

LAS BIOTOXINAS MARINAS EN LOS ALIMENTOS

Biotoxines marines in food

Teresa del Carmen Montenegro Salazar*

Las biotoxinas marinas son sustancias tóxicas acumuladas en los moluscos bivalvos por ingestión de plancton que contiene dichas toxinas. El aumento de la concentración de ciertos organismos componentes del [plancton](#) , bajo ciertas condiciones ambientales, produce un aumento explosivo de organismos fitoplanctónicos, que se conoce como

floreCIMIENTO, floraciones algales, bloom, aguajes o mareas rojas. El estudio de las mareas rojas ha sido de particular importancia en la historia, dada su reiterada presencia en el tiempo a lo largo del litoral causando en muchos casos, no siempre, grandes cambios de coloración del agua debido a los pigmentos con los que captan la luz del sol.



Figura 1: Marea roja

Los moluscos son uno de los productos de la pesca más consumidos. Se caracterizan por poseer concha, que puede ser interna (cefalópodos, entre lo que destacan los animales del tipo calamar, entre otros) o externa, la cual se puede estructurar como dos tapas duras denominadas valvas. Debido a esta característica se les denomina moluscos (poseen concha) bivalvos (dos valvas).

Este tipo de animales nos interesa desde el punto de vista de la seguridad alimentaria porque se alimentan por filtración, se

encuentran en contacto con el fondo o lodo y se pueden consumir crudos.

La marea roja no es un peligro para la especie de moluscos bivalvos, pero sí lo es para las personas o consumidores potenciales. De los miles de tipos de mareas rojas, sólo un bajo porcentaje son dañinas para el ser humano (10% aproximadamente del total). Las microalgas dañinas se concentran en los moluscos bivalvos tales como los choritos, almejas, ostras, choros, navajas, machas, concha de abanico, palabritas, mejillones, entre otros.

*Doctora en Ciencias. Docente de la Facultad de Obstetricia y Enfermería de la USMP.

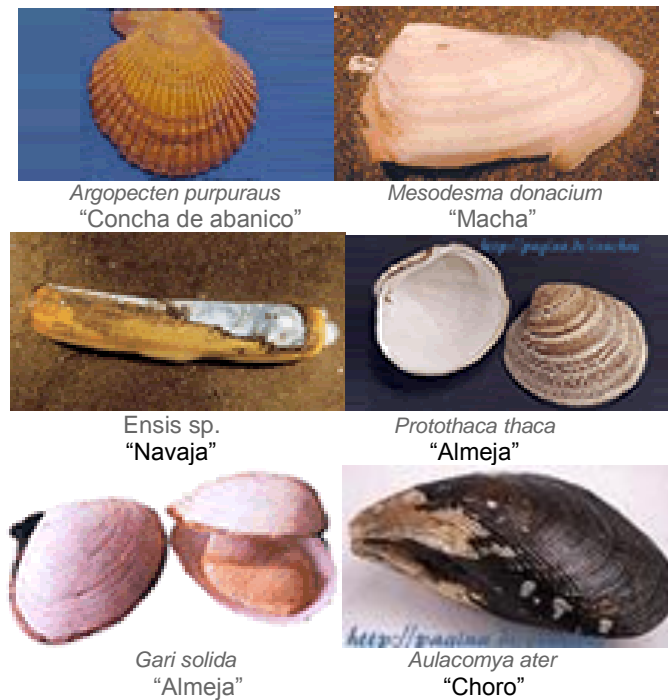


FIGURA 2: Principales especies de moluscos bivalvos

Las biotoxinas marinas son responsables de un amplio número de enfermedades transmitidas por los productos pesqueros. Las toxinas conocidas son: Tetrodotoxina, Ciguatera, PSP (toxina paralizante de los moluscos), DSP (toxina diarreica de los moluscos), NSP (Toxina neurotóxica de los moluscos) y ASP (Toxina amnésica de los moluscos), AZP (Toxina azaspirácida de los moluscos).

Estas toxinas marinas alteran dos propiedades esenciales: la primera es la de no permitir una buena permeabilidad celular de iones como el sodio, potasio, calcio, cloruro ni tampoco de agua y nutrientes, y la segunda es la de alterar la intercomunicación entre células debido a una alta afinidad de unión de la toxina a los receptores de membrana.

INTOXICACIÓN PARALIZANTE DE LOS MOLUSCOS (PSP)

Los dinoflagelados que causan estas toxinas son las del género *Alexandrium* (*A. tamarensis*, *A. minutum*, *A. catenella*, etc) conocido también

como *Gonyaulax*. Las toxinas PSP son un grupo de 21 tetrahidropurinas. La saxitoxina es

la más tóxica y la primera que se sintetizó (un derivado cristalino) en 1975.

