

06/2018

14 de junio de 2018

Luis Botana López y Natalia Vilarriño del Río

Una visión de las toxinas marinas en el horizonte del año 2050 desde la perspectiva del cambio climático, bioseguridad y la seguridad alimentaria

Una visión de las toxinas marinas en el horizonte del año 2050 desde la perspectiva del cambio climático, bioseguridad y la seguridad alimentaria

A vision on marine toxins in 2050 from climate change, biosecurity and food security

*Profesor Luis Botana López
Grupo de investigación FARMATOX.
Departamento de farmacología, farmacia y tecnología farmacéutica
Universidad de Santiago de Compostela*

Introducción

Las biotoxinas marinas (ficotoxinas) son compuestos naturales producidos por algas microscópicas, los dinoflagelados, que constituyen el primer eslabón de la cadena alimentaria. Se encuentran en todas las aguas del planeta, y de las 2.000 especies conocidas, que pertenecen a unos 130 géneros, unas 200 son productoras de compuestos tóxicos. En determinadas condiciones ecológicas de luz, salinidad, nutrientes y, sobre todo, temperatura, pueden crecer a un ritmo elevado, con hasta 3-4 divisiones al día, y alcanzar concentraciones de hasta mil millones de células por litro (1), lo cual da lugar a coloraciones del agua que se denominan mareas rojas, aunque pueden ser incoloras, pardas, verdes o azules, dependiendo de la especie. La mayor parte de las ficotoxinas están producidas por dinoflagelados, aunque algunas

diatomeas, y las cianobacterias de aguas dulces, producen también toxinas similares a las marinas (2). Las ficotoxinas se clasifican en varios grupos, en función de su estructura química y modo de acción. Cada grupo tiene una toxina representativa y varios análogos: las toxinas paralizantes (el compuesto de referencia es la saxitoxina), llamadas genéricamente PSP (de paralytic shellfish poison), las toxinas diarreicas (ácido okadaico y dinofisistoxinas (DSP)), las amnésicas (ácido domoico (ASP)), las pectenotoxinas, las yesotoxinas, los azaspirácidos, las ciguatoxinas, las maitotoxinas, las brevetoxinas (NSP (de neurotoxic shellfish poison)), las palitoxinas (y análogos ostreocinas y ovatoxinas) y las iminas cíclicas. En conjunto, suman unos 1.000 análogos distintos, y cada especie de finoflagelado produce uno o más tipos de toxinas. Así, el *Gambierdiscus* por ejemplo produce ciguatoxinas, y maitotoxinas, y el *Dinophysis* produce pectenotoxinas y DSP. Debido a los crecimientos exponenciales que pueden sufrir estos organismos, la cantidad de toxinas que producen son muy elevadas, aunque en el entorno marino no constituyen un riesgo especial. Sin embargo, los moluscos, al alimentarse de estos dinoflagelados, son concentradores naturales, por lo que pueden llegar a acumular cantidades astronómicas en intervalos de tiempo reducidos de pocos días. En Chiapas, México, se ha descrito un episodio tóxico en el que un solo mejillón podría tener niveles letales de toxinas paralizantes (3, 4), en Málaga se identificó una caracola que contenía una cantidad de toxina letal para 6 personas (5).

Una de las características más relevantes de las toxinas marinas es su complejidad química, es decir, en general son moléculas complejas, frecuentemente con varios enlaces poliéter y de síntesis química difícil, o inaccesible para la química actual (6). Sus estructuras hacen que sean moléculas privilegiadas desde el punto de vista farmacológico, con una amplia variedad de mecanismos de acción (no todos los mecanismos se conocen), y sobre todo una gran potencia, es decir, son tóxicas a concentraciones muy bajas. Algunas de las toxinas marinas están entre los compuestos más tóxicos de la naturaleza. La palitoxina, o la maitotoxina, tienen una dosis letal intraperitoneal en ratones en el rango nanomolar, similar a la toxina botulínica, y además de tóxicos, son también los compuestos naturales no poliméricos más grandes conocidos, con un peso molecular de 3.400 Daltons (7).

Su complejidad química es enorme, ya que solo la maitotoxina admite 2^{99} , y la palitoxina 10^{21} , estereoisómeros posibles (8).

Cambio climático

Aunque los dinoflagelados crecen en todo tipo de nichos ecológicos, sus entornos habituales son los de aguas cálidas. En general, los dinoflagelados más tóxicos, como los *Gambierdiscus*, que producen ciguatoxinas y maitotoxinas, u *Ostreopsis*, que producen palitoxinas, ovatoxinas u ostreocinas, suelen ser habituales de aguas cálidas y entornos tropicales. El calentamiento global está elevando las temperaturas del mar, y esto favorece la expansión geográfica de microalgas que antes se restringían a zonas ecuatoriales y que ahora proliferan en latitudes mucho más elevadas. Por esta razón, las ciguatoxinas están reconocidas ya como un riesgo en Europa (9), y su importancia global es tal que se identifica como una de las principales causas de intoxicación alimentaria no bacteriana en productos de la pesca (10, 11). Un problema diferente se manifiesta en el Mediterráneo, donde las proliferaciones de *Ostreopsis* son responsables del cierre de playas en las costas mediterráneas desde Grecia hasta Portugal (12-14). Las ostreocinas y ovatoxinas que producen los *Ostreopsis* son tan tóxicas que causan graves problemas respiratorios en los bañistas que respiran los aerosoles causados por las olas cuando tiene lugar un episodio tóxico (12, 14). Después de la visita a estas playas algunos bañistas requirieron varios días en cuidados intensivos para recuperarse (12). Aunque las intoxicaciones por ciguatoxinas son conocidas desde hace tiempo, su expansión geográfica asociada al calentamiento global es un fenómeno reciente (15), y lo mismo ocurre con las afloraciones de *Ostreopsis* en el Mediterráneo en los últimos 5 años (16). En este último caso, la sorprendentemente rápida progresión de estos episodios tóxicos en las playas mediterráneas indica que algunos cambios pueden ocurrir con gran rapidez una vez las condiciones ecológicas son favorables.

