning: Post-mortem analysis of tissue and body fluid samples from human victims in the Patagonia fjords. *Toxicon*, 43(2), 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.11.018>
- Gessner, B. D., Bell, P., Doucette, G. J., Moczydlowski, E., Poli, M. A., Dolah, F. van, Hall, S., Gessner, B. D., Bell, P., Doucette, G. J., Moczydlowski, E., Poli, M. A., & Van, F. (1997). Hypertension and identification of toxin in human urine and serum following a cluster of mussel-associated paralytic shellfish poisoning outbreaks. In *Toxicon* (Vol. 35, Issue 5).
- Gibble, C. M., & Hoover, B. A. (2018a). *Interactions between Seabirds and Harmful Algal Blooms*.
- Gibble, C. M., & Hoover, B. A. (2018b). *Interactions between Seabirds and Harmful Algal Blooms*.
- Gibble, C. M., Kudela, R. M., Knowles, S., Bodenstern, B., & Lefebvre, K. A. (2021). Domoic acid and saxitoxin in seabirds in the United States between 2007 and 2018. *Harmful Algae*, 103. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2021.101981>
- Glibert, P. M., Icarus Allen, J., Artioli, Y., Beusen, A., Bouwman, L., Harle, J., Holmes, R., & Holt, J. (2014). Vulnerability of coastal ecosystems to changes in harmful algal bloom distribution in response to climate change: Projections based on model analysis. *Global Change Biology*, 20(12), 3845–3858. <https://doi.org/10.1111/gcb.12662>
- Gobler, C. J. (2020). Climate Change and Harmful Algal Blooms: Insights and perspective. *Harmful Algae*, 91, 101731. <https://doi.org/10.1016/J.HAL.2019.101731>

- Godwin, C. M., Smits, J. E. G., & Barclay, R. M. R. (2016). Metals and metalloids in nestling tree swallows and their dietary items near oilsands mine operations in Northern Alberta. *The Science of the Total Environment*, 562, 714–723. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.04.069>
- Hallegraeff, G. M. (1993). A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, 32(2), 79–99. <https://doi.org/10.2216/I0031-8884-32-2-79.1>
- Hallegraeff, G. M., Anderson, D. M., & Cembella, A. D. (2004). *Manual on Harmful Marine Microalgae*. United Nations Educational.
- He, Z. L., Yang, X. E., & Stoffella, P. J. (2005). Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19(2–3), 125–140. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.010>
- Heckert, R. A., Collins, M. S., Manvell, R. J., Strong, I., Pearson, J. E., & Alexander, D. J. (1996). Comparison of Newcastle disease viruses isolated from cormorants in Canada and the USA in 1975, 1990 and 1992. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 60(1), 50. [/pmc/articles/PMC1263800/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1263800/)
- Hollamby, S., Afema-Azikuru, J., Sikarskie, J. G., Kaneene, J. B., Bowerman, W. W., Fitzgerald, S. D., Cameron, K., Gandolf, A. R., Hui, G. N., Dranzoa, C., & Rumbelha, W. K. (2004). Mercury and persistent organic pollutant concentrations in African fish eagles, marabou storks, and Nile tilapia in Uganda. *Journal of Wildlife Diseases*, 40(3), 501–514. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-40.3.501>
- IPMA. (2018a). *Instituto Português do Mar e da Atmosfera*. <https://www.ipma.pt/pt/bivalves/historico/?zone=L6&type=L>
- IPMA. (2018b). *SNMB - Resultados das Determinações de Biotoxinas Marinhas outubro 2018 (Semana 1, 2, 3 e 4)*.
- IPMA. (2019a). *Limites Legais em Moluscos Bivalves*. https://www.ipma.pt/pt/bivalves/docs/files/Limites_legais_em_moluscos_bivalves.pdf
- IPMA. (2019b). *Resultados das Determinações de Biotoxinas Marinhas agosto 2019*.
