

ACTUALIZACIÓN

Toxinas Algales en el Mar Argentino: nuevos hallazgos, nuevos desafíos. Algal Toxins in the Argentine Sea: new findings, new challenges.

Montoya, Nora G.*; Carignan Mario O.; Mattera María Belén.

Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP). Paseo Victoria Ocampo N°1, Escollera Norte - Mar del Plata (B7602HSA), Pcia. de Buenos Aires, Argentina. Teléfono: +54 (223) 420-9100.

*nmontoya@inidep.edu.ar

Recibido: 24/08/2020

Aceptado: 11/02/2021

Resumen. Las floraciones de algas nocivas son un problema cada vez más frecuente a nivel mundial que ocasiona severos daños sobre la salud pública, pérdidas económicas en acuicultura, perjuicios al turismo y episodios de mortalidad de poblaciones naturales de peces, aves y mamíferos marinos. Las toxinas son producidas por el fitoplancton y se acumulan en moluscos bivalvos que se alimentan por filtración del agua siendo estos los principales vectores de intoxicación humana. En el Mar Argentino, se han reportado toxinas marinas de origen microalgal asociadas con cuatro síndromes de intoxicación por moluscos. Los síndromes más graves por su extensión, frecuencia, toxicidad y organismos afectados, son los originados por el dinoflagelado *Alexandrium catenella* responsable de la Intoxicación Paralizante por Moluscos la cual ha ocasionado numerosas muertes humanas. Seguidamente, la más leve, en cuanto a gravedad y frecuencia, ha sido la Intoxicación Diarreica por Moluscos. En contraste, el ácido domoico, conocido como toxina amnésica de moluscos, no ha producido hasta ahora intoxicaciones humanas. Recientemente, se amplió el rango de toxinas para la región al registrarse las toxinas y los dinoflagelados productores de la Intoxicación Azaspirácidos por Moluscos. Además, se han detectado las potencialmente tóxicas Yessotoxinas y Spirolidos, cuyos mecanismos de acción y toxicidad están siendo aún evaluados a nivel mundial. Estas toxinas emergentes para la región, representan un riesgo potencial para la salud e inconvenientes socioeconómicos por el cierre de los sitios de explotación de moluscos. Ciertamente presentan un nuevo desafío, pues la detección y cuantificación sólo puede realizarse por medio de métodos basados en HPLC - espectrometría de masas, lo cual dificulta el monitoreo en laboratorios regionales en el país. La herramienta clave de manejo es la prevención, a través de políticas, regulaciones y sistemas de monitoreo y control de cada grupo de toxinas. A través de estas mejoras, se anticipa que no sólo disminuirá el número de afectados por estas intoxicaciones, si no que se podrán realizar vedas más eficientes, asegurando un equilibrio que proteja tanto la salud pública como el desarrollo de la industria pesquera.

Palabras claves: Toxinas marinas; Fitoplancton tóxico; Argentina; Intoxicación por moluscos.

Abstract. Harmful algal blooms are an increasingly common problem worldwide, causing severe damage to public health, economic losses in aquaculture, damage to tourism and mortality events of natural populations of fish, birds and marine mammals. The toxins are produced by phytoplankton and accumulated in bivalve molluscs that feed on water filtration, being these main vectors of human intoxication. In the Argentine Sea marine toxins of microalgal origin have been reported associated with four shellfish poisoning syndromes. The most serious due to their extension, frequency, toxicity and affected organisms are those caused by the dinoflagellate *Alexandrium catenella* responsible for the Paralytic shellfish poisoning that has caused numerous human deaths. Then, the mildest, in severity and frequency, is the Diarrhetic shellfish poisoning. In contrast, domoic acid, known as Amnesic shellfish toxin, has not produced human intoxications yet. Recently, toxins and dinoflagellate species causing Azaspiracid shellfish poisoning have been recorded, expanding the range of toxins for the region. In addition, the potentially toxic Yessotoxins and Spirolides have been detected, whose mechanism of action and toxicity is still being evaluated worldwide. These emerging toxins represent a potential risk to public health and socioeconomic activities due to the eventual closure of mollusc exploitation sites. They certainly present a new challenge, since detection and quantification can only be carried out using methods based on HPLC - mass spectrometry, which makes monitoring in regional laboratories difficult. Prevention through policies, regulations, and monitoring and control systems of each toxin group is the key management tool. These preventive measures are expected to contribute to reducing the number of poisonings and to applying more efficient fisheries closures, ensuring a balance that protects both public health and the development of the fishing industry.

Keywords: Marine toxins; Toxic phytoplankton; Argentina; Shellfish poisoning.

Introducción

Las floraciones de algas nocivas (FAN) son fenómenos naturales causados por organismos fitoplanctónicos microscópicos, que en condiciones

ambientales favorables para su desarrollo, se multiplican y concentran produciendo efectos nocivos para los ecosistemas y la salud humana. El término

FAN, no es una clasificación científica, sino socio-económica, pues define cualquier proliferación de microalgas (independientemente de su concentración) que sea percibida como dañina para el hombre. Por lo tanto, una microalga de la misma especie puede resultar muy dañina en una parte del mundo y pasar totalmente inadvertida en otra si no afecta la salud de sus habitantes o a alguno de sus principales recursos pesqueros o naturales. De acuerdo con las especies de fitoplancton involucradas, los efectos nocivos pueden dividirse en dos grandes grupos. El primer grupo de fitoplancton no produce toxinas, pero causa efectos nocivos como la producción de metabolitos que afectan la calidad del ambiente o mortandad de organismos marinos por anoxia o daño físico a sus branquias (Hallegraeff 1995). El segundo grupo fitoplanctónico, más perjudicial, es el que produce potentes toxinas que pueden contaminar los alimentos de origen marino y poner en riesgo a la salud humana, ocasionando también la mortandad de organismos marinos por intoxicación. Los principales vectores de intoxicación humana son los moluscos filtradores bivalvos que pueden acumular y concentrar altas cantidades de toxina sin ser afectados. Como se mencionó, aunque la mayoría de estas toxinas tienen un origen fitoplanctónico, se bioacumulan principalmente dentro de los tejidos de moluscos bivalvos, esta es la razón por la cual se les conoce como "toxinas de moluscos". Además de los moluscos bivalvos pueden actuar como vectores de intoxicación gasterópodos marinos, crustáceos o ascidias (ejemplo: piure) (Farabegoli *et al.* 2018). Los factores que aumentan el riesgo de exposición humana (Pulido 2016) incluyen: 1) toxinas que son inodoras, insípidas y no se desactivan al cocinar; 2) inexistencia de antidotos; 3) densa población humana en las regiones costeras, sumado a la recolección recreativa de mariscos; 4) globalización del comercio de alimentos y la falta o ineficiencia de un sistema de monitoreo en muchas regiones del mundo; 5) los eventos de FAN son en términos generales impredecibles, si bien tienden a seguir las variaciones estacionales, oceánicas y climáticas (Hallegraeff 1995; Pulido 2016).

Los eventos de intoxicación por mariscos se clasifican según los síntomas que generan en los seres humanos luego de su ingesta, aunque en estudios recientes se ha cuestionado esta clasificación y los últimos síndromes identificados siguen otro criterio más descriptivo basado en la estructura química de las toxinas involucradas (Paredes 2011; FAO/WHO 2016; Esteves *et al.* 2019). Las biotoxinas marinas se pueden clasificar según su

solubilidad en hidrofílicas y lipofílicas. Las toxinas hidrofílicas incluyen a la Toxina Amnésica de Moluscos (TAM), la toxina paralizante de moluscos (TPM) y el envenenamiento por peces globo (Tetrodotoxinas). Las toxinas lipofílicas reguladas están asociadas con la intoxicación diarreica por mariscos (IDM) y la intoxicación por azaspirácido (IAZ), mientras que las toxinas no reguladas por peces ciguatera (CFP), las iminas cíclicas (IC) y la intoxicación neurotóxica por mariscos (INS) se consideran toxinas emergentes (Reguera *et al.* 2014). En nuestro país los eventos más problemáticos en términos de toxicidad y distribución geográfica son los ocasionados por los dinoflagelados del género *Alexandrium*, productor de Toxinas Paralizantes de Moluscos (TPM) (Montoya *et al.* 2018). Este grupo de toxinas fue el primero en ser detectado en el país en el año 1980 y desde entonces ha causado recurrentemente intoxicaciones severas, incluso letales. Es también el causante de la intoxicación más conocida y frecuente, por lo tanto, se ha generado un sistema de control y monitoreo eficiente.

Recientemente se han publicado revisiones sobre los organismos productores, la distribución y consecuencia de la presencia de TPM en el Mar Argentino (Krock *et al.* 2018; Montoya *et al.* 2018; Montoya 2019). Por lo tanto, esta revisión recopila los conocimientos recientes sobre los otros síndromes ocasionados por microalgas toxigénicas más desconocidos, cuyas especies fitoplanctónicas productoras ya han sido detectadas en nuestro país: la intoxicación amnésica por moluscos, la intoxicación diarreica por moluscos, la intoxicación por azaspirácido y por las toxinas iminas cíclicas (Tabla 1).

Monitoreo y control

El sistema de control y monitoreo de toxinas en Argentina surgió en el año 1980, luego de la intoxicación y muerte de dos pescadores por consumo de mejillones con TPM ocurrido en Península de Valdés (Elbusto *et al.* 1981; Carreto *et al.* 1986). El Servicio Nacional de Salud y Calidad Agroalimentaria (SENASA) es el responsable del monitoreo y control (Resolución SAGPyA 829/06) y coordina esta tarea con los gobiernos provinciales y regionales para la clasificación y control de zonas de extracción y producción en cuanto a toxinas legisladas y límites para su consumo. Mientras que las normas sanitarias para la exportación de los moluscos de Argentina son basadas en el Reglamento de la Unión Europea (CE) N° 853/2004. En consecuencia, el nivel máximo de TPM no debe sobrepasar 800 µg STX eq/kg de tejido comes-

tible, si es superado, el área en la que se detecta la toxicidad se cierra a la cosecha hasta que los mariscos hayan sido evaluados como seguros nuevamente. Las principales especies de interés comercial susceptibles de actuar como vectores de intoxicación en la Argentina son los mejillones comunes (*Mytilus platensis*), cholgas (*Aulacomya atra*), almejas (*Armeghinomya antiqua*), panopea (*Panopea abbreviata*), ostras (*Ostrea puelchana*), vieiras (*Aequipecten tehuelchus*, *Zygochlamys patagonica*), navajas (*Ensis macha*, *Solen tehuelchus*) y los gasterópodos o caracoles marinos (*Zidona dufresnei*; *Adelomelon beckii*) (Montoya 2019).