Propiedades químicas y estructura

Los compuestos de la tetrahidropurina (un anillo de perhidropurina y dos de guanidina) se dividen en cuatro grupos:

- 1) Carbamato. Tenemos la saxitoxina, neosaxitoxina y las gonyautoxinas del uno al cuatro.
- 2) N-sulfo-carbamoil. Tenemos gonyautoxina cinco y seis y gonyautoxina C1, C2, C3 y C4.
- 3) Decarbamoil (dc). Las mismas que las del grupo uno, pero en lugar de un grupo carbamato tenemos un grupo hidroxilo.
- 5) Desoxidecarbamoil (do). Tenemos do-saxitoxina, do-neosaxitoxina, do-gonyautoxina1.

La actividad tóxica se encuentra en el grupo dihidroxi del anillo heterocíclico de cinco carbonos. Son estables a pH ácido e inestables en medio básico donde se oxidan fácilmente; están ionizados positivamente en sus grupos amino.

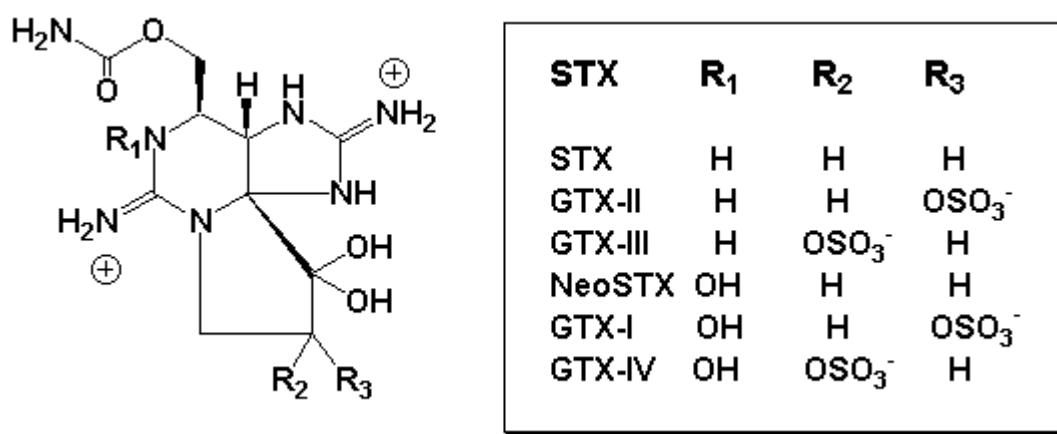


FIGURA 3: SANITOXINAS

Método de análisis

El método tradicional es el bioensayo en ratones. El procedimiento era inyectarles intraperitonealmente 1 ml. de extracto de moluscos a ratones de 20 gramos de peso. El nivel de dilución que les ocasionaba la muerte en 15 minutos se definió como unidad ratón (UR) equivalente a 0,18 microgramos de saxitoxina. La dosis mínima letal para el ser humano es de 4 mg, siendo la dosis de 1 mg. una intoxicación leve.

También se realizan ensayos *in vitro* con cortes de hipocampo y mediante el bloqueo de canales de sodio.

Se pueden realizar también inmunoensayos ELISA de absorción enzimática mediante la interacción antígeno anticuerpo.

Análisis químicos caben destacar las técnicas fluorométricas y calorimétricas, técnicas de cromatografía, de electroforesis y espectrometría de masas.

Disponibilidad y mecanismos

La filtración transporta las células de dinoflagelados al esófago y estómago de los moluscos. Allí las toxinas se liberan y entran a los órganos digestivos. El mayor porcentaje de toxicidad se encuentra en las vísceras (alrededor de un 96%). Una vez que se han

absorbido estas toxinas pueden sufrir algún tipo de biotransformación. Por ejemplo, la epimeración de la saxitoxina entre un hidrógeno y un grupo sulfónico disminuye la toxicidad, o la separación de un grupo sulfato mediante hidrólisis ácida aumentando la toxicidad.

Algunos bivalvos tienen mayor tendencia a eliminar estas toxinas rápidamente antes que otros. Por ejemplo, algunos tipos de vieira (concha de abanico) tienen gran capacidad de acumular toxinas con una tasa de eliminación lenta. Así también los mejillones acumulan más toxinas que las ostras.

Los mecanismos de acción de la saxitoxina son muy parecidos a los de la tetrodotoxina. Ambos bloquean selectivamente los canales de sodio dependientes de voltaje, que se encuentran en el músculo esquelético y cardíaco, impidiendo la propagación del potencial de acción. El tiempo de bloqueo depende de la velocidad de disociación de la toxina, pero la duración de la apertura del canal es función de la concentración.

El ser humano absorbe la toxina a través del tracto gastrointestinal y la ruta de eliminación principal es la orina. Los síntomas pueden aparecer a los pocos minutos de ingerirlos y suelen derivar en insensibilidad en los labios, manos y pies dificultando la movilidad e incluso se puede llegar al coma o la muerte. La barrera hematoencefálica no se ve afectada ya que las moléculas de saxitoxina son hidrosolubles.

