



**Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza**



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria



ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	1
3. INTRODUCCIÓN.....	2
4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	4
5. METODOLOGÍA.....	4
5.1. Diseño del trabajo.....	4
5.2. Búsqueda bibliográfica.....	5
5.3. Criterios de selección.....	5
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
6.1. Generalidades sobre el fitoplancton.....	8
6.2. Especies fitoplanctónicas productoras de toxinas.....	10
6.3. Clasificación de las biotoxinas.....	11
6.3.1. Biotoxinas ligadas al consumo preferente de mariscos.....	12
6.3.2. Biotoxinas producto de ictiotoxismos extrínsecos.....	17
6.4. Caracterización del riesgo.....	20
6.5. Causas y consideraciones sobre el impacto actual de las biotoxinas marinas.....	21
6.6. Avances en la gestión del riesgo de las biotoxinas marinas.....	23
7. CONCLUSIONES.....	26
8. CONCLUSIONS.....	27
9. VALORACIÓN PERSONAL.....	28
10. BIBLIOGRAFÍA.....	29
11. ANEXOS.....	36
12.1. Anexo I → Abreviaturas.....	36
12.2. Anexo II → Fotografía aérea de una marea roja.....	37
12.3. Anexo II → Tabla de dosis agudas de referencia para las biotoxinas marinas..	37

1. RESUMEN

Son numerosos los contaminantes que pueden encontrarse en el medio acuático marino. De entre ellos, los originados por el fitoplancton son, hoy día, un motivo importante de preocupación para la Salud Pública.

Los organismos microscópicos que constituyen el fitoplancton pueden multiplicarse explosivamente bajo condiciones ambientales favorables, constituyendo lo que se conoce como "floraciones algares nocivas" (FAN), produciendo un número importante y diverso de biotoxinas que se acumulan en el pescado y el marisco, más concretamente en los moluscos bivalvos. Dichas biotoxinas pueden afectar al hombre cuando ingiere productos del mar contaminados, causándole intoxicaciones de especial gravedad en algunos casos.

Durante la última década, las proliferaciones de algas nocivas se han convertido en una preocupación ambiental tanto a nivel nacional como internacional, debido a un aumento explosivo en su desarrollo. Las condiciones necesarias para la proliferación del fitoplancton no están totalmente aclaradas, pero probablemente influyan las condiciones climáticas e hidrográficas y otros factores como las variaciones en las corrientes verticales, la transparencia, la turbulencia o la salinidad de las aguas, así como la concentración de nutrientes disueltos, los vientos o la iluminación superficial.

En los últimos años se ha percibido la aparición de ciertas biotoxinas marinas en zonas geográficas o latitudes donde nunca habían estado presentes anteriormente, lo que supone un riesgo emergente para la Salud Pública.

El presente trabajo fin de grado tiene como objetivo llevar a cabo una revisión científica de este problema emergente actualizando la caracterización del peligro y el análisis de su riesgo y analizando las causas e impacto actual sobre la Salud Pública; al mismo tiempo se revisan las medidas más eficaces para su gestión.

2. SUMMARY

There are numerous pollutants that can be found in the marine aquatic environment. Among them, those originated by phytoplankton are, today, an important cause of concern for Public Health.

Microscopic organisms that constitute phytoplankton can be explosively multiplied under advantageous environmental conditions, constituting what is known as "harmful algal blooms" (HABs), producing a large and diverse number of biotoxins that accumulate in fish and shellfish,

more specifically in bivalve molluscs. Humans can be affected by such biotoxins when they eat contaminated seafood, in the last resort, it can cause in particularly serious poisoning.

During the last decade, harmful algal blooms have become an environmental concern both nationally and internationally, due to an explosive increase in their development. Until now, there doesn't exist an agreement on the conditions, that are required for phytoplankton proliferation. Scientific research confirms that this proliferation could be influenced by climatic and hydrographic conditions as well as by other factors like variations in vertical currents, transparency, turbulence or salinity of the water, or by the dissolved nutrient concentration, winds or surface illumination.

In recent years an emerging risk for Public Health is represented by the appearance of certain marine biotoxins that has been perceived in geographical areas or latitudes where they never had been identified before.

The paper's purpose is to carry out a scientific review of this emerging problem by updating the risk characterization and the analysis of its risk and analysing the causes and the real impact on Public Health; at the same time, the most effective measures for its management are reviewed.

3. INTRODUCCIÓN

Las algas son vegetales acuáticos autótrofos de organización sencilla, que pueden desarrollarse tanto en aguas dulces como saladas. Sus orgánulos fotosintetizadores pueden presentar diferentes pigmentos. Dichos pigmentos son los responsables de la coloración tan variada de estos organismos, esenciales para su diferenciación, pudiendo presentarse como verde-azulados, pardos, rojos, negros, entre otros (Crespo, 2015).

Principalmente, según su hábitat se pueden clasificar en dos grupos: algas planctónicas, pertenecientes a las comunidades pelágicas, si viven en la superficie o en la columna de agua o algas pertenecientes a las comunidades bentónicas, aquellas que habitan en el fondo de los ecosistemas acuáticos. Fundamentalmente, los organismos que conforman el fitoplancton son las algas planctónicas microscópicas (Bower *et al.*, 1981; Martín *et al.*, 2005).

El fitoplancton es el primer eslabón de la cadena trófica marina. Estas microalgas se hallan flotando en el medio acuático, cercanas a la superficie, constituyendo la base de la cadena alimentaria de la cual dependen prácticamente todos los organismos acuáticos (López *et al.*, 2014). Además de ello, se calcula que casi dos tercios del oxígeno atmosférico corresponden a la contribución del fitoplancton (Landsberg, 2010). La parte negativa radica en que las algas

planctónicas microscópicas bajo ciertas condiciones ambientales como temperatura, estabilidad del agua, salinidad, luminosidad y/o disponibilidad de nutrientes, pueden proliferar de forma explosiva provocando un fenómeno que se conoce con el nombre de Floraciones Algares Nocivas (FAN) o “Bloom”. De este modo se originan las “mareas rojas” (Martín *et al.*, 2005).

Esta es la denominación con la que comúnmente se conoce a las floraciones algares, pero el color puede variar según el tipo de protista que haya proliferado y el tipo de pigmento correspondiente, así como su concentración y la profundidad a la que se encuentre (Martín *et al.*, 2005).

Las FAN pueden ser tóxicas o no tóxicas. Hoy día, se conocen aproximadamente 5.000 especies de fitoplancton marino, de entre ellas, sólo 300 son las que pueden desarrollar proliferaciones hasta el punto de modificar el color del mar, y a su vez, entre ellas, son 85 las que poseen un potencial tóxico (James *et al.*, 2010). Pero a pesar del bajo porcentaje de algas tóxicas (aproximadamente el 1,5%), sus efectos a nivel sanitario, económico y ambiental son altamente dañinos (Landsberg, 2010). Por un lado, entre las consideradas como no tóxicas, la mayor parte de las veces su proliferación causa solamente decoloraciones inocuas en el agua, pero en determinadas ocasiones pueden afectar gravemente a los peces y otros organismos como moluscos bivalvos, debido a que cuando el “bloom” llega a su fin, la degradación de las microalgas produce una situación de anoxia en el agua, afectando a la disponibilidad y/o captación de oxígeno, causando elevadas mortalidades en dichas especies acuáticas (Crespo, 2015).

En el caso de las Floraciones Algares Nocivas tóxicas, se encuentran, entre el fitoplancton, unas microalgas específicas capaces de producir mediante su metabolismo unas determinadas biotoxinas que resultan críticas para el consumo de los mariscos bivalvos que se alimentan por filtración (ostras, mejillones, vieiras y almejas), así como para las larvas de crustáceos y algunos peces comercialmente importantes, ya que estos organismos al consumir las microalgas, acumulan dichas biotoxinas en sus tejidos, llegando al hombre u otros depredadores a través de la cadena trófica (Pérez, 2013). Otro factor de relevancia es que estas biotoxinas son termoestables; de esta manera y en última instancia, otros animales susceptibles o los propios seres humanos pueden verse afectados tras consumir estas especies (Abad y Gilabert, 2008). Por lo tanto, se sabe que son varias las biotoxinas implicadas en las citadas floraciones algares nocivas y, a su vez, existen distintas especies de microalgas capaces de producirlas. No obstante, se conoce que hasta la fecha las fíctoxinas presentaban un patrón de distribución geográfica limitado; sin embargo, en la actualidad se ha detectado un aumento de la frecuencia, intensidad

y distribución geográfica de este fenómeno, así como de los compuestos tóxicos presentes en la cadena alimentaria marina (Lindahl, 1998; Martín *et al.*, 2005).

4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El trabajo de Fin de Grado que se propone tiene como objetivo global un estudio de revisión sobre las biotoxinas marinas en emergencia, lo cual constituye un motivo de alarma en la actualidad, analizando los fenómenos causantes y el riesgo que supone esta emergencia para la Salud Pública, tanto a nivel nacional como mundial. Más concretamente se tratarán los siguientes objetivos específicos:

- A) Definir y especificar los principales síndromes e intoxicaciones asociados al consumo de marisco y pescado contaminados por biotoxinas marinas, detallando causas, efectos y evaluando los riesgos y límites para cada una de las diferentes toxinas.
- B) Determinar cuáles son los factores responsables del incremento de la proliferación algar, así como de las circunstancias necesarias para que se originen dichas biotoxinas marinas.
- C) Evaluar, a partir de los resultados de los informes publicados, las causas que han provocado la aparición de ciertas biotoxinas marinas en latitudes donde nunca antes habían estado presentes.
- D) Realizar una búsqueda bibliográfica e identificar los artículos relevantes para el tema de la revisión, selección de los mismos y posterior evaluación, recopilando información para determinar las biotoxinas marinas consideradas emergentes por su creciente amenaza para la Salud Pública.
- E) Realizar una revisión de las medidas propuestas para atenuar el problema actual y revisión de las recomendaciones para una mejor gestión de riesgos que permita reducir los efectos nocivos de estas toxinas para la Salud Pública, tanto a escala mundial como nacional.

5. METODOLOGÍA

5.1. Diseño del trabajo

La realización de este TFG se ha desarrollado en cuatro etapas:

- Definición de los objetivos de la revisión
- Realización de la búsqueda bibliográfica
- Organización y evaluación de la información
- Redacción de la memoria

Este TFG contribuye a la adquisición de competencias propias de la profesión veterinaria en su perfil de garante de la seguridad alimentaria, tanto a nivel de empresa como a nivel del ejercicio oficial.

5.2. Búsqueda bibliográfica

La metodología seguida se ha basado en una búsqueda bibliográfica utilizando las principales bases de datos científicas disponibles, ya sea ALCORZE, Science Direct, Med-Plus, Google Academic, Ivis, ResearchGate, PubMed, entre otras, de donde se han extraído libros, artículos, guías e informes de gran interés para la realización de esta memoria.

Asimismo, también se han consultado las redes nacionales e internacionales relacionadas con riesgos emergentes, en los que se han encontrado artículos e importantes estudios en referencia a la Salud Pública, con abundante información de calidad y rigor científico. Entre ellos, FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria), Códex Alimentarius (Organización mundial que trabaja por la seguridad alimentaria) y AECOSAN (Agencia Española del Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición). Asimismo, se han consultado los datos disponibles de los sistemas de gestión de alertas alimentarias, como RASFF (Food and Feed Safety Alerts) y SCIRI (Sistema Coordinado de Intercambio de Información), a fin de establecer un análisis pormenorizado del riesgo que suponen, en la actualidad, este tipo de agentes contaminantes.

5.3. Criterios de selección

La información recopilada para la elaboración del informe se ha extraído a partir de las plataformas y redes nacionales e internacionales citadas anteriormente junto con, aproximadamente 200 artículos de rigor científico, los cuales han servido tanto para la redacción de esta memoria como para ayudar a profundizar en la materia y alcanzar una mejor comprensión. De entre ellos se han extraído citas y definiciones, con tal de redactar la memoria desde un punto de vista científico, pero facilitando el entendimiento y la percepción de este riesgo emergente. Además, el estudio del actual riesgo que suponen las biotoxinas marinas queda recogido en las últimas publicaciones por parte de la EFSA (desde el año 2008) hasta sus posteriores modificaciones y actualizaciones (año 2017), con el fin de recopilar y aportar la información más actual, bajo un marco de rigurosidad científica.

Palabras clave: Biotoxinas marinas/marine biotoxins, fitoplancton/phytoplankton, microalgas/microalgae, fíctoxinas/phycotoxins, floraciones algares nocivas/harmful algal blooms, riesgo emergente/emerging risk, intoxicación/intoxication.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A pesar de todos los beneficios, el consumo de productos pesqueros puede suponer un riesgo para la salud de los consumidores debido a la presencia de diferentes tipos de peligros sanitarios. Se entiende por peligro "un agente biológico, químico o físico presente en el alimento o situación causada por él, que tenga un efecto adverso en la salud" (CAC, 2003). Estos peligros pueden introducirse en los productos de la pesca a partir del medio acuático o en las etapas siguientes (captura, acondicionamiento, transporte y preparación), así como cuando se produzca una deficiencia o prácticas de manipulación de forma negligente (Félix, 2012).

Son diversos los factores que pueden determinar el tipo de peligro presente, en particular, la FAO considera de especial relevancia la especie y el medio acuático ya sea salvaje o de acuicultura (FAO, 2009). Por lo tanto, los productos de la pesca pueden ser causa de enfermedades de origen alimentario, con uno o más agentes causantes de enfermedad, pudiendo ser bacterias, parásitos, virus y hongos, así como sustancias tóxicas de origen no biótico (Neves, 2012). Los productos de la pesca son más perecederos cuando se comparan con otros productos de origen animal y, por lo tanto, presentan una vida útil más limitada (Patrocínio, 2009). Además, los métodos de captura y el descontrol de algunos factores extrínsecos (humedad y temperatura) también pueden contribuir a la aparición y proliferación de microorganismos (Vaz-Pires, 2006; Tavares de Pinho, 2015).

Los productos de la pesca pueden sufrir diferentes tipos de contaminación, que pueden agruparse en peligros físicos, químicos y biológicos (Tavares de Pinho, 2015).

a) Peligros físicos: En el grupo de los peligros físicos se incluyen los cuerpos extraños, en particular los materiales pesqueros. Este grupo de peligros puede causar efectos adversos en la salud del consumidor, tales como asfixia, traumatismo dental, laceraciones bucales, esofágicas o incluso intestinales (FDA, 2011). Sin embargo, estos peligros representan un riesgo muy pequeño y de resolución simple (Veiga *et al.*, 2012).

b) Peligros químicos: Son varios los peligros químicos que se pueden acumular en el pescado predisponiendo al consumidor a un elevado riesgo de exposición a estas sustancias. Este tipo de peligros sanitarios tiene un origen esencialmente antropogénico debido a las descargas de efluentes industriales en los océanos, al procesamiento inadecuado de los residuos o debido a la contaminación con productos químicos de uso agrícola (FAO, 2009).

c) Biológicos: Este es el grupo que representa una mayor amenaza para los consumidores, ya que ofrece un mayor riesgo para la inocuidad alimentaria (Veiga *et al.*, 2012). Su origen puede

estar relacionado con procesos naturales que involucren la ocurrencia de toxinas producidas por el propio pescado (tetrodotoxina y aminas biogénicas) o por otros organismos vivos (toxinas de las algas marinas) que, por ser altamente tóxicos, constituyen un serio riesgo para la salud humana y animal. También puede estar relacionada con la contaminación del ambiente acuático y/o la manipulación de estos productos desde el momento de la captura (tal es el caso de los microorganismos patógenos y parásitos) (Tavares de Pinho, 2015).

Dentro de los agentes biológicos productores de intoxicaciones, se encuentran las microalgas, o fitoplancton concretamente, las cuales representan la base de la cadena alimentaria marina y son responsables de la producción de toxinas nocivas para la salud humana (FDA, 2011). Concretamente, pueden producir ictiotoxismos. Estos, se deben a la ingestión de determinadas especies de pescados en los cuales la sustancia tóxica se halla impregnando el sistema muscular o las vísceras. De tal modo que hablaremos de:

- Ictiosarcotoxicismo, cuando la biotoxina está en tejido muscular.
- Ictiohemotoxicismo, cuando la biotoxina está en la sangre.
- Ictoootoxicismo, cuando la biotoxina se encuentre en las gónadas.