Tradicionalmente se ha utilizado el bioensayo en ratones (BR) para la detección de biotoxinas, que indica de manera rápida y segura la presencia de toxinas en moluscos bivalvos y otros productos pesqueros, sin embargo este método solo se considera adecuado para las TPM (FAO/WHO 2006; EFSA 2010). Nuevas metodologías de detección por medio de equipos de alta resolución como HPLC-MS dieron como resultado el descubrimiento de nuevos grupos de toxinas, cuya distribución mundial está actualmente bajo estudio (Paredes *et al.* 2011; FAO/WHO 2016). En la costa y plataforma marítima argentina en sucesivas etapas se han detectado especies de fitoplancton potencialmente productoras de nuevas toxinas lo que implica un desafío al monitoreo y control de los mariscos comerciales (Krock *et al.* 2018). El registro de nuevas toxinas pone en alerta a los sistemas de control en los lugares de producción de mariscos que en la actualidad no cuentan con la tecnología necesaria para su detección y control e implica un esfuerzo conjunto y la realización de trabajos multidisciplinarios.

Intoxicación Amnésica de Moluscos

La intoxicación amnésica de moluscos es causada por un potente neurotóxico: el ácido domoico (AD), también conocido como toxina amnésica de los moluscos (TAM). El primer evento de intoxicación humana por consumo de moluscos ocasionado por AD, ocurrió en 1987 en Prince Edward Island, Canadá, asociado al crecimiento extraordinario de una diatomea, *Pseudo-nitzschia multiseries* (Wright *et al.* 1989). El género de diatomeas marinas *Pseudo-nitzschia* tiene una amplia distribución en todo el mundo, y comprende 48 especies reconocidas; entre ellas al menos 23 han sido mencionados como posibles productores de AD (Bates *et al.* 2018). Esta neurotoxina se puede acumular en la red alimentaria marina, provocando la intoxicación amnésica de moluscos, un síndrome neurológico

con efectos letales en aves marinas, mamíferos marinos y humanos (Geraci *et al.* 1989; Sierra Beltran *et al.* 1997; Lefebvre y Robertson 2010). El AD (Figura 1) es estructuralmente similar al ácido glutámico y actúa como agonista. Esta toxina se fija fuertemente en los receptores del glutamato presentes en el tejido cerebral de la región del hipocampo evitando un funcionamiento normal en las sinapsis, produciendo la apertura de canales de calcio, lo que lleva a la necrosis neuronal por el exceso de este ion (Tabla 1). Los síntomas de la intoxicación amnésica de moluscos aparecen aproximadamente a las 48 hs de la ingesta: náuseas, vómitos, dolor estomacal y diarrea, seguidos por confusión, mareos, desvanecimiento, somnolencia, letargia, coma, arritmias cardíacas y pérdida permanente de la memoria (Alvarez-Falconí 2009). Esta toxina, de acuerdo a la dosis, puede ser letal, no posee antídoto y el tratamiento es sintomático. Debido al riesgo de convulsiones, el vómito no debe ser inducido y en casos severos y si la ingestión es reciente, se recomienda el lavado gástrico. Aunque el programa de monitoreo actual parece eficaz para prevenir el envenenamiento agudo en los humanos, se desconocen los efectos debidos a la exposición de largo plazo a concentraciones bajas de AD. En esta línea, se ha caracterizado un síndrome de toxicosis crónica en leones marinos que ha llevado a evaluar los potenciales efectos de exposición crónica en humanos (Lefebvre y Robertson 2010). El mayor riesgo de exposición a AD para humanos y la vida silvestre marina proviene del consumo de organismos marinos que se alimentan por filtración, tales como mariscos y peces planctónicos (Kvitek *et al.* 2008). Los mejillones y los peces planctívoros como la anchoíta, tienen una rápida velocidad de acumulación y depuración de AD. Se demostró que acumulan en sincronía con las floraciones tóxicas de *Pseudo-nitzschia* con niveles de AD que decrecen a niveles indetectables dentro de una semana de finalizada la floración (Ferdin *et al.* 2002; Lefebvre y Robertson 2010). Contrariamente, algunos bivalvos como almejas y vieiras pueden retener AD en sus tejidos durante meses (Bogan *et al.* 2006).

En Argentina no han ocurrido intoxicaciones humanas por TAM, aunque se han reportado nueve especies toxigénicas del género *Pseudo-nitzschia* (*P. australis*, *P. brasiliana*, *P. delicatissima*, *P. fraudulenta*, *P. multiseries*, *P. pseudodelicatissima*, *P. pungens*, *P. seriata*, y *P. turgidula*) (Almandoz *et al.* 2017). La presencia de AD se ha confirmado en algunos sectores del litoral argentino durante

los últimos años, pero en general los registros son escasos (Figura 2). El primer registro de AD en Argentina fue en el año 2000, frente a Mar del Plata asociado a la diatomea *Pseudo-nitzschia australis*. En ese evento, el máximo contenido de AD (76,6 $\mu\text{g/g}$) se detectó en muestras de tejido de vísceras de anchoíta (*Engraulis anchoíta*) mientras que en mejillones (*Mytilus edulis platensis*) fue menor (7,7 $\mu\text{g/g}$) (Montoya et al. 2000; Negri et al. 2002). En el año 2005, se detectó AD en muestras de plancton de Punta Pardelas y Bahía Camarones (Figura 2) (Sastre et al. 2007) y más recientemente en muestras de plancton en distintos sectores de la plataforma (Krock et al. 2018). La detección de AD en las heces de la ballena franca austral *Eubalaena australis* (Wilson et al. 2016; D'Agostino et al. 2017) en la región de la Península Valdés (Figura 2), proporciona evidencia del riesgo no solo para los humanos sino también para la fauna marina.

Para proteger a los consumidores, la legislación argentina al igual que la internacional, establece un límite apto para el consumo de 20 mg AD/kg de tejido de molusco (FAO/WHO 2006). Cuando el nivel excede este límite se clausura la zona de producción y se prohíbe la extracción y comercialización. Tradicionalmente, el bioensayo en ratones se utilizaba para determinación de toxicidad en moluscos para el consumo humano. Sin embargo, este método es altamente insensible y no proporciona una estimación confiable, por lo tanto la legislación establece la utilización de métodos basados en HPLC (FAO/WHO 2006).

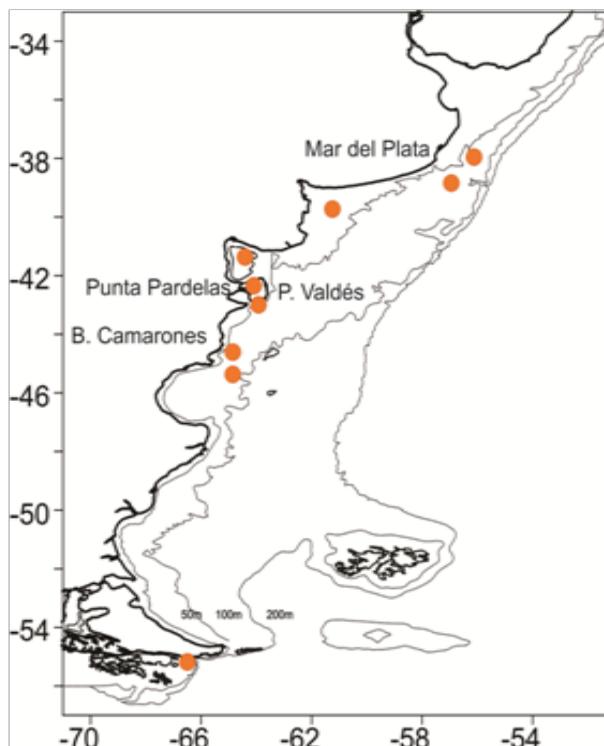


Figura 2. Distribución geográfica de plancton y/u organismos marinos con ácido domoico.

Toxinas lipofílicas de moluscos

Intoxicación diarreaica de moluscos.

Inicialmente se incluyeron en el complejo de toxinas diarreaicas de moluscos en minúscula (TDM) a tres grupos de toxinas con diferentes estructuras moleculares (poliéter): el ácido okadaico (AO con sus congéneres, las dinofisistoxinas: DTXs), las pectenotoxinas (PTXs) y las yessotoxinas (YTXs) (Figura 3) (Reguera et al. 2014). Sin embargo, esta clasificación ha sido debatida, pues no todas producen diarreas por consumo. Históricamente, cuando el BR fue la única técnica disponible para la detección de biotoxinas marinas, todas las toxinas lipofílicas se consideraron como TDM porque a menudo ocurren en el mismo grupo de microplancton natural. Además, por su solubilidad en metanol son extraídas en forma conjunta y por lo tanto, se detectan juntas en los moluscos que se alimentan por filtración. Actualmente, está bien establecido que los tres grupos de toxinas tienen diferentes efectos biológicos y que solo el AO y sus congéneres son diarreaogénicos (FAO/WHO 2016). La intoxicación diarreaica por mariscos (IDM) es causada por el consumo de mariscos que contienen ácido okadaico (AO) y sus análogos, las dinofisistoxinas (DTX-1, DTX-2, DTX-4,

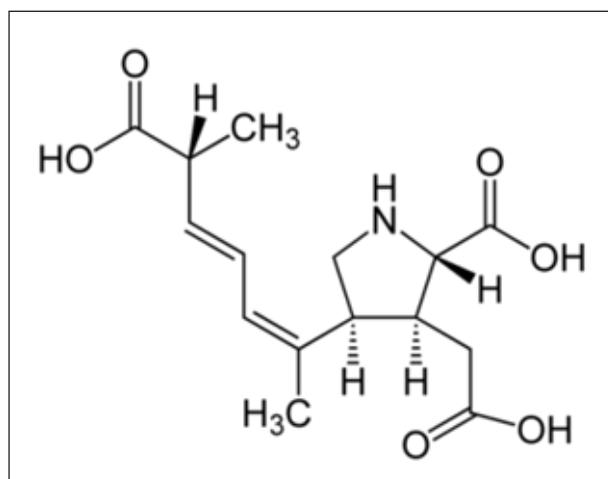


Figura 1. Estructura química del ácido domoico, toxina amnésica de moluscos.

