

6. Intoxicación por azaspiracida en mariscos (AZP)

Por lo menos ocho personas enfermaron en los Países Bajos en noviembre de 1995, luego de consumir mejillones (*Mytilus edulis*) cultivados en Killary Harbour, Irlanda. Aunque los síntomas recordaban los de las intoxicaciones diarreicas por mariscos (DSP) las concentraciones de las principales toxinas DSP eran muy bajas (McMahon y Silke, 1996; Satake *et al.*, 1998a). No se observaron en las muestras de aguas entonces recogidas los organismos conocidos como productores de toxinas DSP. Además, se observó en el bioensayo en ratón usando los extractos de mejillones, una parálisis lenta y progresiva. Estos síntomas neurotóxicos eran muy diferentes de los provocados por las intoxicaciones típicas con DSP (Satake *et al.*, 1998a). Se identificó así la azaspiracida (antes llamada Killary Toxin-3 o KT3) y el nuevo síndrome tóxico pasó a denominarse intoxicación por azaspiracida (AZP por sus siglas en inglés).

6.1 Estructuras químicas y propiedades de la azaspiracida

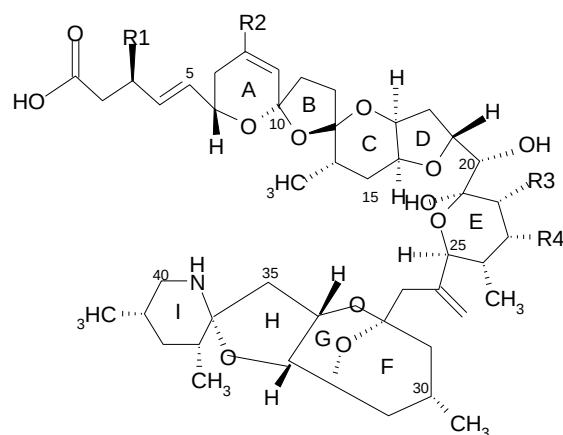
Satake *et al.* (1998b) aclararon la estructura de la azaspiracida resultante en intoxicaciones en seres humanos causadas por el consumo de mejillones irlandeses contaminados. La azaspiracida se extrajo de carne entera de mejillones contaminados presentándose como un sólido amorfo sin color y sin absorción máxima en el UV por encima de 210nm. Se aislaron, además de la azaspiracida (AZA), cuatro análogos, AZA 2 a AZA5 y se establecieron sus estructuras químicas (ver Figura 6.1). Ofuji *et al.* (1999a) identificaron las azaspiracida-2 (AZA-2) y la azaspiracida-3 (AZA-3) y demostraron que estos compuestos eran, respectivamente la 8-metilazaspiracida y la 22-demetilazaspiracida. Ofuji *et al.* (2001) determinaron la estructura de otros dos análogos de la azaspiracida encontrados en mejillones, la azaspiracida-4 (AZA-4) y la azaspiracida-5 (AZA-5), demostrando que eran respectivamente 3-hidroxi-22-demetilazaspiracida y 23-hidroxi-22-demetilazaspiracida, (es decir análogos hidroxilados de la AZA-3). Al momento no se dispone de datos experimentales que permitan conocer si las toxinas experimentan modificaciones estructurales, y como en los mariscos. Por analogía con las pectenotoxinas y las yesotoxinas, que por hidroxilación sufren modificaciones estructurales en mejillones, puede suponerse que la AZA-4 y la AZA-5 son metabolitos oxidados de la AZA-3. Por tanto probablemente, las AZA, AZA-2 y AZA-3 son productos genuinos del organismo marino causante. La azaspiracida fue considerada como el agente principal causante (Satake *et al.*, 1998b).

Las azaspiracidas difieren de cualquier otra toxina nitrogenada previamente conocida en mariscos o dinoflagelados (por ej. prorocontrolida, pinnatoxina, gimnodimina y las espirolidas). Los anillos de las azaspiracidas (AZAs) poseen disposiciones únicas, una amina cíclica en lugar de un grupo imino cíclico, sin anillo carbocíclico o de lactona (Satake *et al.*, 1998b).

Dounay y Forsyth (2001) realizaron estudios de síntesis de las azaspiracidas en el rango C5 – C20 para identificar estos sub-fragmentos.

Satake *et al.* (1998b) informaron que los extractos de mejillones no mostraban una disminución significativa de la toxicidad al calentarlos a 5 °C durante 150 minutos en soluciones 1,0 N de ácido acético/metanol o 1,0 N de hidróxido de amonio y que no tenía lugar un cambio significativo de la toxicidad de la solución durante su almacenamiento. Se supone, entonces, que las AZAs son compuestos relativamente estables.

Figura 6.1 Estructuras químicas de las azaspiracidas



	<u>R₁</u>	<u>R₂</u>	<u>R₃</u>	<u>R₄</u>
azaspiracid (AZA)	H	H	CH ₃	H
azaspiracid-2 (AZA2)	H	CH ₃	CH ₃	H
azaspiracid-3 (AZA3)	H	H	H	H
azaspiracid-4 (AZA4)	OH	H	H	H
azaspiracid-5 (AZA5)	H	H	H	OH

6.2 Métodos de análisis

6.2.1 En general

Debe prestarse atención a la posible aparición conjunta en mejillones de OAs, PTXs y YTXs. Se notó en mejillones recogidos en Noruega la coexistencia de estas toxinas con la AZA (Yasumoto y Aune, datos sin publicar en EU/SANCO, 2001).

Se recomienda, en consecuencia, buscar estas toxinas por CL o por CL/EM. Se notó la presencia de toxina(s) desconocida(s) en mejillones en brotes de AZP, aunque a niveles bajos (alrededor del 12 por ciento de la toxicidad total). Los ratones inyectados con esta toxina desconocida mostraban inmediatamente agitación, parálisis y convulsiones del tipo PSP previas a la muerte. Además de presentar estos síntomas en ratones, las propiedades cromatográficas de la toxina desconocida eran diferentes de las de la toxina AZP (probablemente la toxina carece de parte ácida). Los ratones inyectados con esta toxina morían al cabo de 30 minutos. Los ratones sobrevivientes se recuperaron rápidamente. No hay datos actualmente disponibles que permitan saber si la toxina(s) desconocida alcanza un nivel lo suficientemente elevado como para interferir con los resultados del bioensayo en ratón (EU/SANCO, 2001).

6.2.2 Bioensayos

ensayos in vivo

bioensayo en ratón

Los ratones se inyectan intraperitonealmente con extractos de mejillones igual que en los inmunoensayos para determinar DSP. Los resultados sugieren que las azaspiracidas pueden extraerse de la carne cruda con acetona debido a una mayor solubilidad por la presencia de agua y lípidos en la carne (EU/SANCO, 2001). La respuesta a la azaspiracida se caracteriza por saltos y rascarse de los

ratones, con una parálisis progresiva atípica para la DSP (Flanagan *et al.*, 2000; Satake *et al.*, 1998a). El menor tiempo que tardaron en morir los ratones fueron 35 minutos (a seis veces de la dosis letal) y el más prolongado 30 horas y 46 minutos (EU/SANCO, 2001). Habitualmente, las toxinas de poliéter se concentran en las glándulas digestivas de los mariscos, lo que no siempre sucede con las azaspirácidas. La azaspirácida y sus análogos, AZA2 y AZA3, se distribuyen en los tejidos de los mariscos. Empleando protocolos convencionales para bioensayos de DSP en ratón (en los que se emplea sólo el hepatopáncreas), se mide solamente de cero a 40 por ciento del contenido total de azaspirácida del marisco, lo que puede explicar los falsos negativos (James *et al.*, 2002a).

bioensayo en ratas

Ensayo basado en inducir diarrea en ratas. Los animales hambrientos se alimentan con el tejido de marisco sospechoso (mezclado en la dieta), manteniéndolos por 16 horas en observación buscando señales de diarrea, consistencia de las heces y rechazo de alimentos. En el mejor de los casos el método es semi-cuantitativo (Hallegraeff *et al.*, 1995 y Van Egmond *et al.*, 1993). El ensayo se emplea aun rutinariamente en los Países Bajos y es permitido oficialmente por la legislación de la UE.

en general

La Comisión Europea ha reconocido las necesidades de la comunidad analítica de desarrollar métodos alternativos a las pruebas con animales. En el Área 5 “Calidad e Inocuidad Alimentaria” del Sexto Programa Marco de la Comisión figura un llamado a propuestas (EC, 2003), siendo uno de sus objetivos el desarrollo de herramientas costo-efectivas para el análisis y la detección de peligros asociados con los frutos de mar de aguas costeras, incluyendo las toxinas azaspirácidas de mariscos. De así hacerse, significará que son de esperar progresos en los años próximos.

ensayos in vitro

ensayo con cultivos de células de mamíferos

El desarrollo de estrategias de diagnóstico alternativas para detectar la contaminación de mariscos con ficotoxinas es motivado por consideraciones científicas, éticas y financieras. Para encararlas, se ha desarrollado un ensayo basado en las respuestas citopatológicas a las ficotoxinas de células cultivadas de mamíferos. La respuesta primaria de estas células a cualquier familia de toxinas del ácido ocadaico es la de “reunirse”, a las tres horas, perdiendo su morfología típica, aunque permaneciendo un 90 por ciento viables hasta las 48 horas. Las muestras azaspirácida positivas, cuando se aplican a este sistema no provocan el efecto de “reunirse” sobre las células de cultivo. En cambio, la viabilidad celular, medida con un ensayo MTT, cae a menos de 10 por ciento de la viabilidad de las células de control pasadas 18 a 24 horas. La combinación de la observación de la morfología celular a las tres horas con la medida de viabilidad a las 24 horas permite detectar tanto las toxinas del tipo ácido ocadaico como las azaspirácidas en mariscos (Flanagan *et al.*, 2000; 2001).

6.2.3 Análisis químicos

espectrometría de masas

El primer método informado empleando CL-EM para determinaciones cuantitativas para las azaspirácidas estaba basado en la detección mediante seguimiento con ión selectivo (SIM, por sus siglas en inglés) (Ofuji *et al.*, 1999b), con un ión por compuesto y con calibración externa. La linealidad se verificó en un rango de concentraciones relativamente amplio (50 pg a 100 ng). Los datos de recuperación parecían correctos, pero no quedó claro cuantas muestras diferentes servían de base para los experimentos de recuperación. Como solo se seguía un ión por compuesto, no era posible ninguna verificación de especificidad con la relación de intensidad iónica. En resumen, la base analítica del método no es sólida, lo que hace discutible su aplicación práctica.

Las primeras aplicaciones de métodos CL-EMⁿ para AZAs, luego publicadas, fueron presentadas por James *et al.* (2001). Se desarrolló un método de micro cromatografía líquida en tandem con espectrometría de masas (micro-CL-EM-EM) para la determinación de las azaspirácidas (Draisci *et*

al., 2000). El método apuntaba a la identificación de las azaspirácidas, por lo que de hecho tenía un componente cualitativo. Eventualmente el objetivo se formuló como “...investigar la aplicabilidad de la CL-EM y de la CL-EM-EM para detectar sin ambigüedades la azaspirácida en mariscos.” Aplicando seguimiento de ión selectivo (SIM) en los iones que corresponden solo con moléculas protonadas, se buscaba la forma más sensible de detección (intensidades máximas). Se obtenía también una buena sensibilidad (definida como un límite de detección bajo) aplicando micro-CL (1,0 mm D.I. columna), la que resulta efectiva por ser el Electrospray-EM un detector dependiente de la concentración. Se usó en este estudio un triple cuadrupolo MS (tripleQ). Este instrumento es más comúnmente empleado que la EM de trampa iónica en el área de las biotoxinas marinas. Se obtuvo información estructural empleando las capacidades CID-ES-ES del tripleQ, primero en modalidad de barrido completo para encontrar los iones hijos adecuados, luego utilizados en la modalidad SRM. Se obtuvieron también datos cuantitativos basados en la modalidad SRM optimizada. Se observó una buena linealidad ($r^2 > 0.995$) para un rango de concentraciones pequeño (0,1–1 µg/ml), en tanto que el límite de detección era de aproximadamente 20 ng de azaspirácida por gramo de mejillón entero. En conclusión, el método desarrollado suministró datos muy selectivos y específicos. Sin embargo, tal como lo afirman los autores “una validación completa se hizo difícil por la falta de los estándares de azaspirácida necesarios para los experimentos de recuperación”.

Lehane *et al.* (2002) informaron el desarrollo de un método CL-ESI-EMⁿ para determinar las tres toxinas AZA más frecuentes (AZA1-3), así como los isómeros análogos hidroxilados (AZA4-5). Demostraron que la CL en tandem múltiple es más sensible que la CL-solo-EM, lo que sugiere “... que la reducción del ruido de fondo en la EMⁿ es más dramática que la caída en la señal del analito.” Notable es su uso de la activación WideBand, que les permite reducir el tiempo total de elusión apuntando a la determinación de cinco azaspirácidas. Aunque los autores afirman que han desarrollado un método que requiere un mínimo de pasos para la preparación de la muestra y la preparación de ésta en su conjunto muy posiblemente insuma la mayor parte del tiempo del análisis.

Junto con el artículo recién mencionado, el mismo grupo de investigadores, informó de una comparación de métodos de extracción en fase sólida para determinar azaspirácidas en mariscos mediante el método CL-ESI-EMⁿ de Lehane (Moroney *et al.*, 2002). Se obtuvieron buenos datos de recuperación y reproducibilidad con un cartucho diol SPE y dos tipos de cartucho C₁₈ SPE. Afirman que: “...los eficientes métodos SPE aquí presentados para la preparación de muestras debieran ser más útiles en el desarrollo de métodos analíticos alternativos para las toxinas AZP en mariscos.” Esto se alinea con su afirmación anterior: “La preparación de la muestra para la determinación de ficotoxinas en mariscos puede resultar en parte problemática, debido, a extensas variaciones en el contenido tóxico.”

Este mismo grupo informó el desarrollo del mismo método en otra publicación (Furey *et al.*, 2002) “con el objetivo primario de producir un protocolo que pudiera usarse para el control reglamentario de las azaspirácidas en mariscos”. Son dignos de mención, en particular, sus extensos estudios de linealidad para determinaciones en extractos de mariscos: durante dos décadas se obtuvieron muy buenos resultados para un rango de concentración. Los datos indican que es posible un control reglamentario con los métodos informados. El mismo grupo informó de una aplicación del método recién nombrado (James *et al.*, 2002a; 2002b). El informe muestra espectros CL-EM³ de las AZA1-3, tanto como estándares como analitos en extractos de mejillones.

6.3 Organismos fuente y habitat

Desde 1996, se han identificado varios incidentes de AZP en Irlanda. En noviembre de 1997, ocurrieron nuevamente casos de contaminación en la isla Avianmore, región de Donegal, en el noroeste de Irlanda, causando repetidas intoxicaciones en seres humanos (McMahon y Silke, 1998), como también en otros países europeos (principalmente con mejillones cultivados en Irlanda). El origen último de las azaspirácidas probablemente sea un dinoflagelado debido a la estructura poliéter altamente oxigenada y a las apariciones estacionales. Sin embargo, no se encontró ninguna de las

especies de fitoplancton tóxicas conocidas en las muestras de agua recogidas al momento de la intoxicación (James *et al.*, 2000b; Satake *et al.*, 1998b). Informaciones recientes (Peperzak *et al.*, 2002) sugieren que el *Protoceratium crassipes* es el dinoflagelado productor de la AZP. McMahon (2000) informó que como organismo fuente se ha sugerido un organismo del género *Protoperidinium*.

6.4 Presencia y acumulación en frutos de mar

6.4.1 Incorporación y eliminación de las toxinas AZP en organismos acuáticos

Aunque no sea este el caso con las azaspirácidas, las toxinas poliéteres se concentran típicamente en las glándulas digestivas de los mariscos,. La azaspirácida y sus análogos metil- y demetil, AZA2 y AZA3, respectivamente, no están confinados al hepatopáncreas distribuyéndose también en todos los tejidos de los mariscos. Los perfiles de las toxinas diferían significativamente en los diversos tejidos de mejillones con AZA como toxina predominante en las glándulas digestivas y la AZA3 y un isómero de la AZA predominantes en los restantes tejidos. Las glándulas digestivas de los mejillones contenían inicialmente la mayor parte de las azaspirácidas debido a su alimentación con dinoflagelados tóxicos. Es, sin embargo, impredecible el transporte de estas toxinas a otros tejidos de mejillones, aunque, de ocurrir, es probable un periodo de intoxicación prolongado con mariscos debido a la baja velocidad de depuración natural. Las azaspirácidas tienen una distribución inusual en los solventes durante su proceso de extracción. Esto lleva a especular que los aminoácidos polares y las zonas no poliéter de la azaspirácida imparten a la molécula propiedades detergentes. La facilidad con que pueden moverse las azaspirácidas por diferentes polaridades probablemente juegue un papel importante en la penetración incrementada de estas toxinas en los tejidos de mariscos y mamíferos. Puede haber una variación significativa en el nivel total de AZAs en los mejillones de diferentes lugares pertenecientes a una misma región de cultivo. Ver el Cuadro 6.1 (James *et al.*, 2002a).

Cuadro 6.1 Distribución de las toxinas AZP en tejidos de mejillones

Sitio No.	Carne ^a (AZAs Total) µg/100g	HP (AZAs Total) µg/100g	AZAs Total µg/100g	Distribución de AZAs (% carne/HP) ^b
1	14	0	12	100/ 0
2	14	34	17	67/33
3	6	10	7	75/25
4	7	18	9	67/33
5	84	12	72	96/4
6	37	100	48	64/36
7	48	33	45	88/12

^a carne de mejillón sin hepatopáncreas

^b el peso promedio es 4,8 g; HP representaba 15-18% del total del tejido de mejillones

6.4.2 Mariscos con toxinas AZP

Se encontró que los mejillones y ostras contienen toxinas AZP (James *et al.*, 2000b).

6.5 Toxicidad de las toxinas AZP

6.5.1 Mecanismo de acción

Sin información

6.5.2 Farmacocinética

Sin información

6.5.3 Toxicidad en animales de laboratorio

toxicidad aguda

estudios orales

Se hicieron en ratones estudios orales agudos con azaspiracida. La azaspiracida fue extraída de mejillones recogidos en Killary Harbour, Irlanda en febrero de 1996. La toxina principal se concentró, durante la purificación, en una fracción lipídica codificada KT3 (Ito *et al.*, 2000). Los ratones no evidenciaron ningún cambio clínico por administración oral (alimentación forzada con tubo de 60 µl de la fracción KT3 durante 24 horas. Se observaron, durante la autopsia pasadas cuatro horas, una activa secreción de fluido del ileum y restos de células epiteliales necrotizantes de las vellosidades en el lumen (SEM) y, pasadas ocho, la erosión desde la parte superior de las vellosidades, resultó en que éstas quedan más cortas, observándose una acumulación prominente de fluido acompañando a edemas en la lámina propia. Pasadas 24 horas, no se observaron estos cambios, pero las células epiteliales de los vellosidades adyacentes estaban fusionadas entre sí (Ito *et al.*, 1998).

Los ratones macho ICR alimentados por oralmente por cebado con una única dosis de 500, 600 o 700 µg AZA/kg pc purificada no mostraron dentro de las cuatro horas ningún cambio de comportamiento. Los sobrevivientes pasadas 24 horas fueron respectivamente 0/2, 3/6 y 1/2 a 500 µg/kg pc (con ocho semanas de edad), 600 µg/kg pc (cinco semanas de edad) y 700 µg/kg pc (cinco semanas de edad). Se observaron, respectivamente, diarrea y disminución del peso corporal dentro de las 24 horas a 600 µg/kg pc y 700 µg/kg pc. Con dosis orales únicas de 300 a 700 µg/kg pc, la AZA causó cambios dosis-dependientes en el intestino delgado (atrofia necrótica en la lámina propia de los vellosidades) y en los tejidos linfoides como el timo, bazo y las placas de Peyer. En el bazo se redujo la cantidad de no-granulocitos y tuvieron lugar lesiones tanto para los linfocitos T como para los B. Aumentó además el peso, cambió el color de rojo oscuro a rojo rosado y se observaron cambios en las grasas del hígado. La AZA no causó cambios importantes en la mucosa del estómago, pero se observó la aparición de muchas células degenerantes en el intestino grueso. El páncreas parecía perder localmente gránulos sueltos de cimógeno, aunque no fueron dañadas las células. No se observó daño hispatológico a otros órganos (riñón, corazón y pulmón). Los cambios morfológicos en ratón, inducidos por la AZA, eran muy diferentes de los del ácido ocaidaico (Ito *et al.*, 2000)

En las últimas experiencias de Ito *et al.* (2002), se utilizaron para producirles lesiones graves y observar su recuperación, un total de 18 ratones de cuatro, cinco de seis y dos de cinco semanas de edad. Se administraron oralmente a cinco grupos cuatro niveles de dosis (250, 300, 350 y 450 µg de AZA (extracto más purificado de mejillones azules de Killary Harbour y de la isla Arranmore Island en Irlanda)/kg pc (disueltos en etanol al 50). Diez ratones sobrevivientes del tratamiento inicial recibieron un segundo tratamiento al tercer día. Nueve ratones sobrevivientes del segundo tratamiento murieron entre los días siete y 90 posteriores al tratamiento. Se emplearon trece ratones de control. La dosis superior de 450 µg/kg pc causó la muerte en 11/16 de los ratones tratados de cuatro semanas. Dos de dos ratones de seis semanas de edad y otros dos de dos de cinco semanas, también murieron, al recibir, respectivamente dosis de 300 y de 250 µg/kg pc. De los diez ratones sobrevivientes al primer tratamiento, uno murió luego del segundo con 350 µg/kg pc. Se apreciaron recuperaciones lentas posteriores a la administración oral de dosis de 300, 350 y 450 µg/kg pc. Persistieron por más de tres meses erosiones y vellosidades más cortas en el estómago e intestino delgado, edema, sangrado e

infiltración de células en la pared alveolar por 56 días, cambios grasos en el hígado por 20 días y necrosis de los linfocitos del timo y bazo durante 10 días. La dosis oral más reducida de μg AZA/kg pc pareció ser letal para los ratones empleados en este estudio.

