CARRERA DE ESPECIALISTA EN SALUD PÚBLICA VETERINARIA,
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Tesina: "FICOTOXINAS MARINAS EN EL *Octopus tehuelchus*: ESTUDIO DE UNA SITUACIÓN DE RIESGO PARA LA SALUD"

Tesista: RUESTA GUILLERMO

29 de Julio de 2011

Tesista: RUESTA GUILLERMO

Tesina: "FICOTOXINAS MARINAS EN EL *Octopus tehuelchus*: ESTUDIO DE UNA SITUACIÓN DE RIESGO PARA LA SALUD"

CARRERA DE ESPECIALISTA EN SALUD PÚBLICA VETERINARIA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

DIRECTOR: ROBERTO OTROSKY

DOMICILIO: Calle 32 bis Nº 1275; (6360) General Pico (La Pampa);

LUGAR DE TRABAJO: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Pampa.

CO-DIRECTOR: MARIELA ALEJANDRA GARCÍA CACHAU

DOMICILIO**:** Calle 20 N ° 752; General Pico (La Pampa);

LUGAR DE TRABAJO: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Pampa.

OCTUBRE 2008-MARZO 2009

AGRADECIMIENTOS

A Edmundo Larrieu y Carlos Chiosso por su aval del estudio y por permitirme el uso del laboratorio.

A Silvina Albarracín por su aporte desinteresado a pesar del viento y la marea.

A Mariela mi co-directora de tesina por su acompañamiento criterioso.

INDICE

Resumen……5
Capítulo I: INTRODUCCIÓN……..6
- Definición de Floraciones Algales Nocivas y de otra clase de episodios del micro-fitoplancton……6
- Condiciones que favorecen la proliferación/dispersión……..9
-Organismos fuente de ficotoxinas del grupo VPM. ……12
- Especies presentes en la Argentina. ……12
- Floraciones algales nocivas productoras de VPM y fenómenos de toxicidad en las costas del mar argentino……..13
- Ficotoxinas marinas de importancia en SPV……15
-Veneno paralizante de los moluscos (VPM)……17
- Toxinas del VPM……17
- Mecanismo de acción……19
- Toxicidad en seres humanos……..20
- Cuadro clínico……20
- Diagnóstico……22
- Tratamiento. ……22
-Detección de saxitoxinas o análogos en moluscos no bivalvos; octópidos. ……..22
-Características de la explotación del *Octopus tehuelchus* (Pulpito patagónico) en la Patagonia Argentina……..24

Capítulo II – MATERIALES Y MÉTODOS.....28

Capítulo III- RESULTADOS..... ……..32

Capítulo IV- DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....34

Capítulo V- BIBLIOGRAFÍA.....39

RESUMEN

El envenenamiento paralizante por consumo de moluscos es un síndrome neurotóxico asociado a la presencia de saxitoxina (STX) y sus más de 26 análogos en los mariscos marinos. La incidencia mundial de episodios tóxicos muestra, actualmente, una tendencia creciente. Reportes de brotes en humanos demuestran que no sólo las especies bivalvas pueden afectar al hombre. La lista de especies de moluscos marinos en los que se detectan niveles de STX o análogos es cada vez más amplia, con una gran proporción de especies no bivalvas, dentro de las que se incluyen cefalópodos del genero *Octopus*(pulpos). En la Argentina, se consume el *Octopus tehuelchus* (OT) y es recolectado en regiones donde hay registros de la existencia de SXT. Para evaluar si la presencia de Saxitoxinas en OT tiene implicancias en la Salud Pública, se realizó un estudio del tipo observacional descriptivo en Playas Doradas, Rio Negro, Patagonia Argentina, entre octubre de 2008 y Marzo de 2009. El estudio apuntó a buscar la presencia de toxinas del grupo de las Saxitoxinas en esta especie y a evaluar los niveles de toxicidad en caso de resultados positivos. Finalmente, los resultados confirmaron que los OT incorporan SXT vía alimentaria, tras predar entre otros a moluscos bivalvos bentónicos como *Mytilus edulis platensis.* La detección Saxitoxinas en partes no comestibles de ejemplares de OT con concentraciones de las mismas similares a las halladas en especies bivalvas del mismo nicho ecológico, hace presuponer una correlación positiva de los niveles de toxicidad y deja expuesta una situación de riesgo en el área de Salud Publica producido por la explotación de un recurso marino silvestre, del cual la extracción, procesado y comercialización no están reguladas.

"Marea roja" es la denominación popular con la que se nombra a discoloraciones del agua, visibles a simple vista, debido a elevadas concentraciones (del orden de un millón a mil millones de células por litro) de microorganismos planctónicos pigmentados (microalgas, ciliados, bacterias).

El término Floraciones Algales Nocivas (FANs) no es un término científico, sino un concepto operativo que es hoy día ampliamente aceptado por la comunidad de científicos y por los gestores sanitarios y medioambientales. Designa a las proliferaciones de un heterogéneo grupo de microorganismos percibidas como dañinas, por el hombre, por sus efectos adversos en la salud humana, en las explotaciones de acuicultura y turísticas y en las poblaciones naturales de organismos marinos. Si bien el término se inspiró en las manchas de dinoflageladas planctónicas, actualmente se aplica a cualquier población microalgal, ya sea planctónica o bentónica. Incluso aunque las concentraciones celulares no sean muy elevadas pero siempre y cuando su aparición conlleve un efecto nocivo (Reguera, B., 2003).

Definición de Floraciones Algales Nocivas y de otras clases de episodios del microfitoplancton.

Las FANs, son fenómenos biológicos que ocurren de manera natural como resultado de la combinación de mecanismos físicos, químicos y biológicos. (Herrera Sepúlveda A. et al, 2008) Este tipo de eventos, en determinadas situaciones, producen cambios de la coloración aparente de la masa de agua. La coloración y la intensidad que alcanzan las FANs, depende de la especie que prolifere y las concentraciones que esta alcance. El color depende del pigmento presente en la especie proliferante. Puede ser rojo, verde, ocre naranja o amarillo. Para que se produzca un cambio en la coloración debe haber una acumulación masiva, del orden de 1000000 o más de células por litro (Herrera-Sepúlveda, A. et al, 2008).

Entonces usar el término "marea roja" para referirse a las proliferaciones algales nocivas puede conducir a errores ya que hay especies que son tóxicas, a muy bajas concentraciones, y no producen un cambio de la coloración del agua de mar. En cambio otras proliferaciones sí pueden producir una fuerte coloración y ser inocuas. En general,

estas manchas si se dan en zonas con una buena tasa de renovación de agua, son inofensivas en la mayor parte de los casos (Herrera-Sepúlveda, A. et al, 2008).

Por cuestiones prácticas, de aceptación mundial y de costumbres, no dejaré de usar el término **"marea roja**" pero solo me limitaré a emplearlo en los casos de proliferaciones con cambios de la coloración aparente de la masa de agua, sea este un evento nocivo o inocuo.

Las mareas rojas tóxicas son producidas por microalgas que, por la concentración que alcanzan, producen discoloraciones y son productoras de potentes venenos o toxinas endocelulares. Se trata de FANs **ictiotóxicas** si liberan al medio exotoxinas con propiedades hemolíticas o neurotóxicas que causan mortandades de peces y otros organismos marinos (Reguera, B., 2003).

Las mareas rojas nocivas son proliferaciones de microalgas no tóxicas pero que pueden causar daños a los organismos marinos o perjuicios socioeconómicos. En general, cualquier especie fitoplanctónica que alcance densidades formadoras de manchas constituye un peligro potencial para los peces cultivados en jaulas flotantes o para los organismos bentónicos por:

- Poseer apéndices espinosos, como *Dictyocha speculum*, que erosionan físicamente e irritan las agallas de los peces, aumentando el riesgo de infecciones patógenas.
- Segregar substancias mucilaginosas (como las floraciones de *Phaeocystis spp. Gymnodinium impudicum)* que vuelven viscosa al agua de mar y afectan la sistema filtrador/branquial de los organismos, u ocasionan acumulaciones de espuma en las playas.
- Alcanzar densidades tan elevadas que puede hacer variar bruscamente los niveles de oxígeno disuelto o el pH del medio; o por su elevada biomasa competir por los nutrientes y hacer disminuir la penetración de luz, afectando negativamente a los productores primarios bentónicos como *Prorocentrum micans;*
- No ser consumida por los herbívoros y al morir libera niveles importantes de amonio, causa fermentaciones en el fondo.
- Producir pérdida de la transparencia de las aguas, como las floraciones de *Alexandrium taylori.*

Un ejemplo de marea roja nociva son las espectaculares manchas de *Noctiluca scintillans* que pueden crear alarma social y afectar al sector turístico aunque no haya ningún daño real asociado. Sin embargo, manchas de la inocua *Noctiluca* han causado mortandades de peces cultivados en Japón al desarrollarse en zonas poco dinámicas, consumir el oxígeno (es una dinoflagelada heterotrófica) y liberar altos niveles de amonio al decaer la floración (Reguera, B., 2003).