DTX-5 y DTX-3 por DTX-1, DTX-2, DTX-4, DTX-5 y el grupo DTX-3). Mientras que el AO, la DTX-2 y DTX-1 son producidos por dinoflagelados, el grupo DTX-3 incluye una amplia gama de derivados esterificados con ácidos grasos saturados e insaturados, productos de las transformaciones metabólicas que ocurren en los mariscos (Reguera *et al.* 2014). Este último grupo de análogos de AO poseen actividad tóxica después de la hidrólisis en el tracto gastrointestinal humano (Paredes *et al.* 2011). Los síntomas de intoxicación (Tabla 1) por toxinas diarreicas se caracterizan por diarrea, náuseas, vómitos y dolor abdominal, que comienza generalmente entre 3 a 12 horas luego de la ingestión del alimento contaminado (Dominguez *et al.* 2010). Además de estos efectos agudos, el AO podría tener algunos efectos crónicos por el consumo prolongado de mariscos contaminados. Se ha encontrado que estas toxinas son potentes promotores tumorales (Fujiki *et al.* 1999). Aunque las observaciones existentes de las poblaciones humanas no son concluyentes, hay evidencias epidemiológicas que asocian estas toxinas con cáncer digestivo (Suganuma *et al.* 1992, Cordier *et al.* 2000). Se demostró que AO y sus análogos son inhibidores potentes de la proteína serina / treonina fosfatasas 1 (PP1) y 2A (PP2A) (Fernández *et al.* 2002; Cruz *et al.* 2007). Se ha propuesto que AO puede inducir diarrea estimulando la fosforilación de aquellas proteínas que controlan la secreción de sodio de células intestinales o mediante la fosforilación de proteínas citoesqueléticas responsables del manejo de la permeabilidad de los solutos, perjudicando el balance de agua (Cohen *et al.* 1990). La fosforilación de estas fosfatasas también parece tener relación con el daño producido al ADN y la inestabilidad genómica en los procesos oncogénicos (Ten-Hage *et al.* 2000). El primer informe clínico de una enfermedad gastrointestinal asociada con el consumo de mejillones cocidos provino de los Países Bajos en 1961, pero el agente causal no fue identificado hasta años después, cuando dinoflagelados del género *Dinophysis* fueron identificados como toxigénicos (Reguera *et al.* 2014). A nivel mundial, solo las áreas de producción de mariscos que han implementado monitoreo pueden diferenciar las IDM de las producidas por contaminación bacteriana o viral. Además, los niveles de TDM que no causan enfermedades gastrointestinales, pero se encuentran próximos o incluso muy por encima de los límites regulatorios, son ignorados si no se ha establecido un control de estas toxinas. Por estas razones, cualquier mapa de distribución mundial actual de TDM y brotes relacionados subestima

la magnitud del problema (Reguera *et al.* 2014). Dos géneros de microalgas han sido identificadas como productores de toxinas diarreicas en Argentina: el dinoflagelado bentónico *Prorocentrum lima* y varias especies de dinoflagelados del género *Dinophysis*: *D. acuminata*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. norvegica*, y *D. tripos* (Gayoso *et al.* 2002; Gracia Villalobos *et al.* 2015). La presencia de estas especies en aguas argentinas está asociada con el AO, las DTXs, PTX-2 y PTX-2sa (Krock *et al.* 2018). El primer brote de IDM en Argentina ocurrió en marzo de 1999, causado por mejillones cosechados en el Golfo de San José y en el Golfo Nuevo (Figura 4). Este evento fue causado por el dinoflagelado bentónico *Prorocentrum lima* que produjo DTXs (Gayoso *et al.* 2002). No se registraron nuevas intoxicaciones hasta el año 2010, en que se produce el primer registro de IDM después de consumo de mariscos asociado con la presencia de especies de *Dinophysis* (*D. acuminata* y *D. caudata*) en Villa Gesell, Buenos Aires (Sar *et al.* 2010). A mediados de enero de 2010, funcionarios municipales de Bromatología reportaron varios intoxicados, con náuseas y vómitos luego de consumir almejas, (*Amarillodesma mactroides*) y berberechos (*Donax hanleyanus*) colectados en las playas. El análisis de los tejidos de los moluscos demostró que estaban contaminados con perfiles complejos de toxinas OA, DTX-1, Acil-AO y Acil-DTX-1, mientras que las muestras de plancton durante el evento contenían AO, DTX-1 y PTX-2 (Montoya *et al.* 2012; Sar *et al.* 2010). Turner y Goya (2015) realizan un análisis de biotoxinas marinas lipofílicas en mariscos cosechados en Argentina entre 1992 y 2012. Este estudio reveló la presencia de varias toxinas (AO, DTX-1, DTX-2, PTX-2 e YTX) en la plataforma bonaerense, en los golfos del norte de la Patagonia, el Golfo San Jorge y el Canal Beagle (Figura 4). En informes más recientes, se encontró PTX-2 en todo el Mar Argentino (Figura 4), asociado con varias especies de *Dinophysis* (Gracia Villalobos *et al.* 2015; Krock *et al.* 2015; Fabro *et al.* 2016) y PTX-2 asociada a *D. tripos* en el área norte (Fabro *et al.* 2016; Negri *et al.* 2019). En la actualidad AO, PTX y YTX pueden analizarse por métodos analíticos y de acuerdo con las directivas europeas están regulados individualmente aunque, los resultados de estudios sobre el efecto no tóxico de las PTX y las YTX en ratones mediante administración oral, han llevado a un grupo de expertos a recomendar la desregulación de estos dos grupos de toxinas (FAO/WHO 2006). Se sabe relativamente poco acerca de los efectos de las PTX, casi todo el conocimien-

toxicológico se ha obtenido de experimentos controlados *in vitro* e *in vivo*. PTX-2 no es tóxica en roedores cuando se administra por vía oral, incluso a dosis altas (Miles *et al.* 2004; FAO/WHO 2016), mientras que la toxicidad por inyección intraperitoneal (ip) es alta. Se han determinado las DL_{50} para PTX-1 y PTX-2 siendo éstas 250 y 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal respectivamente (Tabla 1) (Munday 2008a). No hay informes de intoxicación humana por PTX. El síndrome IDM es una preocupación frecuente de las pesquerías de mariscos en pequeña escala en Argentina, porque puede causar el cierre prolongado de las áreas de captura y prohibiciones en la venta de mariscos de las áreas afectadas (Turner y Goya 2015). El monitoreo de toxinas lipofílicas se realiza actualmente en el país siguiendo el Procedimiento Operativo Estándar para la detección de toxinas lipofílicas por BR (Resolución SAGPyA 829/06). Sin embargo, por su pobre especificidad y por razones éticas, no se considera éste un método adecuado. Actualmente, en Argentina solo el BR se utiliza para el control de rutina de toxinas lipofílicas, y por lo tanto hay muy pocos datos disponibles sobre la identidad de las toxinas responsables. La legislación establece que el contenido total máximo permitido de toxina expresada como el análogo de referencia para AO, dinofisistoxinas y pectenotoxinas, es 160 μg de AO eq/kg y para yessotoxinas, es 3.75 mg YTX eq/kg (Resolución

SAGPyA 829/06). Recientemente, la Unión Europea ha legislado sobre métodos de análisis reconocidos para la detección de biotoxinas lipofílicas, rechazando el BR y recomendando la utilización de técnicas HPLC-MS (FAO/WHO 2006; Domínguez *et al.* 2010; FAO/WHO 2016), sin embargo esta metodología no ha sido legislada ni es de uso corriente en los programas de monitoreo nacional.

Yessotoxinas

Históricamente, las yessotoxinas (YTX) se incluyeron en el síndrome de intoxicación diarreaica (IDM), sin embargo los síntomas producidos por la ingestión de YTX en humanos son desconocidos, debido a que a la fecha no hay casos informados de intoxicación. Los estudios toxicológicos disponibles son ensayos basados en la administración oral e i.p. a ratones, observándose una alta toxicidad i.p. (Ogino *et al.* 1997). Los síntomas observados son disnea, saltos involuntarios, temblores, calambres (Tubaro *et al.* 2003). Por el contrario, la YTX no resultó letal para ratones luego de la administración oral de hasta 10 mg/kg (Tubaro *et al.* 2003), ni se registraron daños en los órganos digestivos ni diarrea (Satake *et al.* 1997), solo se observaron alteraciones conductuales a dosis altas (Aune *et al.* 2007). Se ha registrado una alta variabilidad en la DL_{50} para intoxicación ip con valores que van desde los 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hasta los 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (FAO/WHO 2016).