Las PSP con grupos N-sulfocarbamoil son menos tóxicas, pero si en condiciones ácidas

(jugos gástricos de ratón manipulados a pH 1,1) se transforman en grupos carbamoil, su toxicidad aumenta considerablemente.

Reglamentación en Europa

La Unión Europea ha determinado el límite de toxinas PSP en 80 microgramos equivalentes de saxitoxina por cada 100g. de producto. Asimismo, estableció el tratamiento térmico como método de eliminación parcial para hacer comercializables los moluscos y aptos para su consumo. Los síntomas leves se deben a valores del orden de 120-300 microgramos de STX por persona.

INTOXICACION DIARREICA DE LOS MOLUSCOS (DSP)

Las toxinas DSP se acumulan en el tejido adiposo de los bivalvos.

Propiedades químicas y estructura

Son sustancias liposolubles y se clasifican en tres grupos: En el primer grupo están el ácido okadaico (AO) y sus derivados, las dinofisistoxinas (DTX). Estas toxinas inhiben la actividad enzimática de la serina-treonina fosfatasa, que está relacionada con la inflamación del tracto intestinal y la diarrea. El AO, la DTX 1 y la DTX 2 pueden estar aciladas con una serie de ácidos grasos saturados e insaturados desde el C 14 al C 18.

El segundo grupo de toxinas están compuestas por lactonas poliéter del grupo de las pectenotoxinas (PTX), de las que se conocen 10.

El tercer grupo esta formado por un compuesto sulfatado, la yesotoxina (YTX), un poliéter tipo brevetoxina y su derivado la 45-hidroxiyesotoxina (45-OH-YTX). Se ha observado en ratones que la yesotoxina no causa diarrea y si esta desulfatada daña el hígado.

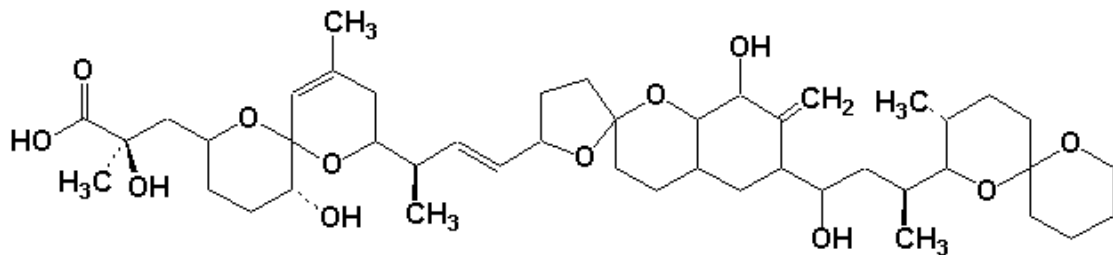
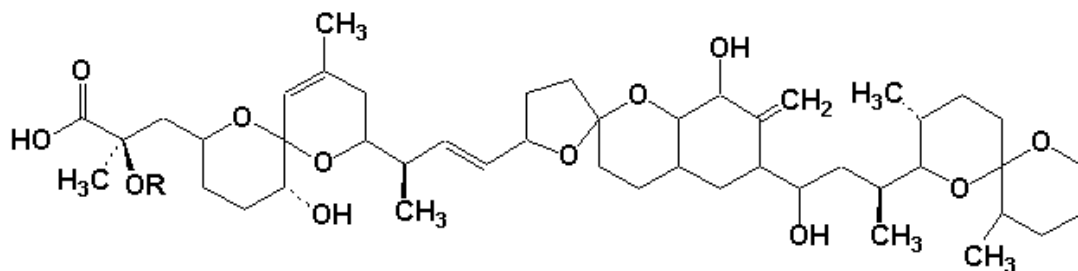