Todos ellos aparecen de forma intrínseca en el pescado, pero además, el ictiotoxismo también puede aparecer de forma extrínseca, a partir de una mala manipulación de los productos pesqueros y/o por la presencia de biotoxinas en el medio marino, el cual será nuestro tema de interés. Su aparición depende de circunstancias ecológicas, ambientales, estacionales o alimenticias, por lo que la toxicidad es esporádica y surge de forma imprevista, creando verdaderos problemas sanitarios.

A pesar de tener un mayor impacto en bivalvos, también es posible detectar este tipo de toxinas en los peces. En determinadas condiciones ambientales (por ejemplo, temperatura del agua, luz, salinidad y presencia de nutrientes) (Huss *et al.*, 2003), las microalgas, pueden proliferar en altas cantidades, fenómeno denominado "Harmful Algal Blooms" (HAB), es decir, proliferación de algas nocivas (PAN) (Vale, 2004; Félix, 2012). El cambio climático puede ser un adyuvante para la aparición de estas toxinas en diferentes áreas además de las zonas tropicales, donde se encontraban habitualmente (Vale, 2011; Pulido, 2016).

El control de las biotoxinas se considera un punto crítico, siendo difícil la prevención de las intoxicaciones provocadas por este tipo de toxinas ya que los métodos de secado, ahumado, salazón y cocción no las eliminan y, además, no existen cambios organolépticos en los productos de la pesca que puedan estar relacionados con la presencia de biotoxinas. De este modo, el control pasa por la vigilancia y el seguimiento de la cantidad de algas marinas productoras de

toxinas, en las zonas de captura o recolección y, del nivel de toxinas producidas. La depuración sería el método más indicado para la eliminación de estas toxinas, pero sólo puede aplicarse a bivalvos y, aun así, está presente el riesgo de que no abran sus valvas y que no se pueda filtrar el agua limpia, manteniendo su toxicidad, por lo que no se reconoce como un método eficaz (Huss *et al.*, 2003; Gvozdenović Sladjana *et al.*, 2015).

6.1. Generalidades sobre el fitoplancton

En 1887 Victor Hensen define el concepto "plancton" como "*todo aquello que se mueve en el agua, arriba o abajo, muerto o vivo*". Los organismos de los ecosistemas acuáticos se presentan distribuidos en diferentes localizaciones, lo que permite clasificarlos en dos comunidades; las comunidades bentónicas, cuyos organismos viven adheridos a un sustrato, bien a rocas, arena o limos como las algas, esponjas, bivalvos, etc. O bien a la superficie de vegetales u otros organismos y, las comunidades pelágicas, constituidas por organismos que viven suspendidos en el agua. Entre ellos distinguimos el necton, organismos como peces o cefalópodos que son nadadores activos, y el plancton que incluye a organismos muy pequeños que están suspendidos más o menos pasivamente (Castellví Linde, 2016).

El plancton, a su vez, está constituido por dos grandes grupos; el zooplancton, integrado por protozoos y animales en forma larvaria o adulta, son organismos consumidores primarios y, el fitoplancton, formado por algas unicelulares, bacterias fotosintéticas y cianobacterias. Son organismos productores que forman la base de la red trófica marina (Castellví Linde, 2016).

El término fitoplancton proviene del griego *phyton* - planta y *planktos* - errante. Es una comunidad de organismos acuáticos autótrofos fotosintetizadores que viven suspendidos en la zona fótica de la columna de agua (Reynolds, 1984; Kilham *et al.*, 1988; Oliva-Martínez *et al.*, 2014) y su capacidad natatoria no logra nunca superar la inercia de las mareas, las olas, o las corrientes (López, *et al.*, 2014). Se consideran el primer eslabón de la cadena trófica. Además, son convertidores mucho más eficientes de la energía solar que cualquier planta terrestre conocida, porque crecen en la suspensión donde tienen el acceso ilimitado al agua y acceso más eficiente al CO₂ y a los nutrientes (Salazar-González, 2006; López *et al.*, 2014).

La presencia de fitoplancton sigue un ciclo dinámico, que puede llevar a incrementos repentinos en la biomasa del fitoplancton (Castillo, 2014). Estas proliferaciones o "floraciones" son acontecimientos naturales en la dinámica de los ecosistemas marinos. En la mayoría de los casos, estos fenómenos son beneficiosos para la acuicultura y la producción de los recursos marinos que se alimentan de estos organismos. (Suárez *et al.*, 1999), pero en ocasiones, dependiendo de las condiciones ambientales prevalentes, cuando las especies algares son

tóxicas se generan Floraciones de Algas Nocivas (FAN) (Castillo, 2014). La palabra “floración” se emplea para indicar el crecimiento explosivo de cualquiera de estos organismos, cuyo color puede variar del rojo indicado comúnmente (las denominadas “mareas rojas”) (Véase Anexo II) a diferentes tonalidades de amarillo, verde, marrón o azul según el tipo de protista, su profundidades y concentración (Wher, 2003). La denominación corriente de “marea roja” resulta del hecho que a menudo cantidades masivas de organismos se presentan como franjas rojas sobre la superficie del agua (Bower *et al.*, 1981; Martin *et al.*, 2005). Algunas especies producen decoloraciones del agua básicamente inocuas. Otras especies, en cambio, pueden florecer tan densamente, bajo condiciones excepcionales en bahías protegidas, que matan indiscriminadamente peces e invertebrados agotando el oxígeno, creando zonas anóxicas al entrar en senescencia y, causando de ese modo mortalidad de los peces o alterando sus rutas migratorias (Conley *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2015). Otras especies de algas pueden ser perjudiciales para peces e invertebrados (especialmente en sistemas de acuacultura intensivos) dañando o tapando sus agallas (Martin *et al.*, 2005) y provocando mortandad por acción mecánica o química (obturación de agallas en peces y filtros en bivalvos o producción de anoxia en el ecosistema) (Abad y Gilabert, 2008).

Esto significa que no sólo las especies tóxicas del fitoplancton pueden ser nocivas, sino que otras especies perfectamente inocuas en el medio natural pueden transformarse en inocentes y letales competidores por nutrientes vitales (Suárez *et al.*, 1999). Hay, además, especies de microalgas capaces de producir poderosas biotoxinas, también llamadas ficotoxinas o toxinas algares, que se desplazan por la cadena alimentaria acumulándose principalmente en las glándulas digestivas de moluscos, crustáceos y peces de escama, sin provocar efectos adversos en ellos (Peteva *et al.*, 2016), pero, cuando finalmente sean consumidos por los seres humanos, causarán en ellos diversas enfermedades (Hallegraeff *et al.*, 1995; Lindahl, 1998; Martin *et al.*, 2005).

De las 5000 especies de microalgas conocidas, unas 300 han proliferado en diversas partes del mundo y son capaces de producir FAN (James *et al.*, 2010; Crespo, 2015). Entre ellas, alrededor de 85 especies de fitoplancton producen toxinas, de las que aproximadamente el 75% son dinoflagelados (Sournia, 1995; Smayda, 1997; Abad, *et al.*, 2008), que pueden contaminar alimentos marinos y provocar mortandad con densidades de células bajas (García-Mendoza *et al.*, 2016). No obstante, las microalgas no son los únicos organismos capaces de sintetizar toxinas marinas, aunque constituyen el principal grupo productor, pero también existen algunas especies de bacterias capaces de producirlas (Spencer *et al.*, 2012).

6.2. Especies fitoplanctónicas productoras de toxinas

Las ficotoxinas marinas son metabolitos secundarios producidos por algunas especies de microalgas fitoplanctónicas pertenecientes, la mayoría, al grupo de los dinoflagelados (Ardilla de la Rosa, 2001), sin papel explícito en la economía interna de los organismos productores y con actividades muy específicas en mamíferos. Son probablemente utilizadas por los organismos productores como una forma de luchar por espacios, combatir la depredación o como defensa contra un crecimiento desmesurado de otros organismos (Botana *et al.*, 1996; Martin *et al.*, 2005). Sin embargo, su mayor importancia radica en que estas microalgas tóxicas son consumidas y sus toxinas bioacumuladas por otros organismos marinos, como moluscos o peces, que luego son utilizados para consumo humano (Sun *et al.*, 2016).

Todos los mariscos, más frecuentemente los moluscos bivalvos (almejas, mejillones, vieiras, navajas, ostras, ostiones, entre otros), así como gasterópodos, crustáceos, equinodermos, y, en menor medida peces marinos tropicales son capaces de acumular y/o vehicular biotoxinas (Drews *et al.*, 2013; Crespo, 2015). Las principales microalgas fitoplanctónicas productoras de toxinas son, según sus características morfológicas:

- a) **Dinoflagelados:** Los dinoflagelados son organismos unicelulares, ubicados dentro del microplancton, de carácter cosmopolita. Se distribuyen en función de la temperatura, salinidad y profundidad, y sus características morfológicas y requerimientos nutritivos los hacen exitosos desde el punto de vista reproductivo, donde la estabilidad en la columna de agua es mayor y la concentración de nutrientes más baja (Tomas, 1997; López *et al.*, 2014). Constituyen un grupo exitoso de microorganismos adaptados a hábitats pelágicos y bentónicos, con muchas especies cosmopolitas identificables en todos los mares (Burkholder *et al.*, 2008; Crespo, 2015).
- b) **Diatomeas:** Las diatomeas son un grupo de microalgas unicelulares pertenecientes a la Clase *Bacillariophyceae* (López *et al.*, 2014). El grupo de las diatomeas comprende de 10,000 a 12,000 especies, tanto autótrofas como heterótrofas (Norton *et al.*, 1996; Crespo, 2015). Los dinoflagelados en conjunto con las diatomeas son los principales componentes del fitoplancton microscópico y ambos forman parte de la base de la cadena alimentaria. Por ello, las ficotoxinas producidas por estos dos grupos son capaces de afectar a peces, aves y mamíferos consumidores, debido a su bioacumulación a través de la cadena trófica (James *et al.*, 2010; Crespo, 2015).
- c) **Cianobacterias:** Las cianobacterias se consideran una unión entre procariotas y eucariotas fotosintéticos con capacidad de sintetizar clorofila. Tienen características tanto de bacterias (pared celular de tipo procariota, ausencia de membrana nuclear y de orgánulos subcelulares),

como de algas (tamaño y maquinaria fotosintética) (Pérez *et al.*, 2008). Estos microorganismos procarióticos presentan pigmentos fotosintéticos como la ficocianina, un pigmento de color azul por el cual se les denomina como algas verde-azules. Estas microalgas producen una amplia variedad de moléculas y metabolitos, donde se incluyen las toxinas. Según sus efectos tóxicos se pueden clasificar en: Hepatotoxinas, neurotoxinas y dermatotoxinas. Las toxinas hepáticas son las más frecuentes en el medio ambiente, aunque el número de especies productoras de neurotoxinas está en constante aumento (Bernard y Cécile, 2014).

6.3. Clasificación de las biotoxinas

Debido a la ingesta de productos contaminados con biotoxinas se producen anualmente alrededor de 60.000 intoxicaciones en humanos en todo el mundo, con unos datos de mortalidad del 1,5% (Van Dolah, 2000a; Pérez, 2013). Además de perjudicar a la salud humana, estos compuestos provocan la muerte de peces, aves o mamíferos y afectan gravemente a la economía en el sector de la acuicultura y a la industria conservera, a causa de la clausura temporal de zonas de marisqueo, a la paralización de stocks de peces, o a la desconfianza que los brotes tóxicos generan en los consumidores (Pérez, 2013). Los efectos de las ficotoxinas en seres humanos causan gran variedad de síntomas, entre los que se incluyen gastrointestinales (diarrea, vómitos, dolores abdominales), respiratorios, neurológicos (convulsiones, pérdida de sensibilidad, coma, amnesia), cardiovasculares (bradicardias), e incluso en última instancia son capaces de causar la muerte (Van Dolah, 2000a; Wang, 2008; Munday y Reeve, 2013; Crespo, 2015). Inicialmente, estas toxinas se clasificaron en cinco grandes grupos basados en la sintomatología (Tabla 1):

Tabla 1.- Clasificación de los principales síndromes causados por biotoxinas marinas

BIOTOXINAS MARINAS	
Clasificación según sintomatología	
Grupo	Toxina Representativa
Intoxicación Paralítica por el marisco	Saxitoxina
Intoxicación Diarreica por el marisco	Ácido Okadaico
Intoxicación Neurotóxica por el marisco	Brevetoxinas
Intoxicación Amnésica por el marisco	Ácido Domoico
Intoxicación Ciguatérica por el marisco	Ciguatoxina

Sin embargo, con el tiempo, la aparición de nuevas toxinas y los avances en los estudios farmacológicos de las ya conocidas, hicieron insuficiente esta clasificación promoviendo una distinta organización (Fonfría, 2009). La clasificación de las toxinas marinas en cuanto a su estructura química es la que está actualmente aceptada por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (*Food and Agriculture Organization of the United*

Nations, FAO), coincidiendo muchos de estos grupos con la división en función de su sintomatología (Toyofuku, 2006; Crespo, 2015).

De acuerdo a su estructura química, las biotoxinas marinas se clasifican en 8 grupos (EFSA, 2009a; Visciano *et al.*, 2016).

- **Saxitoxina (STX)** y sus derivados, causantes de la intoxicación paralizante por consumo de marisco (PSP)
- **Ácido okadaico (AO)** y sus derivados, causantes de la intoxicación diarreica por consumo de marisco (DSP)
- **Ácido domoico (AD)** y sus derivados, causantes de la intoxicación amnésica por consumo de marisco (ASP)
- **Brevetoxinas (PbTX)**, causantes de la intoxicación neurotóxica por consumo de marisco (NSP)
- **Azaspirácidos (AZA)** causantes del envenenamiento por azaspirácido (AZP)
- **Iminas cíclicas (IC)**
- **Pectenotoxinas (PTX)**
- **Yessotoxinas (YTX)**

Además de los anteriores, existen otros grupos de toxinas, como:

- **Ciguatoxinas (CTX)**, responsables de la intoxicación ciguatérica por consumo de pescado (CFP)
- **Tetrodotoxina (TTX)** y sus derivados, responsables de la intoxicación por pez globo en Japón
- **Palitoxina (PITX)** y sus análogos las ostreocinas, ovatatoxinas y mascarenotoxinas, cuyos síntomas, similares a los provocados por la ciguatoxina, se deben a la ingesta de peces y crustáceos asociados a arrecifes coralinos (Pérez, 2013).

A continuación, se describen las principales biotoxinas de interés para la Salud Pública.

A) Biotoxinas ligadas al consumo preferente de mariscos:

6.3.1. Saxitoxinas: La saxitoxina (STX) fue el primer compuesto de la familia de las toxinas paralizantes (PSP) en aislarse, concretamente en 1957, de la almeja *Saxidomus giganteus* (Schantz *et al.*, 1957). El grupo de las toxinas paralizantes (cuya intoxicación recibe la denominación de Intoxicación paralizante por mariscos: PSP), está formado por más de 20 neurotoxinas (Pérez 2013), y son unas de las más peligrosas y extendidas del mundo. Cada año se contabilizan a nivel mundial cerca de 2000 intoxicaciones, con una mortalidad del 15% (Fonfría, 2009).

Tanto los dinoflagelados de los géneros *Alexandrium*, *Gymnodinium* y *Pyrodinium* (Harada *et al.*, 1982; Hansen *et al.*, 1992; Oshima *et al.*, 1993), como las cianobacterias *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena circinalis*, *Lyngbya wollei* y *Cylindrospermopsis raciborskii* (Lagos *et al.*, 1999; Pomati *et al.*, 2000) son los responsables de la producción de estas toxinas (Pérez, 2013). Los mariscos asociados a casos de intoxicación provocados por las toxinas paralizantes o PSP, son principalmente bivalvos filtradores como mejillones, almejas, y en menor proporción, ostras,

vieiras y berberechos (FAO, 2004). Pero además de los anteriores moluscos, estas toxinas se han encontrado en orejas de mar, en distintas especies de crustáceos, en estrellas de mar y en peces como el pez globo, las caballas, peces de agua dulce, etc. (Llewellyn, 2006; Pérez, 2013).