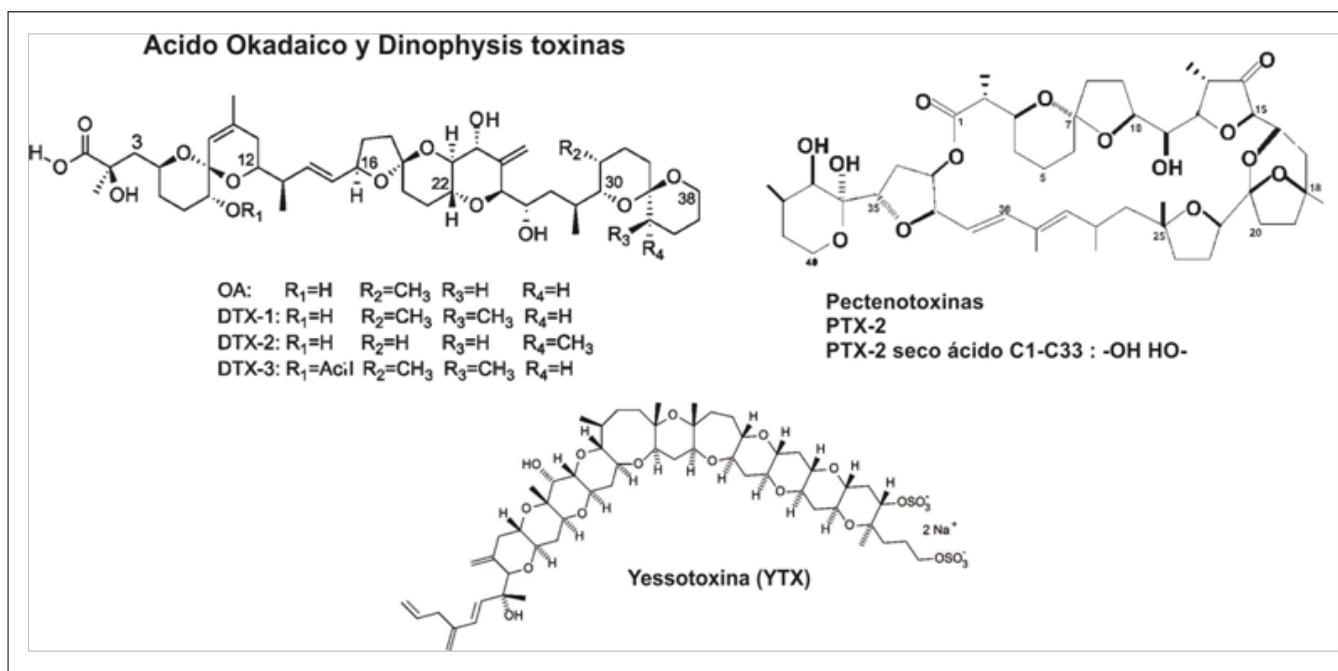


Figura 3. Estructura química de las toxinas más importantes del grupo diarreaicas para la región de estudio a) ácido okadaico y dinophysis toxinas 1, 2 y 3; b) pectenotoxina 2 y pectenotoxina 2 seco-ácido; c) Yessotoxina.

Las YTX al igual que las TDM son moléculas poliéter, pero consisten casi por completo en anillos de éter condensado, por los que también se denominan toxinas "marco de escalera" (Figura 3). En comparación con OA, DTX y PTX, tienen pesos moleculares más altos (> 1000 Da) y una gran variabilidad con más de 90 congéneres, lo que dificulta su identificación y cuantificación (Miles *et al.* 2004). Los tres dinoflagelados productores de YTX que se han registrado en aguas argentinas corresponden a los géneros *Gonyaulax spinifera*, *Lingulodinium polyedra* y *Protoceratium reticulatum* (Krock *et al.* 2018). Akselman *et al.* (2014) describen los perfiles YTX de dos aislados de *P. reticulatum* del Golfo San Jorge, compuestos por $> 95\%$ de YTX y algunas variantes de ésta en cantidades menores. Dado que solo pueden ser detectados por métodos HPLC-MS, no hubo registros de YTX en mariscos hasta el año 2015 que se detectó en vieiras de las provincias de Buenos Aires (muestra correspondientes al año 2001) y Golfo San Jorge (muestra correspondientes al año 2007) (Figura 4) (Turner y Goya 2015).

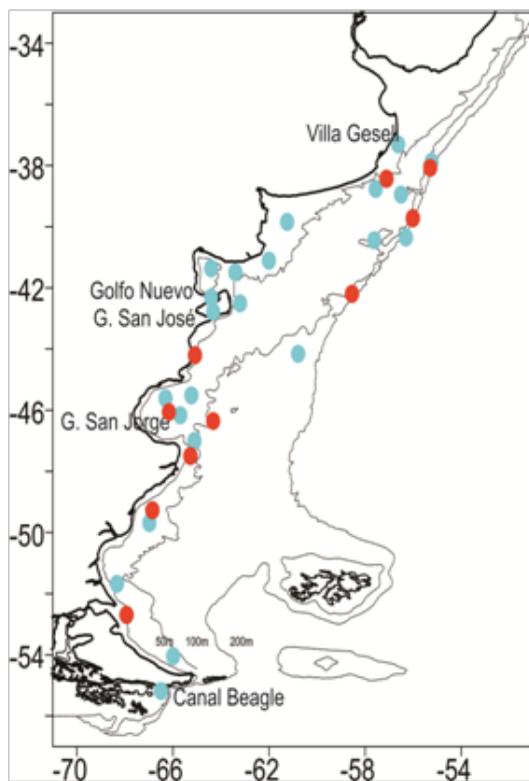


Figura 4. Distribución geográfica de los dinoflagelados tóxicos productores de toxinas diarreicas (*Dinophysis*) y de la presencia de ácido okadaico, dinophysis toxinas y pectenotoxinas en puntos celestes. En puntos rojos distribución de *P. reticulatum* y yessotoxinas.

Azaspirácidos

La intoxicación azaspirácida por consumo de moluscos (IAZ) es la más recientemente descrita. El primer evento documentado ocurrió en los Países Bajos en 1995, cuando ocho personas se intoxicaron después del consumo de mejillones provenientes de Irlanda (McMahon y Silke 1996). En los años siguientes, se identificó AZA1 como el compuesto causante (Satake *et al.* 1998) y posteriormente se detectaron más variantes de AZA (Figura 5) en mariscos producidos por el dinoflagelado *Azadinium* (Ofuji *et al.* 1999). Los síntomas observados en humanos después del consumo de mariscos contaminados (Tabla 1) aparecen a las pocas horas e incluyen náuseas, vómitos y diarrea que persisten por 2 o 3 días observándose una recuperación total del paciente en los casos conocidos (McMahon y Silke 1996). No se conoce aún la existencia de efectos a largo plazo, aunque es posible que contribuyan a trastornos crónicos en el tracto gastrointestinal (Twiner *et al.* 2008, 2014). La intoxicación por AZA presenta una gran similitud con la intoxicación diarreica de moluscos y dada la desaparición rápida de los síntomas y la evolución favorable, es posible que a nivel mundial haya un sub registro de los casos de intoxicación.

Al igual que muchas toxinas de dinoflagelados, los azaspirácidos (AZA) son grandes anillos poliéter en el rango de masa 700 a 900 Da (Figura 5), reportándose hasta la fecha, más de 50 variantes de AZA. Se sabe que los azaspirácidos prevalentes en los mejillones son AZA1, AZA2 y AZA3 (Twiner *et al.* 2008, 2014; Furey *et al.* 2010). Desde su primer descubrimiento en mejillones irlandeses, el desarrollo de métodos HPLC-MS sensibles y selectivos ha resultado en el descubrimiento de AZA en otros países y en otras especies (Twiner *et al.* 2008, 2014). El mecanismo de acción de la toxina es desconocido, por lo que se requieren mayores estudios para poder dilucidarlo. Casi toda la información sobre la toxicología de esta toxina se ha obtenido al realizar experimentos *in vitro* e *in vivo*. Estudios en ratones a los que se les inyectó intraperitonealmente AZA mostraron la aparición de síntomas compatibles con intoxicación por neurotoxinas, con la aparición de dificultades respiratorias, espasmos, parálisis progresiva y muerte dentro de los 20-90 minutos (Satake *et al.* 1998), observándose una dosis letal mínima de 74 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AZA1 (FAO/WHO 2016). Se estudió también la toxicidad en ratones por vía oral, a una dosis 6 veces mayor a la dosis letal mínima, resultando en la super-

vivencia de todos los ratones testeados y sin la aparición de signos clínicos después de 24 hs (Ito *et al.* 1998). Ratones inyectados con la toxina que no sobrevivieron y fueron sometidos a autopsia, evidenciaron diversos signos de daño gastrointestinal, como acumulación de líquido en el íleon y necrosis de células epiteliales de las microvellosidades. Estos estudios indican que esta clase de toxina puede causar lesiones graves en los tejidos, especialmente en el intestino delgado, y la exposición crónica puede aumentar la probabilidad de desarrollo de enfermedades como la colitis ulcerativa, la enfermedad de Crohn, y tumores en el sistema digestivo (Twiner *et al.* 2008). Los estudios también muestran que la recuperación del tejido es muy lenta después de la exposición. Estas observaciones sugieren que los AZAs son más peligrosos que las otras clases conocidas de toxinas diarreas de mariscos. En consecuencia, para proteger a los consumidores humanos es muy importante la evaluación adecuada y el control regulatorio de los mariscos y otras especies afectadas. La regulación actual de la Unión Europea solo incluye AZA1-3 (Furey *et al.* 2010; FAO/WHO 2016), ya que fueron los principales análogos identificados en los mejillones en 2001 cuando se formuló la primera regulación específica para toxinas y fijó el límite regulatorio actual de 160 µg equivalente AZA1/kg de carne de mariscos.

En Argentina, la primera documentación de la presencia del dinoflagelado *Azadinium*, fue reportada en plataforma bonaerense en el área de El Rincón (Figura 6), acompañado por una intensa marea roja que ocurrió en dos años consecutivos, 1990 y 1991 (Akselman *et al.* 2014). Varias especies de dinoflagelados de la familia Amphidomataceae, que causan IAZ, se han reportado en la Argentina: *Amphidoma languida*, *Azadinium dexteroporum*, *Az. luciferelloides*, *Az. poporum*, y *Az. Spinosum* (Krock *et al.* 2018). A pesar de este potencial de formación de elevadas concentraciones celulares y la alta diversidad de *Amphidomataceae* en el área, la producción de AZA es aún poco conocida. *A. spinosum* es el productor de AZA más importante en aguas europeas, sin embargo las cepas aisladas en el área de El Rincón, revelaron por primera vez la presencia de un ribotipo no toxigénico de esta especie (Tillmann *et al.* 2019). Por otra parte, en cultivo, varias cepas de *Azadinium poporum* aisladas en la plataforma bonaerense cerca del área de El Rincón producen AZA-2 y AZA-2-fosfato (Tillmann *et al.* 2016), mientras que no se detectó ningún derivado de AZA conocido pa-

ra *Amphidoma parvula* aislada de la plataforma argentina (Tillmann *et al.* 2018). Solo trazas de AZA-2 fueron detectados en bivalvos: en almejas amarillas (*Mesodesma mactroides*) de Santa Teresita y en mejillín (*Brachidontes rodriguezii*) de San Clemente, Provincia de Buenos Aires (Figura 6), ambas muestras del año 2008 reportadas en 2015 (Turner y Goya 2015).