Se ha señalado que la toxina KT3 parcialmente purificada causó una acumulación de fluidos intestinales y daños histológicos al páncreas mucho más severos (Ito *et al.*, 1998) que la toxina más purificada usada en los trabajos de Ito *et al.* (2002). Es posible que en la fracción no purificada estuviesen presentes varios análogos desconocidos de la azaspiracida. Debe mencionarse también, que la diferencia entre letalidades en ratón resultante de las administraciones por vía oral e intraperitoneal resultó ser mucho menos significativa con la azaspiracida que con otras ficotoxinas (Ito *et al.*, 2000).

estudios intraperitoneales

Los ratones expuestos a AZA con inyecciones intraperitoneales reaccionan de forma diferente que los expuestos a otras toxinas de mariscos. Luego de administrar una dosis de la toxina KT3 parcialmente purificada a ratones ddY macho, los animales se volvieron perezosos y permanecían sentados en los rincones con parálisis progresiva y respiración fatigosa. No se observó diarrea. Los animales murieron dos a tres días después de que se le administraran dosis bajas. Se informó la dosis letal mínima como de 150 $\mu\text{g/kg}$ pc (Satake *et al.*, 1998a). Ito *et al.* (1998) inyectaron i.p. 10 μl de la toxina KT3 parcialmente purificada a 10 ratones (de tres semanas) macho ICR. Todos los animales mostraron inactividad y debilidad general, muriendo dentro de las 24 horas. Los cambios morfológicos causados por la KT3 eran claramente diferentes de los inducidos por las toxinas DSP, PSP o ASP. Los principales órganos blanco de la KT3 fueron el hígado, bazo, páncreas, timo y el tracto digestivo. Por el contrario, para las toxinas DSP es el tracto digestivo, para las PSP el sistema nervioso central y para las ASP el cerebro. El blanco de la toxina KT3 era el intestino delgado, en el que degeneraron las vellosidades desde el comienzo. A nivel histopatológico, las células del parénquima del páncreas y los hepatocitos, que contienen numerosos retículos endoplasmáticos ásperos, son los afectados preferentemente siendo probable que la KT3 inhiba la síntesis de las proteínas.

Satake *et al.* (1998b) informaron de una dosis letal i.p. de AZA purificada en ratones de 200 $\mu\text{g/kg}$ pc. En ratones, las dosis letales intraperitoneales para las AZA-2 y -3 eran respectivamente de 110 y 140 $\mu\text{g/kg}$ pc, (Ofuji *et al.*, 1999a) y para la AZA-4 y la AZA-5 de aproximadamente 470 y menos de 1 000 $\mu\text{g/kg}$ pc, respectivamente (Ofuji *et al.*, 2001).

toxicidad por administración repetida

estudios orales

Se administraron dosis orales de 50, 20, 5 y 1 μg de AZA/kg pc dos veces por semana, hasta 40 veces, en 145 días, respectivamente a cuatro grupos de 10, 10, 5 y 6 ratones (de cuatro semanas de edad). Se usaron como control diecinueve ratones. Nueve de cada diez ratones con 50 $\mu\text{g/kg}$ pc y tres de diez ratones con 20 $\mu\text{g/kg}$ pc se debilitaron tanto (inactividad y pérdida de peso) que fueron sacrificados antes de ser tratados las 40 veces (principalmente luego de 30 tratamientos). Se observaron neumonía intersticial y vellosidades más cortas en el intestino delgado. No se observó mortalidad a 5 y a 1 $\mu\text{g/kg}$ pc. Los ratones que sobrevivieron los 40 tratamientos se conservaron por hasta tres meses. No se apreciaron los cambios grasos en el hígado, previamente observados con dosis agudas o letales. Se observó, a 50 $\mu\text{g/kg}$ pc, un tumor de pulmón en 1/10 ratones dosificados 32 veces. A 20 $\mu\text{g/kg}$ pc se observó un tumor de pulmón en 1/10 ratones dosificados 36 veces y en dos ratones más, una vez retirada la dosis. Además, se observó hiperplasia de las células epiteliales del estómago en 6/10 ratones a 20 $\mu\text{g/kg}$ pc. A 5 $\mu\text{g/kg}$ los 5 ratones mostraron erosión del intestino delgado (atribuible posiblemente a lesiones no curadas más que a efectos tardíos desarrollados en el período siguiente al retiro de la dosis). Uno de cada seis ratones, a 1 $\mu\text{g/kg}$, desarrollaron nódulos hiperplásicos del hígado y dos de cada seis ratones mostraron mitosis en el hígado. (Ito *et al.*, 2002).

reproducción/teratogenicidad

Sin información.

mutagenicidad

Sin información.

toxicidad in vitro

Las azaspirácidas resultaron cito-tóxicas para las células P388, pero la potencia para las células KB era mucho menos importante (EU/SANCO, 2001). La AZA no inhibió la fosfatasa 2A de las proteínas. Se notó que los estudios *in vitro* sobre células humanas de donantes sanos sugieren que el umbral para modificar la función celular de los análogos de la azaspirácida sería de 24 µg/kg para una persona de 60 kg.

6.5.4 Toxicidad en seres humanos

En noviembre de 1995, al menos ocho personas en los Países Bajos enfermaron después de consumir mejillones (*Mytilus edulis*) cultivados en Killary Harbour, Irlanda. Aunque los síntomas en seres humanos como náusea, vómitos, diarrea grave y calambres de estómago, eran similares a los de las intoxicaciones diarreicas por mariscos (DSP), las contaminaciones con las principales toxinas DSP, el ácido ocaídoico (OA) y las dinofisistoxinas (DTXs), eran muy bajas. Estas observaciones motivaron a los investigadores a explorar la estructura de la toxina causante. Mediante análisis químicos, los investigadores identificaron y cuantificaron la AZA (Satake et al., 1998a; 1998b). Basado en estos resultados, se estimó la toxicidad de los mejillones en 0,15 unidades ratón (UR)/g (equivalentes a 0,6 µg de AZA/g) (EU/SANCO, 2001). Se informó (Ofuji et al. (1999b) un contenido de toxina superior de 1,4 µg AZAs/g de carne (0,4 UR/g de carne). La toxicidad humana se encontró entre los 6,7 (5 por ciento) y 24,8 (95 por ciento) µg/persona con un valor medio de 15 µg/persona. Sin embargo, los nuevos datos de estabilidad térmica de la azaspirácida sugieren que no es apropiado considerar una reducción de la concentración de AZAs debida al calentamiento. En consecuencia el rango recalculado para el LOEL es de 23 a 86 µg por persona con un valor medio de 51,7 µg/persona (EU/SANCO, 2001).

6.5.5 Toxicidad en organismos acuáticos

Sin información.

6.6 Prevención de la intoxicación AZP

6.6.1 Depuración

En invierno, cuando los mariscos están libres de contaminación con toxinas DSP, éstas pueden estar presentes en los mejillones. La larga duración de los periodos de toxicidad, que a menudo se extiende a casi seis meses, ocasiona problemas (Ofuji et al., 2001). Durante las etapas iniciales de la intoxicación, las glándulas digestivas contienen la mayor parte de las toxinas AZP. Puede darse una migración de toxinas AZP a otros tejidos de los mejillones, ocasionando una intoxicación persistente. Esta poco común distribución de toxinas AZP dentro de los tejidos de los mariscos puede resultar en bajas velocidades de depuración por vías naturales. Además el protocolo para el bioensayo en ratón de la DSP, en el que sólo se emplea el hepatopáncreas en la extracción, puede no detectar las toxinas AZP en mejillones (James et al., 2002a).

6.7 Casos y brotes de CFP

6.7.1 Europa

La Figura 6.2 ilustra la presencia de azaspirácidas en los países europeos integrantes del CIEM.

Irlanda

En noviembre de 1995, por lo menos ocho personas en los Países Bajos se intoxicaron al consumir mejillones (*Mytilus edulis*) cultivados en Killary Harbour, Irlanda (McMahon y Silke, 1996; Satake *et al.*, 1998a). Se detectó una toxina por entonces llamada Killary Toxin-3 o KT3. Satake *et al.* (1998b) aclararon la estructura de la KT3 y la llamaron azaspirácida. Los mejillones recogidos en febrero de 1996, contenían 0,15 MU/g (=0.6 µg AZA/g) de toxina (EU/SANCO, 2001).

Desde 1996 se han identificado en Irlanda varios incidentes con AZP. Nuevamente en 1997 hubo casos de contaminación que causaron repetidas intoxicaciones en seres humanos– en la región de la isla Arranmore de Donegal, noroeste de Irlanda (McMahon y Silke, 1998) – y en otros países europeos. Aunque no se observó con posterioridad a estas intoxicaciones ningún fitoplancton conocido en las zonas de cultivo, es probable que dinoflagelados marinos produjeran las toxinas AZP (James *et al.*, 2002a).

Los mejillones recogidos en Killary Harbour el 23 de abril de 1996 (cinco meses después del incidente) contenían 1,14 µg AZA/g de carne, 0,23 µg AZA2/g de carne y 0,06 µg AZA3/g de carne (total de AZAs 1,4 µg/g de carne). Los mejillones recogidos en Arranmore Island el 3 de noviembre de 1997 (de uno a dos meses después del incidente) contenían 0,865 µg AZA/g de carne de mejillones enteros (incluyendo hepatopáncreas), 0,25 µg AZA2/g y 0,24 µg AZA3/g (total de AZAs 1,36 µg/g). Los resultados del bioensayo en ratón indicaron 0,4 MU/g de carne (Ofuji *et al.*, 1999b). McMahon (2000) informó que el contenido máximo de AZA en los mariscos en el incidente de Arranmore era de 10,7 µg/g de hepatopáncreas. En noviembre de 1997, James y Furey (2000) detectaron 2,21 µg de AZAs/g en carne cruda entera de mejillones.

Después de la intoxicación inicial en Arranmore Island y Killary Harbour, la toxina persistió por siete a ocho meses más. Las ostras parecen ser igualmente susceptibles que los mejillones a intoxicaciones con toxinas AZP como lo ilustra el Cuadro 6.2 (James *et al.*, 2000).

Cuadro 6.2 Niveles de AZAs en mejillones y ostras de Irlanda

Localidad en Irlanda	Fecha	AZAs Totales µg/100 g (mejillón)	AZAs Totales µg/100 g (ostra)
Condado de Cork	noviembre de 1998	70	70
County Cork	febrero de 2000	10	20
Condado Bruckless, Donegal	noviembre de 1999	10	30

Durante 1999, se ensayaron en Irlanda unas 1 800 muestras para determinar toxinas DSP/AZP empleando el bioensayo en ratón de Yasumoto *et al.* (1978). Aproximadamente el 5 por ciento de las muestras fueron positivas. Se detectó la azaspirácida en varias zonas de producción y se ha prohibido la cosecha de todos los bivalvos en Bruckless Bay, en el noroeste de Irlanda desde agosto de 1999 al haberse detectado toxinas AZP en muestras ensayadas semanalmente (EU-NRL, 2000).

Noruega

Se han identificado azaspiracidas en mejillones (James *et al.*, 2000b).

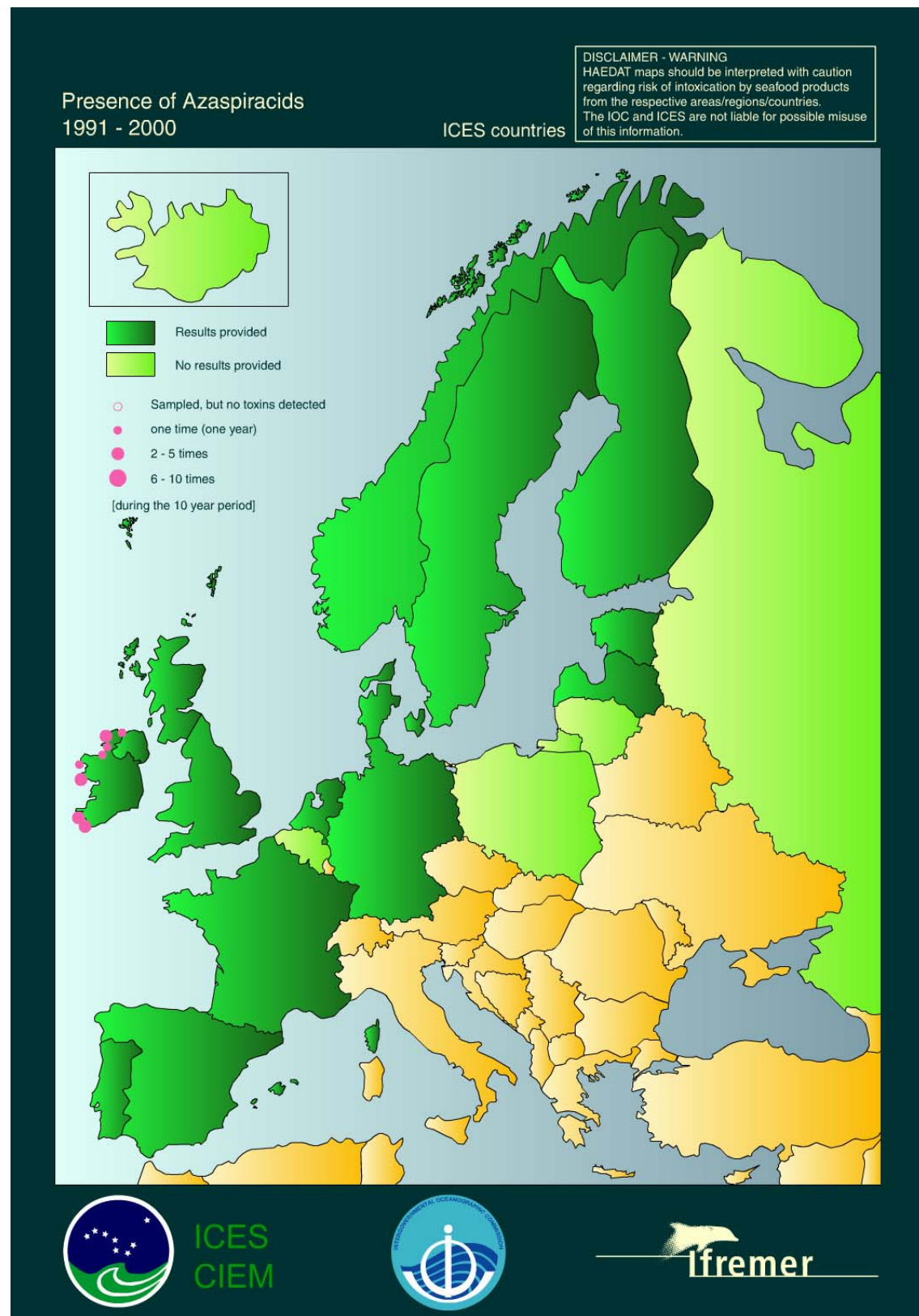
Portugal

Se informó una toxicidad extraña en berberechos (*Cerastoderma edule*) similar a la AZP pero no encontrada en mejillones (EU-NRL, 1998).

Reino Unido

Se han identificado azaspiracidas en mejillones (James *et al.*, 2000b).

Figura 6.2 Presencia de toxinas AZP en aguas costeras de países europeos miembros del CIEM desde 1991 a 2000



Fuente: <http://www.ifremer.fr/envlit/documentation/dossiers/ciem/aindex.htm>

6.8 Reglamentos y seguimiento

La opinión de los expertos irlandeses que realizaron la evaluación de riesgos es que debe revisarse el límite tolerable predominante de 8 µg/100 g de marisco (ver el Capítulo 8.5 Evaluación de riesgos para la intoxicación azaspiracida por mariscos (AZP) y el Capítulo 9.1.5 Conclusiones relativas a la AZP), debido a la falta de datos sobre las toxinas AZP y a la incertidumbre delineada en la misma.

Debe prestarse atención a la posible aparición simultánea del ácido ocadaico, de las pectenotoxina y de las yesotoxinas en mariscos. Se notó la coexistencia de estas toxinas con las AZP en mejillones recogidos en Noruega (Yasumoto y Aune in EU/SANCO, 2001).

6.8.1 Europa

En marzo de 2002 la Comisión Europea fijó las reglas siguientes (EU, 2002a):

- Los niveles máximos para las toxinas en los moluscos bivalvos, equinodermos, tunicados y gasterópodos marinos (cuerpo entero o cualquier parte comestible separadamente) serán de 160 µg/kg.
- Los métodos de ensayo preferidos son el bioensayo en ratón o rata. Pueden usarse diversos métodos analíticos como la CL con detector de fluorescencia, la CL-EM y los inmunoensayos, como métodos alternativos o complementarios a los métodos de ensayo biológicos, siempre que solos o combinados puedan al menos detectar los siguientes análogos AZA, AZA2 y AZA3; que no sean menos eficaces que los métodos biológicos y que su implementación suministre un nivel equivalente de protección de la salud:
- Cuando los resultados de los análisis demuestren discrepancias entre los diferentes métodos el método de bioensayo en ratón debiera considerarse como el método de referencia.

Irlanda

El Programa de Seguimiento de Biotoxinas comenzó en Irlanda en 1984 basado inicialmente en el tamizado de muestras mediante bioensayos para detectar la presencia de toxinas DSP. En los últimos años, la detección de toxinas adicionales, como la DA y particularmente las azaspiracidas, ha incrementado los seguimientos y el programa comprende actualmente ensayos semanales de mariscos empleando el bioensayo en DSP en ratón, CL-EM (ácido ocadaico, DTX2, azaspiracidas) y CL (DA) así como análisis del fitoplancton. Se envían informes regulares de los resultados del análisis de las muestras a las autoridades reglamentaras, los responsables de la salud así como a los productores y procesadores de mariscos. Se está desarrollando un sistema de información basado en Internet para incrementar el acceso a la información (McMahon *et al.*, 2001).

McMahon (2000) informó que la Autoridad de Inocuidad de los Alimentos de Irlanda propuso un umbral de concentración interino de 0,1 µg AZA/g de mejillón entero. Se propuso también examinar y, de resultar necesario, revisar este valor a medida que haya disponibles nuevos datos.

7. Intoxicación por ciguatera en pescados (CFP)

Desde hace muchos siglos se conoce la intoxicación por ciguatera en pescados (CFP por sus siglas en inglés). En 1511 Peter Martyr de Anghera informó su aparición en las Antillas Occidentales, Hermansen en 1601 lo hizo para las islas del Océano Índico y De Quiros en 1606 para varios archipiélagos del Océano Pacífico. Las zonas endémicas son fundamentalmente las islas tropicales y subtropicales de los Océanos Pacífico e Índico y las regiones tropicales del Caribe, aunque son también afectadas las zonas continentales de arrecifes (Legrand, 1998). Don Antonio Parra, en el año 1787, en Cuba, llamó ciguatera a la intoxicación resultante de ingerir la “*cigua*”, el nombre español común de un molusco univalvo, *Turbo pica*, conocido como causante de indigestión. De alguna forma, el término “*cigua*”, pasó a designar una intoxicación causada por la ingesta de pescados de arrecifes tropicales (De Fouw *et al.*, 2001). Las toxinas responsables, las ciguatoxinas, se acumulan en la cadena alimentaria, desde los pequeños peces herbívoros que se alimentan en los arrecifes de coral y pasando a los órganos de los grandes peces carnívoros que se alimentan con ellos (Angibaud y Rambaud, 1998; Lehane, 2000).