Figura 4: Acido Okadaico



DTX	R
DTX1	H
DTX3	Ac

Figura 5: Dinofisistoxina

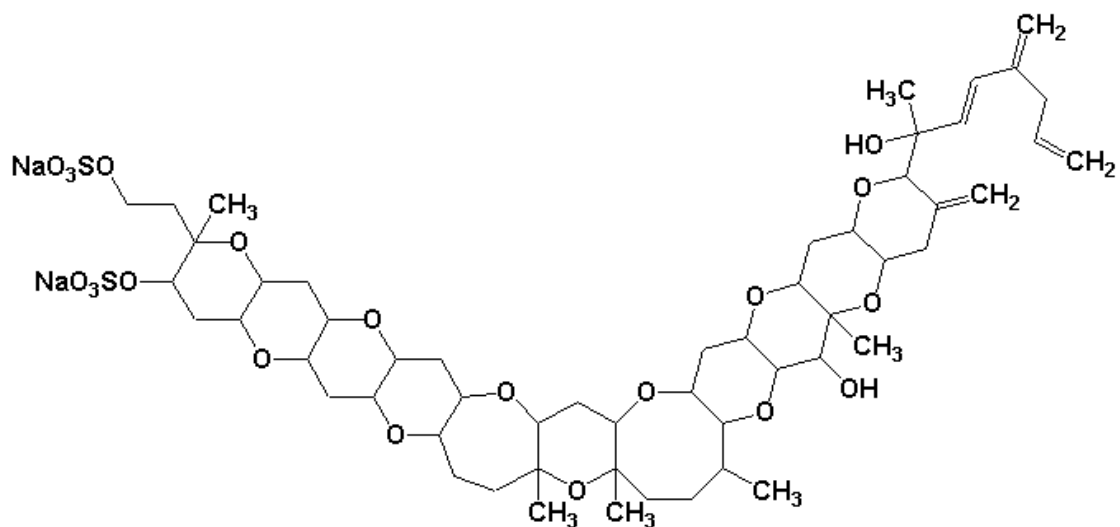


Figura 6: Yesotoxina

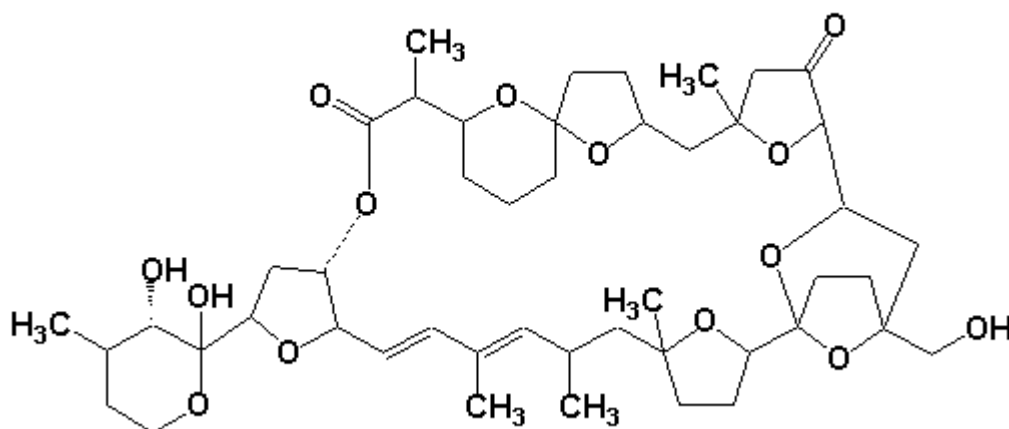


Figura 7: Pectenotoxina

Métodos de análisis

El método más utilizado aquí también es el bioensayo en ratones. Los métodos analíticos utilizados son la cromatografía líquida con detección fluorométrica, acoplada a espectrometría de masas, inmunoensayos y ensayos de inhibición de la fosfatasa.

Disponibilidad y mecanismos

Los moluscos acumulan fácilmente estas toxinas diarreicas pero se desconoce el tiempo de retención. El orden de toxicidad varía: el

mejillón es el más tóxico seguido de las vieiras (conchas de abanico) y luego las ostras. El componente tóxico principal es el ácido okadaico. Este provoca una contracción de larga duración en el músculo liso ya que inhibe la fosfatasa de la miosina.

Los niveles de toxicidad en el ser humano son de no más de 2 microgramos de AO o 1,8 microgramos de DTX 1 por gramo de hepatopáncreas. Los síntomas son diarreas, náuseas, vómitos y dolores abdominales; no tiene efectos letales. Las tres toxinas DSP a destacar en su efecto diarreico son el AO, la DTX 1 y la DTX 2.

Reglamentación en Europa

En 2002 se estableció el límite de la suma de AO más DTX y PTX en 160 microgramos de equivalente por kilogramo de producto. La concentración máxima YTX es de 1 mg. equivalente por kilogramo de producto.

INTOXICACION AMNÉSICA POR MOLUSCOS (ASP)

También es conocida como intoxicación por ácido domoico (DAP: domoic acid poison). Aparece en floraciones de diatomeas del género *Pseudo-nitzschia* cuyo hábitat se encuentra en

los océanos Atlántico y Pacífico, Nueva Zelanda y mar de Japón.

Propiedades químicas y estructura

El ácido domoico es un aminoácido cristalino y soluble en agua. Es una potente toxina de la clase de los compuestos cainoides. Produce despolarización al unirse a receptores específicos de neurona. Al poseer un cromóforo fuerte se puede detectar mediante espectroscopía ultravioleta.

Tiene 8 isómeros geométricos y un diastereómero.