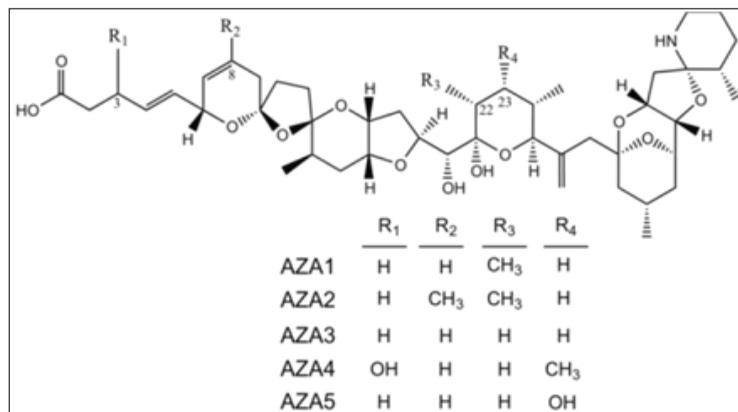


Figura 5. Estructura química de las principales toxinas del grupo azaspirácidos.

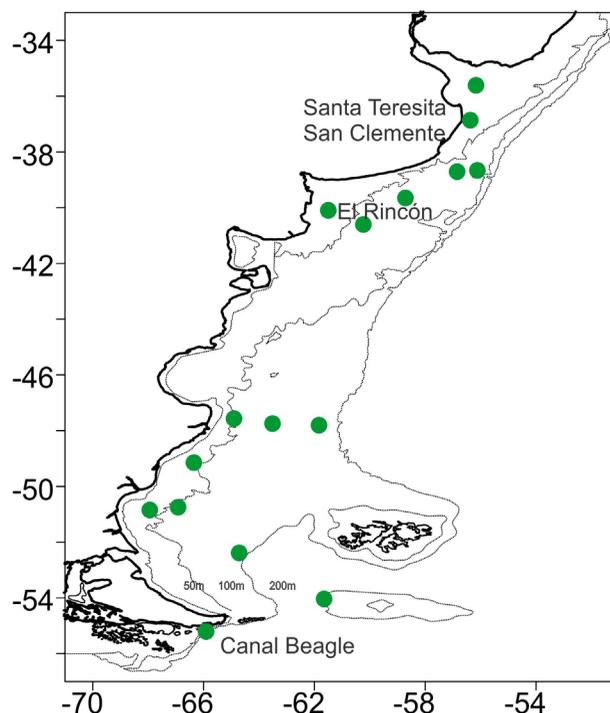


Figura 6. Distribución geográfica del dinoflagelado *Azadinium* y de las toxinas azaspirácidos.

Iminas cíclicas

Las iminas cíclicas son consideradas toxinas emergentes, pues han sido recientemente detectadas por medio de equipos de alta complejidad (HPLC-MS), estando su distribución mundial actualmente bajo estudio (EFSA 2010; Stivala *et al.* 2015; Molgo *et al.* 2017). Sin embargo, hasta el momento no se han registrado intoxicaciones humanas por este tipo de toxinas en el mundo. Estas incluyen los siguientes subgrupos (*Figura 7*): espirólidos (SPX), gymnodiminas (GYM), pinnatoxinas (PnTX), pteriatoxinas (PtTX), prorocontrolides y espiroprorocentriminas (EFSA 2010; Molgo *et al.* 2017; Stivala *et al.* 2015). Existe una mayor atención en las autoridades reguladoras de la Unión Europea por los tres primeros subgrupos, porque a diferencia de los tres últimos, aquellos ya se han detectado en Europa o hay pruebas sólidas que respaldan su presencia (EFSA 2010). Las GYM son producidas principalmente por el dinoflagelado *Karenia selliformis* y en menor medida, algunos análogos son producidos por *Alexandrium peruvianum* y *A. ostenfeldii* (Van Wagoner *et al.* 2011; Miles *et al.* 2000). Las PnTX son producidas por un dinoflagelado recientemente descrito del nuevo género *Vulcanodinium* spp. (Rhodes *et al.* 2011). Dentro de este grupo, las toxinas más estudiadas son los SPX conocidos como “toxinas de rápida acción” por su rápido efecto letal en bioensayos en ratones (EFSA 2010). Son producidos por el dinoflagelado *Alexandrium ostenfeldii*, especie asociada también a la producción de las muy letales TPM, presentando una gran variabilidad en la producción de ambos grupos de toxinas de acuerdo a su localización geográfica (Cembella *et al.* 2000). La primera detección de SPX fue reportada en 1990, en moluscos bivalvos colectados en Nova Scotia, Canadá, cuando se observó un síndrome inusual en los ratones empleados para el bioensayo, con síntomas neurológicos y muerte rápida (Hu *et al.* 1996). En la actualidad existen registros de su presencia en mejillones y microalgas en varios lugares del mundo (citas en EFSA 2010). Según las estimaciones de exposición a SPX realizados por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria estas toxinas suponen un riesgo bajo de intoxicación aguda para los consumidores, pero es recomendable su monitoreo preventivo (EFSA 2010).

Aunque no hay información suficiente sobre la distribución geográfica de las iminas cíclicas, el hecho de que se hayan detectado en múltiples ocasiones en aguas europeas, en combinación con su toxicidad aguda antes mencionada en ratones después de la administración por inyec-

ción intraperitoneal, las ha posicionado al menos dentro de la UE, como un tema de investigación científica (Molgo *et al.* 2017). Poseen una toxicidad parenteral más potente que la oral. En ratones la toxicidad de SPX es ip: 40 µg/kg y oral: 1 mg/kg (EFSA 2010; FAO/WHO 2016). Las iminas cíclicas son neurotóxicas (*Tabla 1*), actuando posiblemente como antagonistas competitivos del receptor muscarínico de la acetilcolina en el sistema nervioso central (EFSA 2010; Munday *et al.* 2012). El conocimiento limitado sobre su absorción, distribución, metabolismo y excreción en animales y en humanos, sumado al hecho que no se registran intoxicaciones humanas por su consumo (Stirling y Survey 2001; Gueret *et al.* 2010), hace que aún no exista un criterio de legislación unificado para establecer los límites máximos permitidos para su concentración en mariscos. Tampoco se ha designado ningún método de referencia para su detección y cuantificación. En Nueva Zelanda, que fue el primer país en detectar la presencia de GYM en los mariscos, las autoridades reguladoras decidieron que los mariscos contaminados con GYM no representan un riesgo de intoxicación humana, ya que, según sus datos epidemiológicos, no hubo intoxicaciones después de consumir mariscos durante un incidente de contaminación (Stirling y Survey 2001; EFSA 2010). Además, en Rangaunu Harbour, Nueva Zelanda, donde se detectaron PnTX en ostras en concentraciones considerables, no se han observado efectos adversos para la salud en los consumidores (Munday 2008b).

En Argentina, la información sobre las especies que producen toxinas iminas cíclicas es muy escasa y siguiendo la tendencia de la Unión Europea no se encuentran en la lista de toxinas legisladas. Se demostró que cepas de *A. ostenfeldii* aisladas del Canal Beagle producen SPX y análogos (Almandoz *et al.* 2014). En moluscos, SPX-1 ha sido detectado en concentraciones muy bajas a lo largo de toda la costa argentina, desde Buenos Aires hasta Tierra del Fuego (Turner y Goya 2015), lo que sugiere una amplia distribución de este dinoflagelado (*Figura 8*). Recientemente, se ha informado de *A. ostenfeldii* en aguas costeras y en la plataforma abierta del Mar Argentino asociada con la producción las mismas variantes de SPX producidas por los aislamientos del Canal Beagle (Fabro *et al.* 2017; Almandoz *et al.* 2014). A pesar de que los GYM están ampliamente distribuidos a nivel mundial, hasta la fecha solo se detectó la presencia de trazas de GYM en una oportunidad, en el agua del Golfo San Jorge (*Figura 8*) (Fabro *et al.* 2018).