Un problema distinto, aunque relacionado con el calentamiento global es la tetrodotoxina, una toxina paralizante que actúa de modo similar a la saxitoxina. Esta toxina no está producida por dinoflagelados sino por bacterias (17), y su presencia en el pez globo se conoce desde antiguo, pero su asociación con gasterópodos (5) y moluscos (5, 18), en Europa, es muy reciente, y se ha asociado al crecimiento

bacteriano en moluscos debido al cambio climático (19, 20). La proliferación de tetrodotoxina plantea un problema notable ya que al estar producida por bacterias es difícil desarrollar programas de prevención o detección. La reciente aparición de nuevos grupos de toxinas en el Golfo de México (21) y en Australia (22) está posiblemente asociado también al cambio climático.

También las iminas cíclicas, un complejo grupo de familias de compuestos (23), tienen cada vez mayor presencia en múltiples lugares del planeta, aunque no está aclarado si esto es debido al cambio climático, a la mayor cantidad de análisis debido a los avances técnicos, o a ambas razones (24). En el caso de las iminas cíclicas, no está tampoco resuelta la cuestión de si son un riesgo alimentario o no, ya que aunque su efecto es potencialmente tóxico, no se han descrito efectos lesivos en humanos. Sin embargo, las evidencias parecen indicar que el riesgo de estos compuestos no es agudo, como el de las demás toxinas marinas, sino crónico, especialmente desde el punto de vista neurológico y del desarrollo de embriones, especialmente teniendo en cuenta que están presentes en todos los productos comerciales aunque a dosis bajas (25, 26, 23).

Riesgos de bioseguridad

Algunos tipos de algas son muy difíciles de cultivar en acuarios, sobre todo los *Gambierdiscus*, que producen ciguatoxinas, pero la mayoría son relativamente fáciles de cultivar. Esto permite tener acceso a cantidades elevadas de compuestos muy tóxicos con recursos relativamente accesibles. El desarrollo de potentes métodos analíticos basados en espectrometría de masas permite identificar nuevos compuestos, algunos de gran potencia tóxica, y su obtención, aunque compleja, es posible. Por tanto, la combinación de nuevas toxinas con su posible obtención a gran escala es un claro riesgo de bioseguridad. Aunque la saxitoxina cristalina está identificada como arma química (27, 28), cualquiera de sus análogos en forma de sal soluble tienen la misma o mayor potencia, y no están sometidas a ningún control específico. Además, la tetrodotoxina al ser de origen bacteriano, puede obtenerse en cantidades industriales mediante un cultivo bacteriano, muy económico y accesible. La tetrodotoxina tiene la misma toxicidad que la saxitoxina. Aparte de estas toxinas letales del grupo de la saxitoxina, las palitoxinas y la maitotoxina, forman parte del

grupo químico más tóxico de la naturaleza, y aunque el cultivo de *Gambierdiscus*, productores de maitotoxina, es más complejo, el cultivo de *Ostreopsis* es mucho más sencillo, ya que las algas crecen con relativa facilidad en agua marina con nutrientes y aporte de luz.

En general, la presencia de toxinas marinas está regulada en moluscos, pero solo unos pocos análogos en cada grupo, y además, el método de referencia es la espectrometría de masas (29). Este método plantea un problema y es que aunque es muy potente y selectivo, solo identifica los compuestos que se predefinen, por lo que la presencia de compuestos no habituales que se hayan podido añadir a los alimentos con fines delictivos podría fácilmente pasar inadvertidos. Un problema bastante relevante en este sentido es que hay muy pocos patrones analíticos certificados (o incluso no certificados) para el control de estos compuestos, por lo que la identificación de su presencia en alimentos no es sencilla, y en general nunca se planifica su identificación debido a la saturación habitual que tienen los centros oficiales de control de toxinas en alimentos.

Si la población mundial crece diariamente a un ritmo de 215.000 personas por día, en el año 2050 habrá 2.500 millones más de personas, lo cual genera una presión enorme en los sistemas oficiales de control de seguridad en alimentos, y esto es claramente un riesgo que aumentará en el futuro. La saturación de los sistemas de control en los puntos de inspección fronteriza acentúa este riesgo, especialmente en los grandes puertos de comercio, y un ejemplo paradigmático es Rotterdam, con un volumen de transacciones diarias tan elevado que hace muy difícil mantener la capacidad efectiva para su control.

Aunque este artículo se refiere a las toxinas marinas, exactamente el mismo problema puede identificarse en las aguas de bebida (cianotoxinas), y en los alimentos a base de cereales (micotoxinas). En el caso de las micotoxinas y las ficotoxinas, el comercio internacional eleva aún más la complejidad de los sistemas de control.

Conclusión para el horizonte 2050

- El cambio climático supondrá un gran riesgo para la seguridad alimentaria.
- El aumento de la población y del comercio internacional aumentará la presión sobre los sistemas de control en seguridad alimentaria.

- El conocimiento cada vez mayor de los distintos compuestos, y las nuevas toxinas que se descubren cada año permitirán ampliar el arsenal de compuestos tóxicos, susceptibles de un uso ilegal o terrorista. En algunos casos, estos compuestos, extremadamente letales, son susceptibles de obtención a gran escala con recursos poco sofisticados. Los avances tecnológicos en los próximos años, tanto en los cultivos de algas como en la separación de compuestos, aumentarán este riesgo.