En el pasado la intoxicación con ciguatera en los seres humanos se ubicaba fundamentalmente en las regiones costeras, a menudo en comunidades indígenas isleñas. Sin embargo, como consecuencia del incremento del comercio, del consumo de frutos de mar y del turismo internacional se han internacionalizado las poblaciones afectadas. Actualmente, la ciguatera es el tipo, a nivel mundial, más común de intoxicación alimentaria causada por frutos de mar, estimándose que mundialmente entre 10 000 a 50 000 personas sufren anualmente de la enfermedad que conforma un problema sanitario global (De Fouw *et al.*, 2001; Lehane, 2000).

No se ha asociado nunca con la ciguatera ningún indicador como la llamada “marea roja”, un fenómeno superficial muy visible, asociado a las intoxicaciones con mariscos. La ausencia de una señal de advertencia ha contribuido al temor a las intoxicaciones con ciguatera (De Fouw *et al.*, 2001).

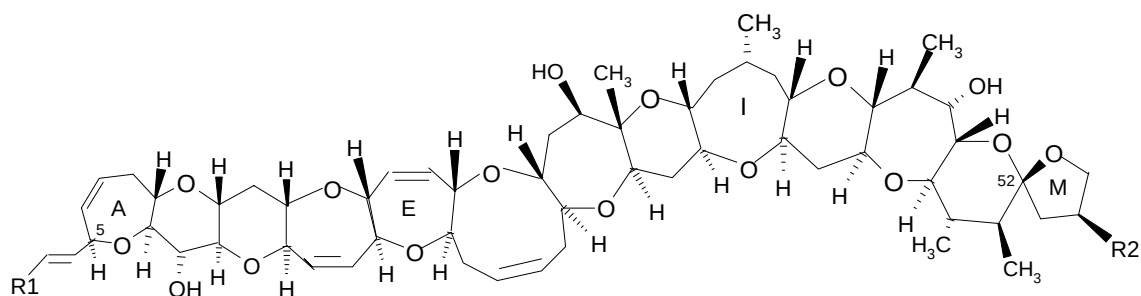
7.1 Estructuras químicas y propiedades de las ciguatoxinas

Las ciguatoxinas son compuestos lipídicos poliéteres solubles formados por 13 a 14 anillos unidos por enlaces éter con una estructura muy rígida del tipo escalera (ver Figura 7.1). Son moléculas relativamente estables al calor que conservan su toxicidad luego de la cocción y de exponerse a condiciones ácidas o básicas suaves. Las ciguatoxinas resultan de la biotransformación en los peces de sus precursoras, las gambiertoxinas (Lehane y Lewis, 2000; Lehane, 2000).

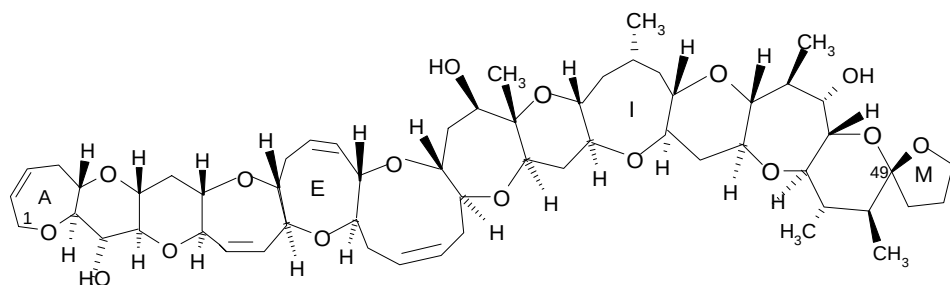
En zonas del Pacífico, la principal y más potente ciguatoxina es la ciguatoxina-1 Pacífico (P-CTX-1, peso mol. 1112). Su posible precursor es la gambiertoxina-4B (GTX-4B). Las principales ciguatoxinas del Pacífico, P-CTX-1, P-CTX-2 y P-CTX-3, se encuentran en los peces en diferentes cantidades relativas (Lehane y Lewis, 2000; Lehane, 2000). Se han determinado las estructuras de más de 20 congéneres de la ciguatoxina. Las modificaciones estructurales, principalmente por oxidación, se observaron principalmente en ambos extremos de las moléculas de toxina (Naoki *et al.*, 2001; Yasumoto *et al.*, 2000). Las ciguatoxinas del Caribe (y las del Océano Índico) difieren de las del Pacífico. La CTX-1 (C-CTX-1) del Caribe es menos polar que la P-CTX-1. En 1998, se determinaron las estructuras de dos ciguatoxinas del Caribe (C-CTX-1 y C-CTX-2). Se han descrito múltiples formas de ciguatoxina, con diferencias moleculares y de patogenicidad menores. La principal es la CTX-1, que se encuentra en peces carnívoros y representa un riesgo para los seres humanos a niveles superiores a 0,1 µg/kg pescado (de Fouw *et al.*, 2001).

En el pasado se ha informado de diferentes especies de pez loro con una toxina denominada escaritoxina, menos polar que la CTX-1. A juzgar por sus propiedades cromatográficas conocidas, la escaritoxina parece corresponder a una mezcla de CTX-4A y de CTX-4B (De Fouw *et al.*, 2001).

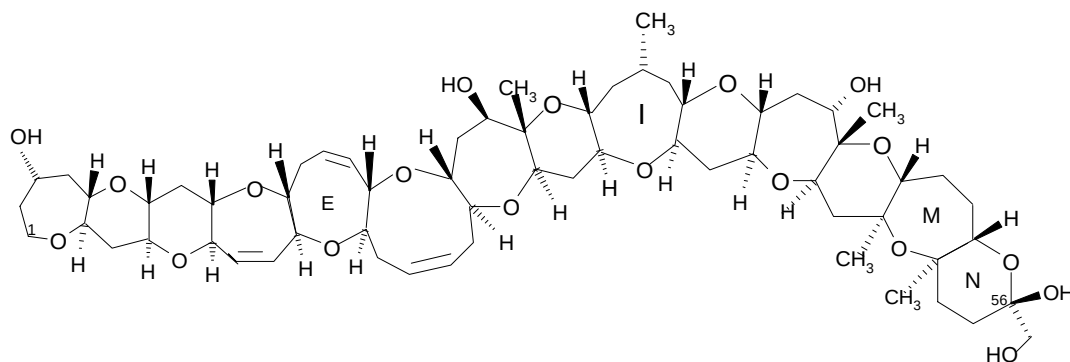
Figura 7.1 Estructura de las ciguatoxinas (CTXs) del Pacífico (P) y del Caribe (C)



	<u>R1</u>	<u>R2</u>
P-CTX-1:	$^1\text{CH}_2\text{OHCHOH}$	OH
P-CTX-3 (P-CTX-2):	$^1\text{CH}_2\text{OHCHOH}$	H
P-CTX-4B (P-CTX-4A):	$^1\text{CH}_2\text{CH}$	H



P-CTX-3C



C-CTX-1 (C-CTX-2)

Entre paréntesis se indican los epímeros energéticamente menos favorables, P-CTX-2 (52-epi P-CTX-3), P-CTX-4A (52-epi P-CTX-4B) y C-CTX-2. Las (56-epi C-CTX-1). 2,3-Dihidroxi P-CTX-3C y 51-hidroxi P-CTX-3C han sido también aisladas de pescados del Pacífico (Lewis, 2001).

7.2 Métodos de análisis

7.2.1 En general

Las ciguatoxinas son inodoras, insípidas y en general no detectables con ninguna prueba sencilla. En consecuencia y tradicionalmente, se han empleado bioensayos para el seguimiento de los pescados sospechosos. Se han examinado y rechazado como no válidas muchas pruebas usadas por los nativos para determinar la toxicidad de los pescados, como la decoloración de monedas de plata o de alambres de cobre o el rechazo de moscas y hormigas (Park, 1994).

Aunque no cuantitativas, las pruebas alimentando gatos o mangostas son simples y relativamente sensibles. Como los ratones no son muy sensibles a la ciguatoxina para los bioensayos es necesario purificar los extractos de pescado. El bioensayo alternativo con mosquitos tiene una buena correlación con las pruebas con gatos y con el bioensayo en ratón. Hay disponibles otros bioensayos con pollos, camarones en salmuera y cobayos. Todos los bioensayos tradicionales tienen como desventaja la falta de especificidad a toxinas individuales. Se han encarado recientemente estudios con métodos químicos para la detección y cuantificación de las toxinas vinculadas a la ciguatera, como la cromatografía en capa fina y la CL. Se han desarrollado ensayos alternativos muy prometedores basados en tecnologías inmunoquímicas que pueden emplearse en los programas de seguimiento de frutos del mar (Park, 1994).

7.2.2 Bioensayos

Todos los bioensayos mencionados tienen en común la falta de especificidad química hacia las toxinas individuales (Juranovic y Park, 1991), aunque tienen la ventaja como estimaciones groseras de indicar intoxicaciones. Los bioensayos son semicuantitativos y sensibles. La ciguatoxina induce señales características de toxicidad aunque el empleo de algunas especies de animales puede resultar problemático por sus costos y dificultades éticas.

ensayos in vivo

bioensayo en ratón

El ensayo en ratones, basado en el método descrito por Banner *et al.* (1960) es en la actualidad el más extensamente empleado para detectar ciguatoxinas en pescados. El método consiste en inyectar por vía i.p. en los ratones (intraperitoneal) extractos tóxicos crudos o semi purificados diluidos serialmente, observando los síntomas durante 24 horas. Yasumoto *et al.* (1984b) detalla la realización del ensayo. Ha sido descrito para detectar ciguatoxinas en hasta 20 mg de extracto etéreo de carne de pescado. La fracción de eterdietílico que contiene la ciguatoxina se suspende en 5 ml de una solución salina 1-5% Tween 60/0.9% y se inyecta intraperitonealmente en ratones de ambos sexos (20 ± 2 g). Los ratones son continuamente observados durante las dos primeras horas y pasadas éstas se realizan inspecciones regulares. Se ensayan dos ratones para cada fracción. Los ratones se mantienen a 23 ± 2 °C y se observan durante siete días, registrándose los síntomas y los tiempos que tardan en morir. Intermitentemente se toma la temperatura rectal. Para cuantificar cada fracción se emplea la relación entre la dosis y el tiempo que les toma morir. La letalidad total se expresa en unidades ratón (UR). Para las mezclas de ciguatoxinas encontradas en los peces carnívoros (Lewis y Sellin, 1992; Lewis *et al.* 1991) esta relación la aproxima $\log UR = 2,3 \log (1 + T^{-1})$, donde UR es el número de unidades ratón de ciguatoxina inyectada y T es el tiempo en horas que tarda en morir (ver también el Cuadro 7.2). Una UR es la dosis LD₅₀ para un ratón de 20 g, equivalente a 5 ng, 48 ng y 18 ng de CTX-1, CTX-2 y CTX-3, respectivamente. (Lewis y Sellin, 1992; Lewis *et al.* 1991). Se recomienda una purificación adicional para separar las diferentes toxinas, especialmente las maitotoxinas (ver Capítulo 7.3.1) de las ciguatoxinas, pues las maitotoxinas inducen efectos en los ratones, que a menudo se confunden como efectos de las ciguatoxinas a pesar de claras diferencias (ver Cuadro 7.2). En consecuencia, se ha informado de procedimientos de extracción modificados que pueden mejorar la separación de estos dos tipos de toxinas (Yokayama *et al.*, 1988; Holmes *et al.*, 1991; Holmes y Lewis, 1994; Legrand *et al.*, 1992).

Aunque el ensayo en ratones ha sido ya empleado tradicionalmente, no sirve como ensayo corriente. Otras dificultades adicionales son las variaciones en el peso de los ratones, que deben limitarse empleando una colonia grande de cría de ratones y la relación no lineal entre el tiempo de muerte y la dosis.

ensayo con pollos

Es un medio rápido para determinar la toxicidad de los hígados de pescado administrando directamente pequeñas porciones de hígado a pollos jóvenes al diez por ciento de su peso corporal. Aunque más difícil, puede también administrarse carne de pescado (Vernoux *et al.*, 1985).

ensayo con mangosta y gato

Se sigue para los ensayos con mangostas (Banner *et al.*, 1960) y con gatos (Lewis, 1987; Bagnis *et al.*, 1985) el mismo procedimiento que con pollos, sólo que se administra carne de pescado en cantidades elevadas (se administró alimento del 5 al 15 por ciento del peso del animal de prueba). El gato es menos adecuado como modelo de prueba, al regurgitar frecuentemente parte de los alimentos usados en el ensayo. Los animales se observan durante 48 horas. Aunque las pruebas son simples y permiten distinguir los pescados tóxicos, resultan engorrosas y no son cuantitativas (Bagnis *et al.*, 1987).

ensayo con camarones en salmuera

Fue este el primer ensayo desarrollado con invertebrados. Sin embargo los efectos tóxicos sobre los camarones en salmuera, de la solución Tween 80 recomendada para emulsificar el extracto, daba falsos positivos no pudiendo detectarse efectos tóxicos atribuibles a la ciguatoxina. (Granade *et al.*, 1976; Hungerford, 1993).

ensayo con mosquitos

Se ha desarrollado también un bioensayo con mosquitos. Quizás debido a las dificultades de obtención y cuidado de los mosquitos, por no estar habituados a su manejo y por la falta de familiaridad con el reconocimiento de las señales características de la intoxicación con ciguatoxinas, son pocos los laboratorios que emplean este ensayo. El procedimiento requiere la inyección intra-torácica en los mosquitos de extractos de pescado diluidos serialmente, expresándose la toxicidad como mosquito LD₅₀. Es un ensayo rápido, basado en una extracción simple que requiere una cantidad pequeña de pescado. El ensayo no es, sin embargo, ni específico ni cuantitativo (Bagnis *et al.*, 1985, 1987).

ensayos con larvas de díptera

El ensayo con larvas de díptera podría sustituir al bioensayo en ratón en ausencia de otros ensayos *in vitro*. Sin embargo, no ha sido aun validado (Labrousse *et al.*, 1992). Para detectar la ciguatoxina en la carne de pescado se emplean larvas de díptera (*Parasarcophaga argyrostoma*). Estas larvas son elegidas por la facilidad de cría y manejo, por su habilidad para consumir espontáneamente cantidades grandes de carne fresca y por su muy alta sensibilidad a la ciguatoxina. Para hacerlas crecer, las larvas se alimentaron con unos 5 g de la muestra a ensayar. Puede observarse a simple vista el crecimiento sobre la carne de las larvas durante la noche. Se pesan pasadas 24 horas. Comparadas con muestras sanas, una pérdida de peso o un pequeño incremento indica el grado de toxicidad de la muestra. El límite de detección para la ciguatoxina expresada como CTX-1 se determinó, o pesando las larvas o por un examen a simple vista, con fluctuaciones de alrededor de 0,15 ng/g carne. Las muestras con más de 1 ng de CTX/g carne (anguila morena) mataban las larvas en tres horas, en tanto que muestras con concentraciones menores inhibían su crecimiento. La lectura a simple vista parece satisfactoria hasta los 0,2 ng de CTX/g, mientras por el método más objetivo de la pesada, resultaba aceptable con valores menores de 0,10 a 0,15 ng CTX/g. El ensayo es muy sensible, simple y barato, aunque sería útil fijar una curva de crecimiento estándar. Otro elemento para mejorar en el ensayo es el tiempo de respuesta. Para pescados tóxicos la respuesta es aceptable, pero se requiere más tiempo con muestras de baja toxicidad (comparable con la respuesta del bioensayo en ratón) (Labrousse y Matile, 1996).

ensayos in vitro

ensayos para ciguatoxinas por enlace con canales de sodio

Las ciguatoxinas se unen a los canales de sodio haciendo que se abran a potenciales de membrana de reposo normales para las células. Esto resulta en un ingreso de iones sodio, en una despolarización de la célula y en la aparición de potenciales de acción espontáneos en células excitables. El ingreso de sodio puede favorecerse agregando toxinas activadoras del canal de sodio mediante un mecanismo alostérico. El ensayo para las ciguatoxinas, de acuerdo con la literatura (Manger *et al.*, 1993, 1994, 1995), aprovecha este fenómeno resultante en un ensayo altamente sensible a las ciguatoxinas y a otras toxinas activadoras del canal de sodio. Este ensayo tiene una sensibilidad 10 000 veces superior para las ciguatoxinas que el bioensayo en ratón.

Legrand y Lotte (1994) informaron de un ensayo para pescado contaminado con ciguatoxinas basado en su capacidad inhibitoria de la unión de la ^3H -brevetoxina a los canales de sodio en las sinaptosomas del cerebro de las ratas.

Los dos ensayos *in vitro* de canal de sodio mencionados tienen una sensibilidad superior al bioensayo en ratón y ofrecen un considerable potencial de sustitución de este ensayo para la detección de ciguatoxinas en extractos de pescado crudo. Sin embargo, actualmente, es improbable que su costo sea viable para uso rutinario en pescados individuales.

bioensayos alternativos

Se han desarrollado varios ensayos como los del ileum del cobayo (Dickey *et al.*, 1982), del atrium del cobayo (Lewis, 1988; Lewis y Endean, 1986), de fibras aisladas de los nervios de sapos (Benoit *et al.*, 1986), con células hemolíticas de seres humanos y de ratones (Escalona De Motta *et al.*, 1986) y el bioensayo que mide la caída en la temperatura del cuerpo de los ratones resultante de inyecciones intraperitoneales con extractos de pescado tóxicos (Gamboa *et al.*, 1990; Sawyer *et al.*, 1984). En el ensayo del atrium del cobayo, el extracto de tejido se emplea para bañar el atrium una vez retirado del animal. Se buscan los efectos inotrópicos característicos de la ciguatoxina (DeFusco *et al.*, 1993).

7.2.3 Ensayos bioquímicos

inmunoensayos

Un ensayo ideal para la detección de toxinas marinas debiera ser simple, de alta sensibilidad y específico. Por ello la evaluación de los ensayos para la detección de toxinas marinas se ha desplazado hacia los análisis inmunológicos (Hokama y Smith, 1990). Se han desarrollado métodos inmunoquímicos como el radioinmunoensayo (RIE) (Hokama *et al.*, 1977), un inmunoensayo enzimático de competencia (IEC) (Hokama *et al.*, 1983, 1984, 1986) y un inmunoensayo enzimático rápido por pegado (Hokama, 1985; Hokama *et al.*, 1985, 1987). Los problemas con estos métodos inmunoquímicos son sus reactividades cruzadas con otros compuestos poliéteres y una limitada provisión de anticuerpos.

La presencia de otra familia de ciguatoxinas en la región del Caribe tiene consecuencias importantes para la detección de los pescados con ciguatera. Los métodos de detección de anticuerpos basados en anticuerpos desarrollados contra fragmentos de P-CTX-1 o de P-CTX-1 (Vernoux y Lewis, 1997) pueden no resultar adecuados para detectar las ciguatoxinas del Caribe

radioinmunoensayo

En 1977, se desarrolló un radioinmunoensayo (RIE) para detectar la ciguatoxina directamente en pescados contaminados (Hokama *et al.*, 1977). En este ensayo, se inyectó en ovejas y conejos, CTX conjugada con albúmina humana del suero para producir anticuerpos. Se empleó en el RIE el anticuerpo a la CTX producido por las ovejas, luego de purificado y de unido ¹²⁵I como marcador. En la práctica, se informó de algunos falsos positivos. Este método no pudo emplearse para analizar grandes cantidades de pescados.

ensayos ELISA

La detección de la CTX mejoró al desarrollar Hokama *et al.* (1983) un inmunoensayo enzimático (EIA, por sus siglas en inglés). El procedimiento incorporaba anti-ciguatoxina de oveja conjugada con peroxidasa y la determinación colorimétrica de la absorbancia resultante de la reacción enzimática. Este ensayo es de eficacia similar a un RIE anterior, aunque más práctico y menos costoso. No obstante, aun resultaba tedioso y fue abandonado como método de detección.

ensayos con palitos

La velocidad de detección mejoró al simplificar Hokama (1985) aun más el procedimiento enzimático cuando incorporando como instrumentos de ensayo, palitos de bambú recubiertos con líquido corrector, con lo que solo era necesario tocar el tejido de pescado con los palitos y, mezclar luego con los reactivos los palitos con tejido adherido. El método permitió la separación exitosa de los pescados tóxicos de los no tóxicos. Eran, sin embargo, necesarios seis ensayos por pescado para una determinación precisa en aquellos pescados con ciguatera próximos a los niveles límite.