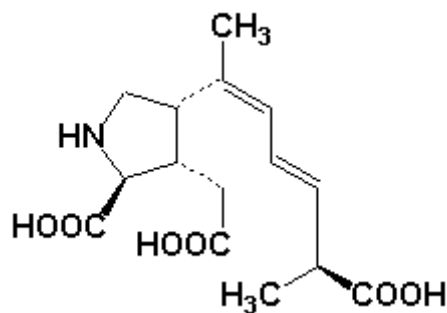


Figura 8: Ácido domoico

Distribución y mecanismos

Los niveles de absorción mediante filtración dependen según la especie y zona, y están en función de la cantidad de células de microalgas que se encuentren disponibles. La eliminación también depende según esté almacenada en el tracto gastrointestinal (eliminación más rápida) o en los tejidos. En la almeja y la ostra el ácido domoico reside básicamente en los intestinos.

Los mecanismos de acción tienen lugar en los receptores de aminoácidos excitables como el L-glutamato y L-aspartato y en la transmisión sináptica. El ácido domoico se une a receptores del tipo quisqualato y a la N-metil-D-aspartato (NMDA) abriendo los canales de sodio y despolarizando la membrana. Permite también la entrada de calcio pudiendo provocar la muerte celular. Estas acciones se pueden evitar con feniclidina y APV (D-2-amino-5-fosfonovalerato).

Los síntomas más comunes en el ser humano son vómitos, calambres abdominales, dolor de cabeza y pérdida de memoria. La concentración máxima permitida es de 20 mg. de ácido domoico por kilogramo de producto.

INTOXICACIÓN NEUROLÓGICA POR MOLUSCOS (NSP)

Se produce debido a las brevetoxinas poliéteres que producen los dinoflagelados *Gymnodinium breve*.

Propiedades químicas y estructura

Las brevetoxinas son poliéteres cíclicos de entre 10 y 11 anillos, estables al calor y a los ácidos, solubles en lípidos. En la posición 5 se dan uniones específicas a los canales de sodio produciendo un efecto tóxico.