Bibliografía

1. VLAMIS, A.; KATIKOU, P. *Ecobiology and geographical distribution of potentially toxic marine dinoflagellates*. 3.rd ed. Boca Ratón: CRC Press 2014.
2. VASCONCELOS, V.; LEO, P.; CAMPOS, A. «Cyanobacterial toxins». In: BOTANA, L.M.; ALFONSO, A. (eds.). *Phycotoxins. Chemistry and Biochemistry*. 3.rd edition. Oxford: John Wiley and Sons 2015, pp. 225-238.
3. BOTANA, L.M. «A perspective on the toxicology of marine toxins». *Chem Res Toxicol*, 25. 2012, pp. 1800-1804.
4. BOTANA, L.M. «Guide to phycotoxin monitoring of bivalve mollusk-harvesting areas». In: BOTANA, L.M. (ed.). *Seafood and Freshwater toxins: Pharmacology, Physiology and Detection*. 3.rd edition. Boca Raton, FL: CRC Press (Taylor and Francys Group) 2014, pp. 39-56.
5. RODRÍGUEZ, P.; ALFONSO, A.; VALE, C.; ALFONSO, C.; VALE, P.; TELLEZ, A.; BOTANA, L.M. «First toxicity report of tetrodotoxin and 5,6,11-trideoxyTTX in the trumpet shell *Charonia lampas lampas* in Europe». *Anal Chem*, 80. 2008, pp. 5622-5629.
6. NICOLAOU, K.C.; FREDERICK, M.O.; AVERSA, R.J. «The continuing saga of the marine polyether biotoxins». *Angew Chem Int Ed Engl*, 47. 2008, pp. 7182-7225.
7. MUNDAY, R. «Toxicology of seafood toxins: a critical review». In: Botana, L.M. (ed.). *Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology and Detection*. 3.rd ed. Boca Ratón: CRC Press 2014, pp. 197-290.
8. KATIKOU, P.; VLAMIS, A. (eds.). *Palytoxin and analogs: ecobiology and origin, chemistry, and chemical analysis*. 3.rd ed. Boca Ratón: CRC Press 2014.
9. OTERO, P.; PÉREZ, S.; ALFONSO, A.; VALE, C.; RODRÍGUEZ, P.; GOUVEIA, N.N.; GOUVEIA, N.; DELGADO, J.; VALE, P.; HIRAMA, M.; ISHIHARA, Y.; MOLGO, J.; BOTANA, L.M. «First toxin profile of ciguatera fish in Madeira Archipelago (Europe)». *Anal Chem*, 82. 2010, pp. 6032-6039.
10. BOTANA, L.M. «Toxicological Perspective on Climate Change: Aquatic Toxins». *Chem Res Toxicol*, 29. 2016, pp. 619-625.
11. FRIEDMAN, M.A.; FERNÁNDEZ, 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.; FLORES QUINTANA, H.A.; LOEFFLER, C.R.; WEISMAN, R.; BLYTHE, D.; BERDALET, E.; AYYAR, R.; CLARKSON-TOWNSEND, D.; SWAJIAN, K.; BENNER, R.; BREWER, T.; FLEMING, L.E. «An Updated Review of Ciguatera Fish Poisoning clinical, Epidemiological, Environmental, and Public Health Management». *Mar Drugs*, 15. 2017.
12. TICHADOU, L.; GLAIZAL, M.; ARMENGAUD, A.; GROSSEL, H.; LEMEE, R.; KANTIN, R.;

LASALLE, J.L.; DROUET, G.; RAMBAUD, L.; MALFAIT, P.; DE HARO, L. «Health impact of unicellular algae of the *Ostreopsis* genus blooms in the Mediterranean Sea: experience of the French Mediterranean coast surveillance network from 2006 to 2009». *Clin Toxicol (Phila)*, 48. 2010, pp. 839-844.

13. HONSELL, G.; DE BORTOLI, M.; BOSCOLO, S.; DELL'AVERSANO, C.; BATTOCCHI, C.; FONTANIVE, G.; PENNA, A.; BERTI, F.; SOSA, S.; YASUMOTO, T.; CIMINIELLO, P.; POLI, M.; TUBARO, A. «Harmful dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata* Fukuyo: detection of ovatoxins in field samples and cell immunolocalization using antipalytoxin antibodies». *Environ Sci Technol*, 45. 2011, pp. 7051-7059.

14. PFANNKUCHEN, M.; GODRIJAN, J.; MARIC PFANNKUCHEN, D.; IVESA, L.; KRUZIC, P.; CIMINIELLO, P.; DELL'AVERSANO, C.; DELLO IACOVO, E.; FATTORUSSO, E.; FORINO, M.; TARTAGLIONE, L.; GODRIJAN, M. «Toxin-Producing *Ostreopsis cf. ovata* are Likely to Bloom Undetected along Coastal Areas». *Environ Sci Technol*, 46. 2012, pp. 5574-5582.

15. KOHLI, G.S.; FARRELL, H.; MURRAY, S.A. «Gambierdiscus, the cause of ciguatera fish poisoning: an increased human health threat influenced by climate change». In: BOTANA, L.M.; LOUZAO, M.C.; VILARIÑO, N. (eds.). *Climate change and marine and freshwater toxins*. Berlin: De Gruyter 2015, pp. 273-312.

16. VLAMIS, A.; KATIKOU, P. «Human impact in Mediterranean coastal ecosystems and climate change: emerging toxins». In: BOTANA, L.M.; LOUZAO, M.C.; VILARIÑO, N. (eds.). *Climate change and marine and freshwater toxins*. Berlin: De Gruyter 2015, pp. 239-271.

17. MAGARLAMOV, T.Y.; MELNIKOVA, D.I.; CHERNYSHEV, A.V. «Tetrodotoxin-Producing Bacteria: Detection, Distribution and Migration of the Toxin in Aquatic Systems». *Toxins (Basel)*, 9. 2017.

18. VLAMIS, A.; KATIKOU, P.; RODRÍGUEZ, I.; REY, V.; ALFONSO, A.; PAPAZACHARIOU, A.; ZACHARAKI, T.; BOTANA, A.M.; BOTANA, L.M. «First Detection of Tetrodotoxin in Greek Shellfish by UPLC-MS/MS Potentially Linked to the Presence of the Dinoflagellate *Prorocentrum minimum*». *Toxins (Basel)*, 7. 2015, pp. 1779-1807.