Actualmente en la Unión Europea (UE) (EFSA, 2009a) y en países como Australia, Nueva Zelanda, Chile, Canadá, México, Marruecos, Perú, Singapur, Estados Unidos, Uruguay o Venezuela, existe un límite máximo permitido de 800 µg de equivalentes de STX por kg de carne de molusco (EFSA, 2009a; Pérez, 2013).

6.3.2. Ácido okadaico: El ácido okadaico (AO) y sus análogos, las dinofisistoxinas (DTXs) forman el grupo del ácido okadaico, productoras de la Intoxicación diarreica por mariscos (DSP) (Nielsen *et al.*, 2016). Estas toxinas, presentes hoy en día en todos los continentes (García *et al.*, 2005; Nielsen *et al.*, 2016), deben su aparición a dinoflagelados de los géneros *Dinophysis* y *Prorocentrum* (Ten-Hage *et al.*, 2000; Pérez, 2013), que producen una toxina que se acumula en las glándulas digestivas de moluscos filtradores como mejillones, vieiras, ostras, berberechos, navajas o almejas, así como en algunos crustáceos y gasterópodos que, al ser ingeridos, causan toxicidad en el hombre (Lee *et al.*, 2012).

Los principales síntomas de la intoxicación que producen son diarrea, náuseas, vómitos, y dolores abdominales (Valdiglesias *et al.*, 2011). Estos trastornos gastrointestinales suelen aparecer durante las primeras cuatro horas desde la ingestión del molusco contaminado y desaparecer al cabo de tres días. Hasta el momento no se ha registrado ningún episodio letal en humanos ni tampoco en aves, peces ni mamíferos marinos (Fonfría, 2009).

Actualmente el límite máximo permitido para el AO en la Unión Europea, junto con las DTXs y las pectenotoxinas, es de 160 µg de equivalentes de AO/kg (Reglamento (CE) nº 853/2004). Límites similares se han establecido en países como Chile, Nueva Zelanda o Australia (Pérez, 2013).

6.3.3. Ácido Domoico: El primer envenenamiento documentado provocado por ácido domoico (AD) ocurrió en 1987 en el este de Canadá tras el consumo de mejillones contaminados (Wright *et al.*, 1989). Desde entonces, este compuesto se ha detectado en Estados Unidos y en gran número de países europeos (Blanco *et al.*, 2006). El AD es producido principalmente por el alga roja *Chondria armata* (Zaman *et al.*, 1997) y diatomeas de los géneros *Pseudo-Nitzschia* (Amzil *et al.*, 2001) y *Nitzschia* (Kotaki *et al.*, 2000).

Además de acumularse en mejillones, este compuesto se ha aislado de navajas, almejas, vieiras, crustáceos o peces, como las anchoas y las caballas (Pérez, 2013). El AD y sus isómeros son los responsables de la Intoxicación amnésica por consumo de mariscos (ASP), cuyos

síntomas pueden ser gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea, dolores abdominales...) o neurológicos (pérdida de memoria y, en los casos más graves, coma y muerte) (Pérez, 2013).

El límite establecido en Europa para este grupo de toxinas es de 20 mg de AD por kg de carne de molusco, correspondiente con los límites establecidos en otros países como Canadá, Estados Unidos, Perú, México, Australia o Nueva Zelanda (Reglamento (CE) nº 853/2004; FAO, 2004; Pérez, 2013).

6.3.4. Brevetoxinas: El grupo de las brevetoxinas (PbTX), causantes de la intoxicación neurotóxica por consumo de mariscos (NSP), se caracterizó a principios de los 80 a partir de floraciones del dinoflagelado *Karenia brevis*, anteriormente llamado *Ptychodiscus brevis* y *Gymnodinium breve* (Steidenger, 1983; Watkins *et al.*, 2008), el principal organismo productor de brevetoxinas, aunque no el único (Flewelling *et al.*, 2005; Fonfría, 2009). Hasta la década de los 90, este síndrome estaba limitado al golfo de México (Magaña *et al.*, 2003) y la costa este de Estados Unidos, donde se creía que era endémico, pero hoy en día existen datos de un episodio tóxico en Nueva Zelanda (Nozawa *et al.*, 2003), por lo que no se descarta su posible aparición en otros lugares. Además de por vía oral, las brevetoxinas pueden producir intoxicación por exposición dérmica e inhalación (Cassell *et al.*, 2015). En el primer caso, los síntomas aparecen entre los treinta minutos y las tres horas y duran unos pocos días, presentando náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, sudoraciones, cambios de temperatura, hipotensión, arritmias, entre otros muchos síntomas, según la vía de exposición (Gessner *et al.*, 2008; FAO, 2004). A día de hoy, no se han registrado casos mortales en humanos, sin embargo, se ha relacionado estas toxinas con distintos episodios mortales de peces, aves y mamíferos marinos (Fonfría, 2009).

El límite máximo permitido son 0,8 mg PbTX/kg carne de marisco (Reglamento (CE) nº 853/2004; Pérez, 2013).

6.3.5. Azaspirácidos: Los azaspirácidos (AZAs), responsables del nuevo síndrome de intoxicación por azaspirácido (AZP), fueron descubiertos en 1995 tras la intoxicación de varias personas en Holanda debido a la ingesta de mejillones contaminados procedentes de Irlanda (Satake *et al.*, 1998). Al ser una de las toxinas de más reciente aparición tanto su mecanismo de acción como su diana farmacológica son aún desconocidos hoy en día (Botana *et al.*, 2014; Chevallier *et al.*, 2015; Vale *et al.*, 2007). Su sintomatología fue definida a finales de los años 90, cuando se detectó una serie de intoxicaciones en consumidores caracterizadas por efectos similares a los de DSP (náusea, diarrea y dolores abdominales) (Crespo, 2015), sin embargo, en

los análisis de los moluscos contaminados solamente se observaron niveles traza de toxinas DSP (Pérez, 2013).

El dinoflagelado *Azadinium spinosum* es el organismo productor de estas toxinas (Tillmann *et al.*, 2009), que han sido localizadas en distintos países de Europa (Rehmann *et al.*, 2008), en el noroeste de África (Taleb *et al.*, 2006), en América (Klontz *et al.*, 2009) y en Japón (Ueoka *et al.*, 2009). Aunque las intoxicaciones humanas se han producido debido a la presencia de AZAs en mejillones, estas toxinas se han encontrado en otros moluscos filtradores como vieiras, ostras, berberechos, almejas o navajas, y en algunas especies de crustáceos y esponjas (López-Rivera *et al.*, 2010). Basándose en los datos de toxicidad en humanos obtenidos durante los episodios tóxicos, y asumiendo un consumo diario de 250 g de carne de molusco y un peso medio de 60 kg por persona, las regulaciones europeas han establecido un límite de 160 µg de equivalentes de AZA por kg de carne de molusco destinado a consumo humano (Reglamento nº 853/2004). Este límite se ha establecido también en Chile y Nueva Zelanda (Rodríguez-Velasco, 2008; Pérez, 2013).

6.3.6. Iminas cíclicas: Las iminas cíclicas (IC) son un grupo heterogéneo de compuestos macrocíclicos, al cual pertenecen espirólidos, gymnodiminas, pinnatoxinas, pteriatoxinas, prorocentrólidos y espiro-prorocentríminas (Lu *et al.*, 2001; Takada *et al.*, 2001).

Estas “toxinas de acción rápida” provocan la muerte de los animales a los pocos minutos (de 3 a 20 min.) de inyectarles dosis letales de estos compuestos intraperitonealmente; mientras que, por debajo de esas dosis, los animales se recuperan por completo sin mostrar ningún tipo de secuelas (Pérez, 2013).

Hasta el momento no se han descrito efectos en seres humanos atribuibles a este grupo de toxinas, pero la toxicidad manifestada en los bioensayos hace que muchos autores cuestionen su actual estatus de toxinas sin control legal (Crespo, 2015).

Los principales representantes de este grupo son:

- **Espirólidos** → SPXs son los grupos más grandes de ICs y son producidos por el dinoflagelado *Alexandrium Ostenfeldii* (MacKinnon *et al.*, 2006; Ciminiello *et al.*, 2006). Hay indicios de que los SPXs se encuentran por todo el mundo (Otero *et al.*, 2012) y, también dentro de la UE (Aasen *et al.*, 2005; González *et al.*, 2006).
- **Gymnodiminas** → Los GYM son producidos por Dinoflagelado *Karenia selliformis*. Están presentes en lugares como Nueva Zelanda (Seki *et al.*, 1995), Túnez (Biré *et al.*, 2002) y Australia (Takahashi *et al.*, 2007).

- **Pinnatoxinas** → El organismo que produce PnTXs todavía no ha sido identificado, aunque se sabe que se trata de un dinoflagelado (EFSA, 2010b). Las PnTXs están presentes en zonas como Nueva Zelanda, Japón o Australia y, recientemente, se han encontrado en mariscos de Europa, concretamente en Noruega (Miles *et al.*, 2010).
- **Pteriatoxinas** → Se cree que el origen de las pteriatoxinas (PtTXs) es el resultado de la biotransformación de las PnTXs. Las pteriatoxinas se aislaron en 2001 de extractos de las vísceras de la ostra *Pteria penguin* (Pérez, 2013) y, hasta la fecha, no se ha encontrado en los mariscos en Europa (Paredes *et al.*, 2011).
- **Prorocentrólidos** → El prorocentrólido A se aisló por primera vez en 1988 en la isla de Sesoko, en Okinawa, del dinoflagelado *Prorocentrum lima* (Torigoe *et al.*, 1988). Más tarde, se describió el prorocentrólido B, aislado del dinoflagelado *Prorocentrum maculosum* (Hu *et al.*, 1996). Aunque no se tienen muchos datos sobre su toxicidad y mecanismo de acción, se sabe que los prorocentrólidos producen una respuesta rápida cuando se inyectan en los ratones, provocándoles la muerte poco después de la administración (Pérez, 2013).
- **Espiro-prorocentriminas** → La espiro-prorocentrimina es una toxina aislada de una cepa bentónica, *Prorocentrum sp.* en Taiwan (Lu *et al.*, 2001). Al igual que las toxinas descritas anteriormente, contienen una imina cíclica en su estructura, sin embargo, su toxicidad tras ser inyectada i. p., es mucho más baja. No existen datos acerca de su mecanismo de acción (EFSA, 2010c; Pérez, 2013).

Hoy en día, la cantidad de IC en los mariscos no está regulada en Europa, ni en otras partes del mundo (EFSA, 2010b). Sin embargo, con respecto a SPXs y GYMs, a pesar de que estos ICs no han sido vinculados a ninguna intoxicación humana, teniendo en cuenta que son sustancias altamente tóxicas, la EFSA defiende el establecimiento de una dosis de referencia para los diferentes grupos de ICs, pero de momento no es posible, debido a la falta de datos cuantitativos adecuados sobre toxicidad oral aguda (EFSA, 2010c; Paredes *et al.*, 2011)

6.3.7. Pectenotoxinas: Las pectenotoxinas (PTXs) son compuestos lipofílicos que se encontraron por primera vez en la vieira japonesa (*Patinopecten yessoensis*) (Yasumoto *et al.*, 1985), y que han aparecido en otras partes del globo como Europa y Oceanía (Pavela-Vrancic *et al.*, 2001; Suzuki *et al.*, 2001; Vale y Sampayo, 2002). Son producidas por dinoflagelados del género *Dinophysis* (como *D. fortii* o *D. caudata*) (Fernández *et al.*, 2006), al igual que el ácido okadaico y sus derivados, con los que parece coexistir (Ito *et al.*, 2008; Crespo, 2015). Estas toxinas fueron excluidas del grupo de las DSPs, ya que entre sus efectos tóxicos no se encuentra la diarrea (España *et al.*, 2010). Se ha observado un importante daño en el hígado tras su administración intraperitoneal (i.p.) en ratones (Crespo, 2015).

Actualmente el límite máximo permitido para el AO en la Unión Europea, junto con las DTXs y las pectenotoxinas, es de 160 µg de equivalentes de AO/kg (EFSA, 2009b; Pérez, 2013).

6.3.8. Yessotoxinas: La yessotoxina (YTX) se aisló por primera vez en 1986 de las glándulas digestivas de la vieira *Patinopecten yessoensis*, en la Bahía de Mutsu (Japón) (Murata *et al.*, 1987). Sus organismos productores son dinoflagelados como el *Lingulodinium polyedrum* o el *Gonyaulax spinifera* (Crespo, 2015). Se ha encontrado en Noruega, Italia, España (Arévalo *et al.*, 2006), Rusia (Morton *et al.*, 2007), Nueva Zelanda y Chile (Pérez, 2013). Además de concentrarse en las glándulas digestivas de las vieiras, las YTXs se han encontrado en otros moluscos como mejillones y ostras, y recientemente en gasterópodos (Schirone *et al.*, 2013).

En un principio la YTX se incluyó dentro del grupo de las toxinas diarreicas, ya que se extraía de moluscos contaminados junto con el AO y las DTXs. Hoy en día, tras comprobarse que este compuesto no produce diarrea ni actúa inhibiendo fosfatasas de proteínas (principal diana del AO), la YTX se ha clasificado en un grupo aparte (Pérez, 2013). No se tiene constancia de intoxicaciones en seres humanos, y existen serias dudas de que sea un compuesto tóxico desde el punto de vista de la seguridad alimentaria (EFSA, 2008c), sin embargo, durante los bioensayos, estas toxinas provocan la muerte de los animales tras la administración de 100 µg/kg por vía i.p. (Howard *et al.*, 2008; Crespo, 2015).

Actualmente en Europa se ha establecido un límite regulador para este grupo de toxinas, de 1mg de equivalentes de YTX por kg de carne de molusco (Reglamento (UE) nº 786/2013; EFSA, 2008c).

B) Biotoxinas producto de ictiotoxismos extrínsecos:

6.3.9. Ciguatoxinas: La ciguatera es un ictiosarcotoxicismo común en la zona del Pacífico, el Caribe y el Océano Índico, donde es endémica (Oehler y Bouchut, 2014), aunque son también afectadas las zonas continentales de arrecifes (Legrand, 1998). El grupo de la CTX es responsable del síndrome CFP, causado por el consumo de peces contaminados con toxinas producidas por el dinoflagelado *Gambierdiscus toxicus* (Crespo, 2015), aunque la CTX no es la única toxina responsable de causar CFP, hay otras dos toxinas frecuentemente presentes en las intoxicaciones: la maiotoxina y el gambierol, producidas por el mismo dinoflagelado (Satake *et al.*, 1993; Crespo, 2015).

Se sabe que los peces herbívoros actúan como vectores de captación y transmisión de las gambiertoxinas, introduciéndolas en la cadena alimenticia (Burgess y Shaw, 2001; Bienfang *et al.*, 2008). Los peces carnívoros o depredadores representan un paso clave en la transformación de las diferentes ciguatoxinas y el eslabón trófico donde se bioacumulan (Montesdeoca, 2015).

En último término, el consumo de peces carnívoros de gran talla y edad (serránidos, carángidos, lutjánidos, murénidos, esfirénidos, etc.) que han acumulado suficiente CTXs, causan este tipo de ictiosarcotoxicismo en el hombre (Lehane y Lewis, 2000; Bienfang *et al.*, 2008; Kuno *et al.*, 2010; Vale, 2011; Oehler y Bouchut, 2014; Bravo *et al.*, 2015), caracterizado por síntomas gastrointestinales (náuseas, diarrea y dolores abdominales), cardiovasculares (bradicardia), así como por síntomas neurológicos como dolores de cabeza, alucinaciones y vértigo, incluso en algunos casos, la muerte (Crespo, 2015).

Más de 400 especies de peces podrían ser vectores de CTXs pero solo unas cuantas han sido asociadas a intoxicaciones por ciguatera (Hossen *et al.*, 2015). Entre ellas *Sphyraena spp.* (barracudas), *Epinephelus spp.* (serranos), *Caranx spp.* (seriolas), *Lutjanus spp.* (pargos), *Gymnothorax spp.* (morenas), *Mugil spp.* (múgiles), *Ctenochaetus spp.* (peces cirujano) y *Scarus spp.* (peces loro) están entre los de mayor riesgo (Lehane y Lewis, 2000). Pero la movilidad de los peces, el reclutamiento o migración natural, el lugar donde se establecen y sus hábitos alimentarios podrían hacer aumentar esta lista (Soliño, 2015). En todo caso, debe destacarse la ausencia de exámenes organolépticos y conductuales que puedan determinar si un pez presenta la ciguatoxina o no (FAO, 2005; Montesdeoca, 2015).