El objetivo final, un ensayo rápido, colorimétrico y visual, se logró recubriendo el palito de bambú insertado en la carne de pescado con anti-ciguatoxina de oveja conjugada con peroxidasa de rábano picante. Luego de incubado diez minutos el color del palito se evalúa visualmente, desde el incoloro (no tóxico) a un azulado púrpura intenso (altamente tóxico) (Hokama *et al.*, 1987).

Con posterioridad, Hawaii Chemtect International (Ciguatetect®) desarrolló un inmunoensayo rápido (en 15 minutos) con palitos-enzima empleando un anticuerpo de oveja de la toxina anti ciguatera marcado con peroxidasa de rábano picante para la detección de toxinas de la ciguatera y de toxinas asociadas con intoxicaciones diarreicas con mariscos. El ensayo Ciguatetect® solamente puede usarse como un método general para seleccionar muestras para ser analizadas posteriormente porque la falta de estándares CTX dificulta la determinación de la reactividad cruzada con diversos derivados. Aun no se ha determinado la tasa de falsos positivos (Park, 1995). El ensayo Ciguatetect® fue planificado como un estudio internacional del tipo colaborativo formal de la AOAC. A la fecha, el estudio no se ha realizado aun al no ser los anticuerpos empleados monoclonales, con lo que se cuestionaba su disponibilidad a largo plazo, la calidad necesaria para desarrollos metodológicos de este tipo y su validación. Los coordinadores del estudio están desarrollando nuevas líneas de células hibridoma para la producción de anticuerpos monoclonales de la anti-ciguatoxina (Quilliam, 1998a, 1999).

inmunoensayos con anticuerpos monoclonales

Todos los estudios primarios emplearon un anticuerpo policlonal contra la ciguatoxina producido en ovejas. Un inconveniente de este enfoque resulta en que para la producción de anticuerpos de largo plazo se requiere una provisión continua de antígeno para los refuerzos. Por otra parte, los anticuerpos monoclonales pueden suministrar una provisión continua de un anticuerpo seleccionado. Hokama *et al.* (1985, 1989a) y Hokama (1990) informaron de la producción de anticuerpos monoclonales vinculados con una toxina poliéter, así como con la ciguatoxina (seguramente la CTX-1).

Cuando se incorporó la tecnología de los anticuerpos monoclonales al procedimiento con palitos (Hokama *et al.*, 1989b) se combinaron la rapidez, la facilidad y el uso específico. Con este ensayo, la CTX se conjugó con albúmina de suero humano con carbonimida, y el conjugado inyectado a ratones

BALB/c. Las células empleadas para la fusión, y ya usadas en otros estudios (Hokama *et al.*, 1989a), fueron las designadas como PBX63-Ag8-65B, de mieloma de ratón no sintetizadoras de inmunoglobulina. El inmunoensayo con enzimas en palitos permanece esencialmente igual al modelo original (Hokama *et al.*, 1987), excepto que la peroxidasa de rábano picante fue ahora conjugada con el anticuerpo monoclonal anti-CTX (MAB-CTX). Este método ha sido ampliamente empleado en relevamientos y confirmaciones clínicas.

ensayo con inmunoesferas en fase sólida

En 1990, comenzó a emplearse para la detección directa de la CTX adsorbida en trozos de bambú recubiertas con fluido corrector (Hokama, 1990; Hokama *et al.*, 1993) un ensayo con inmunoesferas en fase sólida (SPIA, por sus siglas en inglés), con esferas de poliestireno coloreadas cubiertas con MAB-CTX. El ensayo de membrana con inmunoesferas (MIA, por sus siglas en inglés) presentado por Hokama *et al.* (1998) está basado en los principios inmunológicos empleados para desarrollar el SPIA. Usa un anticuerpo monoclonal preparado contra anguila morena purificada (MAB-CTX) con el que se recubren esferas coloreadas de poliestireno. Las toxinas de poliéter extraídas de un trozo de pescado se unen con la membrana hidrófoba de polivinilideno sobre un soporte plástico (palillo con membrana) y pueden detectarse por el MAB-CTX con que se recubren las bolitas de poliestireno coloreadas. La intensidad del color en la porción de membrana del palillo está relacionada con la concentración de CTX en los extractos con metanol. En general, la MIA mostró un límite de detección razonable para la CTX (aprox. 0,032 ng CTX/g tejido). Durante el desarrollo de la MIA, se observaron varios factores críticos para obtener resultado exactos y repetibles: i) no debe tocarse la parte de membrana pues, de hacerse puede resultar en falsos positivos; ii) para obtener resultados óptimos el palillo con membrana debe estar embebido en la suspensión de la muestra de pescado/metanol durante al menos 20 minutos; iii) el palillo y el tubo de ensayo deben estar completamente secos antes de agregar al tubo de ensayo la suspensión con inmunoesferas; y iv) no debe embeberse por más de 10 minutos el palillo con membrana en la suspensión de latex con inmunoesferas. La AOAC Internacional en 1999 (Hokama y Ebesu, 2000) sometió el método de Hokama *et al.* (1998) a un estudio colaborativo semi cuantitativo. Los colaboradores en el estudio recibieron muestras de pescado secas, no inoculadas o inoculadas con el extracto estándar de CTX. El estudio está aun en proceso de evaluación por el Comité de Métodos para Toxinas Naturales de la AOAC, aunque una primera evaluación de los resultados indica una sensibilidad (definida como porcentaje de muestras positivas verdaderas (conocidas) que el método encuentra como siendo positivas) y una especificidad (definida como porcentaje de muestras negativas verdaderas (conocidas) que el método encuentra como siendo negativas) de 91 por ciento y 87 por ciento respectivamente.

7.2.4 Análisis químicos

detección cromatográfica

Las ciguatoxinas no poseen un cromóforo útil para una detección espectroscópica selectiva pero si tienen un grupo hidroxilo primario relativamente reactivo, a través del cual (luego de una limpieza adecuada) puede unirse un marcador previo a la detección. La cromatografía líquida de alta presión (CL), junto con los detectores de fluorescencia ofrecen un método muy sensible con el potencial de detectar niveles naturales de ciguatoxinas en extractos crudos de carne de pescado. Dickey *et al.* (1992b) y Yasumoto *et al.* (1993) han informado de resultados prometedores marcando la ciguatoxina con nuevos reactivos fluorescentes basados respectivamente en la cumarina o en el 1-antróilnitrilo fluorescente, previo a la separación por CL y a la detección por fluorescencia. Una alternativa a la detección por fluorescencia de la ciguatoxina en los eluatos de la CL, es una CL acoplada a espectroscopia de masa de ión selectivo. Este enfoque ha demostrado un considerable potencial para la detección de toxinas diarreicas marcadas de mariscos (Pleasant *et al.*, 1992b). Los estudios preliminares con CTX-1 indican que esta aproximación podría servir de base para un ensayo analítico confirmatorio para las ciguatoxinas en pescados (Lewis *et al.*, 1994).

resonancia magnética nuclear /espectrometría de masa

Las técnicas de RMN y/o de EM han sido empleadas para caracterizar las ciguatoxinas presentes en las vísceras de pescado (Murata *et al.*, 1990; Lewis *et al.*, 1991), en la carne (Lewis y Sellin, 1992) y las gambiertoxinas en extractos de *G. toxicus* naturales y de cultivo (Murata *et al.*, 1990; Satake *et al.*, 1993).

Los métodos analíticos actuales usados para caracterizar las ciguatoxinas (NMR y MS) requieren extracciones en gran escala de las ciguatoxinas presentes en bajas concentraciones en pescados altamente tóxicos y no ha sido posible en la mayor parte de los casos la caracterización de las ciguatoxinas presentes a niveles inferiores a 0,1 nmol/kg. Lewis y Jones (1997) describen métodos de gradiente revertido-cromatografía de fase líquida/espectrometría de masa (LC/MS) para identificar las ciguatoxinas acumuladas en pescados. Los análisis se hicieron sobre muestras de 5 µg de anguila morena altamente tóxicas, parcialmente purificadas originarias del Océano Pacífico. Se empleó la P-CTX-1, la toxina más importante en la carne y en las vísceras de los peces carnívoros con ciguatera del Pacífico, como la ciguatoxina de referencia para este estudio. El método parece ser más sensible y selectivo que el bioensayo en ratón, identificando 11 nuevos congéneres del P-CTX en una fracción enriquecida de las vísceras de las anguilas morenas. Aun debe establecerse la potencia y origen de estos congéneres.

espectroscopía de masa

Lewis *et al.* (1999) informan en su trabajo sobre la aplicación de la LC-ESI-MS/MS (ESI= ionización electronebulización, por sus siglas en inglés) con notas muy prácticas sobre la detección y determinación de las ciguatoxinas y el estado del arte de estas técnicas. Pudieron detectarse niveles equivalentes a 40 ng/kg de P-CTX-1 y a 100 ng/kg de C-CTX-1, en carne de pescado. Se analizaron varias muestras tomadas de la vida real.

electroforesis de zona capilar

Se desarrolló un método que aplica la electroforesis de zona capilar (CZE, por sus siglas en inglés) con detección por UV para identificar la maitotoxina (MTX), (ver Capítulo 7.3.1), una toxina asociada con la intoxicación con pescados con ciguatera (Bouaïcha *et al.*, 1997b). Los autores demuestran la aplicabilidad de la CZE para una separación rápida y de alta resolución de la MTX de una solución de un estándar comercial (no puro). Según informan, cantidades tan bajas como 50 pg eran visibles en el electroferograma, por absorción UV a 195 nm. Concluyeron que la CZE es una alternativa prometedora comparada con técnicas existentes como la LC/MS, para determinar MTX en los alimentos, aunque la extracción en fase sólida sería una técnica necesaria para extraer la toxina de los pescados con ciguatera, al estar presente normalmente en cantidades del orden de los ng/kg.

7.3 Organismos fuente, hábitat y distribución

7.3.1 Organismos fuente

El *Gambierdiscus toxicus* es la fuente de dos tipos de toxinas marinas, i.e. las maitotoxinas, solubles en agua (MTXs) y las ciguatoxinas, solubles en grasas. Las MTXs son producidas por todas las cepas de *G. toxicus* examinadas hasta la fecha, produciendo, aparentemente, cada cepa un solo tipo de MTX. Las MTXs se encuentran principalmente en los intestinos de peces herbívoros y no tienen un papel comprobado en la CFP. Por otro lado, las ciguatoxinas las producen solamente algunas cepas de *G. toxicus*, se encuentran en el hígado, músculos, piel y espinas de los peces carnívoros de gran tamaño, y son consideradas como la causa principal de la CFP en los seres humanos (Chinain *et al.*, 1999; Lehane y Lewis, 2000).

A fines de los años 1970 se identificó, el dinoflagelado *Gambierdiscus toxicus* próximo a las Islas Gambier. Este dinoflagelado vive en una asociación epifítica con algas marinas rojas, marrones y verdes, apareciendo también en forma libre en los sedimentos y restos de coral (Hallegraeff *et al.*,

1995). Los peces herbívoros se alimentan de corales muertos y de algas, muy desarrollados en los sistemas de arrecifes tropicales y sub-tropicales; estos peces acumulan y concentran las toxinas producidas por el dinoflagelado. Los peces herbívoros son consumidos por peces carnívoros de gran tamaño. Durante el tránsito por la cadena alimentaria tiene lugar una biotransformación oxidativa de las gambiertoxinas menos oxidadas a las ciguatoxinas más oxidadas y tóxicas (Durborow, 1999; Lehane y Lewis, 2000). En el estómago de los peces herbívoros, se ha apreciado la transformación parcial de las gambiertoxinas en ciguatoxinas. Las toxinas, luego de su acumulación en los herbívoros se transfieren a los peces carnívoros. Se ha demostrado que los peces carnívoros tienen ciguatoxinas pero no gambiertoxinas, lo que indica que cualquier gambiertoxina remanente en la presa herbívora es bio-transformada completamente en los peces carnívoros (Burgess y Shaw, 2001). Se demostró que en la zona de Puerto Rico, el dinoflagelado béntico *Ostreopsis lenticularis* era un vector de la CFP (Tosteson *et al.*, 1998). Se mencionaban, en la literatura, otros dinoflagelados, que pueden tener su papel en la producción de toxinas asociadas con la intoxicación por ciguatera, como *Prorocentrum concavum*, *P. mexicanum*, *P. rhathytum*, *Gymnodinium sangineum* y *Gonyaulax polyedra* (Aseada, 2001).

Las toxinas del Caribe (C-CTXs) y las del Pacífico (P-CTXs) tienen estructuras muy relacionadas, pero distinguibles entre sí por cromatografía, lo que demuestra que las ciguatoxinas del Mar Caribe forman parte de otra familia de ciguatoxinas. La presencia de diferentes familias de toxinas puede ser la causa de las diferencias en los síntomas de las ciguateras de las regiones del Pacífico y del Caribe. Es posible que las ciguatoxinas del Caribe se originen en un pequeño número de toxinas precursoras, similares a la ciguatera del Pacífico donde una gambiertoxina (la GTX-4A) puede dar origen a por lo menos cuatro ciguatoxinas que acumulan los peces. Probablemente diferentes cepas de *G. toxicus* sean capaces de producir diferentes disposiciones de toxina con poliéteres, proponiéndose una cepa caribeña del *G. toxicus* como fuente de la C-CTX-1 y de la -2 (De Fouw *et al.*, 2001).

7.3.2 Condiciones favorables para el crecimiento

La *G. toxicus* es de crecimiento lento y se distribuye alrededor del Trópico entre los 32° N y 32° S. Parece ser más prolífica en aguas poco profundas alejadas de influencias terrestres; la mayor parte de las zonas en las que la ciguatera es endémica, se caracterizan por aguas con salinidad oceánica (De Fouw *et al.*, 2001). La baja salinidad y las intensidades luminosas elevadas afectan negativamente el crecimiento de la *G. toxicus*. Las investigaciones sobre las poblaciones de *G. toxicus* en los Cayos de la Florida demuestran que las profundidades preferidas por la *G. toxicus* se sitúan entre los 1 a 4 m, que crecen mejor con un 11 por ciento del total de luz solar y que su abundancia máxima tiene lugar a temperaturas del agua de unos 30° C (Lehane y Lewis, 2000). La *G. toxicus* habitualmente crece de forma epifítica en las microalgas que colonizan los arrecifes de coral dañados, como la *Turbinaria ornata*, *Amphiroa* spp., *Halimeda opuntia* y *Jania* spp. (De Fouw *et al.*, 2001).

Los estudios ambientales sugirieron que la *G. toxicus* incrementaba su desarrollo en aislamiento (exposición a la luz solar), en presencia de silicatos y óxidos de los suelos linderos y con restos de algas que resultan en el desarrollo de algas de las especies *Turbinaria*, *Jania* y *Amphiroa*. Las densidades poblacionales del *G. toxicus* son desparejas y pueden aumentar o disminuir rápidamente. Estos patrones de crecimiento son presumiblemente responsables de la variabilidad espacial y temporal de los brotes de ciguatera. Sin embargo, se sabe poco de las condiciones ambientales precisas que resultan en un incremento de la producción de gambiertoxinas en la naturaleza (De Fouw *et al.*, 2001). En la zona de Puerto Rico la toxicidad máxima del dinoflagelado béntico *Ostreopsis lenticularis*, fue observada entre octubre y diciembre, precedida por varios meses de exposición (agosto a septiembre) a temperaturas del agua superficial consistentemente elevadas y con una duración promedio de 20 días. La *Spyraenea barracuda* capturada en el área entre octubre y diciembre, presentó una toxicidad máxima a los 24 días siguientes de exposición a temperaturas superficiales del agua elevadas durante los meses precedentes (agosto a octubre). Varios factores pueden ser responsables de la correlación entre una mayor temperatura de las aguas de mar superficiales y la ciguatoxicidad en los pescados. Es de esperar que cambios de dos o tres grados en la

temperatura ambiente produzcan respuestas marcadas en las velocidades de respiración y metabólicas, en la circulación de las hormonas y en la actividad predatoria de una variedad de pescados (Tosteson *et al.*, 1998).

Desde febrero de 1993 a diciembre de 1997, se monitorearon semanalmente las densidades de población del *Gambierdiscus* spp. en la zona de Papara en la Polinesia Francesa para analizar la influencia de la temperatura y de la salinidad. Se registraron un total de 58 floraciones, con un 65 por ciento sólo en 1995 y 1996. Se encontraron estacionalidades de febrero de 1993 a mayo de 1995 en las densidades de las células. En este periodo las poblaciones de *Gambierdiscus* spp. tendían a alcanzar su abundancia máxima al comienzo y al final de la estación caliente. Por el contrario, la salinidad no resultó ser un factor determinante en la abundancia estacional de este dinoflagelado. El notable incremento registrado posteriormente en 1995 y 1996, tanto para las densidades pico como en la frecuencia de las floraciones, fue precedido por temperaturas del agua inusualmente calientes entre enero y abril de 1994, concomitantemente con un grave episodio de blanqueo de corales. Las determinaciones de toxicidad señalaron un máximo de producción de toxina desde octubre de 1994 a diciembre de 1996, no encontrándose correlación entre la toxicidad de las floraciones y su biomasa, ni con la distribución estacional de las temperaturas (Chinain *et al.*, 1999).

Según Lehane (2000), la presencia del *G. toxicus* resulta impredecible y su abundancia no refleja necesariamente su potencial de producción de gambiertoxinas. Algunas investigaciones indican que ciertas bacterias se encuentran en asociación simbiótica con los dinoflagelados y que juegan un papel en la elaboración de toxinas por parte de los dinoflagelados en simbiosis. Se sugirió que las bacterias pueden producir nutrientes que son asimilados por los dinoflagelados y resultan necesarios para producir toxinas. Otra sugerencia fue que las bacterias sintetizan toxinas que son luego fagocitadas por los dinoflagelados (Lehane, 2000).

En las últimas décadas, se han ido acumulando evidencias de que los desarrollos turísticos y militares que perturban los arrecifes incrementan el riesgo de aparición de ciguatera al aumentar el sustrato béntico para el crecimiento de los dinoflagelados (Hallegraeff *et al.*, 1995). Aunque no parece haber variaciones estacionales en las intoxicaciones por ciguatera, según algunos autores, la frecuencia de las capturas de barracudas contaminadas con ciguatera, varía estacionalmente, con valores pico (60 a 70 por ciento de pescados tóxicos) a fines del invierno e inicios de la primavera (enero a mayo) y en otoño (agosto a noviembre). En verano (junio y julio) y en diciembre se observaron frecuencias mínimas (0 a 10 por ciento de pescados tóxicos). Las variaciones estacionales en la toxicidad de las barracudas debidas a las ciguatoxinas pueden ser reflejo de la variabilidad de la toxicidad de sus presas inmediatas, así como de la capacidad de su sistema de detoxificación (al mecanismo de detoxificación lo inhiben las hormonas producidas en el ciclo reproductivo y las temperaturas reducidas) (De Fouw *et al.*, 2001).

7.3.3 Hábitat

La *G. toxicus* está distribuida alrededor de los trópicos entre 32° N y 32° S y consecuentemente la ciguatera está mayormente confinada a regiones discretas de los Océanos Pacífico e Indico occidental y del Mar Caribe (Lewis, 2001).

7.4 Presencia y acumulación en frutos del mar

7.4.1 Incorporación y eliminación de las toxinas CFP en los organismos acuáticos

Se determinó la incorporación y distribución de las ciguatoxinas en los pescados capturados en la isla de St. Barthelemy (Caribe francés), entre 1980 y 1983. Se analizaron los lípidos extraídos de varias partes de estos pescados mediante bioensayos en ratón. Las especies de peces pertenecían a las familias de las *Muraenidae*, *Serranidae*, *Scombridae*, *Carangidae* y *Sphyraedinae*. La concentración de ciguatoxinas era más elevada en las vísceras, en particular en el hígado, bazo y riñones y más baja

en las espinas. Las relaciones entre la concentración de toxina en el hígado o en las vísceras con la de la carne eran elevadas y variaban con la especie, sugiriendo que la toxina se distribuye de manera diferente en diferentes pescados. El hecho que órganos muy vascularizados como el hígado, bazo y riñón retenían la mayor concentración de ciguatoxina por unidad de peso sugiere que la sangre tiene un papel en la distribución de la ciguatoxina a otros tejidos (De Fouw *et al.*, 2001; Pottier *et al.*, 2001).

La ciguatoxina se concentra cada vez más al desplazarse en la cadena alimentaria y su nivel es de hasta 50 a 100 veces más concentrado en las vísceras, hígado y gónadas de los peces afectados que en otros tejidos. Se desconoce porque los peces son asintomáticos luego de ingerir la toxina y el tiempo por el que pueden permanecer tóxicos los afectados (De Fouw *et al.*, 2001).