- IPMA. (2021a). *Instituto Português do Mar e Atmosfera - SNMB*. <https://www.ipma.pt/pt/bivalves/biotox/index.jsp>
- IPMA. (2021b, September). *Resultados das Determinações de Biotoxinas Marinhas setembro 2021*. <https://www.ipma.pt/pt/bivalves/biotox/docs/a-lbm-set21.pdf>
- Jones, T., Divine, L. M., Renner, H., Knowles, S., Lefebvre, K. A., Burgess, H. K., Wright, C., & Parrish, J. K. (2019). Unusual mortality of Tufted puffins (*Fratercula cirrhata*) in the eastern Bering Sea. *PLOS ONE*, 14(5), e0216532. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0216532>
- Kao, C. Y. (1993). Paralytic Shellfish Poisoning. In *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water* (pp. 75–86).
- Kim, J. H., Tillmann, U., Adams, N. G., Krock, B., Stutts, W. L., Deeds, J. R., Han, M. S., & Trainer, V. L. (2017). Identification of Azadinium species and a new azaspiracid from Azadinium poporum in Puget Sound, Washington State, USA. *Harmful Algae*, 68, 152–167. <https://doi.org/10.1016/J.HAL.2017.08.004>
- Krock, B., Tillmann, U., Voß, D., Koch, B. P., Salas, R., Witt, M., Potvin, É., & Jeong, H. J. (2012). New azaspiracids in Amphidomataceae (Dinophyceae). *Toxicon*, 60(5), 830–839. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.05.007>

- Kyle, A. D. (2019). Environmental Health Tracking. *Encyclopedia of Environmental Health*, 544–552. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11647-1>
- Lawrence, J., Loreal, H., Toyofuku, H., Hess, P., Karunasagar, I., & Ababouch, L. (2012). *Assessment and management of biotoxin risks in bivalve molluscs*.
- Lefebvre, K. A., Bill, B. D., Erickson, A., Baugh, K. A., O'Rourke, L., Costa, P. R., Nance, S., & Trainer, V. L. (2008). Characterization of Intracellular and Extracellular Saxitoxin Levels in Both Field and Cultured *Alexandrium* spp. Samples from Sequim Bay, Washington. *Marine Drugs*, 6(2), 103–116. <https://doi.org/10.3390/md20080006>
- Lefebvre, K. A., Quakenbush, L., Frame, E., Huntington, K. B., Sheffield, G., Stimmelmayer, R., Bryan, A., Kendrick, P., Ziel, H., Goldstein, T., Snyder, J. A., Gelatt, T., Gulland, F., Dickerson, B., & Gill, V. (2016). Prevalence of algal toxins in Alaskan marine mammals foraging in a changing arctic and subarctic environment. *Harmful Algae*, 55, 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.01.007>
- Lelong, A. L., Le`ne, H. É., Le`ne, L., Garet, H. É., Soudant, P., & Bates, S. S. (2012). *Pseudo-nitzschia (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms*. <https://doi.org/10.2216/11-37>
- Lavasseau, M., Michaud, S., Bonneau, E., Cantin, G., Auger, F., Gagne, A., & Claveau, R. (1996). Overview of the August 1996 Red Tide Event in the St Lawrence: Effects of a Storm Surge. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 76.
- Llewellyn, L. E. (2006). Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors. *Natural Product Reports*, 23(2), 200–222. <https://doi.org/10.1039/b501296c>
- Markert, B., & Wünschmann, S. (2011). *Bioindicators and Biomonitors: Use of Organisms to Observe the Influence of Chemicals on the Environment*. 217–236. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9852-8_10
- McCabe, R. M., Hickey, B. M., Kudela, R. M., Lefebvre, K. A., Adams, N. G., Bill, B. D., Gulland, F. M. D., Thomson, R. E., Cochlan, W. P., & Trainer, V. L. (2016). An unprecedented coastwide toxic algal bloom linked to anomalous ocean conditions. *Geophysical Research Letters*, 43(19), 10,366–10,376. <https://doi.org/10.1002/2016GL070023>
- Meirinho, A., Barros, N., Catry, P., Lecoq, M., Paiva, V., Geraldés, P., Granadeiro, J. P., Ramirez, I., & Andrade, J. (2014). *Atlas das Aves Marinhas de Portugal*.