19. TURNER, A.D.; HIGGINS, C.; HIGMAN, W.; HUNGERFORD, J. «Potential Threats Posed by Tetrodotoxins in UK Waters: Examination of Detection Methodology Used in Their Control». *Mar Drugs*, 13. 2015, pp. 7357-7376.

20. TURNER, A.D.; POWELL, A.; SCHOFIELD, A.; LEES, D.N.; BAKER-AUSTIN, C. «Detection of the pufferfish toxin tetrodotoxin in European bivalves, England, 2013 to 2014». *Euro Surveill*, 20. 2015.

21. DEEDS, J.R.; WILES, K.; HEIDEMAN, G.B.T.; WHITE, K.D.; ABRAHAM, A. «First U.S. report of shellfish harvesting closures due to confirmed okadaic acid in Texas Gulf coast oysters». *Toxicon*, 55. 2010, pp. 1138-1146.

22. MURRAY, S.; JOHN, U.; KREMP, A. «*Alexandrium* spp.: genetic and ecological factors influencing saxitoxin production and proliferation». In: BOTANA, L.M.; LOUZAO, M.C.; VILARIÑO, N. (eds.). *Climate change and marine and freshwater toxins*. Berlin: De Gruyter 2015, pp. 125-154.

23. MOLGO, J.; MARCHOT, P.; ARAOZ, R.; BENOIT, E.; IORGA, B.I.; ZAKARIAN, A.; TAYLOR, P.; BOURNE, Y.; SERVENT, D. «Cyclic imine toxins from dinoflagellates: a growing family of potent antagonists of the nicotinic acetylcholine receptors». *J Neurochem*, 142 Suppl 2. 2017, pp. 41-51.

24. SILVA, M.; PRATHEEPA, V.K.; BOTANA, L.M.; VASCONCELOS, V. «Emergent toxins in North Atlantic temperate waters: a challenge for monitoring programs and legislation». *Toxins (Basel)*, 7. 2015, pp. 859-885.

25. KHARRAT, R.; SERVENT, D.; GIRARD, E.; OUANOUNOU, G.; AMAR, M.; MARROUCHI, R.; BENOIT, E.; MOLGO, J. «The marine phycotoxin gymnodimine targets muscular and neuronal nicotinic

acetylcholine receptor subtypes with high affinity». *J Neurochem*, 107. 2008, pp. 952-963.

26. BOURNE, Y.; SULZENBACHER, G.; RADIC, Z.; ARAOZ, R.; REYNAUD, M.; BENOIT, E.; ZAKARIAN, A.; SERVENT, D., MOLGO, J.; TAYLOR, P.; MARCHOT, P. «Marine Macrocyclic Imines, Pinnatoxins A and G: Structural Determinants and Functional Properties to Distinguish Neuronal $\alpha 7$ from Muscle $\alpha 1(2)\beta$ tagammadelta nAChRs». *Structure*, 23. 2015, pp. 1106-1115.

27. PITA, R.; ROMERO, A. «Toxins as Weapons: A Historical Review». *Forensic Sci Rev*, 26. 2014, pp. 85-96.

28. WESOLOWSKI, A.; PLUSA, T. «[Saxitoxins and tetrodotokxins as a new biological weapon]». *Pol Merkur Lekarski*, 39. 2015, pp. 173-175.

29. EU. (2011). Commission regulation (EU) No 15/2011 of 10 January 2011 amending Regulation (EC) No 2074/2005 as regards recognised testing methods for detecting marine biotoxins in live bivalve molluscs. Official Journal of the European Communities, L6, 3-4.

*Profesora Natalia Vilariño del Río
Grupo de investigación FARMATOX.
Departamento de farmacología, farmacia y tecnología farmacéutica
Universidad de Santiago de Compostela*

Introducción

Las toxinas marinas son compuestos que se pueden encontrar en alimentos procedentes del mar y que constituyen un riesgo para la salud humana. La mayoría de estas toxinas se originan en microalgas, principalmente dinoflagelados, que son los organismos productores, y se acumulan, siguiendo las redes tróficas, en animales marinos que forman parte de nuestra dieta. Los alimentos más frecuentemente afectados son los moluscos y los pescados; aunque también se ha detectado la presencia de estas sustancias en otros organismos marinos como crustáceos y equinodermos.

En la actualidad las toxinas marinas se clasifican en distintos grupos en función de su estructura química. Cada grupo cuenta con multitud de análogos y se utiliza como referencia una molécula representativa. Para todos los análogos del grupo el mecanismo de toxicidad y la sintomatología es similar, aunque difieren en potencia tóxica. Entre las toxinas marinas que suponen un mayor riesgo para la salud se encuentran aquellas que pueden provocar sintomatología neurológica como las toxinas paralizantes o saxitoxinas, las cuales causan el síndrome tóxico conocido como PSP (paralytic shellfish poisoning); las tetrodotoxinas, conocidas por la intoxicación debida a la peligrosa práctica de consumir pez globo en Japón; las toxinas amnésicas o análogos del ácido domoico, implicadas en el síndrome ASP (amnesic shellfish poisoning); las brevetoxinas que provocan el síndrome NSP (neurotoxic shellfish poisoning); las ciguatoxinas, responsables de la intoxicación conocida como ciguatera; y las palitoxinas junto con sus análogos ovatoxinas y ostreocinas (EFSA, 2009b, 2009c, 2009d, 2010b, 2010c, 2017). La intensidad de los síntomas depende de los análogos implicados, de su cantidad y de la sensibilidad del individuo, llegándose a producir intoxicaciones mortales en algunos casos. También entrañan un importante riesgo para la salud las toxinas que causan una sintomatología gastrointestinal predominante como las toxinas diarreicas o análogos del ácido okadaico y los azaspirácidos, causantes de los síndromes DSP (diarrhetic shellfish

poisoning) y AZP (azaspiracid shellfish poisoning) respectivamente (EFSA, 2008a, 2008c). Finalmente, para otros grupos de compuestos que con frecuencia aparecen en los alimentos y tienen una alta toxicidad por vías de administración parenterales, su toxicidad por vía oral no está completamente dilucidada o es objeto de controversia, como es el caso de las pectenotoxinas, yessotoxinas e iminas cíclicas (EFSA, 2008b, 2009a, 2010a; FDA, 2011).