En tiempos recientes se han registrado brotes en zonas subtropicales de distintos mares, concretamente en 2004 se documentó el primer brote en Canarias y desde entonces, hasta el año 2015, se han registrado 14 casos más con 109 personas afectadas (Montesdeoca, 2015). La presencia en España de poblaciones de varias especies de *Gambierdiscus* permite pensar que el cambio climático ha favorecido la aparición y proliferación de dichas microalgas termófilas, y que el riesgo de esta enfermedad emergente puede incrementarse en los años venideros (Montesdeoca, 2015). Recientemente, dada su relevancia de esta intoxicación emergente, se ha incluido dentro del listado de EDO (Enfermedades de Declaración Obligatoria) a nivel nacional y europeo, verificando la importancia de la CFP como peligro emergente (Mattei *et al.*, 2014). La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha aprobado la financiación de un detallado estudio de sobre el tema (Montesdeoca, 2015).

6.3.10. Tetrodotoxinas: La TTX es una neurotoxina aislada por primera vez en 1950 por Yokoo, de un pez globo de la familia *Tetraodontidae* (Silva *et al.*, 2015). Aunque no es muy común, se trata de la intoxicación por consumo de pescado más letal para el ser humano (Gresham y Taylor, 2011; Gírio, 2014). A diferencia del resto de las biotoxinas marinas, las tetrodotoxinas no solamente son producidas por algas, sino también, por bacterias simbióticas adsorbidas o precipitadas por el plancton (Elika, 2014). De hecho, hay ciertas variedades ubicuas de bacterias que producen TTX, pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Vibrio* (Yang *et al.*, 2010). Por

otro lado, la TTX también puede originarse a partir de ciertas especies de dinoflagelados, tales como *Alexandrium tamarense* (Sato *et al.*, 2000) y, además, se ha demostrado que algunas cianobacterias son capaces de producir dicha biotoxina (Paredes *et al.* 2011). Las tetrodotoxinas se encuentran fundamentalmente en el hígado, ovarios (huevos) y piel de varias especies de peces “globo”, siendo los más tóxicos los miembros de la familia *Tetraodontidae* (Elika, 2014), aunque también puede encontrarse en los peces de las familias *Molidae*, *Diodontidae* y *Canthigasteridae* (Vale, 2011). Además de ciertas especies de gasterópodos (Nzoughet, J.K. et al., 2013), tritones (Yotsu-Yamashita *et al.*, 2012), cangrejos (Lin *et al.*, 2012), ranas, babosas marinas, peces estrella, pulpos de anillos azules, gusanos y bacterias (Wang *et al.*, 2008; Bane *et al.*, 2014).

En cuanto al origen de la TTX concretamente en el pez globo, hay estudios que afirman que la fuente de TTX es una bacteria endo-simbiótica que habita naturalmente en el intestino del animal (Yang *et al.*, 2010). Del mismo modo, el origen del TTX en animales terrestres, por ejemplo, el tritón y la rana, es endógeno, donde cuenta con un papel defensivo (Bane *et al.*, 2014). TTX es a la vez soluble en agua y estable al calor, por lo que la cocción no reduce su toxicidad, más bien aumenta su efecto tóxico (Saoudi *et al.*, 2007). Desde 1958 está reglamentada su preparación, que solamente pueden realizar cocineros con una formación específica. Estos deben tener mucho cuidado al extirpar las partes peligrosas del pez (hígado, ovarios y piel), evitando que la toxina difunda a músculo (Bane, 2014).

La intoxicación por TTX depende de la cantidad de toxina ingerida (Silva *et al.*, 2015). Su toxicidad a menudo se enfatiza al referirse al hecho de que es más de mil veces más tóxico para los seres humanos que el cianuro (Bane, 2014). Los síntomas neurológicos aparecen entre 10 - 45 minutos después de la ingestión (Vale, 2011), y pueden progresar causando un entumecimiento localizado en la boca seguido de vómitos, fuertes dolores de cabeza, debilidad muscular, insuficiencia respiratoria, hipotensión e incluso la muerte (Noguchi *et al.*, 2001). Como no hay antídoto disponible, el objetivo principal es mantener al paciente vivo en las primeras 24h. después de la intoxicación de TTX, con ventilador y soporte hemodinámico (Silva *et al.*, 2015). A pesar de la letalidad de las tetrodotoxinas, la intoxicación a nivel europeo es un riesgo reducido, ya que la legislación comunitaria es clara en este asunto. Según el Reglamento (CE) nº 853/2004 de 29 de abril de 2004, está prohibida la comercialización de productos de la pesca de peces venenosos de las familias *Tetraodontidae*, *Molidae*, *Diodontidae* y *Canthigasteridae* (Vale, 2011).

6.3.11. Palitoxinas: La palitoxina (PITX) es una de las biotoxinas marinas más potentes y complejas (Vale, 2011). El nombre de esta toxina proviene de un coral blando, llamado *Palythoa toxica* y que acumula PITX (Soliño Alonso, 2015). Inicialmente se encontraron sólo en Hawái y Japón, pero la ocurrencia de PITX y sus análogos se informa en todo el mundo (Ramos *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2015). La PITX es producida por dinoflagelados bentónicos (*Ostreopsis spp.*) (Vale, 2011), los cuales viven asociados a corales, sobre el sedimento y macroalgas. Son comunes en aguas tropicales y subtropicales del Pacífico, Caribe e Índico (Parsons *et al.*, 2012), pero su creciente expansión en aguas del Atlántico oriental y Mediterráneo la ha convertido en otro foco de atención en Europa (Soliño Alonso, 2015).

Esta microalga ha estado también asociada con el síndrome del clupeotoxismo, relacionado con el consumo de peces planctívoros, como sardinas, arenques y boquerones (pertenecientes a la familia *Clupeidae*) (Ribó Agulla, 2006). Este síndrome está causado por toxinas de tipo palitoxina (PITX), que produce el género *Ostreopsis*. La PITX o sus derivados, por tanto, podrían acumularse a través de *Ostreopsis* en peces planctívoros y bivalvos cuando el fondo es resuspendido. En moluscos gasterópodos y equinodermos adquirirían la microalga depositada en las macroalgas o sedimento (Aligizaki *et al.*, 2011). En humanos, las intoxicaciones por ingestión de PITXs provocan síntomas como vómitos, diarreas, taquicardias, vértigos, dificultad respiratoria, parálisis muscular, convulsiones y en intoxicaciones graves, la muerte. Por otra parte, la toxina puede causar afecciones a nivel cutáneo por contacto, por ejemplo, con el coral o afecciones respiratorias cuando las microalgas son inhaladas en aerosoles formados por microgotas de agua de mar arrastradas por el viento (EFSA, 2009d; Amzil *et al.*, 2012; Soliño Alonso, 2015). La palitoxina carece de regulaciones en Europa (Vale, 2011).

6.4. Caracterización del riesgo

Se ha evidenciado que algunas toxinas reguladas no suponen un riesgo para la población europea (como la YTX), y en contra, algunas toxinas no reglamentadas por la legislación, están presentes en Europa y pueden llegar a ser dañinas (como la PITX y algunas IC) (Paredes *et al.*, 2011).

La caracterización del riesgo se basa en la comparación entre la caracterización del peligro con la evaluación de la exposición. La caracterización de peligros se obtiene a partir de datos de investigación generalmente obtenidos en ensayos estandarizados. Sin embargo, para calcular la valoración de la exposición, se utilizan encuestas o métodos de consulta similares, en los que se pregunta a la población sobre sus hábitos de alimentación, por lo que el resultado depende en gran medida del procedimiento utilizado. Este procedimiento es más fácil para poblaciones

pequeñas, pero para poblaciones grandes como la europea en la que participan más de un país, el resultado es menos cierto, ya que las estimaciones generalmente tienen que utilizar datos de varias encuestas que deben ser adaptadas para hacerlas comparables. Por lo tanto, la fase de la evaluación de la exposición en la evaluación de riesgos es de suma importancia, pero parece ser extremadamente difícil hacerla precisamente para una población grande y heterogénea como lo es la población de la UE (Paredes *et al.*, 2011).

La exposición humana a las biotoxinas generalmente sólo hace referencia al consumo ocasional y se caracteriza por eventos agudos y a corto plazo, de modo que se han establecido dosis agudas de referencia (ARfD) para estos compuestos tóxicos en lugar de dosis diarias tolerables que no pudieron determinarse debido a la falta de datos toxicológicos apropiados. Las ARfD se derivan de la correspondiente concentración de biotoxinas marinas por kg de carne de marisco, teniendo en cuenta una porción de marisco de 400g. (Visciano *et al.*, 2016). (Véase Anexo III).

La eficacia de la evaluación del riesgo de las toxinas marinas depende de la vigilancia de los HABs y de la evaluación del riesgo de las ficotoxinas en los peces y los mariscos. Se necesitan estudios epidemiológicos detallados para evaluar mejor los niveles de seguridad y promover actualizaciones de reglamentos que protejan la salud humana y reduzcan las pérdidas económicas. Se debe hacer un esfuerzo internacional para compartir información, optimizar materiales certificados y explorar métodos más rápidos y sensibles, como los cromatográficos y los moleculares. Todo esto se vuelve más relevante y urgente en el caso de nuevas toxinas emergentes como TTX, PITX, IC y CTX. En comparación con las toxinas que están reguladas, las emergentes demuestran una mayor letalidad, con la excepción de la IC, lo que representa un riesgo potencialmente mayor para la salud humana y por lo tanto requiere más investigación (Silva, 2015).

6.5. Causas y consideraciones sobre el impacto actual de las biotoxinas marinas

El aumento en la temperatura de las aguas, junto con los impactos antropogénicos, está permitiendo la dispersión y el establecimiento de nuevas poblaciones de organismos altamente tóxicos (Lima *et al.*, 2012; Casabianca *et al.*, 2013). Los “blooms” algares se informan desde la antigüedad, pero la creciente explotación del medio costero por el hombre ha dado lugar a un incremento del número de episodios nocivos registrados (Serrano *et al.*, 2017). Según el informe de 2003 del programa GEOHAB – Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms – en las dos últimas décadas se ha producido un alarmante incremento de la frecuencia y distribución geográfica de estas proliferaciones que ha merecido el calificativo de “epidemia”

(Abad y Gilabert, 2008). La mayoría de las especies perjudiciales tiene patrones de distribución limitados, aunque algunas lo están por todo el mundo (Hallegraeff *et al.*, 1995; Lindahl, 1998; Martin *et al.*, 2005).

Según Romo (2002), las proliferaciones algares nocivas se producen generalmente en aguas tranquilas, donde la tasa de renovación del agua es muy baja. La abundancia del fitoplancton, además, está condicionada por la intensidad luminosa, la transparencia del agua, las concentraciones de dióxido de carbono y nutrientes minerales tales como el nitrógeno y el fósforo, elementos indispensables para poder llevar a cabo la fotosíntesis (Castillo, 2014). El lugar ideal, por tanto, lo encontramos en zonas cercanas a la costa, como playas, bahías, lagunas litorales o puertos (NOAA, 2014). No obstante, algunos autores como Derner *et al.*, 2006 y López *et al.*, 2014, señalan que también se pueden extender incluso en mar abierto, pudiendo crecer en tierras marginales de las regiones áridas del mundo, en ambientes salinos e hipersalinos de baja calidad o en aguas residuales cargadas de nutrientes, que no son buenas para la irrigación agrícola o el consumo para seres humanos o animales. Recientemente, las investigaciones realizadas por Landsberg *et al.*, 2006 y Van Dolah, 2012, han demostrado que los HABs a menudo son temporales y se correlacionan especialmente con la aparición de altas morbilidades o mortalidades en los animales marinos.

Algunas de las razones expuestas para aclarar el aumento en la frecuencia de los HABs en los últimos años son, según Salazar (2016) son el calentamiento de las aguas marinas producido por el cambio climático, lo cual puede causar una expansión de especies que por lo general sólo se encontraban en bajas latitudes. Así como una mayor transferencia de productos marinos de una zona del globo a otras, lo que contribuye a la propagación de especies de microalgas desde sus hábitats originales a unos nuevos (Hallegraeff, 1993; Crespo, 2015). No hay que desdeñar tampoco la mejora de los mecanismos para su detección, por lo cual algunos investigadores como Orozco y Medlin (2013) hablan de un aumento aparente de los HABs.

Dado que estos fenómenos han empezado a estudiarse en épocas relativamente recientes se desconoce si, previamente al control de los HABs, estos existieron en un número similar al detectado hoy en día (Richard *et al.*, 2000; Reguera, 2002).

Concretamente en Europa, los problemas de Salud Pública relacionados con las biotoxinas marinas han estado asociados al consumo de moluscos bivalvos contaminados por microalgas tóxicas, de igual forma que en las demás zonas templadas del planeta. Sin embargo, en los países mediterráneos, estos acontecimientos nocivos se están volviendo recurrentes desde principios del S. XXI (Hoagland *et al.*, 2006). Es sabido que el cambio climático ha favorecido que, estas

biotoxinas que solamente se presentaban en las zonas tropicales, sean capaces de proliferar en mayores latitudes progresivamente (Vale, 2011). Sin embargo, algunos autores (Vale, 2011) opinan que el influjo atlántico a través del Estrecho de Gibraltar y el aumento gradual de la temperatura superficial del mar Mediterráneo no son la única explicación de esta enmienda en la biodiversidad, también el hombre ha tenido reconocidos impactos en los ecosistemas marinos. La más importante fue la apertura del Canal de Suez en 1869. Desde entonces, se han observado progresivamente migraciones de especies acuáticas, principalmente entre el Mar Rojo y el Mar Mediterráneo. Otra obra con impacto indirecto fue la Gran Presa de Asuán, construida en la década de 1960, que alteró el régimen de aporte de agua dulce y de sedimentos al Mediterráneo Oriental. En pequeña escala, tenemos la realización de puertos marinos que modifican localmente la circulación del agua. También concurre la introducción intencional o accidental de especies exóticas, a través de los incrustantes cascos de los buques, el agua de balastos de los buques, la acuicultura, el comercio de cebo vivo, etc.

6.6. Avances en la gestión del riesgo de las biotoxinas marinas

En algunos países, la vigilancia de las aguas permite dar el primer aviso de mariscos potencialmente tóxicos. Esto se consigue mediante la observación directa del color del agua (“marea roja”), el examen microscópico del fitoplancton para identificar las especies sospechosas e incluso el monitoreo de manchas marinas con tecnología de satélite. Desde el punto de la Salud Pública, la clave de la determinación es la concentración de toxinas en los pescados o en los mariscos. Esto requiere el muestreo y el análisis de animales indicadores o de animales representativos. En los últimos años, se han intensificado los programas de seguimiento de microalgas nocivas y biotoxinas, además, los análisis químicos han adquirido una gran aceptación porque son más rápidos, más exactos y, desde el punto de vista social, menos censurables que las pruebas animales. El objetivo prioritario es cuidar la Salud Pública mediante el control de biotoxinas en productos destinados al consumo humano, proteger el mercado de los productos marisqueros constituyendo una red de alerta temprana de los episodios tóxicos/nocivos y adquirir una capacidad de predicción de la iniciación, duración y desaparición de los episodios.

En países como el nuestro, las exigencias de los países importadores han conducido a una notable intensificación de los controles de toxinas en los mariscos y la aplicación de métodos y adopción de los niveles regulatorios. A nivel nacional existe una red de alerta sanitaria en referencia a las biotoxinas marinas, coordinada por el “Laboratorio Nacional de Referencia de Biotoxinas Marinas” (LNRBM), dirigido a su vez por la AECOSAN y regulado bajo el artículo 33 del Reglamento CE nº 882/2004, el cual recoge las funciones de dicho laboratorio y cita su deber

de cooperar de forma estrecha con los demás laboratorios de referencia, dentro del territorio nacional y comunitario, para cooperar en conjunto, con el fin de ofrecer una mayor seguridad dentro de todo el territorio, así como una mayor rapidez de actuación y una constante regulación de todo el territorio de una forma más amplia y concisa. Esta cooperación queda liderada desde el 1993 por el laboratorio de referencia a nivel europeo (CRLMB) “Community Reference Laboratory for Marine Biotoxins” o, también denominado (EURLMB) “EU Reference for Marine Biotoxins”, el cual coordina de forma centralizada los Laboratorios Nacionales de Referencia (NRL) “National Reference Laboratories”, desde su sede en Vigo y está regulado por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad de España.