Los episodios de FANs tóxicas son aquellos eventos en los que la presencia de microalgas en concentraciones moderadas (no causantes de discoloraciones) confiere niveles de toxinas a los moluscos que pueden constituir un peligro para la salud. En consecuencia, las autoridades competentes se ven obligadas a prohibir su recolección y comercialización (Reguera, B., 2003)

Las intoxicaciones de origen bentónico se producen cuando la fuente de toxicidad es un organismo que vive en el fondo marino o adherido a sustratos sólidos, como es el caso de los dinoflageladas bentónicas del género *Prorocentrum* (productores de toxinas diarreogénicas) o los del género *Ostreopsis* (productores de toxinas neurotóxicas o hemolíticas como la palytoxina), o los quistes de dinoflagelados planctónicos. La Ciguatera, síndrome tóxico que se da tan sólo en regiones tropicales con arrecifes coralinos, es un caso especial de intoxicación de origen bentónico que se transmite por peces que han ingerido materia vegetal sobre la que crecen dinoflagelados bentónicos tales como *Gambierdiscus* tóxicos. Otro caso especial es el de *Pfiesteria piscicida*, dinoflagelada de la que se ha descrito un complejo ciclo vital polimórfico que causa muertes masivas de peces y afecta a los humanos que inhalan el aerosol formado alrededor de sus tanques de cultivo (Reguera, B., 2003).

Las intoxicaciones de origen desconocido son la detección de toxinas en los moluscos que no se pueden asociar con la presencia de especies tóxicas conocidas en el plancton. Algunas de estas incógnitas han podido ser resueltas a posteriori con la mejora de las técnicas analíticas de separación e identificación de nuevos compuestos, como el caso de la intoxicación por azaspirácidas (AZP, recientemente regulado en una directiva de la UE) en los bivalvos irlandeses, que se ha relacionado con grandes dinoflagelados heterotróficos del género *Protoperidinium* (Reguera, B., 2003).

La experiencia de los últimos 15 años nos enseña que no se debe considerar nunca cerrada la lista de especies potencialmente tóxicas/nocivas de una región.

(Reguera B, 2003) Dentro de las especies capaces de generar fenómenos de toxicidad, encontramos principalmente a las diatomeas y dinoflagelados. De aquí en adelante, me abocaré al estudio de estos últimos por ser son los causantes del origen de esta investigación.

Los dinoflagelados son microalgas eucariotas unicelulares (excepto algunas formas cocoides y filamentosas), marinas en su mayoría (más del 90%), que al menos en un estadio de su ciclo vital poseen una célula móvil dotada de dos flagelos desiguales (Reguera, B., 2003). Procesos fisiológicos como el ciclo vital, la nutrición heterótrofa/mixótrofa y respuestas adaptativas a variaciones de las condiciones ambientales (tº, salinidad, nutrientes, fotoperiodo, turbulencia/estabilidad) pueden modificar el tamaño y la forma de la célula; aspectos que deben ser tenidos en cuenta a la hora de la clasificación taxonómica a microscopio para no generar errores. Esta variabilidad morfológica interespecífica genera lo que se denomina distintos *morfotipos* dentro de una especie (Reguera, B. 2003).

Condiciones que favorecen la proliferación/dispersión.

Ni el momento en que se genera una proliferación ni la densidad de la población son predecibles. La proliferación comienza como una pequeña población de células de dinoflagelados tóxicos en fase latente o como quistes de resistencia depositados en el sedimento del fondo. El momento en que los quistes comienzan a germinar y el lugar donde han estado depositados determinan cuándo y dónde aparecerá una floración. Ciertas condiciones climáticas y medioambientales, como por ejemplo cambios en la salinidad, un aumento de la temperatura del agua, de los nutrientes y de la radiación solar, fomentan la germinación de los quistes que ingresan en un estado vegetativo, en el que se reproducen rápidamente. Una vez desencadenada la proliferación, se ingresa en una fase de crecimiento exponencial de la población. El mayor porcentaje de células tóxicas se registra generalmente en la mitad de esta fase de crecimiento exponencial. A medida que transcurre el tiempo, la proliferación causa una marcada disminución de nutrientes y del contenido del dióxido de carbono en el agua y degrada las condiciones medio ambientales limitando, así, el crecimiento de la población. Ingresa, entonces, en una fase estacionaria y la población se estabiliza. La degradación medioambiental continúa y aumenta la muerte celular hasta que la población se destruye. En esta etapa,

muchas especies de dinoflagelados forman quistes de resistencia que se hunden al fondo a la espera de la próxima proliferación (FAO, 2005).

El tipo de hábitat donde se han observado las intoxicaciones por VPM varía considerablemente y se cree que las **condiciones hidrográficas** juegan un papel importante. Ciertos factores indirectos, como la fuerza del viento y la turbulencia del agua, influyen en la formación de una capa termoclina; es decir, una capa de agua de mar superior que no se mezcla con el agua que está por debajo (cuya presencia es de suma importancia) (FAO, 2005).La temperatura es un factor importante, en la Patagonia Argentina, las floraciones se producen cuando la temperatura del agua alcanza valores de entre 11 y 15º C, principalmente a los 13º C, hecho que ocurre en los meses de agosto o septiembre en la zona de Puerto Lobos (Sastre y Santinelli, Lab. De Hidrobiología-Facultad de Ciencias Naturales; Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, datos no publicados).

El Niño es un fenómeno causado por un desequilibrio de la presión atmosférica y de las temperaturas del este y del oeste del Océano Pacífico que provoca una disminución de la profundidad de la capa termoclina. Se encontraron pruebas de la coincidencia de floraciones de *Pyrodinium* y los cambios climáticos ocasionados por el **Fenómeno de Oscilación Austral del Niño** (FAO, 2005).

Los organismos necesitan satisfacer sus necesidades y es imprescindible que la **cantidad de nutrientes** del agua de mar sea la adecuada, especialmente en lo que respecta a la concentración de elementos traza, quelatos, vitaminas y material orgánico en general. Sin embargo, el rol exacto que juegan los nutrientes en el desarrollo de las mareas rojas aún no se ha determinado con certeza. En algunos casos, bajas concentraciones de sal estimulan el desarrollo de la marea roja pero, otras veces, parecería ser que son las altas concentraciones salinas las que inducen la floración (FAO, 2005).

La **relación N: P** es otro de los factores que afecta la producción de toxinas durante la proliferación. La literatura cita varios estudios que describen los efectos de distintas relaciones N: P en el crecimiento de *Alexandrium* spp. y en el contenido de toxinas. Una disminución del nitrógeno limita el crecimiento de la población y la producción de toxinas mientras que, una disminución del fósforo, restringe solamente el crecimiento de la población y fomenta la producción de toxinas. En la especie *A.*

catenella, si los nutrientes no constituyen un factor limitante, los principales factores son: la temperatura (entre 20 y 25 °C), la salinidad (entre 30 y 35 ‰) y el pH (entre 8,0 y 8,5). La falta de nutrientes esenciales (nitratos y fosfatos) impide que las poblaciones de microalgas alcancen las proporciones de un florecimiento (Herrera Sepúlveda A. et al, 2008).

La **eutroficación** del medio marino ha sido considerada por el GESAMP (Group of Experts on the Scientific Aspect of Marine Pollution), como la amenaza más importante para las aguas marinas provocada por la contaminación. Las descargas hacia el mar, provenientes de aguas tratadas y sin tratar, ricas en sustancias inorgánicas y nutrientes procedentes de los asentamientos humanos, áreas urbanas, ciertos tipos de industrias, lavado de nutrientes de los suelos y los aportes agrícolas son la causa principal de la eutroficación cultural (GESAMP, 1990).

Diversos **procesos físicos,** tales como descargas de ríos, surgencias costeras, inestabilidad en los bordes del talud, mareas y fuerzas originadas en la rotación terrestre, producen modificaciones locales en la abundancia de nutrientes y en la estabilidad vertical del mar (Herrera-Sepúlveda, A., et al, 2008).

Un **sistema frontal** puede definirse como el área de encuentro de masas de agua con diferentes propiedades fisicoquímicas. La formación de estos sistemas puede ser el resultado de la acción de diversos procesos físicos, tales como las descargas de los ríos, las corrientes de marea, el viento, las corrientes de convergencia, la batimetría, etc. Los sistemas frontales son regiones de alta producción primaria en los que suelen desarrollarse grandes florecimientos fitoplanctónicos, muchas veces nocivos. Estos sistemas generan un consecuente crecimiento de zooplancton herbívoro y la comunidad bentónica asociada dependiente del flujo vertical generado en superficie. La mayor disponibilidad de alimento en los frentes atrae a organismos del necton, aves y mamíferos marinos (Carreto, J., et al, 2007).

Si bien estas áreas son lugares apropiados para la alimentación de larvas de numerosas especies de peces y crustáceos de importancia pesquera, los fenómenos de Floraciones fitoplanctonicas también están asociados a estos sistemas con malas consecuencias cuando en el área se encuentran especies generadoras de ficotoxinas (Cousseau, M. et al, 2004).

Organismos fuente de ficotoxinas del grupo VPM

De las 5000 especies de algas marinas descriptas, 4000 son especies marinas de fitoplancton microscópico. Dentro de estas, unas 300 especies pueden proliferar en un número tan alto que alcanza densidades de millones de células por litro de agua teniendo, así, la capacidad de producir fico-toxinas alrededor de 75 especies (Herrera-Sepúlveda, A. et al, 2008).

Las toxinas VPM se encuentran en algunos géneros de dinoflagelados y en una especie de algas verdeazuladas. Las especies del género *Alexandrium* (conocido como *Gonyaulax* o *Protogonyaulax)* identificadas como contaminantes de los mariscos son: *Alexandrium tamarensis, A. minutum, A. catenella, A. fraterculus, A. fundyense* y *A. cohorticula.* Otras especies de dinoflagelados, que también se identificaron como fuente de STX son *Pyrodinium bahamense* y *Gymnodinium catenatum* (FAO, 2005).