Se caracterizaron las toxinas en los tejidos del herbívoro *Ctenochaetus striatus* recogidos en la Gran Barrera de Arrecifes con bioensayos en ratón y cromatografía. Se recogieron los bio detritus (sobre un césped de algas) con las que se alimentan los peces y se compararon las toxinas presentes con las encontradas en el *C. striatus*. Resultó que los niveles de gambiertoxinas que penetran los peces eran típicamente más elevados que los niveles encontrados posteriormente en el hígado. En consecuencia, las gambiertoxinas y los productos biológicamente transformados (ciguatoxinas) no aparecen como acumulándose de manera simple y aditiva, sugiriendo que la depuración de las ciguatoxinas y/o de las gambiertoxinas puede resultar significativa en el *C. striatus* (De Fouw *et al.*, 2001).

7.4.2 Peces con ciguatoxinas

La ciguatera engloba mundialmente muchas especies y familias de peces de arrecife. Se incluyen entre estas el herbívoro *Acanthuridae* y el coralívoro *Scaridae* (pez loro), considerados vectores clave en la transferencia de ciguatoxinas a los peces carnívoros. Muchas más especies de peces carnívoros causan ciguatera, incluyendo las *Muraenidae* (anguila morena) y las *Lutjanidae* (pargos) comunes en el Pacífico, las *Serranidae* (meros) con la trucha de coral de la Gran Barrera de Arrecifes, las *Epinephelidae*, *Lethrinidae*, *Scombridae* (caballa), las *Carrangidae* (jurel) y las *Sphyrnidae* (barracudas). Las dos últimas familias son un problema particular en el Caribe (Crump *et al.*, 1999b; Lewis, 2001). Se ha informado en la literatura de más de 400 especies de peces óseos como causantes de intoxicación con ciguatera. Los carnívoros de mayor tamaño son los más tóxicos, como las anguilas morenas, los pargos, meros, carite atlánticos, emperadores, algunos atunes costeros y las barracudas (IPCS, 1984).

A lo largo de la costa suroeste de Puerto Rico, las barracudas capturadas participan en las intoxicaciones con ciguatera. Se estudió la toxicidad de componentes de la cabeza, vísceras y tejidos de carne de 219 barracudas (528 muestras de tejidos) en el periodo de marzo de 1985 a mayo de 1987. Veintinueve por ciento de estos pescados dieron preparaciones tóxicas en por lo menos uno de los componentes de los tejidos (De Fouw *et al.*, 2001).

En los Estados Unidos continentales, el mero, pargo colorado, el jurel y la barracuda son las especies de peces más comúnmente asociadas con la intoxicación con ciguatera (De Fouw *et al.*, 2001). En la Florida, en la mayoría de los casos, la gran barracuda ha estado involucrada en intoxicaciones con ciguatera entre 1954 y 1992. Además de la barracuda, otras especies sobre las que comúnmente hay informes son el pargo, jurel, *Lachnolaimus maximus* y mero (De Fouw *et al.*, 2001).

En Hawaii, las especies más comúnmente asociadas con la toxina de la ciguatera son el jurel, el pargo negro y el navajón (De Fouw *et al.*, 2001). En el archipiélago de las Mascareñas han sido identificadas, 34 especies de peces involucradas en intoxicaciones con ciguatera. Los predadores de gran tamaño como el mero (*Serranidae* 53 por ciento, *Carangidae* 10 por ciento, *Lethrinidae* 15 por ciento) son los más vinculados con las CFP. La mayor parte de los pescados fueron capturados sobre bancos de coral situados al norte de Mauricio (De Fouw *et al.*, 2001).

El Cuadro 7.1 incluye una lista incompleta de las especies de peces asociadas con ciguatera. Un listado completo resultaría casi imposible pues en algunas zonas cientos de especies de peces pueden estar involucradas en CFP.

Las CTX-1, CTX-2 y la CTX-3 son las ciguatoxinas más importantes (determinadas por CL/EM y bioensayos en ratones) presentes en la carne de los pescados con ciguatera (*Scomberomorus commersoni*, *Plectropomus* spp. y *Pomadasys maculatus*) capturados en las costas australianas. Se identificaron también dos toxinas menores, que pueden ser análogos más oxidados de la CTX-1 y de la CTX-2 (De Fouw *et al.*, 2001).

Cuadro 7.1 Ejemplos de peces asociados con la ciguatera

Especies	Distribución
<i>Acanthurus linearis</i>	Indico-Pacífico
<i>Albula vulpes</i>	Globalmente en mares cálidos
<i>Balistes carolinensis</i>	Atlántico, Golfo de México
<i>Calamus calamus</i>	Atlántico occidental
<i>Caranx latus</i>	Atlántico
<i>Carcharinus longimanus</i>	Globalmente
<i>Cheilinus undulatus</i>	Indico-Pacífico
<i>Chlorurus gibbus</i>	Indico-Pacífico
<i>Epinephelus morio</i>	Atlántico occidental
<i>Gymnothorax javanicus</i>	Indico-Pacífico
<i>Lachnolaimus maximus</i>	Atlántico occidental
<i>Lutjanus campechanus</i> - <i>Megalops atlanticus</i>	Atlántico occidental, Golfo de México
<i>Mugil capurri</i>	Atlántico oriental
<i>Ocyurus chrysurus</i>	Atlántico centro oriental
<i>Plectropomus maculatus</i>	Atlántico occidental
<i>Sparus coeruleus</i>	Pacífico occidental
<i>Scomberomorus maculatus</i>	Atlántico occidental
<i>Seriola fasciata</i>	Atlántico occidental
<i>Sphyræna barracuda</i>	Atlántico occidental
<i>Symphorus nematophorus</i>	Indico-Pacífico, Atlántico occidental
<i>Xiphias gladius</i>	Pacífico occidental
	Atlántico, Indico-Pacífico, Mediterráneo

Fuente: Farstad y Chow, 2001

7.4.3 Otros organismos acuáticos con ciguatoxinas

Aunque la gran mayoría de las intoxicaciones causadas por peces con ciguatera se observan luego de la ingesta de peces carnívoros, se sospecha que otras especies marinas tienen responsabilidad en la intoxicación de los seres humanos. En particular, se encontró la ciguatoxina en las vísceras de un caracol marino, *Turbo argyrostoma*. Este caracol ha causado intoxicaciones del tipo de la ciguatera en seres humanos (IPCS, 1984).

Los invertebrados (camarones y cangrejos pequeños) pueden ser también vectores en la transferencia de las gambiertoxinas a los peces carnívoros. Esta sugerencia está basada en un estudio con el *Pomadasys maculatus*, frecuentemente contaminado con ciguatera que se alimenta predominantemente con camarones y cangrejos pequeños en Platypus Bay, Queensland. Sólo los camarones tenían niveles detectables de toxinas del tipo de las ciguatoxinas (detectadas con

bioensayos en ratón). No se ha aun determinado si los camarones son capaces de bio-transformar las gambiertoxinas en ciguatoxinas o si sólo los peces son capaces de hacerlo (De Fouw *et al.*, 2001).

Los camarones *Alpheidae* parecen ser un vector importante en Platypus Bay, Fraser Island, Queensland (Australia), para la transferencia de las ciguatoxinas a los pequeños carnívoros *Pomadasys maculatus*. El *P. maculatus* probablemente pasa estas toxinas a la caballa (*Scomberomerus commersoni*) de gran tamaño, frecuente en esta zona. Considerando la diversidad de presas disponibles para las familias de carnívoros, parece probable que en el futuro se identificarán más vectores herbívoros de las ciguatoxinas (Lewis, 2001)

7.5 Toxicidad de las toxinas CFP

7.5.1 Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de las ciguatoxinas está vinculado con su efecto directo sobre las membranas excitables. Estas membranas resultan críticas para la función de los nervios y músculos, principalmente por su habilidad de generar y propagar potenciales de acción. Las ciguatoxinas se caracterizan por su afinidad para unirse a los canales de sodio sensibles a los voltajes, que los abren a potenciales de membrana normales para células en reposo. Esto resulta en un ingreso de iones Na^+ , en una despolarización de la célula y en la aparición de potenciales de acción espontáneos en las células excitables. Una consecuencia de la permeabilidad incrementada al Na^+ , es que la membrana de plasma no es capaz de mantener el ambiente interno de las células y el control del volumen. Esto resulta en una alteración de los mecanismos bioenergéticos, en un hinchamiento de las células y mitocondrios y en la formación de ampollas sobre las superficies celulares. La ciguatoxina actúa sobre el mismo sitio receptor (sitio 5) del canal de Na^+ , como la brevetoxina, pero la afinidad de la CTX-1 por los canales de Na^+ dependientes del voltaje, era unas 30 veces superior que la de la brevetoxina, mientras que la CTX-4B tenía casi la misma afinidad que la brevetoxina. Se demostró que la CTX-1 y la CTX-4B inhibían competitivamente el enlace de la brevetoxina al canal de Na^+ dependiente del voltaje de las membranas de ratas. La ciguatoxina ejercía una disminución significativa de la velocidad de conducción del nervio y una prolongación de los periodos refractarios absolutos y super normales indicando una apertura anormalmente prolongada del canal de Na^+ en las membranas de los nervios (Lehane y Lewis, 2000 y De Fouw *et al.*, 2001).

Se pensó que los efectos cardiovasculares de las ciguatoxinas resultaban de un efecto inotrópico positivo sobre el miocardio. Cuando la ciguatoxina afecta canales dependientes del voltaje, causando que el Na^+ se mueva intracelularmente, los mecanismos celulares normales comienzan a extrudar sodio y a tomar calcio. El calcio es el gatillo intracelular para la contracción de los músculos. Aunque buena parte del calcio adicional está tamponado por el retículo sarcoplasmático es posible que las concentraciones de calcio localmente incrementadas, aumenten la fuerza de contracción del músculo cardiaco tal como se observa en la intoxicación con ciguatoxina.

Un mecanismo similar de transporte intracelular de calcio, inducido por la ciguatoxina tiene lugar en las células epiteliales del intestino. La concentración de calcio intracelular incrementada causada por la ciguatoxina actúa como un segundo mensajero en la célula, al distorsionar sistemas importantes de intercambio iónico. Esto resulta en secreción de fluidos, que se manifiesta como diarrea (Lehane y Lewis, 2000).

7.5.2 Otras toxinas que actúan en la intoxicación con ciguatera

La *G. toxicus* también produce las maitotoxinas que resultan, por vía intraperitoneal, más tóxicas que la ciguatoxina. Sin embargo, las maitotoxinas son aproximadamente 100 veces menos potentes por vía oral comparada con la intraperitoneal, en tanto que las ciguatoxinas tienen igual potencia (De Fouw *et al.*, 2001).

Mientras que las ciguatoxinas actúan en los canales Na^+ en nervios y músculos, la maitotoxina estimula el movimiento de los iones Ca^{2+} a través de las biomembranas, siendo un activador potente de cambios en las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} en las células de una amplia variedad de organismos. Como consecuencia de un aporte de Ca^{2+} , las maitotoxinas pueden producir varios efectos: secreción de hormonas y de neurotransmisores; rotura de los fosfoinosítidos y activación de los canales Ca^{2+} , debido a despolarización de las membranas. No se ha identificado ningún bloqueador específico para este canal inducido por la maitotoxina. Sin embargo permanece aun indefinido el objetivo primario de las MTXs. Se ha insistido que estas toxinas no tienen actividad ionofórica. Entre los productos naturales, las maitotoxinas poseen el mayor peso molecular (3422 Da) comparadas con cualquier otro conocido, aparte de biopolímeros como proteínas o polisacáridos. Los estudios de mecánica molecular sugirieron que más que una acumulación plana de anillos unidos, la molécula podría representar un “alambre” molecular (Escobar *et al.*, 1998). Las maitotoxinas se acumulan también en las vísceras de los peces herbívoros, pero obviamente no lo hacen en dosis lo suficientemente elevadas en los peces carnívoros como para causar problemas a los seres humanos al consumirlos. Si las maitotoxinas estuvieran involucradas en CFP, serían de esperar diferencias cualitativas en la sintomatología, teniendo en cuenta que la farmacología de las maitotoxinas es muy diferente de la de las ciguatoxinas (Lewis, 2001).

Se ha informado que diversas especies de pez loro contienen una toxina menos polar que la CTX-1, llamada escaritoxina. A juzgar por sus propiedades cromatográficas, la escaritoxina parece corresponder a una mezcla de CTX-4A y CTX-4B. La intoxicación con escaritoxina no está bien descrita. El nombre surge del pez venenoso *Scarus gibus*. Las intoxicaciones tienen dos fases de síntomas, el primer conjunto recuerda una típica intoxicación con ciguatera, el otro, que se desarrolla entre cinco y diez días se caracteriza por fallas de equilibrio y una marcada ataxia locomotora (De Fouw *et al.*, 2001).

7.5.3 Farmacocinética

Las ciguatoxinas son solubles en grasas con una absorción rápida y sustancial por los intestinos, aunque pueden presentarse vómitos y diarreas prematuras al expelerse algunas dioxinas antes que puedan absorberse. Parece que las ciguatoxinas pueden penetrar la piel y las membranas mucosas pues la limpieza de los pescados con ciguatera puede ocasionar cosquilleos en las manos y su ingesta causar alteraciones sensoriales en la cavidad bucal y disfagia. Estas propiedades las tienen también las brevetoxinas vinculadas con ellas. Las ciguatoxinas son arrastradas en la sangre unidas a la albúmina del suero humano y se ha informado de niveles moderados (no especificados) de ciguatoxina en el suero de un paciente 22 semanas después de consumir pescado con ciguatoxinas. Las ciguatoxinas se transmiten también por la leche materna, pudiendo atravesar la placenta y afectar al feto (Lehane and Lewis, 2000).

Se ha descrito la transmisión sexual de la ciguatera de la mujer al hombre (dolor de pene luego del acto sexual) y viceversa (dolores pélvicos y abdominales luego del acto sexual) (De Fouw *et al.*, 2001).

La disuria, o micción con dolores, sugiere que las ciguatoxinas son excretadas al menos parcialmente y posiblemente sin modificaciones por la orina. Sin embargo, esta excreción puede ser ni rápida ni completa en razón de los niveles de suero 22 semanas después de la intoxicación. Como las ciguatoxinas se acumulan en el organismo, pueden de tanto en tanto, reactivar síntomas clínicos. Las ciguatoxinas almacenadas en los tejidos adiposos no son probablemente un problema a menos que se rompa rápidamente el tejido como sucede, por ejemplo, cuando al perder peso en corto tiempo (Lehane y Lewis, 2000). Se supone que las ciguatoxinas y las brevetoxinas tienen comportamientos farmacocinéticos similares en razón de su semejanza estructural. Esto implica, tal como se demostró para las brevetoxinas, que la ruta principal es la biliar/fecal para la eliminación de las ciguatoxinas (Lehane y Lewis, 2000).

7.5.4 Toxicidad en animales de laboratorio

toxicidad aguda

Se realizó un estudio en ratones macho para determinar el origen de las secreciones acuosas y del tipo de diarrea observado en las intoxicaciones con ciguatera. Se extrajo ciguatoxina semi-pura (85.7 por ciento) de las vísceras de la anguila morena. Las cantidades de CTX se expresan en UR (unidades ratón). La UR, se define como la cantidad de CTX necesaria para matar un ratón de 15 g en 24 horas, que corresponde a 7 ng de CTX pura. Esta definición difiere de la que sigue y de aquella del Cuadro 7.2. Se comparó con las diarreas causadas por la toxina del cólera para estimar la potencia de la CTX responsable de diarreas. La CTX fue administrada por un tubo gástrico y por vía intraperitoneal en dosis diferentes. Se observaron al microscopio la diarrea y las influencias morfológicas causadas por la CTX en los tractos digestivos. Los resultados del estudio revelaron que:

- La diarrea tenía lugar por tratamiento intraperitoneal pero no por tratamiento *per os*. Es probable que la CTX administrada oralmente fuera absorbida y metabolizada de una manera ligeramente diferente que la incorporada intraperitonealmente, y que en consecuencia, no ocasionó diarrea.
- El rango de dosis efectivo para causar diarreas era de 0,14 a 1 UR.
- La diarrea fue probablemente resultado de una hipersecreción de mucus en el colon y de una excreción acelerada en el recto, de manera que sólo resultó afectada la porción inferior del intestino.
- La diarrea se detuvo dentro de la hora, pero la secreción de mucus fue estimulada aun pasadas 24 horas, acompañada por un aumento anormal de la cantidad de células del cáliz.
- El tipo de diarrea fue similar al observado en la coleratoxicosis. Se sugirió que la potencia de la CTX de causar diarreas era de unas 1 300 a 8 500 veces superior que la de la toxina del cólera (De Fouw *et al.*, 2001).

En los ratones, los síntomas están bien definidos y la hipotermia es una respuesta característica. Se desconoce, sin embargo, si la ciguatoxina tiene efectos directos sobre el sistema nervioso central y cuales pueden ser sus blancos cerebrales. Se investigó en ratones ICR hembra la acción de la ciguatoxina administrada intraperitonealmente (0,5 UR) (1 UR = LD₅₀ dosis para un ratón de 20 g) aislada de la cepa caribeña *G. toxicus* MQ2, para identificar blancos discretos de la ciguatoxina sobre el sistema nervioso central. Se utilizó *c-fos* como marcador de neuroexcitabilidad. Se investigó el efecto de la CTX sobre el *c-fos* mRNA para establecer un curso de acción en el cerebro y su efecto sobre el producto de traslación *c-fos* para identificar caminos neuronales específicos activados por esta toxina. Se notó una pronunciada disminución de la temperatura corporal luego de 10 a 20 minutos de administrada. La ciguatoxina provoca una inducción rápida del *c-fos* mRNA en el cerebro que se corresponde con la baja de la temperatura del cuerpo. Los blancos primarios de la CTX parecerían ser el hipotálamo y el pedúnculo cerebral. Los resultados indican que la CTX tiene acciones neuroexcitativas sobre regiones del pedúnculo cerebral que reciben aferentes vagales y caminos ascendentes asociados a respuestas viscerales y termoregulatorias (De Fouw *et al.*, 2001).

Cuadro 7.2 ⁽¹⁾ Efectos de las ciguatoxinas (CTXs), gambiertoxinas (GTXs) y maitotoxinas (MTXs) administradas intraperitonealmente (i.p.) en ratones de (18-) 20 g

Toxina	ip. LD ₅₀ (µg/kg pc)	UR ⁽²⁾ (ng)	Signos de intoxicación	Min. / max. Tiempo para la muerte ⁽³⁾
P-CTX-1	0,25	5	hipotermia por debajo de 33°C, piloerección, diarea, lacrimación, hipersalivación, disnea, comportamiento oscilante en posición levantada, jadeo, convulsiones terminales con arqueo de la cola, muerte por falla respiratoria	37 min./≈ 24 h
CTX-1B	0,33			tiempo medio de supervivencia 10-20h ⁶
P-CTX-2	2,3	9	como para la P-CTX-1, más parálisis progresiva de los miembros posteriores	53 min./ ≈100 h
CTX-2A2	1,9			tiempo medio de supervivencia 10-20 h ⁶
CTX-2A1	3,5			tiempo medio de supervivencia 3,5-4,5 h ⁶
P-CTX-3	0,9	18	como para la P-CTX-1, más parálisis progresiva de los miembros posteriores	60 min./ ≈ 26 h
CTX-3C	2,5			tiempo medio de supervivencia 10-20 h ⁶
GTX-3C	1,3	26		
CTX-4B	10			tiempo medio de supervivencia 3,5-4,5 h ⁶
GTX-4B	4,0	80	como para la P-CTX-1, más parálisis progresiva de los miembros posteriores	
MTX-1 ⁽⁴⁾	0,05	1	hipotermia, piloerección, disnea, parálisis progresiva de los miembros traseros extendiéndose a los delanteros, jadeo moderado, convulsiones moderadas que preceden a la muerte > 30 segundos	72 min./≈ 72 h
MTX-2 ⁽⁴⁾	0,08	1,6	como para la MTX-1	41 min./≈72 h
MTX-3 ⁽⁴⁾	≈ 0,1	≈ 2	como para la MTX-1	72 min./≈ 72 h
C-CTX-1 ⁽⁵⁾	3,6			
C-CTX-2 ⁽⁷⁾	1			

⁽¹⁾ Hallegraeff *et al.* (1995).

⁽²⁾ La unidad ratón es 1/50 x LD₅₀ (~1 UR es la dosis LD₅₀ para un ratón de 20 g) (Lewis y Sellin, 1992)

⁽³⁾ Tiempo mínimo estimado para la muerte; tiempo máximo estimado para la muerte resultante de efectos de dosis próximas a la dosis LD₅₀ (De Fouw *et al.*, 2001).