Algunos autores (Paredes *et al.*, 2011) señalan que la EFSA podría sugerir un cambio en la cantidad permitida de biotoxinas en los productos alimenticios, a fin de que los niveles permitidos sean lo suficientemente protectores para los consumidores, pero la aplicación de estos nuevos límites tendría un impacto económico negativo en los productores de mariscos y las industrias asociadas, debido a que el tiempo de prohibición de la recolección se incrementaría.

Hay también ciertas lagunas en el Reglamento (CE) nº 854/2004, y una de ellas en concreto, se refiere al muestreo de plancton, debido a que sólo especifica que la monitorización del plancton debe ser representativa de la columna de agua (Reglamento (CE) nº 853/2004). De este modo no se abarcan los problemas causados por las microalgas bentónicas.

El CRLMB (Community Reference Laboratory for Marine Biotoxins) en colaboración con la EFSA ha publicado dos opiniones científicas, una sobre la palitoxina (EFSA, 2009b) y otra sobre la ciguatera (EFSA, 2010b), ya que no existían límites específicos en cuanto a la metodología analítica a utilizar. En dichas opiniones, se propuso el límite de 0,01 mg equivalentes de CTX/kg de pescado para la ciguatera (EFSA, 2010b) y, también con el fin de garantizar la protección contra los efectos agudos de las toxinas del grupo PITX, se propuso una dosis de referencia aguda oral (ARfD) para PITX de 0,2 µg / kg de carne de marisco, como punto de referencia (EFSA, 2009d).

Tabla 2.- Límites permitidos en la UE y su clasificación según la situación de emergencia actual

BIOTOXINA	LÍMITE LEGAL ACTUAL EN LA UE	EMERGENTE	REFERENCIA
STX	800 µg eq. STX/kg CM	NO	EFSA, 2009a
AO	160 µg eq. AO/kg CM	NO	EFSA, 2008a
AD	20 mg eq. AD/kg CM	NO	EFSA, 2009c
PbTX	0.8 mg eq. PbTX/kg CM	NO	EFSA, 2010a
AZA	160 µg eq. AZA/kg CM	NO	EFSA, 2008b
IC	400 µg eq. IC/kg CM ¹	SÍ	EFSA, 2010c
PTX	160 µg eq. PTX/kg CM	NO	EFSA, 2009b
YTX	1 mg eq. YTX/kg CM	NO	EFSA, 2008c
CTX	0.01 µg eq. P-CTX-1/kg pescado ²	SÍ	EFSA, 2010b
TTX	2 µg eq. TTX/g CM (DLM) ³	SÍ	Paredes <i>et al.</i> , 2011
PITX	0.2 µg eq. PITX/kg CM	SÍ	EFSA, 2009d

¹Valor guía propuesto por CRLMB.

²EFSA recomienda este valor para cubrir todas las toxinas pertenecientes al grupo CTX.

³La falta de datos no permite establecer una caracterización del riesgo apropiada para TTX. Los únicos datos disponibles para TTX es la dosis letal mínima en seres humanos, el cual se estima en 2 mg eq. TTX/g CM, aunque puede variar con factores tales como la edad, el estado de salud y la sensibilidad a la propia toxina. (Paredes *et al.*, 2011).

Actualmente, la marea roja tiene difícil solución, porque los científicos aún no conocen claramente sus causas. También es difícil evitar su propagación, ya que los mares no tienen barreras absolutas y de una región se extiende a las vecinas. Son pocos los medios de prevención que evitan la contaminación de las costas con estos dinoflagelados, o diatomeas fitoplanctónicas, siendo importante controlar la presencia de estas especies tóxicas y la acumulación de toxinas en los moluscos. En los últimos años adicionalmente, por diversos motivos como la mayor polución, se ha producido un aumento de mareas tóxicas, así como de su frecuencia e intensidad, siendo su distribución geográfica cada vez más amplia.

Teniendo en cuenta estos factores, las medidas de vigilancia deberán estar encaminadas tanto a controlar las zonas de producción, realizando un estudio periódico de las especies de microalgas presentes, como a controlar la concentración de toxinas en los moluscos y aplicar vedas o prohibiciones para la extracción, consumo y comercialización de moluscos bivalvos, a fin de proteger a los consumidores.

El consumidor como medida preventiva deberá consumir moluscos que hayan sido capturados en zonas de cultivo adecuadamente controladas (toxinas y especies planctónicas), comprando productos adecuadamente etiquetados y con la correspondiente marca sanitaria (Salazar, 2016).

7. CONCLUSIONES

De la revisión bibliográfica y análisis que hemos realizado en este TFG se han obtenido las siguientes conclusiones:

- 7.1. Son varios los síndromes asociados al consumo de marisco y pescado que vehiculan biotoxinas, siendo alguno de ellos de gran letalidad. Los estudios de exposición humana a estas toxinas generalmente sólo hacen referencia a su consumo ocasional o accidental, caracterizado por brotes agudos y a corto plazo, lo que hace difícil, en alguno de los síndromes, establecer dosis diarias tolerables por falta de datos epidemiológicos o toxicológicos.
- 7.2. El establecimiento de dosis agudas de referencia (ARfD), que sustituyen a las dosis diarias tolerables, se realiza en función del consumo de porciones normales de pescado o marisco, por lo que el riesgo se ve incrementado en aquellas poblaciones que basan su dieta en el consumo preferente de este tipo de alimento. Este aspecto debería ser resuelto estableciendo pautas de consumo y nuevos estudios que fijaran el grado de riesgo de estas poblaciones consumidoras.
- 7.3. La producción masiva de biotoxinas está directamente ligada al crecimiento exponencial de las especies algares y a la aparición de “blooms” que se identifican con condiciones óptimas de temperatura, luminosidad, salinidad y presencia de nutrientes. El incremento de la frecuencia de estas proliferaciones en los últimos años está demostrado y el mismo se ha relacionado con el calentamiento de las aguas motivado no sólo por el impacto antropogénico sino también por el cambio climático.
- 7.4. En la actualidad, son once las biotoxinas más relevantes a nivel mundial y, dentro de las mismas hay cuatro que suponen una creciente amenaza para la Salud Pública; estas biotoxinas emergentes son la ciguatoxina, la tetrodotoxina, la palitoxina y la iminas cíclicas tanto para pescados como moluscos.
- 7.5. A diferencia del resto de biotoxinas marinas la producción de tetrodotoxinas se relaciona no solo con ciertas especies de dinoflagelados sino también con bacterias simbióticas presentes en el plancton. Este hecho, descubierto en los últimos años, abre nuevas interrogantes acerca del posible papel que pueden tener algunas bacterias en la aparición de este tipo de síndromes.
- 7.6. Para adaptarse a esta creciente amenaza para la Salud Pública, debe realizarse un esfuerzo a nivel internacional con el fin de compartir toda la información necesaria de forma eficaz, así como trabajar en nuevos métodos destinados a la pronta detección de estos acontecimientos y poder obtener diagnósticos más rápidos y precisos. Para alcanzarlo, todavía se requiere invertir en nuevos estudios epidemiológicos más detallados para evaluar los niveles de seguridad reales y adaptándolos al actual incremento del riesgo por intoxicaciones a causa de las biotoxinas

marinas. En concreto, la revisión realizada denota falta de datos relacionados con la toxicidad oral aguda de las iminas cílicas.

7.7. Se requiere, de forma urgente, promover ajustes y actualizaciones en los reglamentos, en los que se debe revisar los límites establecidos para las diferentes biotoxinas marinas y ser más conservadores con las que suponen actualmente un riesgo potencial, así como tener en cuenta aquellas biotoxinas todavía no reguladas, pero que hoy día suponen un gran riesgo debido a la falta de información sobre las mismas, insuficientes estrategias diagnósticas eficaces y, además, debido a su mayor letalidad, todo ello con el fin de promover y salvaguardar la Salud Pública. En este sentido, la inclusión de la ciguatera dentro del listado de EDO, en la Unión Europea se considera un paso importante para este objetivo de Seguridad Alimentaria.

8. CONCLUSIONS

Regarding the bibliographic review and analysis that have been done in this TFG it can be drawn the following conclusions:

- 8.1. There are several syndromes associated with the seafood and fish consumption which are linked to biotoxins and some of them are highly lethal. The human exposure studies that investigate these toxins generally only refer to their occasional or accidental consumption, which is characterized by acute and short-term outbreaks. As a result, it is more difficult to establish tolerable daily doses for lack of epidemiological or toxicological data.
- 8.2. The establishment of acute reference doses (ARfD), which replace the tolerable daily doses, is based on the consumption of normal portions of fish or shellfish, so the risk increases when populations base their diet in the preferential consumption of this type of food. This aspect should be solved by establishing patterns of consumption and new studies that determine the risk degree of these consuming populations.
- 8.3. The mass production of biotoxins is directly linked to the exponential growth of the algares species and to the appearance of “blooms” that are identified with optimal conditions of temperature, luminosity, salinity and presence of nutrients. The increase in the frequency of these proliferations in recent years has been demonstrated and has been related to the warming of waters motivated not only by the anthropogenic impact but also by climate change.
- 8.4. Nowadays, the most relevant biotoxins worldwide are eleven and, within these, four are a growing threat to Public Health; these emerging biotoxins are ciguatoxin, tetrodotoxin, palitoxin and cyclic imines.
- 8.5. Unlike other marine biotoxins, tetrodotoxin production is related not only to certain species of dinoflagellates but also to symbiotic bacteria which are present in plankton. This fact, discovered

in recent years, opens new questions about the possible role that some bacteria may have in the onset of this type of syndromes.

- 8.6. In order to adapt to this growing threat to public health, efforts must be made at the international level to share all the necessary information effectively, as well as work on new methods for the early detection of these events with a view to obtain faster and more accurate diagnostics. To achieve this, further detailed epidemiological studies are still required to assess actual safety levels and adapt them to the current increased risk of poisoning from marine biotoxins. Specifically, the review shows a lack of data related to the acute oral toxicity of cyclic imines.
- 8.7. There is an urgent need to promote adjustments and updates to the regulations, which should be reviewed the limits established for the different marine biotoxins and to be more conservative with those ones that currently suppose a potential risk, as well as take into account those biotoxins that are not yet regulated, but today imply a great risk due to the lack of information about them, insufficient effective diagnostic strategies and, in addition, due to their greater lethality. All this in order to promote and safeguard Public Health. In this sense, the inclusion of ciguatera in the list of EDO in the European Union is considered an important step towards this objective of Food Security.

9. VALORACIÓN PERSONAL

La realización del Trabajo de Fin de Grado me ha permitido ampliar y reforzar mis conocimientos en la Medicina Veterinaria, concretamente en la rama de Seguridad Alimentaria, en la cual me gustaría continuar mi formación para poder desarrollarme profesionalmente en un futuro. Asimismo, ha contribuido a la adquisición de una mayor destreza en la búsqueda, selección y síntesis de la información en todos los ámbitos, pues tras ponerlo en práctica con esta memoria, he conseguido llegar a conocer y contrastar la información, aprendiendo cuáles resultan las fuentes más fiables y los artículos científicos más relevantes y actuales, así como saber buscar dentro de las plataformas relacionadas con las organizaciones de Salud Pública a nivel mundial, europeo, nacional e incluso comunitario.

Durante la elaboración de esta memoria, al profundizar en la materia y conocer el riesgo real que supone, en la actualidad, la creciente aparición de fitoplancton tóxico en todas las costas de alrededor del mundo, pero, concretamente en España y demás países europeos, donde la creciente aparición de proliferaciones algares tóxicas, se debe tanto a los cambios en el clima, en la temperatura de las aguas y su eutrofización, actuaciones de la mano del hombre que modifican el ecosistema marino, entre otras, como también, suma el hecho que es un tema

en el que no se había profundizado hasta hace relativamente pocos años. De este modo, el bajo conocimiento sobre la materia y la falta de regulación por parte de las autoridades, hacen que el riesgo sea superior.

Los resultados que arrojan los datos y el análisis de riesgos consiguiente no resultan positivos, por lo que es necesaria una actuación inmediata que ponga medidas estrictas y trate, si no de solucionar el problema, de frenar su desarrollo. Además, es imperativo establecer nuevos estudios y promover la información, ya no sólo entre las autoridades para conocer mejor el problema, sino para que la población sepa el riesgo al que se expone, el cual actualmente parece desconocido.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Aasen, J., MacKinnon, S.L., LeBlanc, P., Walter, J.A., Hovgaard, P., Aune, T., et al., 2005. Detection and identification of spirolides in Norwegian shellfish and plankton. *Chem. Res. Toxicol.* 18 (3), 509–515.
2. Abad, S.; Gilabert, J. (2008): Proliferaciones de algas tóxicas. Harmful Algal Blooms (HABs). En: *Investigación ETSIA* (1), pág. 29–31.
3. Aligizaki, K., Katikou, P., Milandri, A., Diogène, J., (2011). Occurrence of palytoxin-group toxins in seafood and future strategies to complement the present state of the art. *Toxicon* 57, 390-399.
4. Amzil, Z.; Fresnel, J.; Le Gal, D. and Billard, C. (2001) Domoic acid accumulation in French shellfish in relation to toxic species of *Pseudo-nitzschia multiseries* and *P. pseudodelicatissima*. *Toxicon* 39, 1245-1251.
5. Amzil, Z., Sibat, M., Chomerat, N., Grossel, H., Marco-Miralles, F., Lemee, R., Nezan, E., Sechet, V., (2012). Ovatoxin-a and Palytoxin Accumulation in Seafood in Relation to *Ostreopsis cf. ovata* Blooms on the French Mediterranean Coast. *Mar. Drugs* 10, 477-496.
6. Ardilla de la Rosa Carrillo, L. A. (2001): Estudio de los mecanismos de acción de las ficotoxinas marinas. Tesis Doctoral, Veterinaria, Universidad Santiago de Compostela.
7. Arévalo, F.; Pazos, Y.; Correa, J.; Salgado, C.; Moroño, A.; Paz, B. and Franco, J. M. (2006) First report of yessotoxins in mussels of Galician Rías during a bloom of *Lingulodinium polyedra*, In Fifth international conference on molluscan shellfish safety; Henshilwood, K., Deegan, B., McMahon, T., Cusak, C., Keaveney, S., Silke, J. O., Cinneide, M., Lyons, D. and Hess, P., Eds.: Stein (Dodge) Galway; Ireland; pp 184-189.
8. Aune, T.; Sorby, R.; Yasumoto, T.; Ramstad, H. and Landsverk, T. (2002) Comparison of oral and intraperitoneal toxicity of yessotoxin towards mice. *Toxicon* 40, 77-82.
9. Bane, V., Lehane, M., Dikshit, M., O'Riordan, A., & Furey, A. (2014). Tetrodotoxin: Chemistry, toxicity, source, distribution and detection. *Toxins*, 6(2), 693-755.
10. Benjamín Suárez Isla; Leonardo Guzmán Méndez (eds.) (1999): Mareas Rojas y Toxinas Marinas: Floraciones de Algas Nocivas. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 1^a ed. Santiago de Chile: Universitaria (Colección orientaciones en ciencia, tecnología y cultura, 18).
11. Bernard; Cécile (2014): Les cyanobactéries et leurs toxines. En: *Revue Francophone des Laboratoires* 2014 (460), pág. 53–68. DOI: 10.1016/S1773-035X(14)72405-0.
12. Berti, M., and Milandri, A. (2014). "Le biotossine marine," in *Igiene Degli Alimenti*, eds M. Schirone and P. Visciano (Bologna: Ed agricole), 163–198.
13. Bienfang, P., Oben, B., DeFelice, S., Moeller, P., Huncik, K., Oben, P., Toonen, R., Daly-Engel, T. and Bowen, B. (2008). Ciguatera: the detection of neurotoxins in carnivorous reef fish from the coast of Cameroon, West Africa. *African Journal of Marine Science*. 30(2): 1-5.
14. Biré, R., Krys, S., Frémy, J.-, Dragacci, S., Stirling, D., Kharrat, R., (2002). First evidence on occurrence of gymnodimine in clams from Tunisia. *J. Nat. Toxins* 11 (4), 269–275.
15. Blanco, J.; Cano, J.; Marino, M. D. C. and Campos, M. J. (2006) Effect of phytoplankton containing paralytic shellfish and amnesic shellfish toxins on the culture of the king scallop *Pecten maximus* in Malaga (SE Spain). *Aquat. Living Resour* 19, 267–273.
16. Botana, L. M., Alfonso, A., Vale, C., Vilariño, N., Rubiolo, J., Alonso, E., Cagide, E. (2014). The mechanistic complexities of phycotoxins: toxicology of azaspiracids and yessotoxins In Fishbein JC and Heiman JM. eds. *Advances in Molecular Toxicology* First edition ed. pp 1-33. Elsevier, Oxford.
17. Botana, L.M., Rodriguez-Vieytes, M., Alfonso, A. & Louzao, M.C. (1996). Phycotoxins: paralytic shellfish poisoning and diarrhetic shellfish poisoning. In Nollet, L.M.L. ed. *Handbook of food analysis – residues and other food component analysis*, Volume 2: 1147-1169.
18. Bower, D.J., Hart, R.J., Matthews, P.A. & Howden, M.E.H. (1981). Nonprotein neurotoxins. *Clin. Toxicol.* 18: 813-843.
19. Bravo, J., Cabrera, F., Vega, B., Román, E., Martel, M., Acosta, F., (2015). Appearance of ciguatoxin fish in Atlantic European waters. World Academy of Science, Engineering and Technology Medical and Health Sciences. 2:2-23.
20. Burgess, V.; Shaw, G., (2001). Pectenotoxins-an issue for public health. A review of their comparative toxicology and