La toxicidad de los dinoflagelados varía según la mezcla de derivados de STX, cuya composición difiere según la especie que los produce y/o la región en que se presentan (FAO, 2005).

Especies productoras de biotoxinas marinas pertenecientes al grupo VPM en la Argentina.

Alexandrium tamarense: es la especie de mayor distribución geográfica en el litoral atlántico argentino. Sus floraciones y consecuentes brotes de toxicidad ocurren anualmente.

Alexandrium catenella: dicha especie produjo floraciones en el sur de Chile y en el canal de Beagle, incluyendo el lado Argentino. Luego de la floración de 1991/92 el área de distribución se amplió notablemente.

Gymnodinium catenatum: Aunque esta especie fue citada por primera vez en la plataforma bonaerense en 1964, sólo recientemente se la ha asociado a la producción de brotes otoñales de toxicidad de menor magnitud en la zona común de pesca Argentino-Uruguaya (Carreto, J. et al, 2000)

Floraciones Algales Nocivas productoras de VPM y fenómenos de toxicidad en las costas del mar argentino.

El primer registro de intoxicaciones humanas por ingestión de moluscos en Argentina data de 1886 y describe un episodio observado en la región del Canal de Beagle (Ushuaia). La descripción, que realiza el médico Segers de la Armada Argentina, de los síntomas que padecen cientos de indígenas de dicha región, no deja dudas que se trató de un brote por VPM. Desde entonces no se detectaron nuevos brotes de IPM hasta el año 1980, en que se produce la intoxicación y muerte de dos marineros del buque Constanza que operaba en la zona de Península de Valdés. La presencia del dinoflagelado *Alexandrium tamarense* en un área restringida (el sistema frontal de Península de Valdés), su cultivo y posterior análisis toxicológico, permitieron a los investigadores del INIDEP identificarlo como el organismo productor de las mencionadas toxinas. Los mayores valores de toxicidad detectados en los mejillones (*Mytilus edulis platensis)* del área (173.360 STX eq./100 g de tejido) fueron los más elevados hasta entonces conocidos en el mundo. Los estudios realizados permitieron detectar grandes cantidades de "semillas" o quistes de resistencia en los sedimentos lo que permitió adelantar la hipótesis de la repetición del fenómeno en esa área por la germinación de los quistes en la próxima primavera. Además se alertó sobre la posible expansión del área afectada por el fenómeno de toxicidad debido al posible transporte de sedimentos conteniendo dichos quistes. Esto fue lo que ocurrió y el área tóxica se expandió en pasos sucesivos para afectar en la actualidad a casi todos los ecosistemas costeros de Argentina, Uruguay y recientemente del Sur de Brasil. (Carreto, J., 2001)

Los estudios realizados han indicado que las mayores concentraciones de quistes de esta especie se presentan en los sedimentos de la Plataforma Norpatagónica (42-47°S). Los Golfos Norpatagónicos, por sus características hidrológicas disímiles, han mostrado un comportamiento dispar. El Golfo San José y en la mitad sur del Golfo San Matías hidrológicamente relacionados con el frente de Península Valdés, presentó toxicidad durante el primer brote ocurrido en 1980. En el Golfo Nuevo la primera detección ocurrió en el verano de 1987/1988. Similarmente a lo ocurrido en Golfo Nuevo, la zona norte del Golfo San Matías se mantuvo libre de toxicidad hasta la

primavera de 1990, cuando se produjo una floración inusual de *Alexandrium tamarense* (Carreto, J., 2007).

Actualmente los brotes de *A. tamarense* son eventos recurrentes y afectan durante la primavera-verano a la mayoría de las áreas que han sido colonizadas. Hoy sabemos por los estudios realizados que el fenómeno tiene su iniciación a comienzos de la primavera y que existe una elevada variabilidad interanual en la intensidad de su desarrollo que produce años muy tóxicos y otros menos (Carreto, J., 2001).

Luego del brote de 1980, detectado en Península de Valdez, se produjeron 3 brotes más en la zona norte de la provincia de Chubut, involucrando al igual que como en el episodio anterior a *Alexandrium tamarense* como organismo productor de las toxinas:

- Diciembre/1984-Enero/1985 en Bahía Engaño: Toxicidad por VPM: 173.000 U.R./100g de tejido de mejillín *(Brachidontes rodriguezi)*. Dieciocho personas intoxicadas, siete demandaron internación de las cuales cuatro fallecieron (Vecchio y col., 1986).
- Enero/1988 en Bahía Nueva (frente a Puerto Madryn): Toxicidad por VPM: 66.150 U.R./100g de tejido de cholga (*Aulacomya ater*). Cuatro personas intoxicadas graves que requirieron hospitalización (Esteves y col., 1992).
- Entre 1985 y 1997 la toxicidad máxima por VPM varió entre 1.524 y 151.465 U.R./100g de tejido en primavera y/o verano (Datos del Departamento de Bromatología de la Dirección de Salud Ambiental de la Provincia del Chubut).

En la zona sur de la provincia de Chubut, se registraron dos brotes por VPM en este milenio pero, lamentablemente no se ha identificado al organismo productor:

- Diciembre/2000 en Comodoro Rivadavia: Toxicidad por VPM: entre 7.284 y 10.095 U.R./100g de tejido de mejillón (*Mytilus edulis platensis)*. Dos personas sufrieron intoxicación moderada (Andrade y col., 2001).
- Octubre/2002 en Camarones: Toxicidad por VPM: 12. 623 U.R./100g de tejido de mejillón (*Mytilus edulis platensis)*. Un intoxicado moderado (Andrade y col., 2004).

En la costa sur de la Patagonia Argentina, el organismo productor de toxinas es *Alexandrium catenella* y hay registrados dos episodios de gran relevancia:

- 1991/92 en el canal de Beagle: pico extremadamente alto de toxicidad por VPM: 636.000 U.R./100g de tejido de mejillón. La floración comenzó en el Estrecho de

Magallanes, luego se expandió en latitud y fueron afectados todos los canales entre los 49º 20’ S y 54º 55’ S, causando la muerte de once personas y más de trescientos intoxicados. En este caso el fenómeno se atribuyó en parte al incremento de las radiaciones ultravioletas debido al decrecimiento de la capa de ozono en esta región austral (Benavides y col, 1995).

• 1994-1996: Toxicidad por VPM con picos en verano de hasta 134.407 U.R./100g de tejido de mejillón.

Ficotoxinas marinas de importancia en Salud Pública Veterinaria.

Las toxinas producidas por organismos formadores de FAN son responsables de una serie de enfermedades humanas asociadas con el consumo de organismos marinos y, en algunos casos, por su exposición a las mismas en forma de aerosoles. A nivel mundial, las toxinas producidas por microalgas marinas son responsables de más de 60,000 incidentes de intoxicación por año, con un 1.5% de mortalidad. Además de los efectos en la salud humana, estas toxinas son responsables de la muerte de cientos de toneladas de peces y moluscos, y se los ha implicado con la muerte de mamíferos, aves y otros animales marinos a través de su transferencia por la cadena trófica. Estas toxinas son inodoras, incoloras, termoestables y estables bajo condiciones ácidas. Generalmente se acumulan en las vísceras y otros tejidos de los peces y moluscos, partes especialmente peligrosas para su consumo. Frecuentemente, la clasificación de estas toxinas se basa en los signos y síntomas del tipo de síndrome o envenenamiento que provocan, algunas veces acompañado por el nombre de la toxina o del animal que las contiene (Herrera-Sepúlveda, A., et al, 2008).

No resulta claro por qué producen toxinas algunas especies de microalgas. Las ficotoxinas son metabolitos secundarios sin papel explícito en la economía interna de los organismos productores y con actividades muy especificas en mamíferos. Son probablemente utilizadas por los organismos productores como una forma de luchar por espacios, como una manera de combatir la predación o como defensa contra un crecimiento desmesurado de otros organismos (Herrera-Sepúlveda, A., et al, 2008).

Las ficotoxinas marinas más importantes son las toxinas de mariscos y las ciguatoxinas. Hasta ahora, se distinguen cinco grupos de toxinas en mariscos y una en pescados, denominadas:

1- toxinas paralíticas de mariscos, también conocidas como veneno paralizante de molusco (VPM); causantes de la intoxicación paralítica por mariscos (PSP).
2- toxinas de mariscos diarreicas, también llamadas veneno diarreico de molusco (VDM); causantes de intoxicación diarreica por mariscos (DSP).
3- toxinas de mariscos amnésicas, también nombradas veneno amnésico de molusco(VAM); causantes de intoxicación amnésica por mariscos (ASP);
4- toxinas de mariscos neurotóxicas, también reconocida como veneno neurotóxico(VN); causantes de intoxicación neurotóxica por mariscos (NSP);
5- toxinas de mariscos azaspiracidas, causantes de intoxicación azaspiracida por mariscos (AZP)
6- Las ciguatoxinas; causantes de intoxicación por ciguatera en pescados (CFP).