- Montevicchi, W. A., & Myers, A. (1996). Dietary changes of seabirds indicate shifts in pelagic food webs. *Sarsia*, 80(4), 313–322. <https://doi.org/10.1080/00364827.1996.10413606>
- Monticelli, D., Ramos, J. A., & Quartly, G. D. (2007). Effects of annual changes in primary productivity and ocean indices on breeding performance of tropical roseate terns in the western Indian Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 351, 273–286. <https://doi.org/10.3354/meps07119>
- Montoya, N. (2019). Toxinas paralizantes de moluscos en el Mar Argentino: impacto, transferencia trófica y perspectiva. *Marine and Fishery Sciences (MAFIS)*, 32(1), 47–69. <https://doi.org/10.47193/mafis.3212019061805>
- Montoya, N., & Carreto, J. I. (2007). *Informe sobre Mortandad de Aves Marinas Ocurrida en las Costas de Chubut (Noviembre de 2006), Asociada a la Presencia de Toxinas Paralisantes de Moluscos*.

- Moreno, R., Jover, L., Munilla, I., Velando, A., & Sanpera, C. (2010). A three-isotope approach to disentangling the diet of a generalist consumer: The yellow-legged gull in northwest Spain. *Marine Biology*, 157(3), 545–553. <https://doi.org/10.1007/s00227-009-1340-9>
- Neimanis, A., Gavier-Widén, D., Leighton, F., Bollinger, T., Rocke, T., & Mörner, T. (2007). An outbreak of type C botulism in Herring Gulls (*Larus argentatus*) in Southeastern Sweden. *Journal of Wildlife Diseases*, 43(3), 327–336. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-43.3.327>
- Nguyen, H. N., Smith, M. E., & Swoboda, H. D. (2021). Shellfish Toxicity. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470225/>
- Nisbet, I. C. T. (1983). Paralytic Shellfish Poisoning: Effects on Breeding Terns. *The Condor*, 85(3), 338. <https://doi.org/10.2307/1367071>
- OBIS. (2017). *Ocean Biodiversity Information System*. Call to Contribute to Global Harmful Algal Bloom Status Reporting. <https://obis.org/2017/11/03/hab-report/>
- O'Neill, K., Musgrave, I. F., & Humpage, A. (2016). Low dose extended exposure to saxitoxin and its potential neurodevelopmental effects: A review. In *Environmental Toxicology and Pharmacology* (Vol. 48, pp. 7–16). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.09.020>
- Pain, D. J., Mateo, R., & Green, R. E. (2019). Effects of lead from ammunition on birds and other wildlife: A review and update. *Ambio*, 48(9), 935–953. <https://doi.org/10.1007/s13280-019-01159-0>
- Paiva, V. H., Geraldes, P., Marques, V., Rodríguez, R., Garthe, S., & Ramos, J. A. (2013). Effects of environmental variability on different trophic levels of the North Atlantic food web. *Marine Ecology Progress Series*, 477, 15–28. <https://doi.org/10.3354/meps10180>
- Pattison, M., McMullin, P., Bradbury, J., & Alexander, D. (2008). Poultry Diseases. *Poultry Diseases*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-2862-5.X5001-6>
- Patwa, J., & Flora, S. J. S. (2020). Medical management of diseases associated with biological warfare. *Handbook on Biological Warfare Preparedness*, 151–172. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812026-2.00008-6>
- Pereira, P., Onodera, H., Andrinolo, D., Franca, S., Araújo, F., Stor Lagos, N., & Oshima, Y. (2000). Paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae*, isolated from Montargil reservoir, Portugal. *Toxicon*, 38, 1689–1702. www.elsevier.com/locate/toxicon
- Petruzzello, M. (2017). Dinoflagellate. In *Encyclopædia Britannica*. <https://www.britannica.com/print/article/163945>
- Piatt, J. F., Harding, A. M. A., Shultz, M., Speckman, S. G., van Pelt, T. I., Drew, G. S., & Kettle, A. B. (2007). Seabirds as indicators of marine food supplies: Cairns revisited. *Marine Ecology Progress Series*, 352, 221–234. <https://doi.org/10.3354/MEPS07078>
- Pinto, J., & e Silva, E. (1956). The toxicity of *Cardium edule* L. and its possible relation to the dinoflagellate *Prorocentrum micans*. *Notas e Estudos Do Instituto de Biologia Marítima*, 12.