De los grupos mencionados anteriormente, las ciguatoxinas, las tetrodotoxinas y las palitoxinas aparecen en pescado, aunque se han detectado también con menor frecuencia en otros animales marinos. El resto llegan al hombre mayoritariamente a través de moluscos bivalvos, que pueden concentrar grandes cantidades de toxinas por su capacidad para filtrar elevados volúmenes de agua al alimentarse. Dado que los moluscos filtradores son animales sésiles o con movilidad muy reducida, todos los individuos que viven en una determinada zona costera se han alimentado de la misma población de microalgas y, por lo tanto, han estado expuestos a las mismas toxinas. Por este motivo, una muestra relativamente pequeña de un lote de moluscos resulta representativa para analizar la presencia de toxinas en todo el lote. Por el contrario, en el caso del pescado una muestra no es representativa de la presencia de toxina en el lote, ya que, debido a su movilidad, cada pez se habrá alimentado en zonas distintas a sus congéneres.

En la actualidad la presencia de toxinas paralizantes, diarreicas, amnésicas, azaspirácidos, pectenotoxinas y yesotoxinas en moluscos bivalvos está regulada por la legislación en la Unión Europea y en otros países (EC, 2004a; Vilarino, Louzao, Fraga, & Botana, 2015), de modo que no se pueden destinar al consumo humano los alimentos que contengan toxinas por encima de los límites establecidos para cada grupo. La regulación se hace extensiva por analogía a gasterópodos, equinodermos y tunicados (EC, 2004a). En el caso de las ciguatoxinas y tetrodotoxinas, la legislación actual indica que «No se pondrán en el mercado los productos de la pesca que contengan biotoxinas tales como la ciguatoxina o toxinas de acción paralizante muscular» (EC, 2004a).

Con el fin de proteger al consumidor se realiza de forma rutinaria una monitorización de la concentración de microalgas productoras de toxinas en varios puntos de la costa

y análisis de los lotes de moluscos bivalvos destinados a consumo humano (EC, 2004b).

A pesar de las medidas de protección tanto a nivel europeo como mundial, se estima que el número de intoxicaciones alimentarias debido a las biotoxinas marinas se encuentra entre los 10.000-500.000 casos anuales en todo el mundo, de los cuales la mayoría se debe a las ciguatoxinas (Friedman *et al.*, 2017). Con el fin de mejorar la seguridad alimentaria en relación a las biotoxinas marinas, será necesario profundizar en nuestros conocimientos sobre estos compuestos y mejorar las herramientas para su detección.

Monitorización y predicción de presencia de toxinas

La monitorización de la presencia de toxinas y sus organismos productores se enfrenta a un problema que se ha puesto de manifiesto a nivel mundial en los últimos años: la aparición de nuevas toxinas en zonas en las que no habían sido descritas con anterioridad (Ciminiello *et al.*, 2008; Deeds, Wiles, Heideman, White, & Abraham, 2010; Garcia-Mendoza *et al.*, 2014; Lopez-Rivera *et al.*, 2010; Magdalena *et al.*, 2003; Mattei *et al.*, 2014; Otero *et al.*, 2010; Perez-Arellano *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2008; Trainer *et al.*, 2013; Turner, Powell, Schofield, Lees, & Baker-Austin, 2015). Los programas de control de cada zona están diseñados para prever y detectar la aparición de toxinas típicas de esa zona. Estos programas combinan la monitorización de fitoplancton en el agua y toxinas en los alimentos para garantizar la protección del consumidor con un coste asumible (Silke, 2014). El aumento de la cantidad de toxinas en moluscos bivalvos está precedido habitualmente por un aumento de la concentración de dinoflagelados productores, y por lo tanto los recuentos de microalgas en agua de mar permiten prever un posible aumento de toxina en estos alimentos. De las 2.000 especies de fitoplancton descritas, solamente unas 200 se han identificado como productoras de toxinas. Normalmente en los laboratorios de control se monitorizan unas pocas especies que se han descrito en esa zona costera. Por este motivo, la aparición de otros organismos productores de toxinas puede pasar desapercibida. Los métodos de monitorización rutinaria de fitoplancton deberán adaptarse a esta situación cambiante, probablemente relacionada con el cambio climático, para abarcar un mayor número de especies de forma eficiente y económica.

La modelización con programas de simulación predictivos de floraciones de microalgas o de escenarios de cambio climático podría ser de ayuda para anticipar la posible aparición de episodios tóxicos en una zona determinada, tanto si se deben a toxinas que aparecen de forma periódica como a otras que no se han descrito previamente en esa región. Este avance solamente será posible con el conocimiento de la biología de las microalgas y de los factores determinantes de la producción de toxinas por las mismas. Aunque se han realizado muchos estudios en este campo, todavía es necesario profundizar en el conocimiento de los parámetros determinantes de la aparición de toxinas para llegar a contar con herramientas predictivas fiables.

Esta anticipación al aumento de niveles de toxina en moluscos bivalvos basada en los recuentos de fitoplancton productor permite reducir el número de muestras de carne de molusco que se analizan para la presencia de toxinas en los laboratorios de detección, intensificando la frecuencia de muestreo cuando los recuentos de microalgas superan un determinado nivel (EC, 2004b). Sin embargo, para algunos grupos de toxinas la concentración de fitoplancton no tiene valor predictivo. Este es el caso para la presencia de ciguatoxinas en peces, ya que debido a su movilidad pueden alimentarse en una zona donde haya una floración de *Gambierdiscus* y pescarse posteriormente en otra región distante. Otro caso similar es la presencia de tetrodotoxina en moluscos ya que esta toxina es de origen bacteriano, no fitoplanctónico (EFSA, 2017). Estas situaciones obligan a que si se quiere garantizar una seguridad alimentaria adecuada el número de muestras a analizar para la presencia de toxinas sea extremadamente alto.