Tabla 1. Enfermedades humanas asociadas a FANs. (Herrera-Sepúlveda, A. 2008)

Síndrome	Organismos causante	Toxina	Ruta de adquisición	Manifestación clínica
Intoxicación por ciguatera	*Gambierdiscus toxicus* (béntico) *Ostreopsis siamensis, etc.*	Ciguatoxina	Transferencia a través de la cadena trófica; consumo de peces carnívoros	Gastroenteritis aguda, síntomas neurológicos como parestesias
Intoxicación paralítica	*Alexandrium catenella, A. minutum, A. tamarensis, A. ostenfeldii, Gymnodinium catenatum, Pyrodinium bahamense* var *compressum*, etc.	Saxitoxinas	Consumo de mariscos cultivados, o de vida libre, en las áreas afectadas	Parestesia y otras manifestaciones neurológicas, parálisis muscular, problemas respiratorios y muerte
Intoxicación neurotóxica	*Karenia brevis, K. brevisulcatum*, etc.	Brevetoxinas	Consumo de mariscos cultivados en áreas afectadas; aerosoles de las toxinas por efecto de las olas	Síntomas neurológicos y gastrointestinales, dificultad para en la respiración e irritación de ojos
Intoxicación diarreica	*Dinophysis acuta, D. acuminata, D. fortii, Prorocentrum lima*	Ácido okadáico y dinofisistoxinas	Consumo de mariscos cultivados en aéreas afectadas	Gastroenteritis aguda
Intoxicación por Azaspiracidos	*Protoperidinium crassipes*	Azaspirácidos	Consumo de mariscos cultivados en áreas afectadas	Efectos neurotóxicos con severo daño en intestino e hígado
Intoxicación amnésica	*Pseudo-nitzchia multiseries, P. pseudodelicatissima, P. australis*, etc.	Ácido domóico y sus isómeros	Consumo de mariscos cultivados en áreas afectadas	Manifestaciones gastrointestinales, neurológicas, generando amnesia en casos severos, coma, muerte

Adaptado de Anderson *et al.*, (2001).

En las dos últimas décadas hemos sido testigos de un incremento aparente en intensidad, duración y distribución geográfica, de las FANs. Se dice que el incremento es aparente porque, para probar con rigor científico que el incremento es verídico, se requieren series históricas de datos de fitoplancton y de condiciones ambientales de las que se dispone en muy pocas partes del mundo (Herrera-Sepúlveda, A., et al, 2008).

Sin embargo, se han identificado nuevas causas probables de la ampliación de la distribución de fenómenos FAN en el mundo: a) el transporte de esporas y quistes de reposo en las sentinas de los barcos que descargan agua de lastre y colonizan áreas no contaminadas; b) el transporte de mariscos portadores de células de resistencia de una región a otra en las actividades de acuicultura; c) mayor disponibilidad de nutrientes como resultado de las actividades humanas que aceleran la eutrofización; d) modificación de la línea costera en los sistemas de agua por la lluvia ácida, deforestación o contaminación (Herrera-Sepúlveda, A., et al, 2008).

Veneno Paralizante de los Moluscos (VPM)

De todos los grupos de venenos formados por ficotoxinas marinas descriptos hasta la actualidad, el VPM constituye la principal amenaza para la Salud Pública en América Latina. Desde el punto de vista técnico, la cuantificación de las ficotoxinas de este grupo es un desafío interesante debido a su complejidad y, además, por presentar el mayor número de derivados químicos. Este grupo, es el que presenta la más amplia distribución en Sudamérica, tanto en las costas del Atlántico como en las costas del Pacífico (Sar, E. A., et al, 2002).

Toxinas del VPM

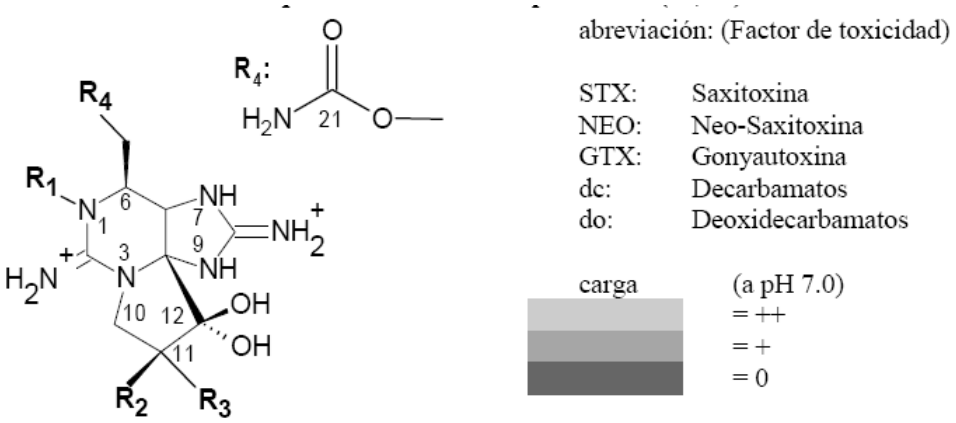
Las toxinas que conforman el VPM están básicamente constituidas por un núcleo tetrahidropurínico. Todas ellas son análogas a la Saxitoxina (STX), la primera tipificada y la más estudiada de este grupo de toxinas. Se han descripto más de 26 derivados da la STX. Estas toxinas, se pueden dividir en tres grupos, dependiendo de la carga neta que presentan a pH neutro (característica que permite además su separación por cromatografía). Así, podemos hablar de:

-Grupo de las saxitoxinas (STXs) que presentan carga neta 2+ (STX, neoSTX, deSTX, deneoSTX, doSTX);

-Grupo de las Gonyaulatoxinas(GTXs), formado por las GTXs 1, GTXs 2, GTXs 3, GTXs 4,GTXs 5, GTXs 6, B1=GTX5, B2=GTX6 y por las decarbamoil-Gonyaulatoxinas (deGTXs 1-4), dcSTX, y dcneoSTX, las cuales presentan una carga neta 1+;

-Grupo de las Sulfocarbamoil-saxitoxinas (C1, C2, C3 y C4), las cuales presentan carga neta 0 (Sar, E. A., et al 2002).

Fig. 1 : Estructuras químicas de las toxinas VPM (Hernández-Orozco, M. 2006).



			toxinas carbamatos	toxinas N-Sulfocarbamatos	toxinas Decarbamatos	Toxinas Deoxidecarbamatos
R_1	**R_2**	**R_3**	**R_4: OCO-NH_2**	**R_4: OCONH-SO_3^-**	**R_4: OH**	**R_4: H**
H	H	H	STX	B_1	dcSTX	DoSTX
OH	H	H	NEO	B_2	dcNEO	-
OH	OSO_3^-	H	GTX_1	C_3	$dcGTX_1$	-
H	OSO_3^-	H	GTX_2	C_1	$dcGTX_2$	$doGTX_2$
H	H	OSO_3^-	GTX_3	C_2	$dcGTX_3$	$doGTX_3$
OH	H	OSO_3^-	GTX_4	C_4	$dcGTX_4$	-

Si las agrupamos en los tres grupos principales: 1) carbamoiltoxinas, 2) decarbamoiltoxinas y 3) Nsulfocarbamoiltoxinas, la toxicidad específica de estos grupos de toxinas varía ampliamente; el grupo de las carbamoiltoxinas es el más tóxico, intermedio el de las decarbamoiltoxinas y muy poco tóxico el de las Nsulfocarbamoiltoxinas (Carreto, J. 2007).

Las toxinas VPM son termoestables en pH ácido (salvo los componentes del N-sulfo-carbamoil) pero inestables en condiciones alcalinas, oxidándose fácilmente (Sar, et al, 2002).

Mecanismo de acción.

El receptor de las toxinas del VPM, es la proteína intrínseca de membrana conocida como el "Canal de Sodio". Son los únicos agentes que lo bloquean selectivamente y con mucha afinidad. La STX y varias otras toxinas de VPM bloquean el canal de sodio, dependiente del voltaje con mucha potencia, enlenteciendo o anulando la propagación del potencial de acción pero sin afectar el canal de potasio. El bloqueo del canal de sodio acarrea consecuencias gravísimas para el funcionamiento

celular ya que las señales eléctricas, de los potenciales de acción, son los que mantienen en funcionamiento toda nuestra actividad nerviosa superior y vegetativa y la comunicación sináptica (Hernández-Orozco, M., et al, 2006).

Toxicidad en seres humanos

Toxicidad aguda

La concentración causante de las intoxicaciones por PSP en los seres humanos varía considerablemente. Se debe, principalmente, a diferencias de sensibilidad individuales y a oscilaciones del método de determinación. Según la Autoridad Alimentaria de Nueva Zelanda y Australia, en los seres humanos entre 120 y 180µg de toxinas VPM pueden ocasionar síntomas leves; entre 400 y 1060 µg pueden causar la muerte y dosis entre 2 000 y 10 000 µg muy probablemente sean fatales (FAO, 2005). En la Patagonia Argentina, más precisamente en la provincia de Chubut, en base a experiencias sobre caso humanos atendidos entre 1984-1985, se llegó a concluir que la relación entre dosis (consumo) y síntomas es: cuadros leves hasta 2000 UR; cuadros moderados, entre 2000 y 10000 UR; cuadros graves, mayor de 10000 UR; cuadros letales con consumos mayores de 25000 UR (FAO, 2005).

Entonces, si hacemos la conversión de las valores de los datos del párrafo anterior a ug, vemos que las aseveraciones de los distintos autores son concordantes.