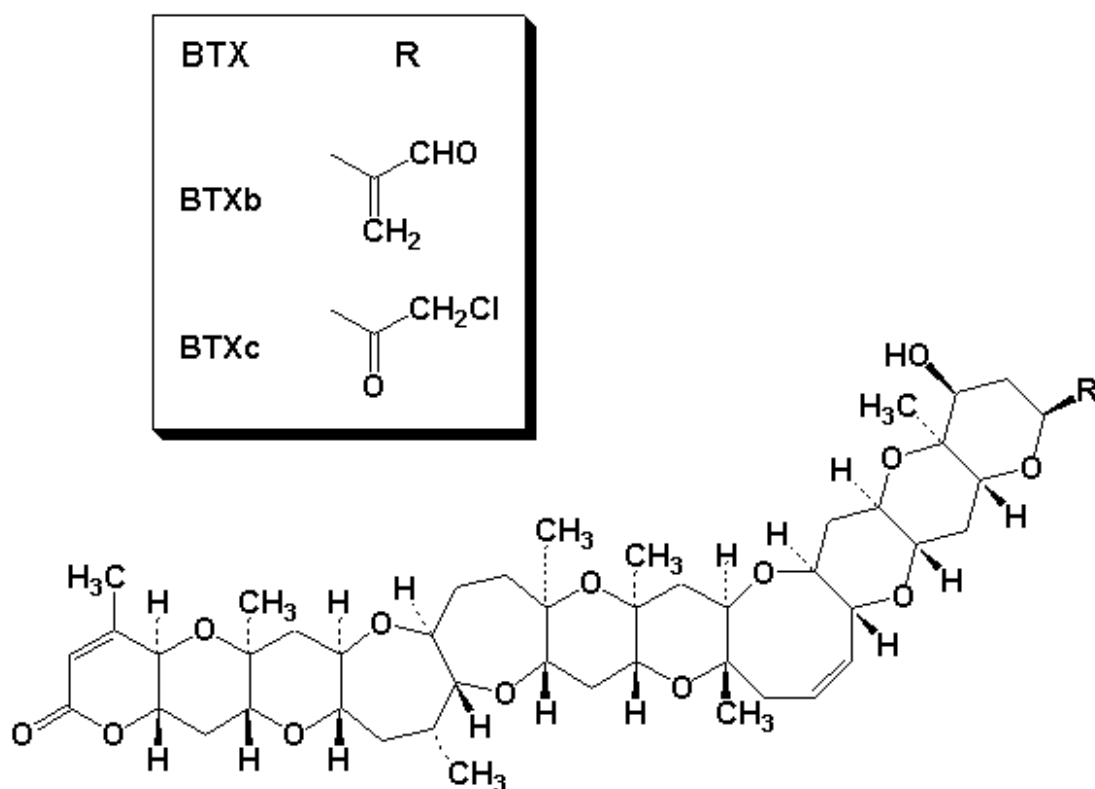


Figura 9: Brevetoxina

Distribución y mecanismos

La absorción depende de la especie al igual que su biotransformación que es específica también para cada especie. Por ejemplo, en presencia de 5.000 células por ml., las ostras son capaces de incorporar las toxinas en menos de 4 horas y eliminarlas en menos de 36 horas. Puede haber cambios conformacionales en los anillos de las brevetoxinas disminuyendo su capacidad tóxica. Son inhibidores enzimáticos de las proteinasas lisosomales que se encuentran en células fagocíticas como los macrófagos y los linfocitos, pudiendo tener por tanto efectos inmunológicos. Una exposición en aerosol de la brevetoxina también produce toxicidad, por ejemplo dificultades respiratorias, conjuntivitis y catarros. Los síntomas por consumo son vómitos, diarrea, sudoraciones, arritmias, calambres, parálisis y coma. También existe toxicidad por contacto directo, por ejemplo, al nadar cerca de floraciones, produciendo irritaciones en los ojos y fosas nasales.

No se deben superar valores de 80 microgramos por 100 gramos de producto.

INTOXICACIÓN POR AZASPIRÁCIDA EN MOLUSCOS (AZP)

En un principio se pensó que la toxina era la DSP ya que producía síntomas similares. Finalmente se aisló la azaspirácida.

Propiedades químicas y estructura

La azaspirácida se extrajo de mejillones irlandeses. Es un sólido amorfo sin color. También se han aislado cuatro análogos. Dos de ellos eran la 8-metilazaspirácida y la 22-demetilazaspirácida. Poseen una amina cíclica y no tienen anillo carbocíclico ni de lactona.

Distribución y mecanismos

La mayor parte se acumula en las glándulas digestivas y pueden migrar a otros tejidos. Sus

mecanismos de acción se desconocen hasta el momento.

Reglamentación en Europa

En 2002 se concluyó que los niveles máximos fuesen de 160 microgramos por kilogramo de producto.

Los métodos de bioensayo en ratones son los más comunes, considerándose el ensayo de referencia en caso de discrepancia. Como métodos analíticos se usan cromatografía líquida de fluorescencia, de espectrometría de masas y los inmunoensayos.

CIGUATERA

Producida principalmente por el dinoflagelado *Gambierdiscus toxicus*. Este dinoflagelado crece alrededor y en el interior de los arrecifes tropicales de coral. El envenenamiento por ciguatera resulta de la ingestión de pescados de aguas tropicales o cálidas alimentados con este dinoflagelado.

Síntomas: gastrointestinales y neurológicos. Pueden durar 2 o 3 días o persistir por semanas. La muerte puede producirse por colapso nervioso.

TETRADOTOXINA

No es producida por algas. La tetradotoxina se encuentra en el hígado, ovarios e intestinos de varias especies de pez globo, siendo los más tóxicos los de la familia *Tetraodontidae*; pero no todas las especies de esta familia contienen la toxina. El mecanismo por el cual la toxina es producida es desconocido, aunque aparentemente estarían involucradas bacterias.

Síntomas: aparecen de 10 a 45 minutos después de la ingesta. Hormigueo en rostro, extremidades, parálisis, colapso respiratorio y cardiovascular. En algunos países, la vigilancia de las aguas permite dar el primer aviso de mariscos potencialmente tóxicos.

Esto se consigue mediante la observación directa del color del agua ("marea roja"), examen microscópico del fitoplancton para identificar las especies sospechosas e incluso el monitoreo de manchas marinas con tecnología satelital.

Desde el punto de la salud pública, la clave de la determinación es la concentración de toxinas en los pescados o en los mariscos. Esto requiere el muestreo y el análisis de animales indicadores o de animales representativos. Los mejillones son con frecuencia los animales indicadores de elección ya que manifiestan una captación de toxinas más rápida, pero se puede analizar otro marisco por razón de su importancia comercial o por la especificidad de la toxina implicada. La prueba más universal es el bioensayo del ratón y en la mayoría de los casos es la única prueba legalmente admisible para la suspensión de la captura. En los últimos años, los análisis químicos han adquirido una gran aceptación porque son más rápidos, más exactos y, desde el punto de vista social, menos censurables que las pruebas animales.

Gran parte del continente americano ya tiene conocimiento razonable sobre la identidad de las principales especies causantes de distintos síndromes tóxicos y eventos nocivos, su época de aparición y las zonas de máxima incidencia. No obstante, existen aún regiones con alto riesgo de aparición de brotes tóxicos sobre las que no existe información disponible. En tal sentido, en los últimos años se han intensificado los programas de seguimiento de microalgas nocivas y biotoxinas en diferentes regiones y se han creado programas nuevos que responden a las demandas sociales de la región objeto de estudio, que sean realizables con los medios materiales y recursos humanos disponibles. El objetivo prioritario es cuidar la salud pública mediante el control de biotoxinas en productos destinados al consumo humano, proteger el mercado de los productos marisqueros constituyendo una red de alerta temprana de los episodios tóxicos/nocivos y adquirir una capacidad de predicción de la iniciación, duración y desaparición de los episodios.