⁽⁴⁾ De *Gambierdiscus toxicus* pero es improbable que acumule en la carne de los pescados a niveles tóxicos para los seres humanos por la ruta oral. Las MTXs pueden inducir ligeras secreciones acuosas anales, pero no causan diarrea.

⁽⁵⁾ Fouw *et al.* (2001).

⁽⁶⁾ Dechraoui *et al.* (1999).

⁽⁷⁾ Lehane y Lewis (2000).

Del Cuadro 7.2, resulta que luego de una inyección i.p., las maitotoxinas son más letales que las ciguatoxinas en ratones Sin embargo, las maitotoxinas son unas 100 veces menos tóxicas por vía oral que por vía i.p. (Lehane y Lewis, 2000).

Se administró ciguatoxina o ciguatoxina-4c a ratones ICR macho (con dosis de 0,7 µg/kg de peso corporal) por vía oral o por ruta intraperitoneal. La ciguatoxina-4c no fue especificada. Se examinaron cambios histopatológicos y ultra estructurales de varios órganos y los efectos modificadores de varios antagonistas sobre la permeabilidad de membrana de sodio. Parecía que los órganos blanco eran el corazón, la médula de las glándulas adrenales, los nervios autónomos y el pene. No había diferencias en las señales clínicas o en los cambios histopatológicos en los ratones receptores de ciguatoxina o de ciguatoxina-4c. Resultaban característicos los cambios ultra estructurales en el corazón siguientes a la administración. Eran prominentes edemas nítidos entre miofrillas y otros organelos. Resulta interesante que no tenían efecto sobre lesiones cardíacas los antagonistas a los autonervios colinérgicos y adrenérgicos empleados en esta experiencia. Por lo tanto, el efecto de la ciguatoxina sobre el músculo cardíaco puede basarse en su actividad directa sobre éstos. A pesar de la diarrea severa, no había cambios morfológicos en la capa mucosa del intestino delgado, aunque el sistema de nervios autónomo en las capas musculares del intestino delgado era sensible a las toxinas. El tratamiento previo con atropina evitaba la diarrea causada por las toxinas y se sugirió, en consecuencia, que ésta era inducida probablemente por un accionar directo de estas toxinas sobre el sistema autónomo del intestino delgado. No se observaron cambios en la capa cortical de las glándulas adrenales pero si era notoria una degeneración de la médula de éstas glándulas. Aun después de muertos podían observarse los penes erectos de los ratones tratados. Se desconoce el mecanismo preciso, pero pueden jugar un papel las terminaciones autónomas de los cuerpos cavernosos y la formación de trombosis en los mismos por efecto directo o indirecto de las toxinas. (De Fouw *et al.*, 2001).

Se examinó la respuesta morfológica del corazón del ratón luego de una exposición a dosis bajas (0,1 µg/kg de peso corporal) y repetidas (15 días) a la ciguatoxina o a la ciguatoxina-4c administradas oral e intraperitonealmente. Se investigaron además, para ambas rutas de exposición y para las dos toxinas, los cambios secuenciales de las lesiones cardíacas luego de hasta 14 meses de con dosis bajas repetidas o luego de una única dosis elevada (0,7 µg/kg peso corporal). Una única dosis de 0,1 µg/kg peso corporal resultó en cambios morfológicos no discernibles en los corazones de los ratones, frente a los cambios morfológicos severos resultantes de de una administración repetida, como la marcada hinchazón de las células de miocardio y endoteliales que recubren los vasos capilares. Los efectos observados luego de una exposición repetida resultan similares a los que se observan luego de administrada una única dosis elevada. La marcada hinchazón de las células de recubrimiento del endotelio probablemente cause alteraciones serias de la permeabilidad, que pueden resultar en migraciones de plasma de las células endoteliales degeneradas al espacio intersticial. Los miocitos y los capilares parecían normales dentro del mes siguiente a la administración. La efusión en los espacios intersticiales resultó en paquetes densos de colágeno, persistentes durante 14 meses. Los resultados indican que la ciguatoxina y la ciguatoxina-4c tienen un efecto acumulativo sobre el tejido cardíaco. Esto quiere decir que si hay exposiciones repetidas a dosis bajas de pescados con ciguatera, aun la ingesta de pescados ligeramente contaminados con ciguatoxina puede tener su papel en el desarrollo de enfermedades cardíacas (De Fouw *et al.*, 2001).

Administración repetida

No hay información

reproducción/teratogenicidad

No hay información

mutagenicidad

No hay información

estudios in vitro

Se experimentó sobre nodos de Ranvier de fibras de nervios de mielina aislados del nervio ciático de sapos adultos. Se extrajo y se purificó muy bien la CTX-1b, la principal toxina involucrada en las intoxicaciones con ciguatera en pescados, de las vísceras y del hígado de la anguila morena. Los autores no explicaron porque definieron la toxina como CTX-1b. La CTX-1b provocó hinchazón en los nodos de Ranvier. La hinchazón fue evitada mediante la tetrodotoxina, bloqueador del canal de Na^+ , lo que indica que se originó por la entrada de Na^+ a través de canales de Na^+ dependientes del voltaje. El D-mannitol causó la contracción de los nodos de Ranvier previamente hinchados por la CTX-1b. La CTX-1b indujo potenciales de acción espontáneos y causó una activación persistente de una fracción de corriente de Na^+ , el D-manitol suprimió estos potenciales de acción espontáneos. (De Fouw *et al.*, 2001).

Los resultados de un estudio con ciguatoxina en las atria de cobayos y en los músculos papilares sugirieron que los efectos tóxicos de la ciguatoxina surgen de su acción directa sobre la apertura de los canales de Na^+ del miocardio. Las extrasístoles se desarrollaron en los atria y en los músculos papilares luego de 45 minutos de agregada la ciguatoxina ($> 0.15 \text{ UR/ml}$) y parecían resultar sobre todo por su efecto sobre los canales neurales de Na^+ causando una mayor liberación de noradrenalina de los nervios asociados con el miocardio. Los músculos papilares eran menos sensibles a los efectos tóxicos de la ciguatoxina que los del atrium. Esto correspondía a una diferencia de 10 veces en su sensibilidad a dosis inotrópicas positivas de ciguatoxina (De Fouw *et al.*, 2001).

7.5.5 Toxicidad en seres humanos

síntomas clínicos

En intoxicaciones severas La aparición de los primeros síntomas puede ocurrir en menos de 30 minutos de consumidos los pescados contaminados con ciguatoxina, demorando, para casos más benignos hasta 24, y ocasionalmente 48 horas. Los primeros síntomas pueden ser de naturaleza gastrointestinal o neurológica (por ej. cosquilleo circunmoral). Los síntomas gastrointestinales duran habitualmente solo unos pocos días, mientras que algunos síntomas neurológicos pueden desarrollarse en varios días. Los síntomas de la ciguatera persisten habitualmente de varias semanas a varios meses. En un pequeño porcentaje de casos (menos del 5 por ciento), algunos síntomas pueden persistir por varios años.

Se han informado combinaciones de unas pocas a más de 30 perturbaciones gastrointestinales, y/o neurológicas generalizadas. Los síntomas gastrointestinales con vómitos, diarrea, náusea y dolores abdominales ($> 50\%$ de los casos) tienen habitualmente lugar en las primeras etapas de la enfermedad y a menudo, aunque no siempre, acompañan a las perturbaciones neurológicas. Estas invariablemente resultan en hormigueo en labios, manos y pies, trastornos inusuales de la percepción de la temperatura, los objetos fríos dan sensación de hielo seco y una picazón severa localizada de la piel (> 70 por ciento de los casos). Estos síntomas, junto con una profunda sensación de fatiga (90 por ciento de los casos), pueden darse durante la enfermedad. Se presentan en diverso grado dolores musculares (> 80 por ciento), articulares (> 70 por ciento) y de dientes (> 30 por ciento), en tanto que ocurren con menor frecuencia desórdenes del comportamiento, como depresión y ansiedad (50 por ciento). Los casos severos pueden incluir hipotensión con bradicardia, dificultades respiratorias y parálisis, aunque la muerte sea poco común (menos del 1 por ciento según Lehane, 2000). La baja tasa de mortalidad (2 por ciento) resulta de que raramente se acumulan en una sola comida niveles suficientes de ciguatoxina como para resultar letales, quizás porque los propios peces sucumben a los efectos letales de niveles superiores de ciguatoxinas (Lewis, 2001).

Lehane y Lewis (2000) notaron que la mayoría de los casos de CFP en el Pacífico comportaban el consumo de pescados con un contenido de 0,1-5 nmol P-CTX-1/kg, equivalente a unos 0,1-5 $\mu\text{g/kg}$ de carne de pescado.

persistencia y recurrencia de los síntomas

Las perturbaciones neurológicas comúnmente se resuelven en semanas, aunque algunos síntomas pueden persistir durante meses o aun años. El prurito, la artralgia y la fatiga pueden persistir también por meses o años. El análisis de las ciguatoxinas en muestras de sangre sugiere que puede almacenarse en el tejido adiposo y que pueden reaparecer los síntomas en periodos de estrés, de ejercicios, de pérdida de peso o de consumo de alcohol excesivo. Luego del primer ataque, a sensibilidad al alcohol puede también persistir por años (Lehane, 2000).

factores que influyen en los síntomas clínicos

sensibilización

El fenómeno de la sensibilización ha sido observado en personas que, previamente intoxicadas con ciguatoxina pueden experimentar, después de ingerir pescado una recurrencia de los síntomas de la ciguatera, que, en otras personas, no causa ninguna sintomatología. Tal sensibilización puede darse pasados muchos meses o incluso años de la intoxicación con CFP (De Fouw *et al.*, 2001).

Se notó también que las personas que habían sufrido CFP, a menudo tienen síntomas luego de ingerir cualquier fruto del mar, nueces, aceites de nuez así como bebidas alcohólicas. Por lo tanto a los pacientes que sufren de CFP se les recomienda evitar estos productos. Consumir durante años pescados con bajos niveles de toxinas sin experimentar síntomas puede resultar eventualmente en una sensibilización a la toxina, por acumulación de la ciguatoxina en el huésped o por una posible inducción de una reacción inmunológica (De Fouw *et al.*, 2001).

especies de pescados involucradas

Se aprecian grandes variaciones en la frecuencia y gravedad de los síntomas luego de una intoxicación con ciguatera. Se examinaron, buscando patrones de sintomatología relacionados con los tipos de pescado consumidos, informes de casos de ciguatera del Departamento de Salud del Estado de Hawaii. Aunque no pueda descartarse como responsable de las grandes variaciones la variabilidad y el carácter individual de la respuesta de los seres humanos a algunas toxinas en particular, la información presentada sugeriría que hay también diferencias en los síntomas específicos para los peces y toxinas. Puede postularse que los carnívoros se alimentan de diferentes herbívoros o que metabolizan las toxinas de la misma presa a formas más o menos activas (De Fouw *et al.*, 2001).

Variaciones étnicas

Aunque la variabilidad en la sintomatología es posiblemente el resultado de informes poco consistentes, se ha también especulado con su vinculación a diferencias en las toxinas en el mismo pez contaminado. Algunos autores informaron que los síntomas correlacionaban con grupos étnicos. Parecería que los melanesios mostraban más frecuentemente prurito, ataxia, dolor abdominal y debilidad; que los europeos experimentaban rigidez de la nuca, lacrimación, artralgia e inversión de la sensación térmica y que los asiáticos sufrían más diarreas y dolores abdominales (De Fouw *et al.*, 2001).

variación geográfica

En el Océano Pacífico, predominan los síntomas neurológicos, mientras que en el Caribe los síntomas gastrointestinales son un aspecto dominante de la enfermedad. Esta diversidad en los síntomas es una clara evidencia de que diferentes ciguatoxinas pueden estar detrás de la ciguatera de las aguas del Pacífico y del Caribe. Una tercera clase de ciguatoxinas probablemente subyace al diferente patrón de comportamiento de los síntomas observados en el Océano Indico, donde los peces con ciguatera provocan un conjunto de síntomas que recuerdan las intoxicaciones alucinógenas, con falta de coordinación, pérdida del equilibrio, alucinaciones, depresión mental y pesadillas, agregadas a los típicos síntomas de la ciguatera. Los peces con ciguatera del Océano Indico están más frecuentemente también contaminados con niveles letales de toxina (Lewis, 2001).

Los porcentajes para los síntomas en diferentes regiones son:

- Síntomas neurológicos: parestesia en un 36 por ciento de los casos en las Islas Vírgenes de los EEUU, 70 a 76 por ciento en Australia y Miami y en el 87 al 89 por ciento de los casos en la Polinesia Francesa, Fiji y la zona del Caribe (De Fouw *et al.*, 2001).
- Síntomas gastrointestinales: la diarrea parece ser común en 32 por ciento de los casos en Fiji y 86 por ciento en otras regiones (De Fouw *et al.*, 2001).
- Manifestaciones cardíacas: Se informó de bradicardia e hipotensión en la Polinesia Francesa (16 por ciento) y en Fiji (9 por ciento) (De Fouw *et al.*, 2001).

La toxina responsable por la ciguatera en la región de Gove en Australia Septentrional es la misma que la principal toxina responsable de las intoxicaciones de peces carnívoros en el Océano Pacífico, pero difiere de las toxinas del Océano Índico y en el Mar Caribe (De Fouw *et al.*, 2001).

transmisión sexual de la intoxicación

Cuatro hombres enfermaron luego de ingerir trucha de coral y especies de jurel recién capturadas previo al desarrollo de síntomas característicos de la intoxicación con ciguatera. Además de estos síntomas, dos de ellos se quejaron de dolores intensos en el pene en tanto la compañera del paciente, que no había ingerido pescado alguno sufrió disestesia circunmoral, prurito, artralgia, náusea y letargo dentro de las 24 horas de mantener ambas relaciones sexuales sin protección (De Fouw *et al.*, 2001).

efectos durante el embarazo

La ciguatóxina se transfiere por la placenta de la madre al feto. No afecta el desarrollo del feto aunque se le han atribuido movimientos fetales acelerados. Puede también pasar de la madre al bebé a través de la leche materna. Las madres que alimentan a sus bebés han informado de dolores excesivos en sus pezones. Los bebés tenían diarrea. Las mujeres que tenían síntomas crónicos de ciguatera informaron ocasionalmente de un empeoramiento de los síntomas durante la menstruación (Beadle, 1997).

A una familia de cuatro personas en Queensland (Australia), dos niños, padre y madre con un embarazo de 11 meses se le diagnosticó intoxicación con ciguatera después de ingerir una trucha de coral. La intoxicación fue confirmada clínicamente y por bioensayo en ratón. La concentración en la trucha consumida, con 1,3 ng/g, era relativamente elevada. El padre y la madre, que mostraban una intoxicación más severa, fueron tratados con manitol al 20 por ciento intravenoso (250 ml en 30 minutos). La madre se recuperó rápidamente, en tanto que en el padre tuvo efectos beneficiosos una segunda aplicación de manitol a la semana de la intoxicación. Veintiocho semanas después, la madre dio a luz un niño de 3,4 kg. El recién nacido tuvo problemas respiratorios al nacer y fue tratada su hipertensión pulmonar persistente, no atribuida a la exposición a la ciguatóxina *in utero*. Pasados dos meses no había síntomas residuales (De Fouw *et al.*, 2001).

Una mujer embarazada en San Francisco (EEUU) mostró los síntomas característicos de la intoxicación con ciguatera cuatro horas después de consumir una porción considerable de barracuda. Muchos de los síntomas persistieron por varias semanas. La mujer, en su segundo trimestre, experimentó un incremento de los movimientos del feto una hora después de la comida contaminada, los que se prolongaron por unas pocas horas. Se confirmó la presencia de ciguatóxina con dos bioensayos (ensayo de estimulación del atrio del cobayo y un bioensayo en ratón) y con ensayo inmunoensayo con palito. El recién nacido era normal y en los 10 primeros meses no aparecieron anomalías de tipo alguno (De Fouw *et al.*, 2001).

Dos días antes de la fecha de nacimiento prevista, una mujer ingirió trucha de coral con ciguatera. Dentro de las cuatro horas experimentó los síntomas gastrointestinales y neurológicos característicos de la CFP: movimientos fetales tumultuosos y unos peculiares “temblores” fetales intermitentes, que comenzaron simultáneamente con sus propios síntomas sistémicos. Los extraños movimientos fetales continuaron vigorosamente por 18 horas, disminuyendo gradualmente durante las 24 horas siguientes. Un niño de 3,8 kg nació por cesárea dos días después. Sufría de parálisis facial izquierda

(posiblemente miotonía de los pequeños músculos de las manos) y síndrome de fatiga respiratoria, recuperándose en seis semanas (Lehane y Lewis, 2000).

tratamiento

No se conoce ninguna terapia de antídoto. Si el paciente presenta síntomas de intoxicación por ciguatera poco después de ingerir pescado, puede resultar útil un lavado gástrico seguido de un tratamiento con carbono activado. El mayor éxito en el tratamiento de la ciguatera fue con manitol. No parece influir sobre los síntomas cardiovasculares o gastrointestinales, pero reduce la gravedad y duración de los síntomas neurológicos. Idealmente, para ser efectivo, el manitol debiera administrarse en la fase aguda. La investigación clínica demuestra que no es efectivo si se administra pasadas 48 horas de la aparición de los síntomas (De Fouw *et al.*, 2001).

Se ha informado solo de una prueba controlada con manitol en la que los pacientes desconocían el tratamiento recibido. Se demostró que 250 ml de manitol intravenoso al 20 por ciento administrado en 1 hora era ligeramente más eficaz que una combinación de vitaminas y calcio intravenosos administrada también en 1 hora. Los síntomas mejoran por tratamiento con una solución intravenosa de manitol al 20 por ciento en agua en dosis de 1 g/kg pc a una velocidad inicial de 500 ml/hora (De Fouw *et al.*, 2001).

No se comprende totalmente el mecanismo del tratamiento con manitol. Una teoría sostiene que el manitol compite realmente con los canales de sodio. Otra es que la eficacia del manitol radica en su capacidad de acción como agente osmótico a nivel celular de reducción del exceso de fluido en el citoplasma de las células de los nervios o para evitar el ingreso de sodio a través de los canales de sodio para estabilizar la membrana de las células. Una tercera, sugiere que el manitol puede reaccionar directamente con la toxina neutralizándola o desplazándola de su punto de enlace en la célula (De Fouw *et al.*, 2001).

Se ha sugerido también que la presencia de manitol en el fluido extra-celular inhibe estéricamente el movimiento de los iones sodio por los canales bloqueados por la molécula de ciguatoxina. Otra sugerencia es que el manitol puede actuar eliminando los grupos hidroxilo en los sistemas ciguatóxicos (De Fouw *et al.*, 2001).

Pueden requerirse infusiones cristaloides intravenosas y agentes vasoactivos, en el caso de deshidratación e hipotensión. Pueden salvar la vida el sulfato de atropina para la bradicardia y la infusión de dopamina para las hipotensiones severas. Puede ser necesaria una ventilación mecánica en casos de depresión respiratoria (De Fouw *et al.*, 2001).

Luego de consumir un tipo de mero en la República Dominicana, dos pacientes de un hospital de Santiago de Chile con CFP, fueron exitosamente tratados con gabapentina (400 mg oralmente tres veces al día), (Perez *et al.*, 2001).

La amitriptilina puede ser útil para el tratamiento de la disestesia, que puede ser crónica (Crump *et al.*, 1999b).

datos experimentales

Se seleccionaron cinco pacientes con CFP que sufrían aun de una parestesia intensa para estudios de temperatura. La percepción de la temperatura parecía normal en estos pacientes en un rango desde muy frío a caliente. Se registró el punto de corte de los síntomas peculiares descritos como, percepción de inversión de la temperatura (hormigueo, quemazón, escozor y eléctrico) de los 24 a 26 °C y esta temperatura aparece correlacionar muy bien con el umbral de frío de los noniceptores C-polimodales (23°C). Esto sugiere que las molestias sensoriales paradójicas son, muy probablemente, un resultado de una despolarización exagerada e intensa de los nervios en pequeños tejidos nerviosos periféricos, como las fibras A-delta mielinadas y en particular las fibras noniceptoras C-polimodales sin mielinar. Este tipo de fibras cutáneas sin mielinar responden a estímulos mecánicos y químicos, al

calor y al frío, en el rango de intensidad doloroso. Por el mismo mecanismo, la intensa sensación de picazón que experimenta un gran porcentaje de pacientes con ciguatera es característica de las menores frecuencias de descarga en algunas fibras noniceptoras C-polimodales (De Fouw *et al.*, 2001).