La tasa de mortalidad de las VPM es muy variable. En brotes recientes en América del Norte y Europa Occidental, con más de 200 personas afectadas, no se registró ninguna muerte. Sin embargo, la tasa de mortalidad de brotes similares en Asia Sudoriental y en América Latina es del 2 al 14 por ciento. Se puede considerar que gran parte de la diferencia se debe a que los primeros ocurrieron principalmente en áreas urbanas (donde las víctimas cuentan con cuidados médicos). En Asia Sudoriental y en América Latina por el contrario, las intoxicaciones ocurrieron a menudo en áreas rurales (zonas en las que los habitantes y médicos locales nunca habían observado este tipo de envenenamiento) (FAO, 2005).

Cuadro clínico.

En *intoxicaciones leves* los síntomas clínicos de intoxicación con PSP incluyen una sensación de hormigueo o entumecimiento alrededor de los labios que, generalmente, aparece dentro de los 30 minutos. Esto se debe a la absorción local de las

toxinas VPM por las mucosas bucales. Luego el hormigueo o entumecimiento se extiende progresivamente por el rostro y el cuello. Con frecuencia, el paciente experimenta una sensación de picazón en las puntas de los dedos de las manos y de los pies, cefaleas, mareos, nauseas, vómitos y diarrea y, ocasionalmente, también ceguera temporal. Estos síntomas preceden una debilidad muscular característica porque los nervios sensoriales son más finos y tienen inter-nodos más cortos que los nervios motores y son los primeros afectados por cualquier agente de bloqueo axonal (FAO, 2005).

En *intoxicaciones moderadas* la parestesia se extiende a los brazos y las piernas; que presentan también debilidad motriz. El paciente padece también vértigo y discurso o habla incoherente. Con frecuencia se observan manifestaciones del cerebelo, como por ejemplo ataxia, falta de coordinación motora y dismetría. Las primeras dificultades respiratorias se manifiestan con una sensación de ahogo alrededor de la garganta. Los reflejos pueden estar ausentes o normales y la mayoría de los pacientes están calmados y conscientes. Otros efectos del sistema nervioso autónomo que pueden ocurrir son salivación, taquicardia y diaforesis. La dificultad respiratoria comienza a aparecer con la sensación de constricción en la garganta (FAO, 2005).

En casos de *intoxicación graves* la parálisis muscular se extiende y se agrava. Generalmente, el pulso no presenta anormalidades alarmantes. En algunos casos, entre dos y 24 horas luego de la ingestión, el paciente presenta dificultades respiratorias graves y muere por parálisis respiratoria. El pulso no muestra anormalidades aunque en algunos pacientes que se han hospitalizado se ha encontrado elevación de su tensión arterial y esto se ha correlacionado a la dosis de saxitoxina (FAO, 2005).

Las moléculas de STX tienen carga y son hidrosolubles. Por este motivo se cree que no atraviesan correctamente la barrera hematoencefálica y la mayoría de sus efectos ocurren en los nervios periféricos (FAO, 2005).

Tabla: 2 Descripción de sintomatología clínica en función del grado de intoxicación (Hernández-Orozco, M. 2006).

Síntomas clínicos causados por VPM

Intoxicación leve	Intoxicación moderada	Intoxicación severa
120 y 180µg de toxinas VPM	entre 180 y 400 µg de toxinas VPM	entre 400 y 1060 µg de toxinas VPM
Síntomas	Síntomas	Síntomas
Náusea y vómito Debilidad muscular Parestesia en labios Parestesia en extremidades inferiores	Insuficiencia respiratoria Parálisis músculos faciales Reflejo nauseoso ausente Lengua inmóvil	Pupilas dilatadas no reactivas Distonía profunda Parálisis respiratoria Hipotensión Paro cardiaco

Diagnóstico.

El diagnóstico de la intoxicación se basa en el cuadro sintomatológico, con antecedentes de reciente ingesta de comida marina, principalmente moluscos bivalvos. Los hallazgos físicos están enfocados en disfunción neural o neuromuscular con insignificantes manifestaciones cardiovasculares. La muerte es atribuida a la parálisis parcial de los músculos respiratorios y, cuando está presente, significa moderado o severo envenenamiento requiriendo, así, cuidado hospitalario (Hernández-Orozco, M., et al, 2006).

Tratamiento

El tratamiento clínico de las víctimas es integral y sintomático ya que no existe en la actualidad un antídoto efectivo en humanos (FAO, 2005).

Detección de saxitoxinas o análogos en moluscos no bivalvos; octópidos.

Hasta hace poco más de 20 años, los únicos organismos marinos a los que se les atribuían cuadros humanos de Envenenamiento Paralizante de los Moluscos eran los moluscos bivalvos; consumidores primarios dentro de la red trófica de nuestro ecosistema marino. Ya a mediados de la década del 90´, estudios y publicaciones provenientes de diferentes lugares del mundo, comenzaron a reportar el hallazgo de saxitoxina o análogas en moluscos marinos no bivalvos (MMNB) como: el Caracol Atigrado(*Zidona dufresnei*) (Carreto, J.et al., 1996), crustáceos filtradores sésiles como

el Loco Chileno(*Concholepas concholepas*), la estrella de mar (*Asterina pectinifera*) (Ito, K., et al., 2003), cangrejos (*Zosimus aeneus, Lophozozymus pictor)* (FAO, 2005) *y* cefalópodos del género *Octopus* (pulpos)(Robertson, A., et al, 2004) entre otros, con explicaciones de posibles vías por las que los MMNB incorporan las ficotoxinas. Estás "rutas" de incorporación de las toxinas fitoplanctónicos varían según los hábitos alimenticios del organismo en cuestión. Robertson A. et al, 2004; detalla el hallazgo de Saxitoxinas (STX) en muestras de distintas especies de cefalópodos del género *Octopus* (Pulpos) tomadas de la costa norte de Australia, de zonas cercanas a Port Hedland. Algunos de los extractos revelaron valores superiores a 240ug de STX/100 grs de tejido; valores tres veces superiores a los límites reglamentarios australianos e internacionales (80 ug de STX/100 grs de tejido). Los autores de este trabajo, destacan la importancia del hallazgo y la necesidad de incluir, en la lista de posibles organismos tóxicos, a estos y otros depredadores bentónicos. Además, crustáceos y peces son nombrados como posibles fuentes de las toxinas encontradas y concluyen que, el nivel de toxina detectado y la distribución de la misma en *Octopus spp*., plantean un riesgo público potencial para la salud, especialmente, en este tipo de especies silvestres en las que no está reglamentada la detección de estas toxinas. Otros hallazgos reportan la presencia de SXT en vísceras y en partes comestibles de ciertos peces marinos como la anchoíta (*Engraulis anchoíta*) y la caballa (*Scomber japonicus*) con el consecuente riesgo que esto representa para la población (FAO, 2005). Hasta la actualidad, el nivel de toxicidad detectado en predadores de los consumidores primarios, ha sido siempre inferior al que presentaron los moluscos tóxicos a los cuales predaron. Pero si bien ésta es la evidencia actual, no debemos olvidar que en ciencia no hay verdades absolutas. Por lo tanto, no es improbable pensar que ciertos moluscos predadores puedan actuar como concentradores de ficotoxinas, con el consecuente riesgo potencial que esto implicaría.

Entonces, ante la este evidencia de que los seres humanos también podían exponerse a diferentes toxinas marinas por consumo de especies de MMNB, surgieron advertencias por parte de diferentes entidades competentes. En relación a esto, el Instituto Español Oceanográfico, advierte: "Cualquier producto marino que sea tradicionalmente consumido por la población local o exportado y que sea susceptible de adquirir toxinas, deberá ser controlado". La Comunidad Europea, en el año 2002, publica que "(…) está científicamente demostrado que algunas biotoxinas marinas"

“constituyen un peligro grave para la salud humana cuando están presentes por encima de determinados límites en moluscos bivalvos, equinodermos, tunicados y gasterópodos marinos.” y normatiza su análisis (Sar, E. A. et al 2002). Si bien no se hace mención a los cefalópodos, hasta la fecha en que se publicó éste comunicado, no existía a nivel mundial ningún estudio que asociara a los Octópidos con las toxinas que producen en humanos el Envenenamiento Paralizante de los Moluscos (Robertson, A., et al, 2004).