Aunque las ciguatoxinas y tetrodotoxinas se asociaban con aguas tropicales, en los últimos años se han descrito intoxicaciones debidas a presencia de ciguatoxinas en pescados capturados en las Islas Canarias y Madeira (Boada *et al.*, 2010; Otero *et al.*, 2010; Perez-Arellano *et al.*, 2005) y las tetrodotoxinas se han detectado en gasterópodos y moluscos bivalvos en las costas de Portugal y Reino Unido (Rodríguez *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2012; Turner *et al.*, 2015). Estos acontecimientos ponen de manifiesto la amenaza creciente que estos dos grupos de toxinas entrañan para la población europea. De hecho, el calentamiento global se ha relacionado con cambios en la distribución de toxinas a nivel mundial (Vilarino *et al.*, 2015). El riesgo de exposición también se incrementa por la internacionalización del comercio, con

intoxicaciones en Europa debidas a la importación de pescado de zonas tropicales (Mattei *et al.*, 2014). Teniendo en cuenta estos cambios, la protección del consumidor obligará a aumentar sustancialmente la capacidad de análisis de los laboratorios oficiales de control de toxinas en alimentos, tanto en número de muestras como en grupos de toxinas analizados de forma rutinaria.

Métodos de detección de toxinas marinas

En Europa, los métodos de detección de toxinas marinas en moluscos bivalvos están establecidos en los Reglamentos (UE) 2074/2005, 1244/2007 y 15/2011 (EC, 2005, 2007; EU, 2011). En estas regulaciones se recogen varios métodos oficiales para la detección de toxinas dependiendo del grupo y se indica cuál de ellos se usará como método de referencia. El método oficial de referencia para la detección de okadaico y sus análogos las dinofisistoxinas, azaspirácidos, pectenotoxinas y yesotoxinas es la espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida (LC-MS/MS). Este método analítico permite la identificación inequívoca de la toxina y su cuantificación, siempre y cuando se utilicen estándares certificados de las toxinas presentes. La tendencia actual parece orientada a instaurar las técnicas analíticas como métodos de referencia oficiales para todas las toxinas, lo que permitiría evitar el análisis biológico en animales de experimentación, que todavía es el método oficial de referencia para las toxinas paralizantes (EC, 2005). Sin embargo, para una protección efectiva con técnicas analíticas es necesario contar con estándares certificados para cada uno de los análogos de cada grupo. En la actualidad los estándares certificados existentes representan una pequeña fracción de las moléculas de toxinas marinas identificadas, y cada año se describen análogos nuevos.

Los laboratorios oficiales de control de toxinas marinas tendrán una mayor carga de trabajo al incrementarse el número de muestras a procesar por día, debido al aumento del número de toxinas a analizar (nuevas toxinas, nuevos análogos), al aumento de la producción de alimentos para abastecer a una creciente población mundial y a la mayor exigencia del consumidor en términos de seguridad alimentaria. Esto obligará a introducir métodos de alto rendimiento y/o métodos rápidos de criba para poder satisfacer la demanda de resultados. La capacidad analítica de los centros de control ya está saturada en la actualidad. Las técnicas existentes actualmente deberán

adaptarse para proporcionar mayores rendimientos. Además, para aquellas toxinas para las que el recuento de microalgas no es predictivo, será necesario desarrollar métodos de criba rápidos y robustos, que permitan la miniaturización y automatización que requieren las técnicas de alto rendimiento, con el fin de reducir la cantidad de muestras a procesar por métodos analíticos, más complejos y costosos.

Otra limitación de la espectrometría de masas y técnicas analíticas similares, cuando se utilizan para detección rutinaria, es que solamente detectan la presencia de las moléculas concretas establecidas como objetivo, pero la aparición de nuevas toxinas de otros grupos o incluso de otros análogos del mismo grupo pasaría desapercibida. Otro reto importante es aumentar el espectro de detección sin reducir la sensibilidad, bien mejorando las técnicas analíticas cuando sea posible o combinándolas con técnicas de criba basadas en mecanismos de acción.

El desarrollo de nuevos métodos será crítico sobre todo para el caso de las ciguatoxinas. La inexistencia de métodos adecuados limita actualmente la protección del consumidor incluso en aquellos lugares en que la ciguatera es un problema relativamente frecuente (Friedman *et al.*, 2017). Dado que el pescado es un producto perecedero, se necesitan métodos de criba rápida y barata, preferiblemente que se puedan utilizar in situ por inspectores o personal responsable en el intervalo que transcurre desde la captura a la comercialización.

Toxicidad de las biotoxinas marinas

Los datos toxicológicos sobre estos compuestos se refieren mayoritariamente a toxicidades agudas. En general se conoce la toxicidad de la molécula representativa del grupo y la de algunos análogos por vía parenteral. Los datos de toxicidad aguda por vía oral son más escasos y con frecuencia inexistentes para muchos análogos dentro de cada grupo. Dado que los métodos de detección de referencia para la mayoría de los grupos son técnicas analíticas, las cuales se basan en la identificación de la molécula y su cuantificación, para evaluar la toxicidad de una muestra es crítico conocer la toxicidad por vía oral de todos y cada uno de los análogos presentes. Normalmente se utilizan las toxicidades relativas con respecto al representante del grupo o TEFs (toxicity equivalency factor) para proporcionar un valor total de toxicidad de cada muestra. Como mencionamos, los datos de toxicidad oral no están

disponibles para muchos compuestos y deberían obtenerse utilizando estándares certificados.