- metabolism. *Environmental International.* 27:275–283.
21. Burkholder JM, Glibert PM, Skelton HM. (2008). Mixotrophy, a major mode of nutrition for harmful algal species in eutrophic waters. *Harmful Algae* 8:77-93.
 22. CAC (2003) "Código internacional de prácticas recomendadas – principios generales de la higiene de los alimentos" CAC/RCP 1-1969 Rev.4 – 2003 Codex Alimentarius Comission.
 23. Casabianca, S.; Casabianca, A.; Riobo, P.; Franco, J.M.; Vila, M.; Penna, A. (2013). Quantification of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis* spp. by qPCR assay in marine aerosol. *Environ. Sci. Technol.* 47, 3788–3795.
 24. Cassell, R. T., Chen, W., Thomas, S., Liu, L., and Rein, K. S. (2015). Brevetoxin, the dinoflagellate neurotoxin, localizes to thylakoid membranes and interacts with the light-harvesting complex II (LHCII) of photosystem II. *Chembiochem* 16, 1060–1067. doi: 10.1002/cbic.201402669
 25. Castellví Linde, Gloria (2016): Estudio de la dinámica de un ecosistema marino. Trabajo Final de Grado. Universitat Politècnica de Catalunya, Departament de Matemàtiques. Institut de Ciències del Mar CSIC.
 26. Castillo, M. (2014): Lineamiento de trabajo para el muestreo de fitoplancton y detección de biotoxinas marinas. Comisión Federal para la protección contra riesgos sanitarios. En: *Cofepris*, pág. 1–25. Disponible en línea en COS-DEPE-P-01-POI-05-L-01.
 27. Chan, T. Y. K. (2015). Ciguatera fish poisoning in East Asia and Southeast Asia. *Mar. Drugs* 13, 3466–3478. doi: 10.3390/md13063466.
 28. Chevallier, O. P., Graham, S. F., Alonso, E., Duffy, C., Silke, J., Campbell, K., Botana, L. M., Elliott, C. T. (2015). New insights into the causes of human illness due to consumption of azaspiracid contaminated shellfish. *Sci Rep* 5:9818.
 29. Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Fattorusso, E., Magno, S., Tartaglione, L., Cangini, M., et al., (2006). Toxin profile of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) from the Northern Adriatic Sea revealed by liquid chromatography-mass spectrometry. *Toxicon* 47 (5), 597–604.
 30. Conley, D.J.; Björck, S.; Bonsdorff, E.; Carstensen, J.; Destouni, G.; Gustafsson, B.G.; Hietanen, S.; Kortekaas, M.; Kuosa, H.; Meier, H.E.M.; et al. (2009). Critical review: Hypoxia-related processes in the Baltic Sea. *Environ. Sci. Technol.* 43, 3412–3420.
 31. Crespo, A. (2015): Ficotoxinas marinas: Estudios Histopatológicos. Tesis doctoral. Universidad de Lugo, Facultad de Veterinaria.
 32. CRLMB (Community Reference Laboratory for Marine Biotoxins), 2005. Report on toxicology working group meeting, Cesenatico, Italy, 24-25 October, 2005. Available from <http://www.aesan.mspes.es/en/CRLMB/web/home.shtml>.
 33. Derner, B., Ohse, S., Villela, M., Matos de Carvallo, S. y Fett, R. (2006). Microalgas, productos e aplicaciones. Ciencia Rural, Santa María. 36 (6):1959-1967.
 34. Directiva 2006/7/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de febrero de 2006, relativa a la gestión de la calidad de las aguas de baño y por la que se deroga la Directiva 76/160/CEE. Off J Eur. Commun. L64: 37-52.
 35. Drews P., Jr., Colares R., Machado P., de Faria M., Detoni Al., Tavano Vn. (2013). Microalgae classification using semi-supervised and active learning based on Gaussian mixture models. *Journal of the Brazilian Computer Society* 19:411-422.
 36. EFSA (2008a): Marine biotoxins in shellfish - okadaic acid and analogues - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. En: *EFSA Journal* 6 (1), pág. 589. DOI: 10.2903/j.efsa.2008.589.
 37. EFSA (2008b): Marine biotoxins in shellfish - Azaspiracid group - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. En: *EFSA Journal* 6 (10), pág. 723. DOI: 10.2903/j.efsa.2008.723.
 38. EFSA (2008c): Marine biotoxins in shellfish - Yessotoxin group - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. En: *EFSA Journal* 7 (2), pág. 907. DOI: 10.2903/j.efsa.2009.907.
 39. EFSA (2009a): Marine biotoxins in shellfish - Saxitoxin group. En: *EFSA Journal* 7 (4), pág. 1019. DOI: 10.2903/j.efsa.2009.1019.
 40. EFSA (2009b): Marine biotoxins in shellfish - Pectenotoxin group - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. En: *EFSA Journal* 7 (2), pág. 907. DOI: 10.2903/j.efsa.2009.907.
 41. EFSA (2009c): Marine biotoxins in shellfish - Domoic acid. En: *EFSA Journal* 7 (7), pág. 1181. DOI: 10.2903/j.efsa.2009.1181.
 42. EFSA (2009d). Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – Palytoxin group. *EFSA J.* 1393, 1-38.
 43. EFSA (2010a). Scientific Opinion on Marine Biotoxins in Shellfish – Emerging toxins: Brevetoxin Group. *EFSA J.* 1677, 1–29.
 44. EFSA (2010b). Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – emerging toxins: ciguatoxin group. The EFSA Journal 1627, 1–38. Available from: www.efsa.europa.eu (December 2010).
 45. EFSA. (2010c). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish- Cyclic imines (spirolides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriatoxins). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), The EFSA Journal 8, 1628-1667.
 46. EFSA (2014): Annual report of the Emerging Risks Exchange Network. En: EFSA Journal 12 (7). DOI: 10.2903/sp.efsa.2015.EN-839.
 47. Elika (2014): Biotoxinas Marinas. Riesgo químico. En: *berezi@43*, pág. 1–4.
 48. Erwan Oehler; Jeremie Bouchut (2014): La ciguatéra. En: *Presse medicale* (París, France) 43 (9), pág. 902–911. DOI: 10.1016/j.lpm.2014.01.019.
 49. Espiña B, Louzao MC, Ares IR, Fonfría ES, Vilariño N, Vieytes MR, Yasumoto T, Botana LM. (2010). Impact of the pectenotoxin C-43 oxidation degree on its cytotoxic effect on rat hepatocytes. *Chem. Res. Toxicol.* 23:504-515.
 50. Espiña, B., Otero, P., Louzao, M. C., Alfonso, A., Botana, L. M. (2011). 13-Desmethyl spirolide-c and 13,19- didesmethyl spirolide-c trans-epithelial permeabilities: human intestinal permeability modelling. *Toxicology* 287:69-75.
 51. FAO (2005). Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. Documento Técnico de Pesca. No.334.

52. FAO (2004). Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs. Available: http://www.fao.org/ag/agn/food/risk_biotoxin_en.stm, Oslo, Norway.
53. FAO (2009). "Guidelines for risk-based fish inspection" FAO Food and Nutrition Paper, 90, Food and Agriculture Organization of The United Nations – FAO.
54. FDA (2011). Fish and Fishery Products – Hazards and Controls Guidance, 4^a Ed, Food and Drug Administration – FDA.
55. Fernández, M.; Reguera, B.; González-Gil, S.; Míguez, A.; (2006). Pectenotoxin-2 in single-cell isolates of *Dinophysis caudata* and *Dinophysis acuta* from the Galician Rías (NW Spain). *Toxicicon* 48:477- 490.
56. Félix SAI (2012) "Revisão do sistema HACCP da plataforma de pescado fresco Auchan" – Dissertação de mestrado, Universidade Técnica de Lisboa. Disponível em <http://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/4930>.
57. Ferreira M, Lago J, Vieites J.M., Cabado A. G. (2014). World production of bivalve mollusks and socioeconomic facts related to the impact of marine toxins. In Botana LM ed. *Seafood and Freshwater toxins: Pharmacology, Physiology and Detection*. 3rd edition. pp 291-312. CRC Press (Taylor and Francis Group), Boca Raton, FL.
58. Flewelling, L. J., Naar, J. P., Abbott, J. P., Baden, D. G., Barros, N. B., Bossart, G. D., Bottein, M. Y., Hammond, D. G., Haubold, E. M., Heil, C. A., Henry, M. S., Jacocks, H. M., Leighfield, T. A., Pierce, R. H., Pitchford, T. D., Rommel, S. A., Scott, P. S., Steidinger, K. A., Truby, E. W., Van Dolah, F. M. and Landsberg, J. H. (2005) Brevetoxicosis: red tides and marine mammal mortalities. *Nature* 435, 755-756.
59. Fonfría, E.S. (2009): Ficotoxinas marinas: Métodos de detección en extractos de molusco. Tesis Doctoral. Universidad Santiago de Compostela, Facultad de Veterinaria, Departamento de Farmacología.
60. Fonfría, E.S., Vilariño, N., Espiña, B., Louzao, M.C., Álvarez, M., Molgó, J., et al., (2010). Feasibility of gymnodimine and 13-desmethyl C spirolide detection by fluorescence polarization using a receptor-based assay in shellfish matrixes. *Anal. Chim. Acta* 657 (1), 75–82.
61. Garcia, C.; Truan, D.; Lagos, M.; Santelices, J. P.; Diaz, J. C. and Lagos, N. (2005) Metabolic transformation of Dinophysistoxin-3 into Dinophysistoxin-1 causes human intoxication by consumption of O-Acyl-Derivatives dinophysistoxins contaminated shellfish. *J Toxicol Sci* 30, 287-296.
62. García-Mendoza, E., Quijano-Scheggia, S. I., Olivos-Ortiz, A. y Núñez-Vázquez, E. J. (eds.) (2016). Florecimientos Algaes Nocivos en México. Ensenada, México. CICESE. 438 p.
63. Gessner, B. D. and McLaughlin, J. B. (2008) Epidemiologic impact of toxic episodes: neurotoxic toxins., In Seafood and freshwater toxins: pharmacology, physiology and detection. 2nd edition (Botana, L. M., Ed.) pp 77-103, CRC Press, Boca Raton.
64. Gírio, A. R. (2014): El pescado como riesgo o beneficio para la salud. Tesis Doctoral. Universidad Vasco da Gama, Facultad de Medicina Veterinaria.
65. Godfrey M. Photography of a Red algal bloom, near Cape Rodney. Science Education Resource Center Carleton. Microbial Life, Educational Resources. Disponible en: https://d32ogoqmya1dw8.cloudfront.net/images/microbelife/topics/red_tide_genera.v3.jpg
66. González, A.V., Rodríguez-Velasco, M.L., Ben-Gigirey, B., Botana, L.M., (2006). First evidence of spirolides in Spanish shelffish. *Toxicicon* 48 (8), 1068–1074.
67. Gresham C., Taylor L. (2011) Seafood Toxicity. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/1011549-overview>. Última actualización: 7 agosto 2013.
68. Gvozdenović Sladjana; Mandic Milica; Drakulovic Dragana; Joksimovic Aleksandar (2015): The shellfish biotoxins.
69. Hallegraeff GM. (1993). A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*: 32:79-99.
70. Hallegraeff, G.M. & Hara, Y. (1995). Taxonomy of harmful marine raphidophytes. In Hallegraeff, G.M. et al. eds. *Manual on Harmful Marine Microalgae*, pp.365-371. IOC Manuals and Guides No. 33. UNESCO.
71. Hansen, P. J.; Cembella, A. D. and Moestrup, O. (1992) The marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*: paralytic shellfish toxin concentration, composition, and toxicity to a tintinnid ciliate. *J Phycol* 28, 597-603.
72. Harada, T.; Oshima, Y. and Yasumoto, T. (1982) Structure of two paralytic shellfish toxins, gonyautoxins V and VI, isolated from a tropical dinoflagellate *Pyrodinium bahamense* var. compressa. *Agric Biol Chem* 46, 1861–1864.
73. Hoagland P., Scatasta S. (2006). The Economic Effects of Harmful Algal Blooms. In Granéli E., Turner J., eds. *Ecology of Harmful Algae*: Springer Berlin Heidelberg. p 391-402.
74. Hossen, V., Soliño, L., Leroy, P., David, E., Velge, P., Dragacci, S., et al. (2015). Contribution to the risk characterization of ciguatoxins: LOAEL estimated from eight ciguatera fish poisoning events in Guadeloupe (French West Indies). *Environ. Res.* 143, 100–108.doi: 10.1016/j.envres.2015. 09.014.
75. Howard, M.D.A.; Mary Silver, M.; Kudela R.M. (2008). Yessotoxin detected in mussel (*Mytilus californicus*) and phytoplankton samples from the U.S. west coast. *Harmful Algae* 7:646-652.
76. Hu, T.; deFreitas, A. S. W.; Curtis, J. M.; Oshima, Y.; Walter, J. A. and Wright, J. L. C. (1996) Isolation and structure of Prorocentrolide B, a fast-acting toxin from *Prorocentrum maculosum*. *J Nat Prod.* 59, 1010-1014.
77. Huss H. H., Ababouch L, and Gram L. (2003). Assessment and management of seafood safety and quality. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, pp. 444.
78. Ito, E.; Suzuki, T.; Oshima, Y.; Yasumoto, T.; (2008). Studies of diarrhetic activity on pectenotoxin 6 in the mouse and rat. *Toxicicon* 51:707-716.
79. James K. J., Carey B., O'Halloran J., van Pelt F. N., Skrabakova Z. (2010). Shellfish toxicity: human health implications of marine algal toxins. *Epidemiol. Infect* 138:927-940.
80. Kilham, P. y R. E. Hecky. (1988). Comparative ecology of marine and freshwater phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 33:776-795.
81. Klontz, K. C.; Abraham, A.; Plakas, S. M. and Dickey, R. W. (2009) Mussel-associated azaspiracid intoxication in the United States. *Ann Intern Med* 150, 361.