7.5.6 Toxicidad en organismos acuáticos

peces

Individualmente y sin demostrar patologías obvias, los peces tropicales pueden ser portadores de cantidades suficientes de ciguatoxina en sus tejidos para intoxicar a varios seres humanos, sin demostrar patologías obvias. Sin embargo, se ha demostrado que la ciguatoxina era letal para peces de agua dulce y marinos. Los canales de Na^+ de éstos últimos son susceptibles a la ciguatoxina, que ejerce efectos similares sobre los canales de Na^+ de peces y mamíferos. Puede concluirse que:

- Los peces son susceptibles a la ciguatoxina aunque en dosis superiores a las requeridas para causar la muerte en los mamíferos
- Los canales de Na^+ y/o las puertas de Na^+ tanto de los peces portadores como de los no portadores de ciguatoxina eran sensibles a ser abiertos por la ciguatoxina; y
- La sensibilidad de los nervios de los peces a la ciguatoxina y la falta de una patología evidente en los peces tóxicos sugería que los peces portadores poseen un mecanismo de partición o de detoxificación que mantiene la toxina alejada de los sitios blanco.

Se sugirió que la presencia de una asociación ciguatoxina-inducida proteína soluble-ciguatoxina en el músculo de las especies tóxicas de carite estriado puede ser la base de un mecanismo por el que se reducen los enlaces de la ciguatoxina a los sitios de blanco de los canales de sodio de las membranas excitables de los peces. (Lehane y Lewis, 2000).

Los efectos adversos se cuantificaron por microinyección de la ciguatoxina en la yema del huevo de embriones de *Oryzias latipes*. Los embriones microinyectados con 0,1-0,9 pg/huevo mostraron taquicardia aunque sin reducción en el número de huevos nacidos; sin embargo, 22 por ciento de los peces que nacen en este rango de dosis muestran efectos letales de la espina. A niveles superiores (1,0-9,0 pg/huevo) se apreció una disminución directa en el número de nacimientos, junto con una incidencia del 93 por ciento de defectos letales de la espina. Los embriones expuestos a 10-20 pg/huevo de ciguatoxina muestran un 0 por ciento de nacimientos. Los resultados de este estudio indicaron que la transferencia por vía materna de niveles bajos de ciguatoxina puede representar una amenaza desconocida para la reproducción exitosa de peces de arrecifes y una consecuencia ecológica previamente desapercibida de la proliferación de algas productoras de ciguatoxinas en sistemas de arrecifes cada vez más impactados por perturbaciones de origen humano (Edmunds *et al.*, 1999).

7.6 Prevención de la intoxicación CFP

7.6.1 Depuración

La ciguatoxina no puede identificarse por su color, sabor o apariencia. Es también termoestable, por lo que no es destruíble por cocción o congelamiento. La ciguatoxina no puede tampoco eliminarse por salado, ahumado o marinado. Los peces contaminados pueden permanecer tóxicos por años, aun con dietas no tóxicas (Beadle, 1997). Las únicas herramientas disponibles actualmente para evitar la intoxicación, además de evitar el consumo de pescados predatorios de gran tamaño, son las pruebas de selección animal (De Fouw *et al.*, 2001).

7.6.2 Medidas preventivas

La fuente principal de casos de ciguatera es la pesca deportiva (79 por ciento). Si se pudiera educar para evitar el consumo de cabezas, vísceras y huevas de peces de arrecifes y de peces capturados en zonas con ciguatera conocida, los casos probablemente disminuyesen dramáticamente. (De Fouw *et al.*, 2001).

Son los más fácilmente afectables los grandes peces predatorios de los arrecifes; cuanto mayor el tamaño, mayor el riesgo. Aunque solo sea una precaución relativa, algunas autoridades aconsejan evitar pescados de más 1,35 a 2,25 kg. No existe, sin embargo, forma alguna de saber el tamaño del pescado del cual se cortó la carne servida o el filet. Las carnes derivadas de órganos, incluso las huevas, parecen contener concentraciones más elevadas de toxinas y deben evitarse. El riesgo se reducirá también, consumiendo porciones pequeñas de varios pescados en lugar de una porción grande de cualquier pescado sospechoso (De Fouw *et al.*, 2001).

7.7 Casos y brotes de CFP

7.7.1 General

Anualmente se informan mundialmente hasta 50 000 casos de CFP; la condición es endémica en regiones tropicales y subtropicales de la cuenca del Pacífico, del Océano Índico y del Caribe. Esporádicamente tienen lugar brotes aislados, aunque cada vez con más frecuencia, en zonas templadas como Europa y América del Norte. El aumento de los viajes entre países templados y zonas endémicas y la importación de pescados susceptibles resulta en la aparición de la CFP en regiones del mundo donde antes se encontraba raramente (Ting y Brown, 2001). En las zonas endémicas primarias, inclusive el Caribe y las islas del Pacífico sur, la incidencia es de entre 50 y 500 casos por cada 10 000 personas (Perez *et al.*, 2001). En el mundo desarrollado, la CFP constituye una amenaza a la salud pública por diagnósticos demorados o por falta de ellos. Sin tratamiento, persisten síntomas neurológicos característicos, que a veces se confunden con esclerosis múltiple. Los síntomas constitucionales pueden ser objeto de diagnósticos falsos como el síndrome de fatiga crónica (Ting y Brown, 2001). Se supuso que las cifras de incidencia representaban probablemente solo un 10 al 20 por ciento de los casos reales, con los casos sub informados variando entre países y con el tiempo (De Fouw *et al.*, 2001).

7.7.2 Europa

Francia

Dos personas mostraron señales de CFP luego de consumir pescado congelado (no especificado) de China (Provincia de Taiwan) (IPCS, 1984).

Luego de consumir trozos de diferentes pescados, un hombre de 60 años desarrolló una CFP con diarrea, parestesia facial, mialgia, calambres y debilidad. El examen físico mostró un déficit motor distal de los cuatro miembros, mioquimia y ataxia. Las pruebas EMG apuntaban a una neuropatía axonal. Los síntomas neurológicos persistieron por dos meses. Este caso ilustra un nuevo mecanismo pato-fisiológico de neuropatía: “canalopatía axonal” (Derouiche *et al.*, 2000).

Un paciente sufrió ataxia y estupor pocos días después de ingerir mariscos (*Tectus pyramis*). Aparecía confundido con señales cerebelares y perturbaciones oculares (hipotropía). Los resultados sanguíneos, del fluido cerebro-espinal y la TC del cerebro no mostraron nada anormal. El paciente desarrolló un choque séptico y falleció a las cuatro semanas de admitido. No se realizó la autopsia. El cuadro clínico sugiere claramente una intoxicación con ciguatera. Sin embargo, no se realizaron pruebas toxicológicas. La CFP no ha sido nunca informada para *Tectus pyramis* (Angibaud *et al.*, 2000). En 2002 se informó de un caso confirmado de CFP (EU-NRL, 2002).

Alemania

Se ha descrito en Alemania una intoxicación con ciguatera en un hombre de 40 años, luego de un viaje a la República Dominicana. El hombre evidenció los síntomas característicos de la ciguatera luego de una comida con mero. Ingresó en un hospital a su regreso a Alemania. Se diagnosticó intoxicación con ciguatera en base a la historia y los datos clínicos. Todos los síntomas desaparecieron finalmente a las 16 semanas. (De Fouw *et al.*, 2001).

Luego de acortar sus vacaciones en la República Dominicana, cuatro personas de una excursión de regreso en Alemania, mostraron síntomas neurológicos complejos, con parestesia, nerviosismo, percepción invertida de la temperatura, calambres musculares, dolor de cabeza y mareos. Se diagnosticó la intoxicación con ciguatera en base a la comida del lugar de vacaciones de “medregal y salsa de limón”. Los primeros síntomas para todos los integrantes del grupo de viaje (26 personas) fueron diarrea, malestar y sudores (Blume *et al.*, 1999).

Una mujer de 45 años mostró a su regreso a Alemania de un viaje al Mar Rojo señales de CFP. Aparentemente había ingerido una comida a base de pescados en sus vacaciones. Tres semanas después de aparecidos los síntomas no resultó suficiente el tratamiento habitual con manitol. Sin embargo, durante los 21 meses siguientes, los síntomas clínicos y electrofisiológicos se revirtieron espontáneamente de manera muy clara (Ruprecht *et al.*, 2001).

Italia

Ha comenzado a aparecer la CFP en viajeros italianos a las islas del Caribe (Bavastrelli *et al.*, 2000).

Países Bajos

Cinco pacientes con síntomas de intoxicación con ciguatera fueron internados en el departamento de pacientes externos de Medicina Tropical de un hospital de Amsterdam. Los pacientes habían ingerido pescado en Curaçao y en la Isla Margarita (Venezuela). Se diagnosticó la ciguatera basándose solamente en los síntomas clínicos y en el hecho que los pescados fueron ingeridos en la zona del Caribe (De Fouw *et al.*, 2001).

7.7.3 África

Madagascar

Un brote muy severo de intoxicación con ciguatera, causado presumiblemente por un tiburón, ocurrió en Manakara, una ciudad de la costa este de Madagascar, el 28 de noviembre de 1993. La tasa de mortandad fue del 20 por ciento (murieron 98 de cada 500 personas intoxicadas). Cuando cinco días después de la tragedia llegó el equipo médico, ya habían fallecido la mayor parte de los casos graves. Ciento cincuenta pacientes estaban aun hospitalizados (35 en estado crítico, de los que 15 murieron a los pocos días). La sintomatología de los pacientes en estado crítico como resultado de su severidad no apuntaba a una CFP, con coma, rigidez corporal, miosis, midriasis, convulsiones, trastornos respiratorios y edema pulmonar, colapsos cardiovasculares, bradicardia, gengivorragia y deshidratación. Los síntomas en las personas con intoxicación moderada (115 casos) eran típicos de CFP. Lamentablemente, no había restos del tiburón disponibles para investigaciones químicas (Boisier *et al.*, 1995).

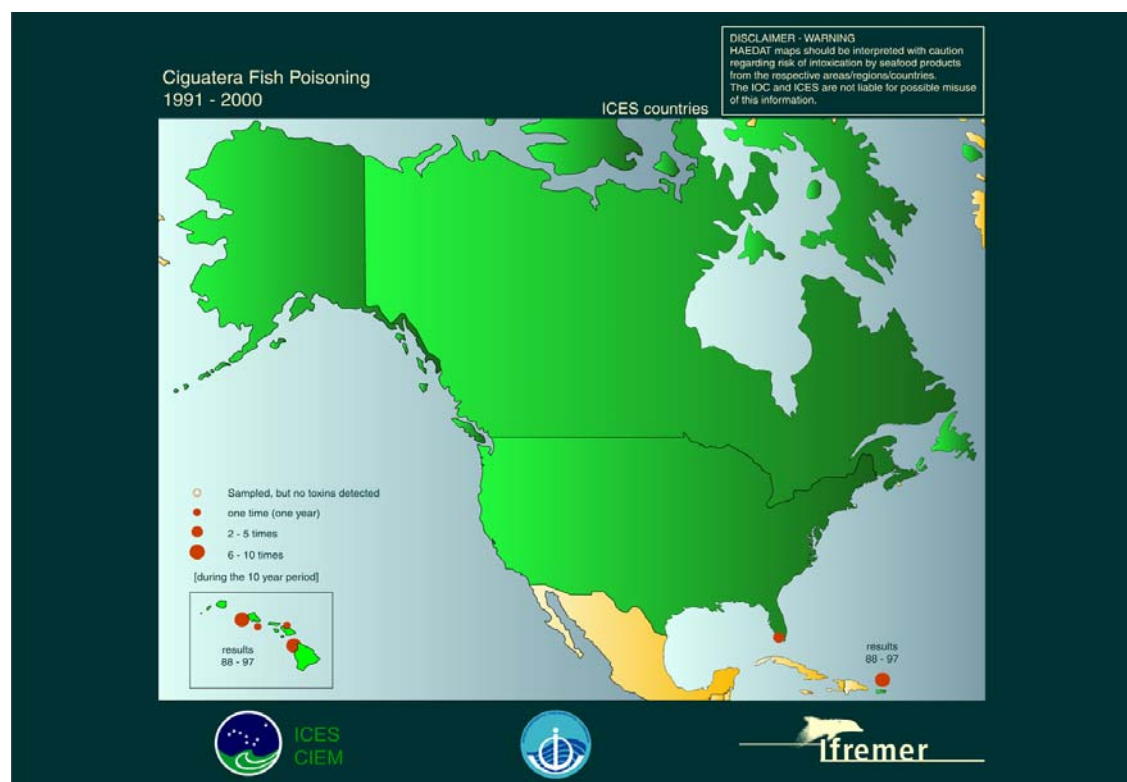
Se informaron los datos epidemiológicos relativos al mismo brote en Manakara de noviembre de 1993, experimentado por casi el 100 por ciento de las personas. Se estudiaron las historias de los 188 pacientes hospitalizados. Los primeros síntomas clínicos aparecieron entre las cinco y las 10 horas posteriores a la ingesta. La mortandad total fue cercana al 30 por ciento, debido quizás a lo inadecuado de las tecnologías locales. Los pacientes sufrían casi exclusivamente de síntomas neurológicos, el más notorio una ataxia severa y constante. En raros casos se manifestaban señales digestivas y cardiovasculares. Eran raros los trastornos gastrointestinales, como diarrea y vómitos. Del hígado se aislaron dos toxinas liposolubles, las que provisoriamente se llamaron carctoxina-A y -B,

respectivamente. Sus propiedades cromatográficas eran diferentes de las ciguatoxinas. La letalidad en ratones del hígado de tiburón era de unas 30 UR por g de hígado (1 unidad ratón definida como la cantidad de toxina requerida para matar un ratón de 16 g de peso en 24 horas). Este valor superaba los mayores niveles de ciguatoxina informados para el hígado de la anguila morena (20 UR/g hígado). Ambas toxinas, como la ciguatoxina, causaron diarrea, respiración dificultosa, parálisis de los miembros, y convulsiones previas a la muerte de los ratones. En lo que hace a la respuesta dosis-tiempo de supervivencia se notó, sin embargo, una diferencia entre las toxinas del tiburón y las ciguatoxinas. Los ratones a los que se administró toxinas del tiburón o murieron dentro de las 4 horas, o sobrevivieron. Por el contrario, los ratones a los que se administró ciguatoxina murieron aun después de 24 horas (De Fouw *et al.*, 2001).

7.7.4 América del Norte

La Figura 7.2 ilustra la presencia de toxinas CFP en los países norteamericanos integrantes del CIEM

Figura 7.2 Presencia de toxinas CFP en aguas costeras de países norteamericanos miembro del CIEM desde 1991 a 2000



Fuente: <http://www.ifremer.fr/envlit/documentation/dossiers/ciem/aindex.htm>

Canadá

Los canadienses han sido afectados por la CFP en los pescados tropicales consumidos, principalmente al viajar a zonas del Caribe septentrional u ocasionalmente por pescado importado. Un segundo grupo de personas expuesto a las ciguatoxinas compra pescados tropicales en los mercados locales o ingiere los mismos en restaurantes. En los años 1983 a 1997, se informó de 22 casos de CFP en Canadá, en su mayoría originados en pescados importados (Todd, 1997). En 1998, se informó de un incidente de CFP en hospitales de Montreal, Quebec, con siete casos. Estos incluyeron a integrantes de tres familias, cada una de las cuales había consumido barracuda. Los pacientes tenían síntomas gastrointestinales y neurológicos. En uno de los casos aun quedaban restos de pescado. Se produjo

una mortandad con el ensayo en ratón. Un ensayo ELISA no fue concluyente (Anónimo, 2000b). Recientemente se notificó al Ministerio de Salud de Canadá de treinta canadienses intoxicados con ciguatera por ingerir pescados coralinos cocidos de Fiji (Anónimo, 2002b).

Estados Unidos de América

Desde 1983 hasta 1992, se informaron en Estados Unidos 129 brotes de intoxicación por ciguatera en 508 personas pero sin muertes relacionadas. La mayor parte de los brotes fueron informados en Hawaii (111) y en la Florida (10). Los otros brotes, en diferentes partes del país, se han asociado al consumo de pescado importado (De Fouw *et al.*, 2001).

California

Una mujer de 34 años y un hombre de 40, enfermaron seis horas después de ingerir la barracuda pescada en aguas turbias cercanas a Cancún, México. Cinco semanas después de la aparición de los síntomas se hizo el diagnóstico de intoxicación CFP. Diez semanas después los síntomas habían desaparecido (Farstad y Chow, 2001).

Los meros pescados próximo a la costa de la Península Baja, en un año afectado por El Niño, fueron responsables de los brotes en California meridional (Farstad y Chow, 2001).

Florida

En Miami, la incidencia estimada anual es de 50 por cada 100 000 de población (De Fouw *et al.*, 2001). En 1972, se informaron 34 casos de CFP luego de un brote resultante de ingerir barracuda (Pottier *et al.*, 2001). En 1980, 129 personas mostraron síntomas de CFP luego de ingerir especies locales de mero y pargo. No hubieron casos de mortandad (IPCS, 1984). Se informó al Departamento de Salud y Servicios de Rehabilitación de la Florida de veinte casos de CFP resultantes de consumir medregal en agosto y setiembre de 1991. Cuarenta por ciento de las muestras de medregal provenientes de un distribuidor en Cayo Hueso y en restaurantes y almacenes de Florida y Alabama dieron positivo con el bioensayo en ratón. (Anónimo, 1993). Se estiman en los 1 300 los casos de intoxicación por CFP en la Florida meridional, siendo los peces capturados en aguas de la Florida responsables por un 10 por ciento de los casos. Muchos de los peces con ciguatera provienen de las Bahamas. Se informó de una incidencia anual de cinco casos de CFP por cada 10 000 habitantes en el condado de Dade (Miami), (Pottier *et al.*, 2001).

Maryland

Se informó en 1980, de doce personas con síntomas de CFP luego de ingerir mero de la Florida (IPCS, 1984).

Nueva York

Un hombre de 36 años se presentó a la emergencia de un hospital de Nueva York seis horas después de un vuelo tarde en la noche desde Aruba. El paciente sufría náuseas y vómitos (cinco episodios), diaforésis, dolores abdominales y tres episodios de heces acuosas y blandas. Los síntomas comenzaron unas tres horas luego de su regreso. El paciente había ingerido inmediatamente antes de embarcarse de regreso un cocido a base de un pescado local desconocido. Fue dado de alta luego de cuatro horas en el hospital. Seis horas después, regresó al hospital con problemas gastrointestinales continuados asociados a prurito, una sensación de “dormido” alrededor de la boca y dificultades de locomoción moderadas causadas por mialgias. El paciente había tomado alcohol en su casa. La evaluación neurológica indicó distesia sensorial invertida y parestesia generalizada. El paciente respondió bien a la terapia de apoyo y fue dado de alta dos días después (Aseada, 2001).

Carolina del Norte

En 1987, se informaron 10 casos de CFP como consecuencia de ingerir barracuda, lampuga y atún de aleta amarillas (Pottier *et al.*, 2001).

Rhode Island

Un paciente masculino en Rhode Island experimentó una intoxicación CFP luego de ingerir una sopa de pescados. Manifestó síntomas gastrointestinales y neurológicos, dificultades respiratorias y cianosis, seguidas de estupor y coma. El coma es poco frecuente aunque hay casos. Podría suceder que haya consumido grandes cantidades de toxinas. Es posible, también, que el consumo de alcohol, la ingestión de toxinas no relacionadas con los frutos del mar o una susceptibilidad genética hayan causado una respuesta más severa a la ciguatoxina. Se ensayó una muestra de la sopa de pescados y el inmunoensayo empleado determinó que se trataba de un “tóxico no edible”. El bioensayo en ratón provocó su muerte dentro de las 48 horas, aunque la respuesta del ratón no mostró todos los síntomas de la ciguatera. El ensayo con atrium de cobayo fue negativo; ambos atria no mostraron la respuesta inotrópica típica a la toxina de la ciguatera (De Fouw *et al.*, 2001).

Vermont

En 1986, dos personas en Vermont mostraron síntomas de CFP luego de consumir barracuda de las aguas costeras de la Florida. El inmunoensayo con enzimas, sobre porciones de una sola barracuda congelada en un restaurante, dio positivo. (Anónimo, 1986).

Hawaii

Basado en los registros epidemiológicos para CFP del Ministerio de Salud del Estado de Hawaii, en un periodo de cinco años (enero de 1984 a diciembre de 1988) se informaron 150 brotes en total con 652 individuos expuestos, resultantes en 462 casos con síntomas de intoxicación por ciguatera (una tasa de ataque global del 70,9 por ciento). La costa Kona de la isla de Hawaii fue responsable de la mayor parte de los incidentes (De Fouw *et al.*, 2001).