Actualmente los niveles de toxinas en alimentos están regulados en función de su toxicidad aguda, pero se desconoce en gran medida la toxicidad crónica de estas sustancias en humanos. La presencia casi continuada en alimentos de pequeñas cantidades de algunas toxinas, lo que origina una exposición humana frecuente, y los datos de toxicidad subaguda en animales de algunas de estas sustancias hacen recomendable ampliar nuestros conocimientos sobre toxicidad crónica de las toxinas marinas (Ferreiro *et al.*, 2016; Molgo *et al.*, 2017). Es importante destacar que apenas existen estudios de toxicidad crónica por vía oral, en gran parte debido a la escasez de compuestos puros para realizar este tipo de experimentos. Los resultados de toxicidad crónica permitirán evaluar si existe un riesgo significativo para la salud a niveles de exposición inferiores a los actualmente regulados.

Finalmente, aunque la protección del consumidor es prioritaria, no se debe olvidar el sector productor acuícola. No es ni social ni económicamente beneficioso imponer restricciones innecesarias a la producción de pescados y mariscos. En aquellos grupos en los que la toxicidad oral es controvertida, se requiere el aporte de datos experimentales agudos y crónicos que sustenten la futura toma de decisiones legislativas.

Conclusión para el horizonte 2050

La seguridad alimentaria ha adquirido gran relevancia en nuestra sociedad. Con el fin de minimizar el riesgo para la salud proveniente de la presencia de toxinas marinas será necesario:

1. Incrementar la capacidad de los laboratorios analíticos y mejorar los sistemas de control con técnicas de alto rendimiento o detección in situ, para afrontar el aumento del número de muestras y la aparición de nuevas toxinas.
2. Desarrollar modelos predictivos de episodios tóxicos fiables, que permitan anticiparse a estos fenómenos naturales.
3. Profundizar en nuestro conocimiento de la toxicidad aguda y crónica de las biotoxinas marinas, especialmente por vía oral.
4. Disponer de estándares certificados de estas moléculas, crítico tanto para

garantizar la adecuada identificación y cuantificación como para conocer la toxicidad de estos compuestos con respecto a la toxina representativa del grupo. Ambos aspectos son indispensables para estimar adecuadamente de la toxicidad total de una muestra mediante métodos oficiales de referencia.

Bibliografía

BOADA, L. D.; ZUMBADO, M.; LUZARDO, O. P.; ALMEIDA-GONZÁLEZ, M.; PLAKAS, S. M.; GRANADE, H. R.; DICKEY, R. W. «Ciguatera fish poisoning on the West Africa Coast: An emerging risk in the Canary Islands (Spain)». *Toxicon*, 56(8). 2010, pp. 1516-1519. doi:10.1016/j.toxicon.2010.07.021.

CIMINIELLO, P.; DELL'AVERSANO, C.; FATTORUSSO, E.; FORINO, M.; TARTAGLIONE, L.; GRILLO, C. & MELCHIORRE, N. «Putative palytoxin and its new analogue, ovatoxin-a, in *Ostreopsis ovata* collected along the Ligurian coasts during the 2006 toxic outbreak». *J Am Soc Mass Spectrom*, 19(1). 2008, pp. 111-120. doi:10.1016/j.jasms.2007.11.001.

DEEDS, J. R.; WILES, K.; HEIDEMAN, G. B. t.; WHITE, K. D. & ABRAHAM, A. «First U.S. report of shellfish harvesting closures due to confirmed okadaic acid in Texas Gulf coast oysters». *Toxicon*, 55(6). 2010, pp. 1138-1146. doi:10.1016/j.toxicon.2010.01.003.

Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of April 29, 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin, L139 (2004a).

Regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council of April 29, 2004 laying down specific rules for the organization of official controls on products of animal origin intended for human consumption, L155 (2004b).

Comission Regulation (EC) No 2074/2005 of December 5, 2005 laying down implementing measures for certain products under Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council and for the organisation of official controls under Regulation (EC) No 854/2204 of the European Parliament and of the Council and Regulation (EC) No 882/2204 of the European Parliament and of the Council, derogating from Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council and amending Regulations (EC) No 853/2004 and (EC) No 854/2004, L338, 27 (2005).

Commission Regulation (EC) No 1244/2007 of 24 October 2007 amending Regulation (EC) No 2074/2005 as regards implementing measures for certain products of animal origin intended for human consumption and laying down specific rules on official controls for the inspection of meat, L281 (2007).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Marine biotoxins in shellfish-Azaspiracid group:scientific opinion of the Panel of Contaminants in the Food chain. EFSA Journal, 723 (2008a).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Comission on marine biotoxins in shellfish-yessotoxin group. EFSA Journal, 907 (2008b).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Comission on marine biotoxins in shellfish- okadaic acid and analogues. EFSA Journal, 589 (2008c).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Marine biotoxins in shellfish – Pectenotoxin group. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain (Question NoEFSA-Q-2006-065C). EFSA Journal, 1109 (2009a).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Marine biotoxins in shellfish: domoic acid. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Question No EFSA-Q-2006-065H). *EFSA Journal*, 1181 (2009b).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Marine biotoxins in shellfish: palytoxin group. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (On request from the European Commission, Question No EFSA-Q-2006-065G, adopted on 26 November 2009). *EFSA Journal*, 7 § 1393 (2009c).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Marine biotoxins in shellfish: Saxitoxin group. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Question No EFSA-Q-2006-065E). *EFSA Journal*, 1019 (2009d).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – Cyclic imines (spirolides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriattoxins). *EFSA Journal*, 1628 (2010a).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – Emerging toxins: Brevetoxin group. *EFSA Journal*, 1677 (2010b).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – Emerging toxins: Ciguatoxin group. *EFSA Journal*, 1627 (2010c).

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of tetrodotoxin (TTX) and TTX analogues in marine bivalves and gastropods. *EFSA Journal*, 15 (2017).