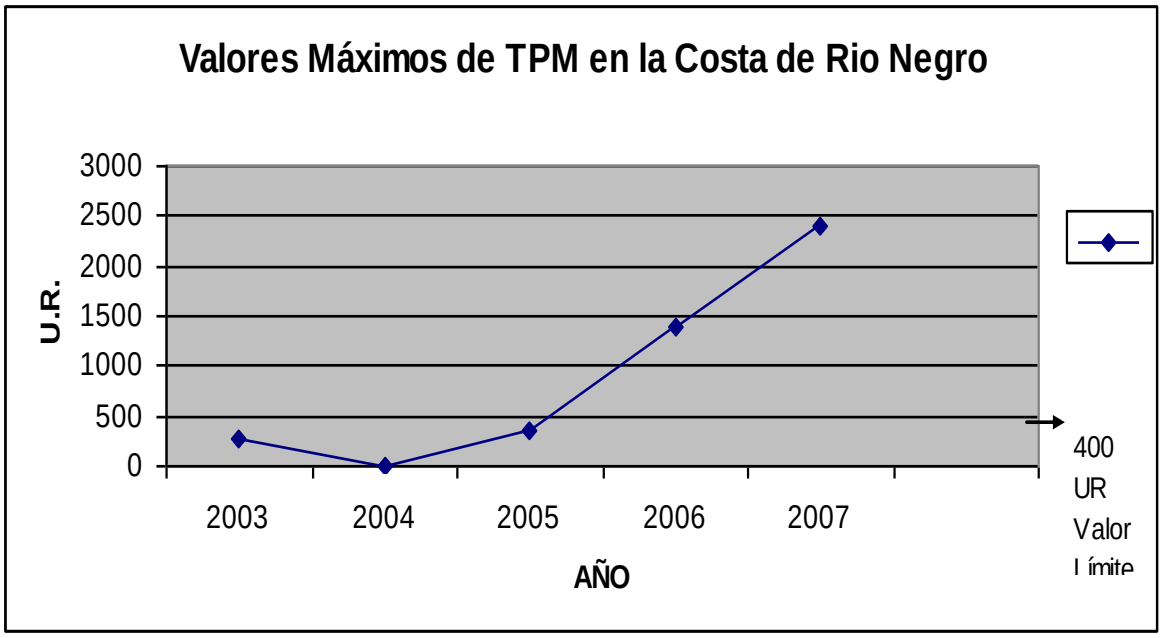
Características de la explotación del *Octopus tehuelchus* (Pulpito patagónico) en la Patagonia Argentina

En el Mar Argentino se extraen 3 variedades de pulpos; *Octopus tehuelchus (*OT*), Eledone massyae y Enteroctopus megalocyathus* con registros de capturas anuales que rondan actualmente las 100-150 toneladas sumando las 3 especies. Para OT. las capturas alcanzan las 40 toneladas con registros máximos, durante el periodo 1965-1978, de entre 100 y 300 toneladas. De las 3 especies sólo el OT puede ser recolectado de la intermareal y sin la necesidad de equipos sofisticados; motivo por el cual su extracción es el sostén de de una pesquería artesanal en el límite sur de su rango de distribución (Golfo San Matías) y, a su vez, posibilita que esta actividad sea considerada atractiva turísticamente al considerar “buenas playas” aquellas que cuentan con éste recurso. Otros aspectos relevantes referidos a este recurso son: la distribución, la fuente alimenticia, las áreas, equipos y temporadas de pesca y por último la forma de procesamiento y comercialización. Ésta especie bentónica se distribuye desde Porto Seguro, Brasil (17ºS) hasta los cangrejales, al sur de Rawson. En el norte del Golfo San Matías se localiza, principalmente, hasta los 15 metros de profundidad (hay escasos registros de 25 a 40 m). En el piso infra litoral, se halla asociada a sustratos duros o a fondos arenosos, dentro de refugios de origen biológico (conchillas de gasterópodos, bivalvos, etc.) (Ré, M. E., 1998)**.** El *Octopus tehuelchus* es un depredador generalista que se alimenta principalmente de crustáceos y bivalvos. En los contenidos digestivos de ejemplares del sur del Golfo San Matías se identificaron, entre otros, *Mytilus edulis Platensis* (mejillón) y *Brachidontes rodriguezi (*mejillín) justamente especies muy abundantes y en las que se han detectado altísimos valores de Toxinas del grupo de las Saxitoxinas. (Ré, M. E., 1998). Las principales capturas de *Octopus tehuelchus* provienen de la costa patagónica norte, especialmente del Golfo San Matías. En la costa

patagónica los ejemplares se recolectan del piso intermareal, utilizando ganchos de 30 a 40 cm de longitud, que se introducen en cuevas o irregularidades del sustrato. En restingas con rocas sueltas, valvas de bivalvos o conchas de caracoles simplemente se invierten las mismas y los pulpos se recolectan manualmente. La extracción de *Octopus tehuelchus,* en el piso intermareal, es estacional y se realiza desde fines de primavera (noviembre- diciembre) hasta comienzos del otoño (marzo- abril), siendo usualmente mayor a mediados y fines del verano. Respecto a la forma de procesamiento y comercialización, lo más frecuente es que los pescadores mantengan la captura diaria viva, en recipientes con agua de mar y raramente con hielo molido. Algunos pulperos utilizan bolsas de arpillera mojadas para mantener los pulpos en buenas condiciones. Venden o cambian la captura por alimentos a compradores que visitan los refugios cada 2 o 3 días. Los compradores transportan la captura de la costa noroeste del Golfo San Matías a la ciudad de San Antonio Oeste. La del área costera central (Fuerte Argentino a Islote Lobos) puede ser también transportada a la ciudad de sierra Grande y la del área sur del golfo (Puerto Lobos) a la ciudad de Puerto Madryn. Los pulpos que ingresan a la cadena de comercialización, a través de plantas pesqueras procesadoras en las que se evisceran, se limpian, se congelan y se comercializan en la zona o se envían a otras ciudades del país. En las pescaderías se pueden adquirir con o sin vísceras, frescos o congelados. Se elaboran además semiconservas a nivel familiar y semiconservas y conservas a nivel industrial.

Vigilancia epidemiológica en moluscos bivalvos costeros en Rio Negro.

La URESA (Unidad Regional de Epidemiología y Saneamiento Ambiental) Zona Atlántica, dependiente del Ministerio de Salud de la provincia de Río Negro, realiza el monitoreo de los niveles de toxicidad en moluscos bivalvos costeros como *Vigilancia Epidemiológica*. De acuerdo a los registros del laboratorio del período 2003-2007 se concluye que, actualmente, la zona de riesgo para la provincia es la región costera comprendida desde el norte del balneario Playas Doradas hasta Puerto Lobos en el límite con la provincia de Chubut. A excepción del año 2004 (en el que no se detectaron valores de toxicidad en las muestras analizadas en los años sucesivos) las detecciones de toxinas fueron constantes y a títulos crecientes; tendencia que debería mantenerse según la evidencia epidemiológica actual. (Registros del Laboratorio de Toxicología Aplicada, Viedma, 2008.)



Fuente: Laboratorio de Toxicología Aplicada.

En síntesis, las situaciones planteadas combinada con hechos concretos como: el aumento de la frecuencia e intensidad de los episodios algales tóxicos a nivel mundial (Carreto, J., 2001); la ocurrencia de florecimientos primaverales anuales de *Alexandrium tamarense* con altos niveles de toxicidad en bivalvos centinelas silvestres del frente costero en el sur del Golfo San Matías (Carreto, J., 2001); la presencia del sistema frontal de península de Valdez con fenómenos de florecimientos algales nocivos anuales y de alta toxicidad sumado a la influencia de la Corriente de Malvinas sobre las aguas de la plataforma, con dirección NNE (Carreto, J., 2007); la existencia de registros de máximos valores de toxicidad a nivel mundial, se presentan en nuestras costas marítimas y en Chile, con valores registrados en Península de Valdez de hasta 50000 microgramos equivalentes de STX por cada 100 grs de tejido. El límite de seguridad internacionalmente establecido para el consumo humano (80ug STX eq./100 g de tejido) (Carreto, J., 2001); antecedente a nivel mundial de presencia de STX en carne de pulpo en valor de más de 3 veces por encima del nivel regulatorio (Robertson, A., et al, 2004); la evidencia científica de la transferencia de toxicidad de toxinas del grupo VPM a través de la red trófica del ecosistema marino (Carreto, J., 2001) y el reporte de que habituales presas de *Octopus tehuelchus* han sido detectadas con presencia de altísimos niveles de toxicidad por VPM (Ré, M. E., 1998), demuestran un potencial riesgo para la Salud Pública.

OBJETIVO

El objetivo principal de esta tesina es evaluar la presencia de toxinas del grupo de las Saxitoxinas en *Octopus tehuelchus* y develar, así, su implicancia en la Salud Pública.

Se realizó un estudio del tipo **observacional descriptivo**.

Se buscó la presencia de toxinas del grupo de las Saxitoxinas en el pulpito patagónico (*Octopus tehuelchus)* y los niveles de toxicidad cuando fue detectada.

Para tener la certeza de la presencia de dichas toxinas en el ambiente y que exista la posibilidad del traspaso en la cadena trófica a un consumidor secundario como *Octopus tehuelchus* se midió la toxicidad en moluscos considerados especies centinelas. La especie centinela utilizada en todos los muestreos fue de *Mytilus edulis platensis* (mejillón) de estado silvestre, recogidos de la intermareal del mismo nicho ecológico que los octópidos recolectados.

Estudio de campo.

El estudio se extendió por un periodo de tiempo comprendido entre el 31/10/2008 y el 26/03/2009. Fue llevado a cabo en la villa veraniega Playas Doradas perteneciente al Municipio de Sierra Grande, provincia de Rio Negro, Patagonia Argentina. Dicho centro turístico está ubicada en la costa sur del Golfo San Matías a aproximadamente 30 km del paralelo 42º. El lugar y el periodo de estudio se eligieron en base a la dinámica de las Floraciones Algales Nocivas en esta región en años anteriores.

Figura: 2 Zona de captura del *Octopus tehuelchus* en el Golfo San Matías (en rojo) y zona de estudio.

Las muestras fueron tomadas con intervalos de tiempo variable, pero comprendidos en un rango de tiempo entre dos muestreos consecutivos entre 10 y 24 días. Tales variaciones de tiempo se debieron a las condiciones climáticas y/u oceanográficas.

La persona a cargo del muestreo fue la supervisora de Salud Ambiental de la localidad Sierra Grande, dependiente del Ministerio de Salud de la provincia de Rio Negro. Las muestras fueron acondicionadas con refrigerantes y trasportadas por transporte terrestre a la localidad de Viedma, donde fueron analizados en el Laboratorio de Toxicología Aplicada de la localidad de Viedma dependiente del Ministerio de Salud y acreditado por SENASA.