82. Kotaki, Y.; Koike, K.; Yoshida, M.; Thuoc, C. V.; Huyen, N. T.; Hoi, N. C.; Fukuyo, Y. and Kodama, M. (2000) Domoic acid production in *Nitzschia* isolated from a shrimp culture pond in Do Son, Vietnam. *J Phycol* 36, 1057-1060.
83. Kuno, S. Kamikawa, R. Yoshimatsu, S., Sagara, T., Nishio Se & Sako, Y. (2010). Genetic diversity of *Gambierdiscus* spp. (*Gonyaulacales*, *Dinophyceae*) in Japanese coas tareas. *Phycological Research*. 58: 44-52
84. Lagos, N.; Onodera, H.; Zagatto, P. A.; Andrinolo, D.; Azevedo, S. M. and Oshima, Y. (1999) The first evidence of paralytic shellfish toxins in the fresh water cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil. *Toxicon* 37, 1359-1373.
85. Landsberg, J.H., S. Hall, J.N. Johannessen, K.D. White, S.M. Conrad, J.P. Abbott, L.J. Flewelling, R.W. Richardson, R.W. Dickey, E.L.E. Jester, S.M. Etheridge, J.R. Deeds, F.M. Van Dolah, T.A. Leighfield, Y. Zou, e.G. Beaudry, R.A. Benner, P.L. Rogers, P.S. Scott, K Kawabata, J.L. Wolny, and K.A. Steidinger. (2006). Saxitoxin puffer fish poisoning in the United States, with the first report of *Pyrodinium bahamense* as the putative toxin source. *Environ Health Persp* 114:1S02-1S07.
86. Landsberg, Jan H. (2010): The Effects of Harmful Algal Blooms on Aquatic Organisms. En: *Reviews in Fisheries Science* 10 (2), pág. 113–390. DOI: 10.1080/20026491051695.
87. Lee, K. J.; Mok, J. S.; Song, K. C.; Yu, H.; Lee, D. S.; Jung, J. H. and Kim, J. H. (2012) First detection and seasonal variation of lipophilic toxins okadaic acid, dinophysistoxin-1, and yessotoxin in Korean gastropods. *J Food Prot* 75, 2000-2006.
88. Legrand, A.M. 1998. Ciguatera toxins: origin, transfer through the food chain and toxicity to humans. In Reguera, B., Blanco, J., Fernandez, M. & T. Wyatt, eds. 1997. Harmful Algae, Proceedings of the VIII International Conference on Harmful Algae, (June 1999, Vigo, Spain), pp. 39-43. Xunta de Galicia and IOC of UNESCO.
89. Lehane, L. (2000). Ciguatera update. *Med. J. Aust.* 172(4): 176-179.
90. Lehane, L.; Lewis, R. J. (2000). Ciguatera: recent advances but the risk remains. *Int J Food Microbiol* 61:91-125.
91. Lewis, R. J. (2001). The changing face of ciguatera. *Toxicon* 39:97-106.
92. Lima, F. P.; Wethey, D.S. (2012). Three decades of high-resolution coastal sea surface temperatures reveal more than warming. *Nat. Commun*: 3, 704.
93. Lin, H.; Nagashima, Y.; Jiang, P.; Qin, X.; Lu, Y.; Zhang, C. (2012). Screening for toxicity and resistance to paralytic shellfish toxin of shore crabs inhabiting at Leizhou peninsula, China. *Mar. Environ. Res.* 78, 48-52.
94. Lindahl, O. (1998). Occurrence and Monitoring of harmful algae in the marine environment. In Miraglia, M., Van Egmond, H., Brera, C. & J. Gilbert, eds. 1998. *Mycotoxins and phycotoxins – developments in chemistry, toxicology and food safety*. Proceedings of the IX International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, pp. 409-423. Fort Collins, Colorado, Alaken Press.
95. Litaker, R. W., Vandersea, M. W., Faust, M. A., Kibler, S. R., Chinain, M., Holmes, M. J. H., et al. (2009). Taxonomy of *Gambierdiscus* including four new species, *Gambierdiscus caribaeus*, *Gambierdiscus carolinianus*, *Gambierdiscus carpenteri* and *Gambierdiscus ruetzleri* (*Gonyaulacales*, *Dinophyceae*). *Phycologia* 48, 344– 390. doi: 10.2216/07-15.1.
96. Litaker, W.R., Vandersea, M. W., Faust, M. A., Kibler, S. R., Nau, A. W., Holland, D. W., Chinain, M., Holmes, J. y Tester, A. P., (2010). Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. *Toxicon*. 56:711-730.
97. Llewellyn, L. E. (2006) Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors. *Nat Prod Rep* 23, 200-222.
98. López, J. M. et al. (2014): Evaluación de la concentración de los grupos de fitoplancton: Diatomeas, Cianofitas, Clorofitas y Dinoflagelados y su relación con los parámetros fisicoquímicos, en las aguas del Río Estero Real.
99. López, S. y Catzim, L. (2010), Capítulo 4: Microalgas Dulceacuícolas, En "Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán", Centro de Investigación Científica de Yucatán, PPD-FMAM, Conabio, Seduma. México, pp. 165-166.
100. López-Rivera, A.; O'Callaghan, K.; Moriarty, M.; O'Driscoll, D.; Hamilton, B.; Lehane, M.; James, K. J. and Furey, A. (2010) 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, 692-701.
101. Lu, C.-K.; Lee, G.-H.; Huang, R. and Chou, H.-N. (2001) Spiroprorocentrimine, a novel macrocyclic lactone from a benthic *Prorocentrum* sp. Of Taiwan. *Tetrahedron Lett.* 42, 1713-1716.
102. MacKinnon, S.L.; Walter, J.A.; Quilliam, M.A.; Cembella, A.D.; Leblanc, P.; Burton, I.W.; et al., (2006). Spirolides isolated from Danish strains of the toxicogenic dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*. *J. Nat. Prod.*, 983–987.
103. Magaña, H. A., Contreras, C. and Villareal, T. A. (2003) A historical assessment of *Karenia brevis* in the western Gulf of Mexico. *Harmful Algae* 2, 163-171.
104. Martin, R.; García, T.; Sanz, B.; Hernández, P. E. (2005): Biotoxinas marinas. Intoxicaciones por el consumo de moluscos bivalvos/Seafood toxins: poisoning by bivalve consumption. En: *Food Science and Technology International* 2 (1), pág. 13–22. DOI: 10.1177/108201329600200102.
105. Mattei, C., Vetter, I., Eisenblätter, A., Krock, B., Ebbecke, M., Desel, H., et al. (2014). Ciguatera fish poisoning: a first epidemic in Germany highlights an increasing risk for European countries. *Toxicon* 91, 76–83. doi: 10.1016/j.toxicon.2014.10.016.
106. Miles, C., Rundberget, T., Sandvik, M., Aasen, J.A.B., Selwood, A.I., 2010. The presence of pinnatoxins in Norwegian mussels. Report 07b of Veterinærinstituttets rapportserie.
107. Morton, S. L.; Vershinin, A.; Leighfield, T. A.; Smith, L. and Quilliam, M. (2007) Identification of yessotoxin in mussels from the caucasian black sea coast of the russia federation. *Toxicon* 50, 581–584.
108. Munday R, Reeve J. (2013). Risk assessment of shellfish toxins. *Toxins* 5:2109-2137.
109. Murata, M.; Kumagai, M.; Lee, J. S. and Yasumoto, T. (1987) Isolation and structure of yessotoxin, a novel polyether compound implicated in diarrhetic shellfish poisoning. *Tetrahedron Lett* 28, 5869-5872.
110. NOAA, National Oceanic and Atmospheric Administration. Dead Zones (2014): Hypoxia in the Gulf of Mexico. Available online: <http://www.noaanews.noaa.gov/stories2009/pdfs/new%20fac>

- t%20sheet%20dead%20zones_final.pdf.
111. Neves E (2012). Apuntes de las clases de la unidad curricular de Inspección Sanitaria I del Máster Integrado en Medicina Veterinaria del Instituto de Ciencias Biomédicas Abel Salazar.
 112. Nielsen, L. T., Hansen, P. J., Krock, B., and Visman, B. (2016). Accumulation, transformation and break down of DSP toxins from the toxic dinoflagellate *Dinophysis acuta* in blue mussels, *Mytilus edulis*. *Toxicology* 117, 84–93. doi: 10.1016/j.toxicon.2016.03.021.
 113. Noguchi, T.; Ebisu, J. S. M. (2001). Puffer poisoning: Epidemiology and treatment. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 2001, 20, 1–10.
 114. Norton TA, Melkonian M, Andersen RA. (1996). Algal biodiversity. *Phycologia* 35:353-65.
 115. Nozawa, A., Tsuji, K. and Ishida, H. (2003) Implication of brevetoxin B1 and PbTx-3 in neurotoxic shellfish poisoning in New Zealand by isolation and quantitative determination with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Toxicon* 42, 91-103.
 116. Nzoughet, J.K.; Campbell, K.; Barnes, P.; Cooper, K.M.; Chevallier, O.P.; Elliott, C.T. (2013). Comparison of sample preparation methods, validation of an UPLC-MS/MS procedure for the quantification of tetrodotoxin present in marine gastropods and analysis of pufferfish. *Food Chem.* 136, 1584–1589.
 117. Oehler, Erwan y Bouchut, Jeremie (2014): La ciguatera. En: *Presse medicale* (Paris, France: 1983) 43 (9), pág. 902–911. DOI: 10.1016/j.ipm.2014.01.019.
 118. Oehler, E. y Bouchut, J. (2014). La Ciguatera. *Elsevier Massons SAS.* 43:902-911.
 119. Oliva-Martínez, María Guadalupe; Godínez-Ortega, José Luis; Zúñiga-Ramos, Catriona Andrea (2014): Biodiversidad del fitoplancton de aguas continentales en México. En: *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85, pág. 54–61. DOI: 10.7550/rmb.32706.
 120. Orozco J, Medlin LK. (2013). Review: advances in electrochemical genosensors-based methods for monitoring blooms of toxic algae. *Environmental science and pollution research international.* 20:6838-6850.
 121. Oshima, Y.; Blackburn, S. I. and Hallegraeff, G. M. (1993) Comparative study on paralytic shellfish toxin profiles of the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* from three different countries. *Mar Biol* 116, 471–476.
 122. Otero, P., Alfonso, A., Rodríguez, P., Rubiolo, J. A., Cifuentes, J. M., Bermúdez, R., Vieytes, M. R., Botana, L. M. (2012). Pharmacokinetic and toxicological data of spirolides after oral and intraperitoneal administration. *Food Chem Toxicol* 50:232-237.
 123. Paredes, I.; Rietjens, I. M. C. M.; Vieites, J. M.; Cabado, A. G. (2011): Update of risk assessments of main marine biotoxins in the European Union. En: *Toxicon: official journal of the International Society on Toxicology* 58 (4), pág. 336–354. DOI: 10.1016/j.toxicon.2011.07.001.
 124. Parsons, M.L., Aligizaki, K., Bottein, M.-Y.D., Fraga, S., Morton, S.L., Penna, A., Rhodes, L., (2012). *Gambierdiscus* and *Ostreopsis*: Reassessment of the state of knowledge of their taxonomy, geography, ecophysiology, and toxicology. *Harmful Algae* 14, 107-129.
 125. Patrocínio I.D.R. (2009) "A segurança alimentar no consumo de pescado cru com valência para a produção de sushi" – dissertação de maestría, Universidad Nueva de Lisboa. <http://run.unl.pt/handle/10362/2508>.
 126. Pavela-Vrancic M, Mestrovic V, Marasovic I, Gillman M, Furey A, James KK. (2001). The occurrence of 7-epi-pectenotoxin-2 seco acid in the coastal waters of the central Adriatic (Kastela Bay). *Toxicon* 39:771-779.
 127. Pérez, D. S.; Soraci, Alejandro, L.; Tapia, M. O. (2008): Cianobacterias y cianotoxinas: Rol de las microcistinas en la salud humana y animal y su detección en muestras de agua. En: *Analecta Veterinaria* 28 (1), p. 48-56.
 128. Pérez, L. (2013): Desarrollo de métodos bioquímicos para la detección de ficotoxinas. Tesis Doctoral. Universidad de Lugo, Departamento de Farmacología, Facultad de Veterinaria.
 129. Peteva, Z.; Stancheva M. and St. Georgieva (2016): EU Regulated marine biotoxins in sea food: Origin, classification, chemical structure and intoxication effects. Agricultural Academy. En: *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 22 (2), pág. 188–196.
 130. Pomati, F.; Sacchi, S.; Rossetti, C.; Giovannardi, S.; Onodera, H.; Oshima, Y. and Neilan, B. A. (2000) The freshwater cyanobacterium *Planktothrix* sp. FP1: molecular identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *J Phycol* 36, 553–562.
 131. Pulido, O. M. (2016). Phycotoxins by Harmful Algal Blooms (HABS) and Human Poisoning: An Overview. *Int Clin Pathol J*, 2(6), 00062.
 132. Ramos, V.; Vasconcelos, V. (2010). Palytoxin and analogs: Biological and ecological effects. *Mar. Drugs* 8, 2021–2037.
 133. Reglamento (UE) nº 786/2013 de la Comisión, de 16 de agosto de 2013, por el que se modifica el anexo III del Reglamento (CE) nº 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a los límites permitidos de yessotoxinas en los moluscos bivalvos vivos. L220, 14, Off. J. Eur. Comunidades.
 134. Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 que establece reglas específicas de higiene aplicadas a los géneros alimenticios de origen animal. Off J Eur Commun. 2004a; L139:55-205.
 135. Reguera, B. (2002). Establecimiento de un programa de seguimiento de microalgas tóxicas. En: *Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano;* Sar E.A.; Ferrario M.; Reguera B. (eds.). Instituto Español de Oceanografía, Madrid, España.
 136. Rehmann, N.; Hess, P. and Quilliam, M. A. (2008) Discovery of new analogs of the marine biotoxin azaspiracid in blue mussels (*Mytilus edulis*) by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 22, 549-558.
 137. Reynolds, C. S. (1984). The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, *Cambridge.* 384 p.
 138. Reynolds, C. S. (1996). Plant life of the pelagic. *Proceedings of the International Association for Theoretical and Applied Limnology* 26:97-113.
 139. Richard, D.; Arsenault, E.; Cembella, A. and Quilliam, M. A. In Harmful Algal Blooms (2000): Proceedings of the Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms.; Hallegraeff, G. M., Blackburn, S. I., Bolch, C. J. and Lewis, R. J., Eds.; Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO: Paris, 2001; pp 383-390.