- Reguera, B., Riobó, P., Rodríguez, F., Díaz, P. A., Pizarro, G., Paz, B., Franco, J. M., & Blanco, J. (2014). Dinophysis Toxins: Causative Organisms, Distribution and Fate in Shellfish. *Marine Drugs* 2014, Vol. 12, Pages 394-461, 12(1), 394–461. <https://doi.org/10.3390/MD12010394>
- Sampayo, M., Franca, S., Sousa, I., Alvito, P., Vale, P., Botelho, M. J., Rodrigues, S., & Vieira, A. (1997). *Dez anos de monitorização de biotoxinas marinhas em Portugal (1986-1996)*. <https://www.researchgate.net/publication/312969667>

- Sastre, A. v., Santinelli, N. H., Solís, M. E., Pérez, L. B., Ovejero, S. D., Villalobos, L. G., Cadaillón, A., & D'Agostino, V. C. (2018). Harmful marine microalgae in coastal waters of Chubut (Patagonia, Argentina). In *Plankton Ecology of the Southwestern Atlantic: From the Subtropical to the Subantarctic Realm* (pp. 495–515). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77869-3_22
- Schaller, J., Brackhage, C., Mkandawire, M., & Dudel, E. G. (2011). Metal/metalloid accumulation/remobilization during aquatic litter decomposition in freshwater: A review. *Science of the Total Environment*, 409(23), 4891–4898. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.08.006>
- Schaller, J., & Machill, S. (2012). Invertebrates control metal/metalloid sequestration and the quality of DOC/DON released during litter decay in slightly acidic environments. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(9), 3942–3949. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0975-0>
- Schaller, J., Weiske, A., Mkandawire, M., & Dudel, E. G. (2010). Invertebrates control metals and arsenic sequestration as ecosystem engineers. *Chemosphere*, 79(2), 169–173. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2010.01.015>
- Schantz, E. J., Mold, J. D., Stanger, D. W., Shavel, J., Riel, F. J., Bowden, J. P., Lynch, J. M., Wyler, R. S., Riegel, B., & Sommer, H. (1957). Paralytic Shellfish Poison. VI. A Procedure for the Isolation and Purification of the Poison from Toxic Clam and Mussel Tissues. *Journal of the American Chemical Society*, 79(19), 5230–5235. <https://doi.org/10.1021/JA01576A044>
- Shearn-Bochsler, V., Lance, E. W., Corcoran, R., Piatt, J., Bodenstein, B., Frame, E., & Lawonn, J. (2014). Fatal paralytic shellfish poisoning in Kittlitz's murrelet (*Brachyramphus brevirostris*) nestlings, Alaska, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 50(4), 933–937. <https://doi.org/10.7589/2013-11-296>
- Shumway, S. E., Allen, S. M., & Boersma, P. D. (2003a). Marine birds and harmful algal blooms: Sporadic victims or under-reported events? *Harmful Algae*, 2(1), 1–17. [https://doi.org/10.1016/S1568-9883\(03\)00002-7](https://doi.org/10.1016/S1568-9883(03)00002-7)
- Shumway, S. E., Allen, S. M., & Boersma, P. D. (2003b). Marine birds and harmful algal blooms: Sporadic victims or under-reported events? *Harmful Algae*, 2(1), 1–17. [https://doi.org/10.1016/S1568-9883\(03\)00002-7](https://doi.org/10.1016/S1568-9883(03)00002-7)
- Shumway, S. E., Burkholder, J. M. (JoAnn M., & Morton, S. L. (2018). *Harmful algal blooms: a compendium desk reference*.