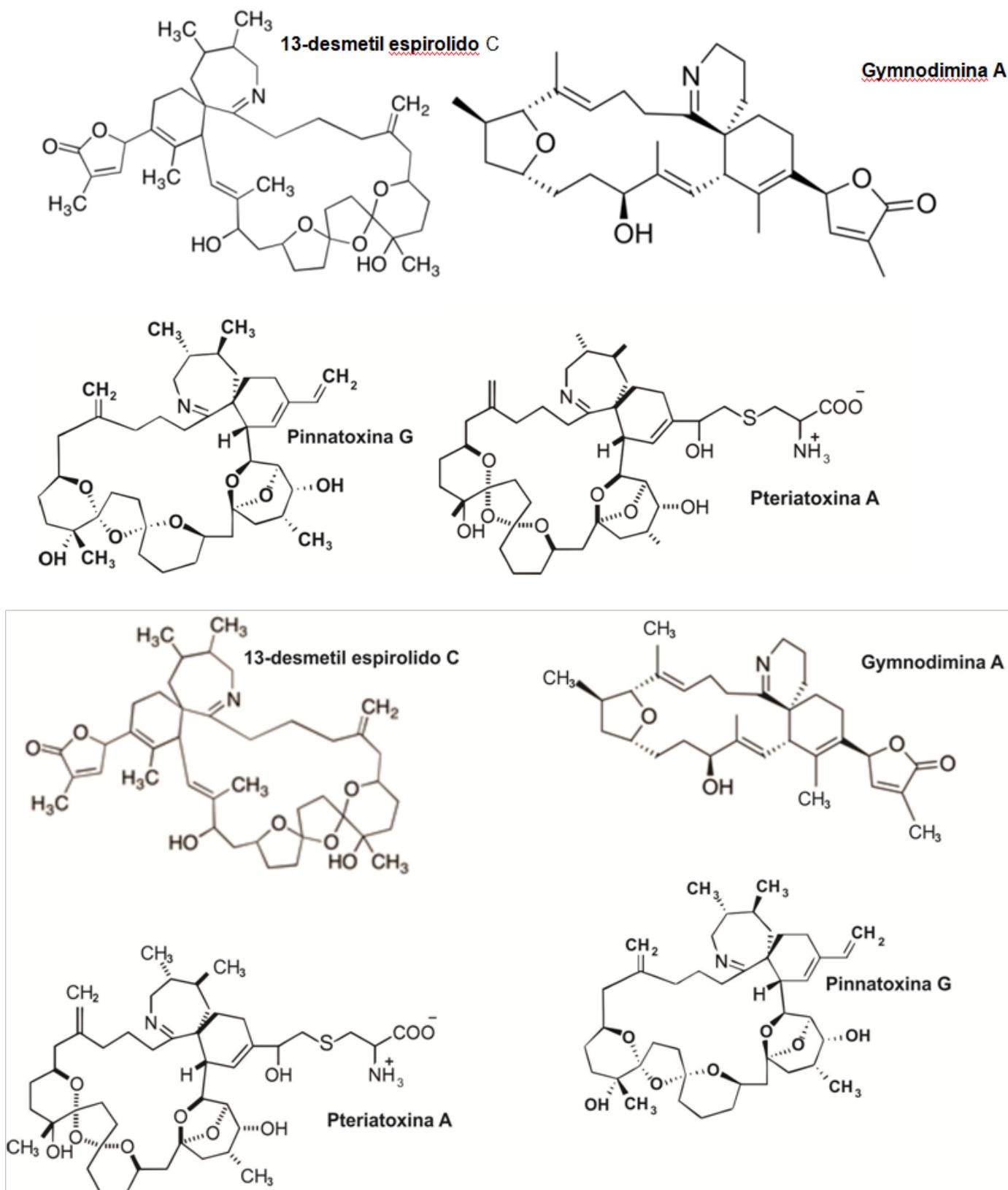


Figura 7. Estructura química de las principales iminas cíclicas, 13-desmetil espirolido C, Gymnodimina, Pinnatoxina G y Pteriatoxina A.

Tabla 1. Síntesis de la información sobre las toxinas marinas producidas por fitoplancton: síndromes, efectos para la salud humana, toxicidad y legislación. Referencias en el texto.

| Grupo de toxina | Vector | Mecanismo/acción/efectos | Síntomas | Síndrome | Prognosis | DL50 (ip: inyección intraperitoneal en ratones) Legislación Argentina (L: Máximo permitido) |
|---|--|---|--|---|---|---|
| Saxitoxinas y análogos (STX) | Moluscos bivalvos, Caracoles, Crustáceos Marinos. | Se produce un bloqueo reversible de los canales de sodio de las células nerviosas, las fibras de músculo esquelético y músculo cardíaco. | Sensación de adormecimiento, hormigueo en la boca y en las extremidades, náuseas, mareo y cefaleas. Rigidez muscular. Debilidad general. Taquicardia. Casos severos: parálisis muscular severa, dificultad respiratoria, muerte. | Intoxicación paralizante por moluscos. | La muerte puede ocurrir dentro de las 24 horas luego de la ingesta. Si el paciente sobrevive, cuenta con excelentes probabilidades de una recuperación rápida y completa. | ip: 10 µg/kg L: 800 µg equiv. STX/kg |
| Ácido domoico (AD) | Moluscos bivalvos, Crustáceos, peces planctónicos. | Por su estructura similar al ácido glutámico actúa como agonista, fijándose en forma irreversible a los receptores de glutamato en la región del hipocampo, lo que lleva a una apertura de los canales de calcio que impide la sinapsis normal y provoca necrosis neuronal. | Aparecen a las 48 hs de la ingesta: vómitos, diarrea, mareos, confusión, taquicardia, arritmia. Pérdida de la memoria que puede ser permanente y dependiente de la dosis letal. | Intoxicación amnésica por moluscos. | Letal. Potencial riesgo a sufrir problemas neurológicos por la exposición crónica a dosis bajas. | ip: 3.6 mg/ kg L: 20 mg AD/kg |
| Ácido Okadaico y dinofisistoxinas (AO y DTXs) | Moluscos bivalvos. | Inhibe la actividad de las fosfatases PP1 y PP2A serina/treonina. La diarrea se produce por la fosforilación de las proteínas que controlan la secreción de sodio de células intestinales y/o de las proteínas del citoesqueleto que manejan la permeabilidad de los solutos. | Aparecen durante las primeras horas de ingestión: diarrea, náuseas, vómitos y dolor abdominal. | Intoxicación diarreaica por moluscos. | La intoxicación no es letal. Se observa una recuperación completa a los 3 días de realizar tratamiento de soporte para evitar los efectos de la deshidratación. Efecto crónico: el consumo prolongado de mariscos contaminados con AO podría promover la formación de tumores en el sistema gastrointestinal. | ip: OA: 225 µg/kg ip: DTX: 230-610 µg/kg (varía según el análogo) L: 160 µg equiv. AO/kg (para todo el grupo AO, DTX y PTX) |
| Pectenotoxinas (PTX) | Moluscos bivalvos. | Mecanismo desconocido. Estudios en ratones no demostraron toxicidad por vía oral, incluso a altas dosis. | Datos bioensayo por vía ip con ratones: congestión y sangrado del hígado. Promotor tumoral y citotóxico | No se registraron intoxicaciones en humanos. | No se registraron intoxicaciones en humanos. | ip: 250 µg /kg PTX-1 ip: 200 µg /kg PX-2 |
| Yessotoxinas (YTXs) | Moluscos bivalvos. | Mecanismo desconocido. No aparecieron síntomas por administración oral. | No diagnósticas. En ratones por vía ip a dosis bajas se observó: disnea, saltos involuntarios, temblores, calambres. | No se registraron intoxicaciones en humanos. Asociado a la intoxicación diarreaica de moluscos. | No se registraron intoxicaciones en humanos. Asociado a la intoxicación diarreaica de moluscos. | ip: 80-750 µg/kg (varía según los estudios). L: 3.75 mg equiv. YTX/kg |
| Azaspíricos y análogos (AZAs) | Moluscos bivalvos. | Mecanismo desconocido. | Náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal. Similar a intoxicación por toxinas diarreaicas de moluscos. | Intoxicación azaspírica por consumo de moluscos. | La recuperación del paciente es total luego de la intoxicación aguda. La exposición crónica puede favorecer el desarrollo de enfermedades gastrointestinales. | ip: 74-170 µg/kg (varía según el análogo). L: 160 µg equiv. AZA1/kg |
| Iminas cíclicas: Espirilidos (SPXs), Gymnodiminas (GYMs), Pinnatoxinas (PnTXs), Pteriatoxinas (PTXs) | Moluscos bivalvos. | Se cree que actúan como antagonistas competitivos del receptor muscarínico de acetilcolina en el Sistema Nervioso Central. | Bioensayo en ratones con SPX por vía ip se observaron síntomas neurológicos y muerte rápida. GYM por vía ip: hiperactividad, saltos, seguido de parálisis. Insuficiencia respiratoria sin respuesta a estímulos. | No se registraron intoxicaciones en humanos. | No se registraron intoxicaciones en humanos. | ip: 80 µg/kg GYM B ip: 800 µg/kg Gym A ip : 40 µg/kg SPX No se encuentran aún legisladas. |

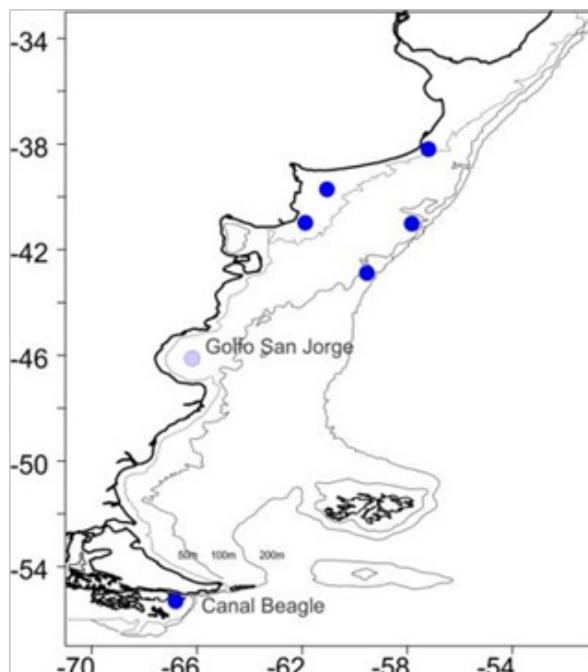


Figura 8. Distribución geográfica del dinoflagelado *Alexandrium ostenfeldi* y de las toxinas espirolidos en puntos azules, en celeste trazas de la toxina gymnodimina.

Comentarios finales

Las toxinas marinas y los efectos asociados a la salud humana son un problema de salud pública en todo el mundo. El objetivo de esta revisión es dar a conocer las nuevas toxinas halladas en el Mar Argentino y plantear los desafíos que implican no solo para el monitoreo y control, sino también dentro del sector sanitario. Una visión integral del riesgo para la salud humana de las toxinas marinas requiere una colaboración multidisciplinaria: información epidemiológica, datos sobre el consumo, información detallada sobre los niveles de contaminación de los productos del mar, control de los alimentos importados y estrategias políticas de mitigación y ayuda a laboratorios regionales para el control de sus productos pesqueros y a los pescadores artesanales afectados. La herramienta clave de manejo es la prevención, a través de política, regulaciones y sistemas de monitoreo y control de cada grupo de toxinas. Es necesario profundizar los conocimientos locales de organismos productores de toxinas emergentes y el medio ambiente que favorece su síntesis, cuales son los posibles vectores de contaminación al hombre, la toxicología, efectos crónicos y sinérgicos. Por otra parte, hay muy poca información sobre la transferencia trófica de estas toxinas dentro de los organismos marinos y como afec-

tan a la biota. Es necesario mejorar la detección de toxinas no solo en los sectores de producción de mariscos, sino también los que permitan diagnósticos y una vigilancia más precisa de las intoxicaciones y la epidemiología. Ciertamente presentan un nuevo desafío, pues la detección y cuantificación solo puede realizarse por medio de métodos basados en HPLC- espectrometría de masas, lo cual dificulta el monitoreo en laboratorios regionales. Además, un desafío adicional es el desarrollo de tratamientos contra la acción fisiológica en humanos de estas biotoxinas. Estas toxinas, emergentes para la región, representan un riesgo potencial para la salud e inconvenientes socioeconómicos por el cierre de los sitios de explotación de moluscos. A través de estas mejoras, se anticipa que no solo se disminuirá el número de afectados, sino que se podrán realizar vedas más eficientes, asegurando un equilibrio que proteja tanto la salud pública como el desarrollo de la industria pesquera.