Commission Regulation (EU) No 15/2011 of 10 January 2011 amending Regulation (EC) No 2074/2005 as regards recognised testing methods for detecting marine biotoxins in live bivalve molluscs (2011).

Fish and Fishery Products. Hazards and Controls Guidance. Fourth Edition - April 2011. Department of Health and Human Services. U. S. Food and Drug Administration, (2011).

FERREIRO, S. F.; VILARINO, N.; CARRERA, C.; LOUZAO, M. C.; CANTALAPIEDRA, A. G.; SANTAMARINA, G.; . . . BOTANA, L. M. «Subacute Cardiovascular Toxicity of the Marine Phycotoxin Azaspiracid-1 in Rats». *Toxicol Sci*, 151(1). 2016, pp. 104-114. doi:10.1093/toxsci/kfw025.

FRIEDMAN, M. A.; FERNANDEZ, M.; BACKER, L. C.; DICKEY, R. W.; BERNSTEIN, J.; SCHRANK, K.; FLEMING, L. E. «An Updated Review of Ciguatera Fish Poisoning clinical, Epidemiological, Environmental, and Public Health Management». *Mar Drugs*, 15(3). 2017. doi:10.3390/md15030072.

GARCÍA-MENDOZA, E.; SANCHEZ-BRAVO, Y. A.; TURNER, A.; BLANCO, J.; O'NEIL, A.; MANCERA-FLORES, J.; PENA-MANJARREZ, J. L. «Lipophilic toxins in cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Baja California, Mexico». *Toxicon*, 90. 2014, pp. 111-123. doi:10.1016/j.toxicon.2014.07.017.

LÓPEZ-RIVERA, A.; O'CALLAGHAN, K.; MORIARTY, M.; O'DRISCOLL, D.; HAMILTON, B.; LEHANE, M.; FUREY, A. «First evidence of azaspiracids (AZAs): A family of lipophilic polyether marine toxins in scallops (*Argopecten purpuratus*) and mussels (*Mytilus chilensis*) collected in two regions of Chile». *Toxicon*, 55(4). 2010, pp. 692-701. doi:10.1016/j.toxicon.2009.10.020.

MAGDALENA, A. B.; LEHANE, M.; KRYS, S.; FERNANDEZ, M. L.; FUREY, A. & JAMES, K. J. «The first identification of azaspiracids in shellfish from France and Spain». *Toxicon*, 42. 2003, pp. 105–108.

MATTEI, C.; VETTER, I.; EISENBLATTER, A.; KROCK, B.; EBBECKE, M.; DESEL, H. & ZIMMERMANN, K. «Ciguatera fish poisoning: a first epidemic in Germany highlights an increasing risk for European countries». *Toxicon*, 91. 2014, pp. 76-83. doi:10.1016/j.toxicon.2014.10.016.

MOLGO, J.; MARCHOT, P.; ARAOZ, R.; BENOIT, E.; IORGA, B. I.; ZAKARIAN, A.; SERVENT, D. «Cyclic imine toxins from dinoflagellates: a growing family of potent antagonists of the nicotinic acetylcholine receptors». *J Neurochem*, 142 Suppl 2. 2017, pp. 41-51. doi:10.1111/jnc.13995.

OTERO, P.; PÉREZ, S.; ALFONSO, A.; VALE, C.; RODRÍGUEZ, P.; GOUVEIA, N. N.; BOTANA, L. M. «First toxin profile of ciguateric fish in Madeira Arquipelago (Europe)». *Anal Chem*, 82(14). 2010, pp. 6032-6039. doi:10.1021/ac100516q.

PÉREZ-ARELLANO, J. L.; LUZARDO, O. P.; PÉREZ BRITO, A.; HERNÁNDEZ CABRERA, M.; ZUMBADO, M.; CARRANZA, C.; BOADA, L. D. «Ciguatera fish poisoning, Canary Islands». *Emerg Infect Dis*, 11(12). 2005, pp. 1981-1982. doi:10.3201/eid1112.050393.

RODRÍGUEZ, P.; ALFONSO, A.; VALE, C.; ALFONSO, C.; VALE, P.; TELLEZ, A. & BOTANA, L. M. «First toxicity report of tetrodotoxin and 5,6,11-trideoxyTTX in the trumpet shell *Charonia lampas lampas* in Europe». *Anal Chem*, 80(14). 2008, pp. 5622-5629. doi:10.1021/ac800769e.

SILKE, J. «Designing a preharvest monitoring and management plan for marine shellfish toxins». In L. M. BOTANA (ed.). *Seafood and freshwater toxins. Pharmacology, physiology and detection*. 3.rd Edition. 2014, pp. 313-322.

SILVA, M.; AZEVEDO, J.; RODRÍGUEZ, P.; ALFONSO, A.; BOTANA, L. M. & VASCONCELOS, V. «New gastropod vectors and tetrodotoxin potential expansion in temperate waters of the Atlantic Ocean». *Mar Drugs*, 10(4). 2012, pp. 712-726. doi:10.3390/md10040712.

TRAINER, V. L.; MOORE, L.; BILL, B. D.; ADAMS, N. G.; HARRINGTON, N.; BORCHERT, J.; EBERHART, B. T. «Diarrhetic shellfish toxins and other lipophilic toxins of human health concern in Washington State». *Mar Drugs*, 11(6). 2013, pp. 1815-1835. doi:10.3390/md11061815.

TURNER, A.; POWELL, A.; SCHOFIELD, A.; LEES, D. & BAKER-AUSTIN, C. «Detection of the pufferfish toxin tetrodotoxin in European bivalves, England, 2013 to 2014». *Euro Surveill*, 20(2). 2015.

VILARINO, N.; LOUZAO, M. C.; FRAGA, M. & BOTANA, L. M. «From science to policy: dynamic adaptation of legal regulations on aquatic biotoxins». In L. M. BOTANA; M. C. LOUZAO & N. VILARINO (eds.). *Climate change and marine and freshwater toxins*. Berlin: De Gruyter 2015, pp. 441-482.