- Sonne, C., Alstrup, A. K. O., & Therkildsen, O. R. (2012). A review of the factors causing paralysis in wild birds: Implications for the paralytic syndrome observed in the Baltic Sea. *Science of The Total Environment*, 416, 32–39. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2011.12.023>
- Starr, M., Lair, S., Michaud, S., Scarratt, M., Quilliam, M., Lefavre, D., Robert, M., Wotherspoon, A., Michaud, R., Ménard, N., Sauv e, G., Lessard, S., B eland, P., & Measures, L. (2017). Multispecies mass mortality of marine fauna linked to a toxic dinoflagellate bloom. *PLoS ONE*, 12(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176299>
- Stewart, C. E. (2006). Weapons of Mass Casualties and Terrorism Response Handbook. In *Jems* (Vol. 34, Issue 8, p. 70). Jones & Bartlett Learning.
- Strom, S. M., Langenberg, J. A., Businga, N. K., Batten, J. K., Strom, S. M., Langenberg, J. A., Businga, N. K., & Batten, J. K. (2009). Lead exposure in Wisconsin birds. *Ingestion of Lead from Spent Ammunition: Implications for Wildlife and Humans*. <https://doi.org/10.4080/ilsa.2009.0205>
- Swayne, D. E., & Glisson, J. R. (2013). *Diseases of poultry*. Wiley.

- Thomas, N. J. (Nancy J., Hunter, D. Bruce., & Atkinson, C. T. (2007). *Infectious diseases of wild birds*. 484.
- UE. (2004). Secção VII: moluscos bivalves vivos. *Regulamento (CE) Nº 853/2004 Do Parlamento Europeu e Do Conselho de 29/04/2004*.
- UE. (2013). *Regulamento (UE) n.º 786/2013 da Comissão de 16 de agosto de 2013*.
- United Nations. (1993). *Chemical Weapons Convention*. <https://ihl-databases.icrc.org/applic/ihl/ihl.nsf/INTRO/553?OpenDocument>
- Vale, P. (1999). *PhD Thesis: Characterization of DSP toxins at the Portuguese coast NA COSTA PORTUGUESA Dissertação para a obtenção do grau de Doutor no ramo de Biologia, especialidade Ecologia e Biossistemática, pela Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa Lis. March*.
- Vale, P. (2004). Biotoxinas marinhas Marine biotoxins. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 99(549), 3–18.
- Vale, P. (2019). Intoxicação Paralisante por Marisco: Uma Síndrome Rara com Recorrência Decadal? *Medicina Interna*, 26(4), 326–334. <https://doi.org/10.24950/rspmi/Revisao/96/19/4/2019>
- Vale, P., Botelho, M. J., Rodrigues, S. M., Gomes, S. S., & Sampayo, M. A. de M. (2008). Two decades of marine biotoxin monitoring in bivalves from Portugal (1986-2006): A review of exposure assessment. *Harmful Algae*, 7(1), 11–25. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2007.05.002>
- van Franeker, J. (2004). *Save the North Sea fulmar-litter-ecoQO manual Part 1: collection and dissection procedures*.