Bibliografía

- Akselman R, Negri RM, Cozzolino E. 2014. *Azadinium* (*Amphidomataceae*, *Dinophyceae*) in the Southwest Atlantic: *in situ* and satellite observations. *Rev Biol Mar Oceanogr.* 49:511–526.
- Almandoz GO, Fabro E, Ferrario ME, Tillmann U, Cembella AD, Krock B. 2017. Species occurrence of the potentially toxigenic diatom genus *Pseudo-nitzschia* and the associated neurotoxin domoic acid in the Argentine Sea. *Harmful Algae.* 63:45–55. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2017.01.007>.
- Almandoz GO, Montoya NG, Hernando MP, Benavides HR, Carignan MO, Ferrario ME. 2014. Toxic strains of the *Alexandrium ostenfeldii* complex in southern South America (Beagle Channel, Argentina). *Harmful Algae.* 37:100–109. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.05.011>.
- Alvarez-Falconí PP. 2009. Ácido domoico e intoxicación amnésica por moluscos en salud pública. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 26(4):505–516.
- Aune T, Larsen S, Aasen JAB, Rehmann N, Satake M, Hess P. 2007. Relative toxicity of dinophysistoxin-2 (DTX-2) compared with okadaic acid, based on acute intraperitoneal toxicity in mice *Toxicon.* 49:1–7.
- Bates SS, Hubbard KA, Lundholm N, Montresor M, Leaw CP. 2018. *Pseudo-nitzschia*, *Nitzschia*, and domoic acid: new research since 2011. *Harmful Algae.* 79:3–43.

- Bogan YM, Kennedy D, Harkin AL, Gillespie J, Hess P, Slater JW. 2006. Comparison of domoic acid concentration in king scallops *Pecten maximus* from seabed and suspended culture systems. J Shellfish Res. 25:129–135.
- Carreto JI, Benavides HR, Negri RM, Glorioso PD. 1986. Toxic red-tide in the Argentine Sea. Phytoplankton distribution and survival of the toxic dinoflagellate *Gonyaulax excavata* in a frontal area. J Plankton Res. 8:15–28. <https://doi.org/10.1093/plankt/8.1.15>.
- Cembella AD, Lewis NI, Quilliam MA. 2000. The marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) as the causative organism of spirolide shellfish toxins. Phycologia. 39:67–74.
- Cohen P, Holmes CFB, Tsukitani Y. 1990. Okadaic acid: a new probe for the study of cellular regulation. Trends Biochem Sci. 15:98–102.
- Cordier S, Monfort C, Miossec L, Richardson S, Belin C. 2000. Ecological analysis of digestive cancer mortality related to contamination by diarrhetic shellfish poisoning toxins along the coasts of France. Environ Res. 84:145–150.
- Cruz PG, Daranas AH, Fernandez JJ, Norte M. 2007. 19-epi-Okadaic acid, a novel protein phosphatase inhibitor with enhanced selectivity. Org Lett. 9:3045–3048.
- D'Agostino VC, Degradi M, Sastre AV, Santinelli NH, Krock B, Krohn T, Dans SL, Hoffmeyer MS. 2017. Domoic acid in marine food web: Exposure of southern right whales *Eubalaena australis* in Península Valdés, Argentina. Harmful Algae. 68:248–257. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2017.09.001>.
- Dominguez HJ, Paz B, Daranas A, Norte M, Franco JM, Fernández JJ. 2010. Dinoflagellate polyether within the yessotoxin, pectenotoxin and okadaic acid toxin groups: characterization, analysis and human health implications. Toxicon. 56:191–217.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). 2010. Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish: Cyclic imines (spirolides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriattoxins). EFSA J. 8:1628. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1628>.
- Elbusto CA, Ballabene AC, Campero C, Ramírez E, Villanueva C. 1981. Toxina paralizante de los moluscos del Mar Argentino. Acta Bioquím Clín Latinoam. 15:447–456.
- Esteves P, Castro D, Pequeño-Valtierra A, Giraldez J, Gago-Martinez A. 2019. Emerging Marine Biotoxins in Seafood from European Coasts: Incidence and Analytical Challenges. Foods. 8:149. <https://doi.org/10.3390/foods8050149>.
- Fabro E, Krock B, Torres AI, Papparazzo FE, Schloss IR, Ferreyra GA, Almandoz GO. 2018. Toxigenic dinoflagellates and associated toxins in San Jorge Gulf, Argentina. Oceanography. 31(4):145–153. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2018.417>.
- Fabro E, Almandoz GO, Ferrario ME, John U, Tillmann U, Toebe K, Krock B, Cembella A. 2017. Morphological, molecular and toxin analysis of field populations of *Alexandrium* genus from the Argentina Sea. J Phycol. 53(6):1206–1222. <https://doi.org/10.1111/jpy.12574>.
- Fabro E, Almandoz GO, Ferrario ME, Tillmann U, Cembella A, Krock B. 2016. Distribution of Dinophysis species and their association with lipophilic phycotoxins in plankton from the Argentine Sea. Harmful Algae. 59:31–41. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.09.001>.
- FAO/WHO. 2006. Joint FAO/WHO Food Standards Programme CODEX Committee on Fish and Fishery Products. CX/FFP 06/28/6-Add.1. Circular Letter CL 2006/45-FFP; FAO: Rome, Italy.
- FAO/WHO. 2016. Toxicity Equivalency Factors for Marine Biotoxins Associated with Bivalve Molluscs [Internet]. Rome: FAO/WHO; [citado el 1 de junio de 2021]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i5970e/i5970e.pdf>.
- Farabegoli F, Blanco L, Rodríguez LP, Vieites JM, García Cabado A. 2018. Phycotoxins in Marine Shellfish: Origin, Occurrence and Effects on Humans. Mar Drugs. 16:188. doi:10.3390/md16060188.
- Ferdin ME, Kvitek RG, Bretz CK, Powell CL, Doucette GJ, Lefebvre KA, Coale S, Silver MW. 2002. *Emerita analoga* (Stimpson) possible new indicator species for the phycotoxin domoic acid in California coastal waters. Toxicon. 40: 1259–1265.
- Fernandez JJ, Candenias ML, Souto ML, Trujillo MM, Norte M. 2002. Okadaic acid, useful tools for studying cellular processes. Curr Med Chem. 9:229–262.

- Fujiki H, Suganuma M. 1999. Unique features of the okadaic acid activity class of tumor promoters. *J Cancer Res Clin Oncol.* 125:150–155.
- Furey A, O'Doherty S, O'Callaghan K, Lehane M, James KJ. 2010. Azaspiracid poisoning (AZP) toxins in shellfish: Toxicological and health considerations. *Toxicon.* 56:73–190.
- Gayoso AM, Dover S, Morton SL, Busman M, Moeller PDR, Fulco VK, Maranda L. 2002. Diarrhetic shellfish poisoning associated with *Prorocentrum lima* (Dinophyceae) in Patagonian Gulfs (Argentina). *J Shellfish Res.* 21:461–463.
- Geraci JR, Anderson DM, Timperi RJ, St. Aubin DJ, Earj Y, Prescott JL, Mayo CA. 1989. Humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) fatally poisoned by dinoflagellate toxin. *Can J Fish Aquat Sci.* 46:1895–1898.
- Gracia Villalobos L, Santinelli NH, Sastre AV, Krock B, Esteves JL. 2015. Dinophysis species associated with diarrhetic shellfish poisoning episodes in North Patagonian Gulfs (Chubut, Argentina). *J Shellfish Res.* 34:1141–1149. <https://doi.org/10.2983/035.034.0339>.
- Guéret SM, Brimble MA. 2010. Spiroimine shellfish poisoning (SSP) and the spirolide family of shellfish toxins: Isolation, structure, biological activity and synthesis. *Nat Prod Rep.* 27:1350–1366.
- Hallegraeff GM. 1995. Harmful algal blooms: A global overview. En: Hallegraeff GM, Anderson DM, Cembella AD, editores. *Manual on Harmful Marine Microalgae.* Paris: IOC-UNESCO. p. 1–24.
- Hu T, Curtis JM, Walter JA, Wright JLC. 1996. Characterization of biologically inactive spiroptides E and F: identification of the spirolide pharmacophore. *Tetrahedron Lett.* 37:7671–7674.
- Ito E, Terao K, McMahon T, Silke J, Yasumoto T. 1998. Acute pathological changes in mice caused by crude extracts of novel toxins isolated from Irish mussels. En: Reguera B, Blanco J, Fernandez ML, Wyatt T, editores. *Harmful Algae.* Santiago de Compostela: Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. p. 588–589.
- Krock B, Ferrario ME, Akselman R, Montoya NG. 2018. Occurrence of marine biotoxins and shellfish poisoning events and their causative organisms in Argentine marine waters. *Oceanography.* 31:132–134. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2018.403>.
- Krock B, Borel CM, Barrera F, Tillmann U, Fabro E, Almandoz GO, Ferrario ME, Garzón Cardona JE, Koch BP, Alonso C, Lara R. 2015. Analysis of the hydrographic conditions and cyst beds in the San Jorge Gulf, Argentina, that favor dinoflagellate population development including toxigenic species and their toxins. *J Marine Syst.* 148:86–100. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2015.01.006>.
- Kvitek RG, Goldberg JD, Smith GJ, Doucette GJ, Silver MW. 2008. Domoic acid contamination within eight representative species from the benthic food web of Monterey Bay, California, USA. *Mar Ecol Progr Series.* 367:35–47.
- Lefebvre K A, Robertson A. 2010. Domoic acid and human exposure risks: A review. *Toxicon.* 56:218–230.
- Mc Mahon T, Silke J. 1996. West coast of Ireland: Winter toxicity of unknown aetiology in mussels. *Harmful Algae News.* 14:2.
- Miles CO, Wilkins AL, Stirling DJ, MacKenzie AL. 2000. New analogue of gymnodimine from a Gymnodinium species. *J Agric Food Chem.* 48:1373–1376.
- Miles CO, Wilkins AL, Munday R, Dines MH, Hawkes AD, Briggs LR, Sandvik M, Jensen DJ, Cooney JM, Holland PT, Quilliam MA, MacKenzie AL, Beuzenberg V. 2004. Isolation of pectenotoxin-2 from *Dinophysis acuta* and its conversion to pectenotoxin-2 seco acid, and preliminary assessment of their acute toxicities. *Toxicon.* 43:1–9.
- Molgo J, Marchot P, Aráoz R, Benoit E, Iorga BI, Zakarian A, Taylor P, Bourne Y, Servent A. 2017. Cyclic imine toxins from dinoflagellates: a growing family of potent antagonists of the nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurochem.* 142:41–51. doi:10.1111/jnc.13995.
- Montoya NG. 2019. Toxinas paralizantes de moluscos en el mar argentino: impacto, transferencia trófica y perspectiva. *Marine and Fishery Sciences.* 32:47–69.
- Montoya NG, Carignan MO, Carreto JI. 2018. *Alexandrium tamarense/catenella* blooms in Southwestern South America. Paralytic Shellfish Toxins production and its trophic transference. En:

Hoffmeyer MS, Sabatini ME, Brandini FP, Calliari D, Santinelli NH, editores. Plankton Ecology of the Southwestern Atlantic, from Subtropical to the Subantarctic Realm. Cham (DE). Springer. p. 453-476.