140. Riobó Agulla, P., (2006). Palitoxinas, ensayos biológicos y métodos químicos para su determinación en organismos marinos. Universidad de Vigo.
141. Rodríguez-Velasco, M. L. (2008). Toxin monitoring programs and regulatory view, In Seafood and freshwater toxins: pharmacology, physiology and detection. 2nd ed.; Botana, L. M., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL; pp 919-932.
142. Romo, A. (2002). Manual para el cultivo de microalgas, Memoria Técnicas para un Trabajo Profesional. Universidad Autónoma de Baja California sur Área Interdisciplinaria de Ciencias del Mar. Departamento de Biología Marina. 50pp.
143. Salazar, T. D. C. M. (2016). Las biotoxinas marinas en los alimentos. *Revista Peruana de Obstetricia y Enfermería*, 2(2).
144. Salazar-González, M. (2006). Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. Contactos 59: 64-70.
145. Saoudi, M.; Rabeh, F.B.; Jammoussi, K.; Abdelmouleh, A.; Belbahri, L.; Feki, A.E. (2007). Biochemical and physiological responses in Wistar rat after administration of puffer fish (*Lagocephalus lagocephalus*) flesh. *J. Food Agric. Environ.* 2007, 5, 107–111.
146. Satake M, Murata M, Yasumoto T. (1993). Gambierol: a new toxic polyether compound isolated from the marine dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *J. Am. Chem. Soc* 115:361 362.
147. Satake, M.; Ofuji, K.; Naoki, H.; James, K. J.; Furey, A.; McMahon, T.; Silke, J. and Yasumoto, T. (1998) Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from irish mussels, *Mytilus edulis*. *J Am Chem Soc* 120, 9967-9968.
148. Sato, S., Ogata, T., Borja, V., Gonzales, C., Fukuyo, Y., Kodama, M., (2000). Frequent occurrence of paralytic shellfish poisoning toxins as dominant toxins in marine puffer from tropical water. *Toxicon* 38 (8), 1101–1109.
149. Schantz, E. J.; Mold, J.; Stanger, D.; Shavel, J.; Riel, F.; Bowden, J.; Lynch, J.; Wyler, R.; Riegel, B. and Sommer, H. (1957) Paralytic shellfish poison VI. A procedure for the isolation and purification of the poison from toxic clams and mussel tissues. *J Am Chem Soc* 79, 5230–5235.
150. Schirone, M.; Visciano, P.; Luciani, M.; Ciarelli, A.; Berti, M.; Tofalo, R. and Suzzi, G. (2013) Yessotoxin determination in *Mytilus galloprovincialis* revealed by an in vitro functional assay. *Environ Sci Pollut Res Int* 20, 1189-1192.
151. Seki, T., Satake, M., Mackenzie, L., Kaspar, H.F., Yasumoto, T., (1995). Gymnodimine, a new marine toxin of unprecedented structure isolated from New Zealand oysters and the dinoflagellate, *Gymnodinium* sp. *Tetrahedron Lett.* 36 (39), 7093–7096.
152. Serrano, E., et al. (2017): Intoxicaciones por productos del mar. En: *Revista del Hospital Clínico Qurúrgico "Arnaldo Millán Castro"* 11 (2).
153. Silva, Marisa; Pratheepa, Vijaya K.; Botana, Luis M.; Vasconcelos, Vitor (2015): Emergent toxins in North Atlantic temperate waters. A challenge for monitoring programs and legislation. En: *Toxins* 7 (3), pág. 859–885. DOI: 10.3390/toxins7030859.
154. Smayda, T. J., (1997). Harmful Algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 42:1137-1153.
155. Soliño Alonso, L. (2015). Detección de toxinas marinas y caracterización de su mecanismo de acción mediante ensayos celulares. Aplicaciones a la identificación de riesgos alimentarios.
156. Sournia, A., (1995). Red-tide and toxic marine phytoplankton of the world ocean: An inquiry into biodiversity. In *Harmful algal blooms*. Proc. 6th. Int. Conf. on *Toxic Marine Phytoplankton*, Lavosier pp.: 103-112.
157. Spencer E. and Van Dolah, Frances M., (2012). "Marine Biotoxins: Emergence of Harmful Algal Blooms as Health Threats to Marine Wildlife". Publications, Agencies and Staff of the U.S. Department of Commerce. Paper 553.
158. Steidenger, K. A. (1983) A re-evaluation of toxic dinoflagellates biology and ecology, In *Progress in phycological research* (Round, F. E. and Chapman, D. J., Eds.) pp 147-188, Elsevier, Amsterdam.
159. Suárez B. et al. (ed.) (1999): Mareas Rojas y Toxinas Marinas: Floraciones de Algas Nocivas. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. 1^a ed. Santiago de Chile: Universitaria (*Colección orientaciones en ciencia, tecnología y cultura*, 18).
160. Sun, P., Leeson, C., Zhi, X., Leng, F., Pierce, R.H., Henry, M.S., et al. (2016). Characterization of an epoxide hydrolase from the Florida red tide dinoflagellate, *Karenia brevis*. *Phytochemistry* 122, 11–21. doi: 10.1016/j.phytochem.2015.11.002.
161. Suzuki T, Mackenzie L, Stirling D, Adamson J. (2001). Pectenotoxin-2 seco acid: a toxin converted from pectenotoxin-2 by the New Zealand Greenshell mussel, *Perna canaliculus*. *Toxicon* 39:507-514.
162. Takada, N.; Umemura, N.; Suenaga, K. and Uemura, D. (2001) Structural determination of pteriatoxins A, B and C, extremely potent toxins from the bivalve *Pteria penguin*. *Tetrahedron Lett* 42, 3495-3497.
163. Takahashi, E., Yu, Q., Eaglesham, G., Connell, D.W., McBroom, J., Costanzo, S., et al., (2007). Occurrence and seasonal variations of algal toxins in water, phytoplankton and shellfish from North Stradbroke Island, Queensland, Australia. *Mar. Environ. Res.* 64 (4), 429–442.
164. Taleb, H.; Vale, P.; Amanhir, R.; Benhadouch, A.; Sagou, R. and Chafik, A. (2006) First detection of azaspiracid in mussels in north west Africa. *J.Shellfish.Res* 25, 1067-1070.
165. Tavares de Pinho, J. P. (2015): Consumo de pescado cru: Inquérito sobre o consumo e a percepção dos riscos. Maestría Integrada en Medicina Veterinaria. Universidad de Oporto. Instituto de ciencias biomédicas Abel Salazar.
166. Ten-Hage, L., Delaunay, N., Pichon, V., Couté, A., Puiseux-Dao, S. and Turquet, J. (2000) Okadaic acid production from the marine benthic dinoflagellate *Prorocentrum arenarium* Faust (Dinophyceae) isolated from Europa Island coral reef ecosystem (SW Indian Ocean). *Toxicon* 38, 1043-1054.
167. Tillmann, U.; Elbrachter, M.; Krock, B.; John, U. and Cembella, A. (2009) Azadinium spinosum gen. et sp. nov. (Dinophyceae) identified as a primary producer of azaspiracid toxins. *Eur. J. Phycol* 44, 63-79.
168. Tomas, C. (1997). Identifying marine phytoplankton. Academic Press. New York. 858 p.

169. Torigoe, K.; Murata, M. and Yasumoto, T. (1988) Prorocentrolide, a toxic nitrogenous macrocycle from a marine dinoflagellate, *Prorocentrum lima*. *J Am Chem Soc* 110, 7876-7877.
170. Toyofuku H. (2006). Joint FAO/WHO/IOC activities to provide scientific advice on marine biotoxins (research report). *Mar Pollut Bull* 52:1735-1745.
171. Ueoka, R.; Ito, A.; Izumikawa, M.; Maeda, S.; Takagi, M.; Shinya, K.; Yoshida, M.; van Soest, R. W. M. and Matsunaga, S. (2009) Isolation of azaspiracid-2 from a marine sponge *Echinocladthria* sp. as a potent cytotoxin. *Toxicon* 53, 680-684.
172. Vale, C., Nicolaou, K. C., Frederick, M. O., Gómez-Limia, B., Alfonso, A., Vieytes, M. R., Botana, L. M. (2007). Effects of azaspiracid-1, a potent cytotoxic agent, on primary neuronal cultures. A structureactivity relationship study. *J Med Chem* 50:356-363.
173. Vale, P. (2004) "Biotoxinas Marinhas" Revista Portuguesa de Ciencias Veterinarias, 99, 3-18.
http://www.fmv.utl.pt/spcv/PDF/pdf3_2004/549_03_18.pdf
174. Vale, P. (2011): Biotoxinas emergentes em águas europeias e novos riscos para a saúde pública. En: Revista Portuguesa de Saúde Pública 29 (1), pág. 77-87. DOI: 10.1016/S0870-9025(11)70010-4.
175. Vale P., de M. Sampayo M.A. (2002). Pectenotoxin-2 seco acid, 7-epi-pectenotoxin-2 seco acid and pectenotoxin-2 in shellfish and plankton from Portugal. *Toxicon* 40:979-987.
176. Valdiglesias, V.; Laffon, B.; Pásaro, E. and Méndez, J. (2011) Evaluation of okadaic acid-induced genotoxicity in human cells using the micronucleus test and tH2AX analysis. *J Toxicol Environ Health* 74, 980-992.
177. Van Dolah F. M. (2000a). Marine algal toxins: origins, health effects, and their increased occurrence. *Environ Health Perspect.* 108 Suppl 1:133-141.
178. Van Dolah, F. M. (2000b) Diversity of marine and freshwater algal toxins. En: Seafood and freshwater toxins. Pharmacology, physiology and detection, editado por L. M. Botana. New York: Marcel Dekker Inc., p. 19-43.
179. Vaz-Pires PMR (2006) "Tecnología do pescado" Apuntes de la unidad curricular de Tecnología Alimentaria de la Licenciatura de Ciencias del Medio Acuático. Instituto de Ciencias Biomédicas Abel Salazar.
http://www.icbas.up.pt/~vazpires/pessoal_files/tecnologia%20pescado_files/PPapontam2006.pdf
180. Veiga A, Lopes A, Carrilho E, Silva L, Dias MB, Seabra MJ, Borges M, Fernandes P, Nunes S, Ferreira S (2012) "Perfil de risco dos principais alimentos consumidos em Portugal" - Autoridade de Segurança Alimentar e Económica - ASAEE. Lisboa. (disponível em www.asae.pt).
181. Visciano, Pierina; Schirone, Maria; Berti, Miriam; Milandri, Anna; Tofalo, Rosanna; Suzzi, Giovanna (2016): Marine Biotoxins. Occurrence, Toxicity, Regulatory Limits and Reference Methods. En: *Frontiers in microbiology* 7, pág. 1051. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01051.
182. Wang DZ. (2008). Neurotoxins from marine dinoflagellates: a brief review. *Mar drugs* 6:349-371.
183. Wang, X.J.; Yu, R.C.; Luo, X.; Zhou, M.J.; Lin, X.T. (2008). Toxin-screening and identification of bacteria isolated from highly toxic marine gastropod *Nassarius semiplicatus*. *Toxicon* 52, 55-61.
184. Watkins, S. M., Reich, A., Fleming, L.E., and Hammond, R. (2008). Neurotoxin shellfish poisoning. *Mar. Drugs* 6, 431-455. doi: 10.3390/ md20080021.
185. Wher, J. D. (2003). Freshwater habitats of algae. In Freshwater algae of North America. Ecology and classification, J. D. Wher y R. J. Sheath (eds.). Academic Press, San Diego. p. 11-57.
186. Wright, J. L. C.; Boyd, R. K.; de Freitas, A. S. W.; Falk, M.; Foxall, R. A.; Jamieson, W. D.; Laycock, M. V.; McCulloch, A. W.; McInnes, A. G.; Odense, P.; Pathak, V. P.; Quilliam, M. A.; Ragan, M. A.; Sim, P. G.; Thibault, P.; Walter, J. A.; Gilgan, M.; Richard, D. J. A. and Dewar, D. (1989) Identification of domoic acid, a neuroexcitatory amino acid, in toxic mussels from eastern Prince Edward Island. *Can J Chem* 67, 481-490.
187. Yang, G.; Xu, J.; Liang, S.; Ren, D.; Yan, X.; Bao, B. (2010). A novel TTX-producing *Aeromonas* isolated from the ovary of *Takifugu obscurus*. *Toxicon*, 56, 324-329.
188. Yasumoto T, Murata M, Oshima Y, Sano M, Matsumoto GK, Clardy J. (1985). Diarrhetic shellfish toxins. *Tetrahedron* 41:1019-1025.
189. Yokoo, A. (1950). Study on chemical purification of tetrodotoxin—Purification of spheroidine. *J. Chem. Soc. Jpn.* 1950, 71, 590-592.
190. Yotsu-Yamashita, M.; Gilhen, J.; Russell, R.W.; Krysko, K.L.; Melau, C.; Kurz, A.; Kauferstein, S.; Kordis, D.; Mebs, D. (2012). Variability of tetrodotoxin and of its analogues in the red-spotted newt, *Notophthalmus viridescens* (Amphibia: Urodela: Salamandridae). *Toxicon* 59, 257-264.
191. Zaman, L.; Arakawa, O.; Shimosu, A.; Onoue, Y.; Nishio, S.; Shida, Y. and Noguchi, T. (1997) Two new isomers of domoic acid from a red alga, *Chondria armata*. *Toxicon* 35, 205-212.

ANEXOS

1. ANEXO I: ABREVIATURAS

AD	Ácido domoico
AECOSAN	Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición
AO	Ácido okadaico
ASP	Intoxicación amnésica por consumo de mariscos (<i>Amnesic shellfish poisoning</i>)
AZA	Azaspíracido
AZP	Intoxicación por azaspíracido
CAC	Comité Administrativo de Coordinación (Naciones Unidas)
CFP	Intoxicación ciguatérica por consumo de pescado (<i>Ciguateric fish poisoning</i>)
CM	Carne de marisco
CRLMB	<i>Comunitary Reference Laboratory for Marine Biotoxins</i>
CTX	Ciguatoxina
DLM	Dosis Letal Mínima
DSP	Intoxicación diarreica por consumo de mariscos (<i>Diarrhetic shellfish poisoning</i>)
DTX	Dinofisistoxina
EDO	Enfermedad de Declaración Obligatoria
Eq.	equivalentes
EURLMB	<i>European Union Reference Laboratory for Marine Biotoxins</i>
FAN (HAB)	Floración Algar Nociva (<i>Harmful Algar Bloom</i>)
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación (<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>)
GTX	Gonyautoxina
i. p.	Intraperitoneal
LNRBM	Laboratorio Nacional de Referencia de Biotoxinas Marinas
NRL	<i>National Reference Laboratories</i>
NSP	Intoxicación neurotóxica por consumo de mariscos (<i>Neurotoxic shellfish poisoning</i>)
PAN	Proliferación Algar Nociva
PbTX	Brevetoxina
PITX	Palitoxina
PSP	Intoxicación paralizante por consumo de mariscos (<i>Paralytic shellfish poisoning</i>)
PTX	Pectenotoxina
ROS	Especies reactivas de oxígeno (<i>Reactive Oxide Species</i>)
STX	Saxitoxina
TTX	Tetrodotoxina
YTX	Yessotoxina

2. ANEXO II: FOTOGRAFÍA AÉREA DE UNA MAREA ROJA

Fotografía aérea de una marea roja no tóxica producida por el dinoflagelado *Noctiluca scintillans* en las costas de Nueva Zelanda. Fotografía de Godfrey (Crespo, 2015).



https://d32ogogmya1dw8.cloudfront.net/images/microbelife/topics/red_tide_genera.v3.jpg

3. ANEXO III: TABLA DE LAS DOSIS AGUDA DE REFERENCIA DE BIOTOXINAS MARINAS

Dosis aguda de referencia de biotoxinas marinas. Adaptación propia de Paredes *et al.*, 2011.

BIOTOXINA	ARfD	RIESGO - Posibilidad de superar ARfD	REFERENCIA
STX	0.5 µg eq. STX/kg	SÍ	EFSA, 2009a
AO	0.3 µg eq. AO/kg	SÍ	EFSA, 2008a
AD	30 µg eq. AD/kg	SÍ	EFSA, 2009c
PbTX	<i>NO HAY DATOS</i> ²	<i>NO HAY DATOS</i>	EFSA, 2010a
AZA	0.2 µg eq. AZA/kg	SÍ	EFSA, 2008b
IC¹	<i>NO HAY DATOS</i> ³	NO : SPXs (<i>No hay datos de las demás</i>)	CRLMB, 2005; EFSA, 2010c
PTX	0.8 µg eq. PTX/ kg	SÍ	EFSA, 2009b
YTX	25 mg eq. YTX/kg	NO	EFSA, 2008c
CTX¹	<i>NO HAY DATOS</i> ⁴	<i>NO HAY DATOS</i>	EFSA, 2010b
TTX¹	2 µg eq. TTX/kg ⁵	<i>NO HAY DATOS</i>	Paredes <i>et al.</i> , 2011
PITX¹	0.2 µg eq. PITX/kg	SÍ⁶	EFSA, 2009d

¹Biotoxinas emergentes.

²Los datos sobre toxicidad oral en animales de experimentación son muy limitados. No hay estudios a largo plazo que permitan establecer una ingesta diaria tolerable (TDI). Los datos cuantitativos sobre las intoxicaciones en humanos sugieren que los efectos se pueden encontrar a partir de una exposición dietética de 2-3 µg de equivalentes de PbTX/ kg de peso corporal. Sin embargo, no se dispone de dosis de referencia que indique valores no tóxicos (EFSA, 2010a).

³En la actualidad no existen reglamentos sobre las IC en Europa ni en otras regiones del mundo. Sin embargo, el grupo de trabajo toxicológico del CRLMB ha propuesto un nivel de orientación de 400 µg eq. SPXs/ kg de carne de marisco (CRLMB, 2005; EFSA, 2010c).

⁴El Panel CONTAM, propio de la EFSA, concluyó que el establecimiento de una ARfD oral no había sido posible debido a que los datos cuantitativos son muy limitados, tanto en animales, así como relacionados con intoxicaciones humanas (EFSA, 2010b).

⁵El valor de ARfD para TTX se ha extraído del gobierno japonés, no hay datos de referencia propios de la Unión Europea (Paredes *et al.*, 2011).

⁶En este caso el riesgo se estima a partir de la suma de PITX y de ovatoxina-A. Si la ovatoxina-A tuviera una potencia similar a la de PITX y de ostreocina-D, una exposición a una porción de marisco de 400g, sería 10 veces mayor que la ARfD de 0,2 µg/ kg por peso corporal (EFSA, 2009d).