En países como el nuestro, las exigencias de los países importadores han conducido a una notable intensificación de los controles de toxinas en los mariscos y la aplicación de métodos y adopción de los niveles regulatorios.

Actualmente, la marea roja tiene difícil solución, porque los científicos aún no conocen claramente sus causas. También es difícil evitar su propagación, ya que los mares no tienen

barreras absolutas y de una región se extiende a las vecinas. Son pocos los medios de prevención que evitan la contaminación de las costas con estos dinoflagelados, o diatomeas fitoplanctónicas, siendo importante controlar la presencia de estas especies tóxicas y la acumulación de toxinas en los moluscos. En los últimos años adicionalmente, por diversos motivos como la mayor polución, se ha producido un aumento de mareas tóxicas, así como de su frecuencia e intensidad, siendo su distribución geográfica cada vez más amplia.

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

El consumidor como medida preventiva deberá comprar moluscos que hayan sido capturados en zonas de cultivo adecuadamente controladas (toxinas y especies planctónicas), comprando productos adecuadamente etiquetados y con la correspondiente marca sanitaria. No deberá consumir moluscos capturados por el mismo consumidor u obtenidos fuera de los circuitos comerciales habituales como ventas ambulantes. Se debe recordar que la cocción, el vinagre o el limón no destruirán las toxinas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Allenmark, S., Chelminska-Bertilsson, M., Thompson, R.A., N-(9-acridinyl)-bromoacetamide - a powerful reagent for phase-transfer-catalyzed fluorescence labeling of carboxylic acids for liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 1990. 185:279-285.
2. Anónimo. DECISIÓN DE LA COMISIÓN de 15 de marzo de 2002 por la que se establecen normas detalladas para la aplicación de la Directiva 91/492/CEE del Consejo en lo que se refiere a los niveles máximos y los métodos de análisis de determinadas biotoxinas marinas en moluscos bivalvos, equinodermos, tunicados y gasterópodos marinos. *Diario oficial de las Comunidades Europeas* 2002. L75: 65-66.
3. Amzil, Z., Pouchus, Y.F., Le Boterff, J., Roussakis, C., Verbist, J.F., Marcaillou-Lebaut, C., and Masselin, P. Short-time cytotoxicity of mussel extracts: a new bioassay for okadaic acid detection. *Toxicon.* 1992. 30:1419-1425.
4. AOAC. 1995a. Domoic acid in mussels. Sec. 49.9.02, Method 991.26. In: *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 16th ed., P.A. Cunniff (Ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International; 1995: 48-49.
5. AOAC. 1995b. Paralytic shellfish poison: Biological method. Sec. 35.1.37, Method 959.08. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 16th ed., P.A. Cunniff (Ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International; 1995: 22-23.
6. Burgessa, V.; Shaw, G. Pectenotoxins — an issue for public health. A review of their comparative toxicology and metabolism. *Environment International* 2001. 27: 275–283.
7. Delaney, J.E. Bioassay procedures for shellfish toxins. Ch. 4, In *Laboratory Procedures for the Examination of Seawater and Shellfish*, A.E. Greenberg and D.A. Hunt (Eds.), p. 64-80. Am. Publ. Health Assoc., Washington, DC. 1985.
8. FDA. Natural Toxins. Ch. 6. In: *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance*. 3rd ed. Washington, DC: Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, 2001: 73-82.
9. Garthwaite, I. Keeping shellfish safe to eat: a brief review of shellfish toxins, and methods for their detection. *Trends in Food Science and Technology*, 2000. 11: 235-244.
10. Hamano, Y., Kinoshita, Y., Yasumoto, T. Suckling mice assay for diarrhetic shellfish toxins. Cited in Anderson, D.M., White, A.W., Baden, D.G. (Eds.). *Toxic Dinoflagellates*, p. 383-388. Amsterdam: Elsevier; 1985.
11. Northwest Fisheries Science Center. Harmful algal blooms [internet] [Acceso: 30/9/06] En: http://www.nwfsc.noaa.gov/hab/habs_toxins/index.html
12. Hartfield, C.L.; Wekell, J.C.; Gauglitz, E.J., Jr., and Barnett, H.J. Salt clean-up procedure for determination of domoic acid by HPLC. *Natural Toxins*, 1994. 2: 206-211.