Las zonas frecuentemente implicadas fueron El Punto Sur de la isla de Hawaii y la costa Napali en la isla de Kauai. La tasa de incidencia anual informada por Gollop y Pon (1992), en Hawaii, era de 8,7 por 100 000 de 1984 a 1989 comparada con 2,5 por 100 000 de 1975 a 1981 (De Fouw *et al.*, 2001).

En 1985 se informó una intoxicación CFP confirmada (en restos del pescado consumido, con inmunoensayo) en la que enfermaron 15 personas de varias edades luego de consumir un medregal capturado en la costa occidental de la isla de Kauai (Hawaii). Todas las personas mostraron los síntomas gastrointestinales y neurológicos característicos dentro de 1,5 a seis días. Además, 10 de las 15 personas mostraron síntomas cardiovasculares, como bradicardia e hipotensión. La enfermedad duró de dos a 132 días. La bradicardia se asoció con una mayor edad y peso corporal, así como con la cantidad de pescado consumido. Se correlacionó la mayor duración de la enfermedad (aunque no una mayor severidad) con mayor edad y peso, resultando independiente de la cantidad y componentes del pescado tóxico consumido (De Fouw *et al.*, 2001).

7.7.5 América Central y del Sur

Anguilla

Se informó que la incidencia de CFP varía entre dos a cinco casos por cada 1 000 habitantes por año (Pottier *et al.*, 2001).

Las Bahamas

En marzo de 1982, 14 integrantes de la tripulación de un carguero italiano mostraron síntomas de intoxicación CFP luego de ingerir barracuda local. No se informó de ninguna mortandad (Anónimo, 1982).

Luego de consumir una barracuda contaminada capturada en el Cay Sal Bank de las Bahamas el 12 de octubre de 1997, 17 integrantes de la tripulación de un carguero noruego mostraron dos a 16 horas después, síntomas de intoxicación con ciguatera (nausea, vómitos, diarrea y debilidad muscular). Se ensayaron, con un inmunoensayo experimental con membrana, tres muestras de los restos de la barracuda cruda y de un pargo, capturado junto con la barracuda consumida. Ambas dieron ciguatoxina positiva (Smith *et al.*, 1998)

Chile

Se sospechó de un salmón de cultivo, como responsable de CFP en 1992. La mujer intoxicada estaba gravemente enferma 1,5 horas después de consumir el pescado (Durborow, 1999).

Cuba

Oficialmente, se registran diez casos anuales, excepto en 1974 cuando se informó de 174 (Pottier *et al.*, 2001). En 1978, se informaron 100 casos de CFP luego de ingerir especies locales de anguila morena y carite atlántico. No hubieron muertes (IPCS, 1984).

Se informó en 1987, de un brote con 57 casos de CFP (Pottier *et al.*, 2001). Tres de cada cuatro personas que consumieron barracuda durante sus vacaciones en Cuba mostraron frecuentes diarreas acuosas y vómitos dentro de las cinco horas. El cuarto paciente desarrolló síntomas similares, aunque menos intensos dentro de las 12 horas. Los síntomas gastrointestinales cedieron gradualmente entre las 24 a 48 horas en las que se desarrollaron debilidad, prurito generalizado y parestesias de extremidades peri orales y distales (Butera *et al.*, 2000).

República Dominicana

En 1989, se informaron 81 casos de CFP. Seis de estos eran casos aislados, y 75 los restantes aparecieron en 13 brotes (Pottier *et al.*, 2001).

Guadalupe

Un estudio de más de 20 años, en Saintes Islands (islas meridionales del Caribe), estimó una incidencia promedio de tres casos por 10 000 habitantes por año. Durante los seis primeros meses de 1970, ocurrieron varios brotes en muchas localidades. De 1980 a 1985, se informaron 255 casos, con cinco requiriendo resucitación. Desde 1992, se informó una incidencia de CFP de 0,7 por 10 000 habitantes por año. Sin embargo, parece ser una subestimación grosera pues sólo informaron 32 de los 300 médicos del archipiélago. Los supervisores médicos estiman 100 casos anuales en Guadalupe (Pottier *et al.*, 2001).

Haiti

En 1985, se informaron dos casos de CFP (Pottier *et al.*, 2001). En febrero de 1995, enfermaron seis soldados de los EEUU luego de ingerir un pescado capturado localmente, el (*Seriola dumerili*). Los síntomas gastrointestinales y neurológicos fueron característicos de la ciguatera, tres pacientes con bradicardia e hipotensión. Todos los pacientes se recuperaron completamente entre uno a tres meses (los síntomas gastrointestinales y cardiovasculares mermaron dentro de las 72 horas). El análisis de una porción de pescado cocido efectivamente contenía unos 20 ng de ciguatoxina-1 (C-CTX-1)/g de carne. Además se detectaron una toxina menor más polar y otra menos polar (De Fouw *et al.*, 2001).

Jamaica

En 1978, 250 personas mostraron síntomas de CFP tras ingerir mero y barracuda locales. No hubo mortandad (IPCS, 1984). En Jamaica son raros los informes sobre CFP la mayoría de brotes afectan de cinco a 18 personas (Pottier *et al.*, 2001).

Martinica

En 1982 se informaron ochenta intoxicaciones. En 1983, la incidencia anual se estimó en 41 por 100 000 habitantes por año (Pottier *et al.*, 2001).

México

La CFP está presente en ambas costas mexicanas. Hay casos de intoxicación cada primavera y verano, tanto en las costas del Caribe como del Pacífico (Sierra-Beltrán *et al.*, 1998).

Se informó que en 1974, 24 personas a bordo de un barco mostraron síntomas de CFP después de ingerir barracuda del Golfo de México. No hubo mortandad (IPCS, 1984). Un total de 200 casos de intoxicación con ciguatera tuvieron lugar en 1984, en La Paz, Baja California Sur después de consumir pargo contaminado (*Lutjanus* sp.) (Ochoa *et al.*, 1998). En mayo de 1993, se enfermó, con síntomas similares a los de la ciguatera, toda la tripulación de un barco pesquero luego de consumir pescados (*Serranidae* y *Labridae*) capturados en las Rocas Alijos (costa oeste de la Península de Baja California) a profundidades entre los 9 y 36 metros. Se confirmó la presencia de toxinas del tipo de la ciguatera una vez analizados los pescados sospechosos con el bioensayo en ratón (De Fouw *et al.*, 2001).

En julio de 1994, ocurrieron 10 casos de CFP en Isla Mujeres luego de consumir barracuda. Se informaron síntomas de intoxicación, entre los 20 minutos y las 12 horas de ingeridos los pescados contaminados. Todos sufrieron molestias gastrointestinales como cuadro principal. La diarrea acuosa resultó la primera queja. Todos sufrieron disestesia con inversión de temperatura de frío a caliente, aunque con diferencias en la ocurrencia y severidad de otros síntomas. No se encontró asociación entre la cantidad de pescado tóxico ingerido y el periodo de latencia y la severidad y duración de los síntomas (Arcila-Herrera *et al.*, 1998).

Se informaron, en un período de cuatro meses, veinticinco casos de intoxicación con ciguatera en la costa del Pacífico de los EEUU descubiertos por el Departamento de Servicios de Salud en San Diego (California). Todas las personas habían consumido el pescado conocido como cabrilla capturado en la costa de Baja California (México). Las personas sufrieron primariamente síntomas gastrointestinales (diarrea, vómitos, náusea) y neurológicos (parestias de las extremidades, prurito, parestias, mareos, dolor de cabeza); una mujer tuvo bradicardia e hipotensión (De Fouw *et al.*, 2001).

En el período de 1993 a 1996, en El Pardito, un pequeño complejo isleño en el Golfo de California, tuvieron lugar casos de CFP en seres humanos luego de consumir vísceras de *Serranidae* y *Lutjanidae* (Sierra-Beltrán *et al.*, 1998). En 1997 se informó un brote de CFP afectando a 30 turistas franceses (Pottier *et al.*, 1997). Sierra-Beltrán *et al.* (1998) informaron que el último brote en México causó dos muertes. Como frecuentemente las costas del país son azotadas por huracanes, es posible que bajo estas condiciones se favorezca la expansión de *G. toxicus*, *O. ovata* o *P. mexicanum* productores de toxinas.

Puerto Rico

La CFP aparece mayormente en las islas menores. Entre 1980 y 1982, hay registrados 100 brotes afectando a 215 personas. Se estimó una incidencia anual de 90 por 10 000 habitantes (Pottier *et al.*, 2001).

Saint Barthelemy

Los médicos tratan anualmente unos 30 pacientes, principalmente turistas o pescadores que han ingerido meros, caballas, jureles o pargos. Sin embargo, la incidencia de CFP se reducirá, evitando los pescados locales riesgosos con mayores importaciones a la isla (Pottier *et al.*, 2001).

Saint Martin

La incidencia de la CFP se estima en dos a cinco casos por cada 1 000 habitantes por año (Pottier *et al.*, 2001).

Saint Vincent

Se informó en 1985, de un brote de CFP con 105 pacientes después de consumir barracuda (Pottier *et al.*, 2001).

Venezuela

Doscientos casos de CFP en un crucero causaron varias muertes (Farstad y Chow, 2001).

Islas Vírgenes

Una encuesta de hogares en las Islas Vírgenes de los Estados Unidos mostraron una tasa anual de incremento de 730 por 100 000 habitantes (De Fouw *et al.*, 2001). En 1981 se informaron 14 brotes de CFP con 65 pacientes luego de ingerir pargo de aleta negra (Pottier *et al.*, 2001). Luego de consumir especies locales de carrang y/o de pargo, en 1982 y 1983, 33 y 51 personas, mostraron respectivamente síntomas de CFP. No hubo muertes (IPCS, 1984).

En 1980, se estimó una incidencia de CFP de 940 casos por 60 000 personas en St. Thomas y St. John, en tanto que en 1982 se informaron estimaciones entre 73 a 360 por 10 000 habitantes por año (Pottier *et al.*, 2001).

7.7.6 Medio Oriente

Israel

Dos familias se quejaron de una sensación de “corrientes eléctricas”, temblores, calambres musculares, pesadillas, alucinaciones, agitación, ansiedad y náusea con varios grados de severidad. Los síntomas duraron de 12 a 30 horas desapareciendo completamente. Todos los pacientes habían consumido quimera ("aras"). Las manifestaciones clínicas típicas conjuntamente con los patrones de alimentación conocidos de este pez apuntaron a la CFP (Raikhlin-Eisenkraft y Bentur, 2002).

7.7.7 Asia

China

En la Región Administrativa Especial de Hong Kong, se informaron al Ministerio de Salud de 1988 a 1992, 47 brotes de CFP con 397 personas. El pargo era responsable de la mayoría (59,6 por ciento) de estos brotes (Chan y Kwok, 2001).

La incidencia de la CFP en la Región Administrativa Especial de Hong Kong tuvo lugar en seres humanos poco tiempo después de consumir un pargo de manglar capturado en el Mar del Sur de la China. Las cuatro personas se enfermaron, con los síntomas gastrointestinales y neurológicos (náusea, dolores abdominales, diarrea, parestesia y entumecimiento de las extremidades) típicos de la CFP. Un paciente experimentó también bradicardia e hipotensión que pusieron en riesgo su vida (De Fouw *et al.*, 2001).

Ocho integrantes de una familia mostraron señales de CFP luego de consumir un mero. Uno de estos ocho pacientes fue hospitalizado y tratado con manitol con una mejora inicial de los síntomas clínicos. Algunos de los síntomas (principalmente neurológicos) nuevamente aparecieron pasada una semana y permaneciendo durante 45 días luego de consumido el pescado tóxico (Chan y Kwok, 2001).

Fiji

En 1984, se informaron 925 casos de CFP por consumir especies locales de pargo, barracuda, mero y emperador. Falleció una persona (IPCS, 1984).

Polinesia Francesa – Nueva Caledonia (Pacífico Sur)

Aunque era una enfermedad rara hace dos siglos, la ciguatera ha ahora alcanzado proporciones de epidemia en la Polinesia Francesa. Se informó de más de 24 000 pacientes en esta zona entre 1960 y 1984 (Hallegraeff *et al.*, 1995).

Luego de consumir pescado contaminado en Vanuatu, cuatro turistas adultos tuvieron CFP (Ting y Brown, 2001). En 1979, 3 009 personas sufrieron CFP por consumir pescados locales (navajón, mero, pargo, carrang, emperador y barracuda). Fallecieron tres personas (IPCS, 1984).

Océano Índico

Hay muy poca información disponible sobre la tasa de incidencia anual en las islas del Océano Indico (Comores, las Seychelles, Mauricio y Rodrigues), estimada en 0,78 por 10 000 residentes (De Fouw *et al.*, 2001).

Reunion (Oceano Indico)

Después de consumir pargo de Salya de Malha, 367 personas sufrieron CFP en 1978. No hubo muertes (IPCS, 1984).

Islas del Pacífico Sur

La tasa media de incidencia informada de CFP para las islas del Pacífico Sur durante el periodo de cinco años entre 1979 a 1983) fue de 97 por 100 000. La Comisión del Pacífico Sur informó una incidencia media anual de 217 por 100 000 habitantes en 1987. Durante los años entre 1985 a 1990 las islas de Kiribati, Tokelau y Tuvalu informaron de 90 a 100 casos por 10 000 habitantes por año. Los casos en la Polinesia Francesa, Vanuatu, las Islas Marshall y las Islas Cook, variaban aproximadamente de 35 a 50 por 10 000 habitantes por año. Se informó de menos de 20 casos por 10 000 habitantes por año para Fiji, las Marianas del Norte, Nueva Caledonia, Wallis y Futuna, las Samoa Americana y Occidental, Niue, Guam, Nauru, los Estados Federados de Micronesia, Palau, Tonga y Papua Nueva Guinea. La información es del Servicio de Información Epidemiológica y de Salud del Pacífico Sur (De Fouw *et al.*, 2001).

7.7.8 Oceanía

Australia

En Australia se estimó una incidencia anual de 30 por 100 000 habitantes. Se ha informado que la incidencia anual en Queensland es de unos 1,6 casos por 100 000 habitantes (De Fouw *et al.*, 2001). Cada año, tienen lugar brotes de CFP resultantes del consumo de pescados capturados en la costa tropical de Australia oriental. En 1988 se publicaron los detalles clínicos de una base de datos de Queensland con 617 casos de 225 brotes recogidos en 23 años. Los principales brotes ocurrieron en Sydney en 1987 (63 personas) y en 1994 (43 personas), tras consumir carite oriental de Queensland (Lehane, 2000 y Lehane y Lewis, 2000).

Se informó de un brote de CFP luego de ingerir un solo pescado coralino capturado en el Mar de Arafura (Australia Septentrional) responsable de 20 eventos de intoxicación. Se detectó la presencia de la ciguatoxina-1 (P-CTX-1) con el bioensayo en ratón y con CL/EM sobre una muestra de 230 g de pescado. Fue esta la primera vez que se identificó la toxina que contribuye a la CFP en el Mar de Arafura (De Fouw *et al.*, 2001).

Más recientemente desde julio de 1997 a agosto de 1998, ocurrieron tres brotes pequeños de CFP en la zona de Sydney causados por peces de arrecife. En los tres incidentes, el diagnóstico se basó en datos clínicos. El primer brote (seis casos) fue causado por truchas de coral de Fiji; el segundo (10 casos) por truchas de coral de Queensland y el tercero (10 casos) por bacalao manchado de Queensland. El tercer brote incluyó dos bebés alimentados exclusivamente de pecho que manifestaron sus síntomas dos días después de aparecer éstos en la madre (Karakis *et al.*, 2000).

En setiembre de 1997, se rastreó un brote de CFP en las afueras de Melbourne a 16,2 kg de pescado *Labridae* (Maori Wrasse) importado en Victoria del Arrecife Trunk en Queensland. Treinta personas asistentes a un banquete en un restaurante asiático consumieron al menos uno de los cuatro platos preparados con la carne y vísceras del pescado. Treinta de ellos informaron de uno o más síntomas, principalmente gastrointestinales y/o en 18 casos, neurológicos. Se observaron diecisiete casos en cuatro hospitales diferentes con nueve tratados con manitol parenteral. Nueve de dieciocho casos manifestaban aun síntomas pasadas 10 semanas del episodio (Ng y Gregory, 2000).

Dos pacientes masculinos fueron admitidos en 1998 a un hospital en Herston, Queensland con síntomas de CFP, incluso toxicidad cardíaca. En un paciente, los síntomas cardíacos se resolvieron al cabo de tres días y los restantes en los 14 siguientes. En el segundo paciente, todos los síntomas se normalizaron en seis semanas (Miller *et al.*, 1999).

De 1990 a 2000, se registraron en total 132 casos de CFP en 10 brotes. No se incluyen en este total un promedio estimado de 48 casos anuales de CFP en Queensland, que incrementaría el total para los diez años a 612 casos (Sumner y Ross, 2002).

Nueva Zelanda

En 1997 se notificaron tres casos importados (Crump *et al.*, 1999a). Un hombre de 42 años se presentó en un hospital de Christchurch con síntomas de CFP a las tres semanas de regresar de Fiji. En Fiji, desarrolló síntomas de CFP a las tres horas de consumir pescado asado. El paciente requirió por un tiempo terapia respiratoria de apoyo. La disestesia de manos y pies persistió por semanas, resolviéndose luego de un tratamiento de cinco días con amitriptilina (Crump *et al.*, 1999a).

Tonga

Se informó de un caso de CFP asociado con ingestión de cindaria (medusas y otros invertebrados relacionados). Las cindaria no han sido asociadas previamente con intoxicaciones directas por ciguatera en seres humanos. Una niña de 12 años de Tonga había ingerido medusas unas dos horas antes de que aparecieran los síntomas gastrointestinales y neurológicos característicos de la CFP. Todas las demás personas que habían consumido las medusas no tenían síntomas, lo que podía indicar una intoxicación previa con ciguatoxina con sensibilización y reaparición de los síntomas con una nueva exposición. Se analizaron ciguatoxinas en muestras de suero. El ensayo de ciguatoxinas dio 3,5 (en una escala de 1 a 5), valor muy positivo, y comparable con otros obtenidos previamente de víctimas agudas de CFP. No se pudo obtener una muestra de las medusas servidas en la comida ni especificar la fuente o especie (De Fouw *et al.*, 2001).

7.8 Reglamentación y seguimiento

Existen muy pocos reglamentos específicos para la ciguatoxinas (Van Egmond, *et al.*, 1992). En algunas zonas, se han adoptado medidas de salud pública que prohíben la venta de pescados de alto riesgo originarios de lugares conocidos como tóxicos. Vedas de este tipo se han usado en la Samoa Americana, Queensland, la Polinesia Francesa, Fiji, Hawaii y Miami. Las vedas tuvieron aparentemente cierto éxito, aunque con pérdidas económicas asociadas (De Fouw *et al.*, 2001).

7.8.1 Europa

En la UE, está vigente la Directiva del Consejo 91/493/EEC (EC, 1991b), que establece las condiciones sanitarias para la producción y puesta en el mercado de productos de la pesca. Esta directiva indica: “Estará prohibida la puesta en el mercado de los productos siguientes; productos de la pesca con biotoxinas, como las toxinas de la ciguatera”, sin otros detalles específicos sobre metodología analítica.

En Francia, esta directiva está incorporada a la legislación francesa y es aplicable a los productos importados desde fuera de la UE. El reglamento permite la importación de algunas especies de pescados de mar, en una lista positiva (De Fouw *et al.*, 2001).

7.8.2 América del Norte

Estados Unidos de América

Los principales lugares afectados son Hawaii, Puerto Rico y la Florida. No existen ni normas ni un método oficial. Por este motivo, no hay programas de ensayo efectivos para CFP y la medida sanitaria más ampliamente empleada para su prevención es la prohibición de vender especies de pescado reconocidas como potencialmente tóxicas, o para las que se han informado algunos brotes de CFP. (Fernández, 1998; Van Egmond *et al.*, 1992)

En Hawaii se ha establecido un programa limitado que emplea un inmunoensayo. Los pescados con resultados positivos se consideran peligrosos y son retirados del mercado (Van Egmond *et al.*, 1992).

7.8.3 Oceanía

Australia

En Platypus Bay, Queensland, para reducir sus impactos adversos, hay veda para la captura de carite estriado Indo-Pacífico (*Scomberomorus commersoni*) y de barracuda (*Spyraena jello*), conocidas como potencialmente contaminadas con ciguatera. Los carnívoros de arrecifes como anguilas morena, lubinas roja y *Symphorus nematophorus*, entre otros, considerados desde hace tiempo como portadores habituales de ciguatera, no son ya comercializados en Australia (De Fouw *et al.*, 2001).