Montoya NG, Negri RM, Carreto JI. 2000. Primera detección de toxina amnésica de moluscos en el Mar Argentino asociado a un florecimiento de la diatomea *Pseudo-nitzschia australis* en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguayo. XV Simposio Científico Tecnológico de la Comisión Técnica Mixta del Frente Marítimo Argentino-Uruguayo. p. 67, Montevideo, Uruguay.

Montoya NG, Carignan M, Benavides HR. 2012. Toxinas emergentes: spirolidos en mejillones, fitoplancton y en cultivo de *Alexandrium ostenfeldii* del Canal de Beagle. Informe de investigación INIDEP N° 116/2012.

Munday R, 2008 a. Toxicology of the pectenotoxins. In: Seafood and Freshwater toxins: Pharmacology, Physiology and Detection, 2nd edition. CRC Press (Taylor and Francis Group), Botana LM (ed), Boca Raton, Florida, pp. 371-380.

Munday R. 2008b. Toxicology of cyclic imines: gymnodimine, spirolides, pinnatoxins, pteriattoxins, prorocentrolide, spiro-prorocentrimine, and symbiomines. En: Botana LM, editor. Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology, and Detection. 2nd edition. New York: CRC Press. p. 582-594.

Munday R, Quilliam MA, LeBlanc P, Lewis NI, Gallant P, Sperker SA, Ewart HS, MacKinnon S. 2012. Investigations into the toxicology of spirolides, a group of marine phycotoxins. Toxins. 4:1-14. <https://doi.org/10.3390/toxins4010001>.

Negri R, Silva R, Montoya N, Carignan M. 2019. Distribución diferencial de los dinoflagelados tóxicos *Dinophysis acuminata* y *D. tripos* en la Estación Permanente de estudios Ambientales (EPEA) en el período 2000-2019: una señal del cambio climático? XVIII Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar-COLACMAR, 4-8 Noviembre 2019, Mar del Plata, Argentina pag. 231.

Negri RM, Montoya NG, Carreto JI, Akselman R, Inza D. 2004. *Pseudo-nitzschia australis*, *Mytilus edulis*, *Engraulis anchoita*, and domoic acid in the Argentine Sea. En: Steidinger KA, Landsberg JH, Tomas CR, Vargo GA, editores. Harmful Algae.

2002. St. Petersburg, Florida, USA: Florida Fish and Wildlife Conservation Commission, Florida Institute of Oceanography and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. p. 139-141.

Ofuji K, Satake M, McMahon T, Silke J, James KJ, Naoki H, Oshima Y, Yasumoto T. 1999. Two analogs of azaspiracid isolated from mussels, *Mytilus edulis*, involved in human intoxication in Ireland. Natural Toxins. 7:99-102.

Ogino H, Kumagai M, Yasumoto T. 1997. Toxicologic evaluation of yessotoxin. Natural Toxins. 5:255-259.

Paredes I, Rietjens IMCM, Vieites JM, Cabado AG. 2011. Update of risk assessments of main marine biotoxins in the European Union. Toxicon. 58(4):336-354.

Pulido MO. 2016. Phycotoxins by harmful algal blooms (HABS) and human poisoning: an overview. Int Clin Pathol J. 2(6):145-152.

Reguera B, Riobó P, Rodríguez F, Díaz PA, Pizarro G, Paz B, Franco JM, Blanco J. 2014. Dinophysis Toxins: Causative Organisms, Distribution and Fate in Shellfish. Mar Drugs. 12:394-461. doi:10.3390/md12010394.

Rhodes L, Smith K, Selwood A, McNabb P, Munday R, Suda S, Molenaar S, Hallegraef G. 2011. Dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum* Nézan et Chomérat newly identified as the causative organism of pinnatoxins in Australia, New Zealand and Japan. Phycologia. 50:624-628.

Sar EA, Sunesen I, Lavigne AS, Goya AB. 2010. *Dinophysis* spp. asociadas a detección de toxinas diarreicas (DSTs) en moluscos y a intoxicación diarreica en humanos (Provincia de Buenos Aires, Argentina). Rev Biol Mar Oceanogr. 45:451-460. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572010000300010>.

Sastre AV, Santinelli NH, Marino G, Solís M, Pujato L, Ferrario ME. 2007. First detection of domoic acid produced by *Pseudo-nitzschia* species, Chubut coastal waters, Patagonia, Argentina. Harmful Algae News. 34:12.

Satake M, Tubaro A, Lee JS, Yasumoto T. 1997. Two new analogs of yessotoxin, homoyessotoxin and 45-hydroxyhomoyessotoxin, isolated from mussels of the Adriatic Sea. Natural Toxins. 5:107-110.

- Satake M, Ofuji K, Naoki H, James KJ, Furey A, McMahon T, Silke J, Yasumoto T. 1998. Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels *Mytilus edulis*. J Amer Chem Soc. 120:9967-9968.
- Sierra-Beltran AP, Palafox-Urbe A, Grajales-Montiel J, Cruz-Villacorta A, Ochoa JL. 1997. Sea bird mortality at Cabo San Lucas, Mexico: evidence that toxic diatom blooms are spreading. Toxicon. 35: 447-453.
- Stirling DJ. 2001. Survey of historical New Zealand shellfish samples for accumulation of gymnodimine. New Zeal J Mar Fresh. 35:851-857.
- Stivala CE, Benoit E, Aráoz R, Servent D, Novikov A, Molgó J, Zakarian A. 2015. Synthesis and biology of cyclic imine toxins, an emerging class of potent, globally distributed marine toxins. Nat Prod Rep. 32:411-435.
- Suganuma M, Tatematsu M, Yatsunami J, Yoshizawa S, Okabe S, Uemura D, Fujiki H. 1992. An alternative theory of tissue specificity by tumor promotion of okadaic acid in glandular stomach of SD rats. Carcinogenesis. 13:1841-1845.
- Ten-Hage L, Delaunay N, Pichon V, Coute A, Puiseux-Dao S, 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.
- Tillmann U, Borel M, Barrera F, Lara R, Krock B, Almandoz G. 2016. Trefault N. *Azadinium poporum* (Dinophyceae) from the South Atlantic off the Argentinean coast produce AZA-2. Harmful Algae. 51:40-55.
- Tillmann U, Gottschling M, Guinder V, Krock B. 2018. *Amphidoma parvula* (Amphidomataceae), a new planktonic dinophyte from the Argentine Sea. Eur J Phycol. 53:14-28.
- Tillmann U, Gottschling M, Krock B, Smith KF, Guinder V. 2019. High abundance of Amphidomataceae (Dinophyceae) during the 2015 spring bloom of the Argentinean Shelf and a new, non-toxic ribotype of *Azadinium spinosum*. Harmful Algae. 84:244-260.
- Tubaro A, Sosa S, Carbonatto M, Altinier G, Vita F, Melato M, Satake M, Yasumoto T. 2003. Oral and intraperitoneal acute toxicity studies of yes-sotoxin and homoyessotoxins in mice. Toxicon. 41:783-792.
- Turner AD, Goya AB. 2015. Occurrence and profiles of lipophilic toxins in shellfish harvested from Argentina. Toxicon. 102:32-42. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.05.010>.
- Twiner MJ, Rehmann N, Hess P. 2008. Doucette G.J. Azaspiracid Shellfish Poisoning: A Review on the Chemistry, Ecology, and Toxicology with an Emphasis on Human Health Impacts. Mar Drugs. 6:39-72.
- Twiner MJ, Hess P, Doucette GJ. 2014. Azaspiracids: Toxicology, pharmacology, and risk assessment. En: Botana L, editor. Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology, and Detection. 3rd edition. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, Taylor and Francis Group. 14. p. 823-856.
- Van Wagoner RM, Misner I, Tomas C, Wright JLC. 2011. Occurrence of 12-methylgymnodimine in a spirolide-producing dinoflagellate *Alexandrium peruvianum* and the biogenetic implications. Tetrahedron Lett. 52:243-246. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.05.137>.
- Wilson AC, Sastre V, Hoffmeyer M, Rowntree VJ, Fire S, Santinelli NH, Díaz Ovejero S, D'Agostino V, Marón CF, Doucette JC, Broadwater MH, Wang WZ, Montoya NG, Seger J, Adler FR, Sironi M, Uhart MM. 2016. Southern right whale (*Eubalaena australis*) calf mortality at Peninsula Valdes, Argentina: are harmful algal blooms to blame?. Mar Mam Sci. 32(2):423-451.
- Wright JLC, Boyd RK, de Freitas ASW, Falk M, Foxall RA, Jamieson WD, Laycock MV, McCulloch AW, McInnes AG, Odense P. 1989. Identification of domoic acid, a neuroexcitatory amino acid, in toxic mussels from eastern Prince Edward Island. Can J Chem. 67:481-490. <https://doi.org/10.1139/v89-075>.