13. James, K.J.; Furey, A.; Lehane, M.; Ramstad, H.; Aune, T.; Hovgaard, P.; Morris, S.; Higman, W.; Satake, M.; Yasumoto, T. First evidence of an extensive northern European distribution of Azispiracid Poisoning (AZP) toxins in shellfish. *Toxicon*, 2002. 40:909-915.
14. James, K.J.; Furey, A.; Lehane, M.; Ramstad, H.; Aune, T.; Hovgaard, P.; Morris, S.; Higman, W.; Satake, M.; Yasumoto, T. First evidence of an extensive northern European distribution of Azispiracid Poisoning (AZP) toxins in shellfish. *Toxicon*, 2002. 40:909-915.
15. Kryszewski, S.; Fremy, J.M. Phycotoxines et produits de la mer: risques sanitaires associées et mesures de prévention. *Revue Française des Laboratoires*, 2002. 348: 29-38.
16. Lawrence, J.F.; Charbonneau, C.F., and Ménard, C. Liquid chromatographic determination of domoic acid in mussels, using AOAC paralytic shellfish poison extraction procedure: collaborative study. *J. AOAC Int*, 1991. 74:68-72.
17. Lawrence, J.F. and Ménard, C. Confirmation of domoic acid in shellfish using butyl isothiocyanate and reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 1991. 550:595-601.
18. Lewis, R.J., Sellin, M., Poli, M.A., Norton, R.S., MacLeod, J.K., and Sheil, M.M. Purification and characterization of ciguatoxins from moray eel (*Lycodontis javanicus*). *Toxicon*, 1991. 29(9):1115-1127.
19. Manger, R.L., Leja, L.S., Lee, S.Y., Hungerford, J.M., Hokama, Y., Dickey, R.W., Granada, H.R., Lewis, R., Yasumoto, T., and Wekell M.M. Detection of sodium channel toxins: Directed cytotoxicity assays of purified ciguatoxins, brevetoxins, saxitoxin, and seafood extracts. *J. AOAC Int*. 1995. 78(2):521-527.
20. Manger, R.L., Leja L.S., Lee, S.Y., Hungerford, J.M., Kirkpatrick, M.A., Yasumoto, T., Wekell, M.M.. Detection of paralytic shellfish poison by rapid cell bioassay: antagonism of voltage-gated sodium channel active toxins in vitro. *J. AOAC Int*. 2003. 86(3):540-543.
21. Marr, J.C., Hu, T., Pleasance, S., Quilliam, M.A., and Wright, J.L.C. 1992b. Detection of new 7-O-acyl derivatives of diarrhetic shellfish poisoning toxins by liquid chromatography-mass spectrometry. *Toxicon* 1992. 30:1621-1630.
22. Marr, J.C., McDowell, L.M., and Quilliam, M.A. Investigation of derivatization reagents for the analysis of diarrhetic shellfish poisoning toxins by liquid chromatography with fluorescence detection. *Nat. Toxins* 1994. 2(5):302-311.
23. Poli, M.A. and Hewetson, J.F. Antibody production and development of a radioimmunoassay for PbtX-2 type brevetoxins. In: *Proceedings of the Third International Conference on Ciguatera Fish Poisoning*, T.R. Tosteson (Ed.). Quebec: Polyscience Publ; 1992: 115-127.
24. Poli, M.A., Mende, T.J., and Baden, D.G. Brevetoxins, unique activators of voltage-sensitive sodium channels, bind to specific sites in rat brain synaptosomes. *Mol. Pharmacol* 1986. 30:129-135.
25. Quilliam, M.A.; Sim, P.G.; McCulloch, A.W., and McInnes, A.G. 1989a. High-performance liquid chromatography of domoic acid, a marine neurotoxin, with application to shellfish and plankton. *Intern.J. Environ. Anal. Chem.* 1989. 36:139-154.
26. Quilliam, M.A. and Wright, J.L.C. Methods for diarrhetic shellfish poisons. Ch. 6. In *Manual on Harmful Marine Microalgae*. G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson, and A.D. Cembella (Eds.). *IOC Manuals and Guides No. 33*. Paris: UNESCO; 1995: 95-111.
27. Tester, P.A. and Fowler, P.K. Brevetoxin contamination of *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica*: A management issue. In *Toxic Marine Phytoplankton*. E. Graneli, B. Sundstrom, L. Edler, and D.M. Anderson (Eds.). New York Elsevier; 1990: 499-503.
28. Ward, D., Bernard, D., Collette, R., Kraemer, D., Hart, K., Price, R., and Otwell, S. (Eds.) *Hazards Found in Seafoods, Appendix III*. In: *HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Point Training Curriculum*, 2nd ed., UNC-SG-96-02. North Carolina Sea Grant: Raleigh, NC; 1997: 173-188.
29. Yasumoto, T., Murata, M., Lee, J.S., and Torigoe, K. Polyether toxins produced by dinoflagellates. Cited in Natori, S., Hashimoto, K, and Ueno, Y. (Eds.). *Mycotoxins and Phycotoxins'88*. Amsterdam: Elsevier; 1989: 375-382.

Fecha de entrega: 15/10/06

Revisión: 26/11/06

Correspondencia electrónica:

tmontenegro@usmp.edu.pe