La técnica analítica a implementada, fue el bioensayo en ratón, procedimiento reconocido y abalado por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC).

El bioensayo en ratón permite la determinación de la toxicidad global producida por las toxinas VPM presentes en la muestra. Se basa en el efecto tóxico causado por un extracto acídico de la muestra analítica, inoculado intraperitonealmente en ratones albinos de aproximadamente 20 g de peso. Las VPM se extraen en caliente mediante una maceración acuosa en medio ácido de toda la carne del bivalvo previamente

triturada. Posteriormente se inyecta 1 ml de extracto a cada uno de 3 ratones y se registra el tiempo de muerte (*Tm*). Con los datos del peso del ratón, dilución del extracto y tiempo transcurrido hasta su muerte se calcula la toxicidad en unidades ratón (UR). Se define la UR como la cantidad de toxina que produce la muerte de un ratón de 20 g en 15 min. Para la aplicación de este método biológico se utiliza una línea pura del ratón *Mus musculus*, identificadas como CF1, núcleo principal SENASA.

Los tres bioensayos correspondientes a cada muestreo fueron realizados de forma simultánea y por el mismo personal de laboratorio.

Método

Preparación de muestra

Mytilus edulis platensis (mejillón) o *Brachidontes rodriguezi* (mejillín)

Se procesaron 10 a 12 ejemplares por muestra. Se comenzó limpiando las valvas con abundante agua fresca y posteriormente se abrieron las valvas cortando el músculo aductor. Se enjuagó el interior con agua fresca para remover la arena u otro material extraño y se procedió a remover la carne de la concha por separación del músculo aductor y tejido conectado a la charnela. Luego de colectar 150 g de carne se dejó escurrir sobre malla 10 por 5 minutos y se descartaron los restos de concha y líquido. Se homogeneizó en "juguera" a alta velocidad por 60 segundos.

Octopus tehuelchus (pulpito patagónico)

Sub-muestra de partes no comestibles (SNC)

Se procesaron 10 a 12 ejemplares por muestra. Luego de limpiar externamente los ejemplares con abundante agua fresca se abrió cada ejemplar cortando el manto de forma sagital. Se enjuagó el interior con agua fresca para remover la arena u otro material extraño, para posteriormente separar por divulsión del "paquete de vísceras" del manto, cortando adherencias al manto y cuello. La extracción de ojos y boca (placas corneas) se realizó por corte neto con tijera. El procedimiento de colecta, escurrido y homogeneizado se realizó ídem anterior.

Sub-muestra de partes comestibles (SC)

Las partes comestibles quedaron formadas por lo que queda del ejemplar luego de la extracción de las vísceras y otras partes no comestibles. Las mismas quedaron conformadas por tentáculos, resto de cabeza, cuello y manto. Se cortó trasversalmente cada ejemplar cada 1 cm de distancia aproximada (*). El procedimiento de colecta, escurrido y homogeneizado se realizó ídem anterior.

(*)Para evitar resultados adversos por posible tropismo diferencial de las toxina a distintos órganos de la parte comestible.

Extracción

Este proceso se realizó de forma idéntica para las tres muestras.

Se pesaron 100 g de muestra homogeneizada en un vaso y se agregaron 100 ml de HCl 0.1 N y se mezclaron. Posteriormente se ajustó el pH a 3, con HCl 5N agitando constantemente.

Se calentó a ebullición suave por 5 min, bajo campana de extracción cubriendo el vaso con vidrio reloj o equivalente para evitar la evaporación excesiva. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y nuevamente se ajustó el pH. Se transfirió el extracto a probeta y se ajustó el volumen a 200 ml con HCl 0.003 N. Se volvió a dejar el extracto en el vaso y se dejó sedimentar. Se centrifugó una alícuota, obteniéndose así el extracto a inocular.

Una vez obtenidos los extractos, se procedió a realizar los bioensayos correspondientes a cada muestra procesada.

Durante el tiempo que duro el estudio, se efectuaron 10 muestreos en el área programada, realizándose en total 30 bioensayos.

De los 30 bioensayos realizados, resultaron positivas 4 muestras que correspondieron a los 2 primeros muestreos. En las únicas dos oportunidades que se detectó la presencia de VPM en la especie centinela *Mytilus edulis platensis (MEP)* el bioensayo realizado con la muestra correspondiente a las partes no comestibles de los *Octopus tehuelchus (*OT*)* del mismo muestreo, también arrojaron niveles detectables de toxicidad. En ambos muestreos no fue detectada la presencia de saxitoxinas o análogos en las muestras de partes comestibles de los octópidos.

Durante el análisis de las muestras correspondientes al muestreo Nº 3 los ratones inoculados con los extractos ácidos de las muestras de *MEP* y de partes no comestibles de OT, desarrollaron sintomatología compatible con la intoxicación por VPM, sin llegar a producirles la muerte durante el período de observación(*). Situación que no ocurrió en el bioensayo practicado a la muestra de partes comestibles de OT.

De los 4 bioensayos con niveles de toxicidad detectables, ningún superó el valor de 400 UR/100 grs de muestra.

Tabla: 3 Resultados de los análisis de las muestras.

Muestreo Nº	**Fecha de análisis**	**sp. centinela**	**Partes no comestibles.**	**Partes comestibles**
1	31/10/08	217 U.R.	**189 U.R.**	N/D
2	12/11/08	209 U.R.	**240 U.R.**	N/D
3	22/11/08	**N/D***	**N/D***	N/D
4	04/12/08	**N/D**	N/D	N/D
5	15/12/08	**N/D**	N/D	N/D
6	06/01/09	**N/D**	N/D	N/D

7	30/01/09	**N/D**	N/D	N/D
8	11/02/09	**N/D**	N/D	N/D
9	27/02/09	**N/D**	N/D	N/D
10	26/03/09	**N/D**	N/D	N/D

(N/D = niveles no detectables en la muestra analizada)

En el estudio realizado por Robertson A. et al (2004), el hallazgo de Saxitoxinas en octópidos, que constituyó el primer reporte de la presencia de VPM en este género, se analizaron únicamente tentáculos, siendo el valor de toxicidad hallado, representativo únicamente de esta región anatómica. En el presente estudio se decidió analizar también las partes no comestibles porque el ejemplar puede llegar con vísceras al consumidor final por las muchas formas de comercialización ya mencionadas. Otra diferencia es que en este trabajo como se necesitaba detectar la presencia de un fenómeno de FANs, para posteriormente buscar si existió la transferencia vía alimentaria a los O T, se midió la toxicidad en especies centinelas del mismo nicho ecológico, hecho que considero de importancia en la búsqueda de correlaciones con fines predictivos y preventivos. A su vez, se incluyó dentro de cada muestra de partes comestibles, diferentes regiones anatómicas de cada ejemplar, porque la población también las consume y para evitar resultados adversos por posible tropismo diferencial de las toxinas a distintas regiones anatómicas de las partes comestibles.

En base a los resultados de los análisis efectuados a los muestreos Nº 1 y 2, se puede confirmar que cuando las toxinas del grupo de las Saxitoxinas están presentes en mejillones (moluscos bivalvos considerados en esta investigación especies centinelas) los *Octopus tehuelchus* que habitan el mismo nicho ecológico, al predar sobre estas especies, también incorporan las toxinas vía alimentaria.

Se pudo determinar que a los niveles de toxicidad detectados en las especies centinelas de las muestras Nº 1 y 2, (217 U.R. y 209 U.R. respectivamente) los *Octopus tehuelchus* que cohabitan con estas especies de bivalvos incorporan toxinas en sus partes no comestibles. No se logró detectar títulos tóxicos en las regiones anatómicas comestibles de dichos organismos marinos, lo que no quiere decir que no los hubiese, sino que, en base al límite de detección y a la precisión de la técnica utilizada no se percibieron valores tóxicos en dicha porción de muestra analizada.

Por la brevedad y los bajos valores de toxinas del grupo de las Saxitoxinas detectados no se pudo determinar la cinética de asimilación y de detoxificación de toxinas del VPM en tejidos de *Octopus tehuelchus* en relación a época del año y niveles

de toxicidad en los consumidores primarios tóxicos. Pero si se obtuvieron respuestas parciales a esta incógnita, ya que se observó que al momento de detectarse títulos tóxicos de VPM en las especies centinelas, valores similares están presentes en las partes no comestibles de los *Octopus tehuelchus* que cohabitan con estas especies de bivalvos. Al descender el valor a niveles no detectables en las especies centinelas, las partes no comestibles de los *Octopus tehuelchus* también presentaron valores no detectables, tal como queda reflejado analizando los resultados de las muestras Nº 2 y 3. Los ratones inoculados con el extracto ácido proveniente de la muestra de mejillón y de sub-muestra compuesta por partes no comestibles de O.T. de la muestra Nº 3, desarrollaron sintomatología compatible con VPM (agitación, disnea, frotación enérgica de hocico con manos, etc.) sin llegar a la muerte durante el período de observación.

Se analizó la posibilidad de predicción de fenómenos cuantificables de toxicidad en *Octopus tehuelchus* por medio de la detección y cuantificación de VPM en especies de moluscos silvestres considerados centinelas. Si bien la evidencia actual obtenida con el presente estudio, indicaría una similitud en los valores de toxicidad entre las especies bivalvas silvestres consideradas y la parte no comestible de los *Octopus tehuelchus* co-habitantes, se considera oportuno y necesario futuras investigaciones para obtener resultados más concluyentes.