- van Hemert, C., Dusek, R. J., Smith, M. M., Kaler, R., Sheffield, G., Divine, L. M., Kuletz, K. J., Knowles, S., Lankton, J. S., Ransom Hardison, D., Wayne Litaker, R., Jones, T., Burgess, H. K., & Parrish, J. K. (2021). Investigation of Algal Toxins in a Multispecies Seabird Die-Off in the Bering and Chukchi Seas. <https://doi.org/10.7589/JWD-D-20-00057>, 57(2), 399–407. <https://doi.org/10.7589/JWD-D-20-00057>
- van Hemert, C., Schoen, S. K., Litaker, R. W., Smith, M. M., Arimitsu, M. L., Piatt, J. F., Holland, W. C., Ransom Hardison, D., & Pearce, J. M. (2020). Algal toxins in Alaskan seabirds: Evaluating the role of saxitoxin and domoic acid in a large-scale die-off of Common Murres. *Harmful Algae*, 92(September 2019), 101730. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101730>
- Verreault, J., Gabrielsen, G. W., & Bustnes, J. O. (2010). The Svalbard glaucous gull as bioindicator species in the European arctic: insight from 35 years of contaminants research. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 205, 77–116. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_2
- Visciano, P., Schirone, M., Berti, M., Milandri, A., Tofalo, R., & Suzzi, G. (2016). Marine Biotoxins: Occurrence, Toxicity, Regulatory Limits and Reference Methods. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 7). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01051>
- Watkins, S. M., Reich, A., Fleming, L. E., & Hammond, R. (2008). Neurotoxic Shellfish Poisoning. *Marine Drugs* 2008, Vol. 6, Pages 431-455, 6(3), 431–455. <https://doi.org/10.3390/MD6030431>
- Wells, M. L., Karlson, B., Wulff, A., Kudela, R., Trick, C., Asnaghi, V., Berdalet, E., Cochlan, W., Davidson, K., de Rijcke, M., Dutkiewicz, S., Hallegraef, G., Flynn, K. J., Legrand, C., Paerl, H., Silke, J., Suikkanen, S., Thompson, P., & Trainer, V. L. (2020). Future HAB science: Directions and challenges in a changing climate. *Harmful Algae*, 91. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101632>

- WHO. (2019). *Cyanobacterial toxins: Saxitoxins*.
- WHOI. (2019). *Azspiracid Shellfish Poisoning – Harmful Algal Blooms*.
<https://hab.who.edu/impacts/impacts-human-health/azp/>
- Wiese, M., D'Agostino, P. M., Mihali, T. K., Moffitt, M. C., & Neilan, B. A. (2010). Neurotoxic alkaloids: Saxitoxin and its analogs. *Marine Drugs*, 8(7), 2185–2211. <https://doi.org/10.3390/md8072185>
- Work, T. M., Barr, B., Beale, A. M., Fritz, L., Michael, A., Wright, J. L. C., & Url, S. (1993). Epidemiology of Domoic Acid Poisoning in Brown Pelicans (*Pelecanus occidentalis*) and Brandt' s Cormorants (*Phalacrocorax penicillatus*) in California. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 24(1), 54–62.
- Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., & Ma, L. Q. (2006). Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Sci. Total Environ.*, 368(2–3), 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.016>

Anexos

Tabela 7 Síndrome Parética - Casuística CRAM (2017-2020)

Mês	2020	2019	2018	2017	Totais por mês	Totais por mês (%)
Janeiro	1	1	0	0	2	1
Fevereiro	6	0	0	1	7	4
Março	1	6	0	2	9	5
Abril	3	5	1	0	9	5
Mai	7	2	1	1	11	6
Junho	0	2	2	1	5	2
Julho	4	1	3	3	11	6
Agosto	11	16	4	3	34	17
Setembro	20	16	4	4	44	23
Outubro	2	8	6	7	23	12
Novembro	9	4	1	4	18	9
Dezembro	10	5	2	3	20	10
Totais por ano	74	66	24	29	193	100%