Los bajos niveles de toxinas detectados en la Floración durante la cual se desarrolló este estudio no permiten asegurar que la presencia de toxinas del VPM en partes comestibles del pulpo como en el manto y brazos no estuviera presente. La fundamentación de esta observación se basa en los siguientes hechos concretos: 1-El límite de detección del ensayo es aproximadamente 40 µg de STX/100 g de tejido de marisco, con una precisión de ± 15-20 por ciento; 2-En previos estudios realizados sobre otros moluscos marinos comestibles, se observó que los valores de toxicidad en las partes comestibles eran detectados una vez que los valores de la porción digestiva presentaron niveles altos (En *Concholepas concholepas (loco chileno")* con 9 164 y 737 µg eq de STX/100 g en la glándula digestiva y en el músculo del pie, respectivamente) (FAO, 2005).

Hasta el momento, en base a los análisis efectuados y detallados, la detección de toxinas del grupo de las Saxitoxinas en partes no comestibles de ejemplares de *Octopus*

tehuelchus con concentraciones de las mismas similares a las halladas en especies bivalvas del mismo nicho ecológico me hace presuponer una correlación positiva de los niveles de toxicidad. Este hecho, junto con la característica de repetitividad del fenómeno de FANs en las zonas donde se produjo y los altos niveles de toxicidad documentados en zonas cercanas a la zona de estudio, es una señal de alerta por el riesgo aparejado.

El hecho de que el ensayo arrojara valores no detectables en la muestra Nº3 tanto en el bivalvo como en la sub-muestra de partes no comestibles de *Octopus tehuelchus* extraída con 10 días de posterioridad a haber resultado positivas ambas muestra, indicaría una buena capacidad de depuración en ambas especies. Si bien esta observación ya está registrada y por demás estudiada en los bivalvos que se analizaron, no está hasta el momento registrada para especies de Octópidos. Existía la posibilidad de que lo máximos valores de toxicidad en la especie predadora se presentaran 5 meses después del pico de floración como está documentado para el gasterópodos carnívoros *Concholepas concholepas (loco chileno") (*FAO, 2005).

Otro aspecto a considerar, son las diversas formas de extracción y cadenas de comercialización posibles. A continuación se mencionan:

- Una parte de los pulpos capturados se procesan en plantas pesqueras donde se evisceran, se limpian, se congelan y luego se comercializan, en las pescaderías costeras y de zonas aledañas.
- En los puestos de venta de los pulperos se pueden adquirir con o sin vísceras, frescos o congelados.
- Turistas que llegan a estas costas desde distintas regiones del país y que pulpean con fines de consumo y recreacionales.
- Hay pobladores locales que hacen extracción de pulpitos para consumo personal sin fines de lucro.

Por los resultados obtenidos considero que todas las situaciones en que los pulpitos llegan al consumidor final con vísceras o eviscerado bajo deficientes condiciones higiénico-sanitarias o por personal no idóneo y/o no supervisado por

personas capacitadas, constituyen hechos de riesgo para la salud por existir la posibilidad de que ocurra una intoxicación por VPM.

El presente hallazgo, revela por segunda vez a nivel mundial, que los Octópidos, ocasionalmente pueden actuar como tras-vectores de Saxitoxinas, constituyendo una nueva señal de alerta que asocia a moluscos de este género con ficotoxinas marinas del grupo de las Saxitoxinas. Comprobándose además que las toxinas son incorporadas vía alimentaria tras predar entre otros, a moluscos bentónicos como *Mytilus edulis platensis.*

Recomendaciones

El presente trabajo hace otro aporte a la evidencia preexistente de un riesgo potencial para la Salud Pública, producido por la explotación de un recurso marino silvestre sin los controles sanitarios correspondientes. Por lo que se detallan las siguientes recomendaciones operativas para Instituciones a cargo de la regulación y control de los recursos marinos, así como también para dependencias del área de Salud Pública provinciales y municipales, a su vez debería considerarse esta experiencia para el establecimiento futuro de nuevas líneas de investigación:

- Las instituciones encargadas del control y regulación de los recursos marítimos, así como el Ministerio de salud provincial y los municipios con ejidos marítimo-costeros, deberían regular y controlar la extracción, procesamiento y comercialización del *Octopus tehuelchus*, con el propósito de garantizar la inocuidad alimentaria de este recurso en pos de salvaguardar la salud de la población.
- Las Instituciones Públicas de salud con influencia sobre zonas de extracción de OT deberían desarrollar actividades de prevención primaria tendientes a la protección de la salud en recolectores ocasionales de este recurso marino silvestre.
- Se considera oportuno y necesario realizar futuras investigaciones sobre este recurso a fin de consolidar y ampliar la información obtenida hasta el presente.

Es importante que las mismas sean realizadas en zonas que se detectasen valores de toxicidad en las especies centinelas mayores 217 UR y 209 UR /100 grs.

- Todo organismo marino que represente un recurso alimenticio para algún grupo minoritario o mayoritario de la población del que haya evidencia de su potencial toxicidad por VPM o cualquier otro grupo de ficotoxinas marinas, debe ser sometido a un estudio de investigación esclarecedor de su situación real respecto a dicha toxicidad.

Caille, G.; Tagliorette, A.; Losano, P. y González, R. (1997) La recreación costera como uso alternativo de los recursos naturales en Patagonia. *Informe técnico Nª 34. Plan de Manejo Integrado de la Zona Costera Patagónica*.

Carreto, J.; Elbustos, C.; Sancho, H.; Carignan, M.; Yasumoto, T. y Oshima, Y. (1996) Comparative studies on paralytic shellfish toxin profiles of marine snails, mussels and an *Alexandrium tamarense* isolate from the Mar del Plata coast (Argentina). *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero* Nº 10: 101-107.

Carreto, J.; Corignan, M.; Montoya, N. y Cucchi-Colleoni, A. (2007) Ecología del fitoplancton en los sistemas frontales del mar Argentino. El mar y sus recursos pesqueros 5: 11-31

Carreto, J.; Montoya, N. y Carignan, M. (2007) Floraciones de algas tóxicas. Atlas de sensibilidad ambiental de las costas y el mar argentino.

Carreto, J. (2001) *Mareas rojas. Una visión actual de esta problemática en el Mar Argentino.* Proyecto Marea Roja. *Informe de difusión Nº 068*. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero.

Carreto, J.; Akselman, R.; Benavides, H.; Carignan, M.; Colleoni, D.; Montoya, N. y Negri, R. (2000). *Breve reseña sobre los fenómenos de floraciones algales en la Plataforma Argentina*. Pesquerias de Argentina, 1997-1999: 343-351.

Cousseau, M. y Perrota, R. (2004) Peces marinos de Argentina. Biología, distribución, pesca. *Publicaciones especiales INIDEP*. Mar del Plata, 167 pp.

Esnal, G.B. y Boltovskoy, D. (2007) *Zooplancton nerítico y oceánico*. El mar y sus recursos pesqueros 5: 36.

FAO (2005) Biotoxinas Marinas. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Hernández-Orozco, M. y Gárate-Lizárraga, I. (2006) Síndrome de envenenamiento paralizante por consumo de moluscos. *Revista Biomédica* 17:45-60.

Herrera-Sepúlveda, A.; Sierra-Beltrán, A. y Hernández-Saavedra, N. (2008) Floraciones Algales Nocivas: Perspectivas y Estrategias Biotecnológicas Para Su Detección**;** *BioTecnología*, Vol. 12 No. 1, 23-40.

Ito, K.; Asakawa, M.; Sida, Y. y Miyazawa, K. (2003) Presencia de toxinas paralizantes de molusco (PSP) en las estrellas de mar Asterina pectinifera recogidos de la Bahía de Kure, Prefectura de Hiroshima. *Toxicon* 41, 291-295.

Lasta, M.; Ciocco, N.; Bremec, C. y Roux A. (1998) *Moluscos bivalvos y gasterópodos*. El mar y sus recursos pesqueros 2:115-142.

Pulpito patagónico. Small Patagonian Octopus. *Octopus tehuelchus* (Octopodidae). Instituto de Biología Marina y Pesquera "*Alte. Storni*". www.golfosanmatias.org (22-08-2008).

Ramirez, F. (2007) *Distribución y alimentación del zooplancton*. El mar y sus recursos pesqueros 5: 45-69.

Ré, M.E. (1998) *Pulpos y Otopódidos.* El mar y sus recursos pesqueros 2:69-98.

Ré, M.E. (1998) *Pesquería de pulpos*. El mar y sus recursos pesqueros 2:99-114.

Reguera, B. R. (2003) Biología, autoecología y toxinología de las principales especies del género Dinophysis asociadas a episodios de Intoxicación Diarreogénica por Bivalvos (DSP). Tesis Doctoral Universidad de Barcelona Facultad de Biología - Departamento de Ecología.

Robertson, A.; Stirling, D.; Robillot, C.; Llewellyn, L. y Negri A. (2004) First report of saxitoxin in Octopi. *Toxicon* 44, 765–771.

Sar, E. A.; Ferrario, M.E. y Reguera B. (2002) *Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano*. Instituto Español de Oceanografía.

Suarez-Isla, B. y Guzman-Mendez, L. (1994) *Floraciones de algas tóxicas, mareas rojas y toxinas marinas.* Universidad de Chile, Instituto de Fomento Pesquero y Universidad de Magallanes.