

# CIANOBACTERIAS Y CIANOTOXINAS. IMPACTOS SOBRE LA SALUD HUMANA<sup>1</sup>.

Dra. Susana I. García

## Introducción

Los florecimientos algales ocurren naturalmente, pero son más frecuentes en aguas que han sufrido ciertas formas de interferencia humana, entre las cuales se destaca por su importancia, la eutrofización o enriquecimiento de las aguas con nutrientes, ya sea a partir de fuentes puntuales, tales como las descargas cloacales municipales, o de fuentes no puntuales como la agricultura o el endicamiento de los ríos, lo cual aumenta el tiempo de retención y de exposición del agua a la luz solar.

Las cianobacterias más frecuentemente halladas pertenecen a los géneros *Anabaena* y *Microcystis*, que producen varias toxinas (microcistinas, anabasinas, etc.) potencialmente causales de enfermedades cuando son ingeridas o por contacto con el agua a partir de la exposición recreacional. En los hospitales y clínicas, la exposición a través de la inyección intravenosa de soluciones contaminadas con cianotoxinas ha llevado a casos letales de personas.

Las poblaciones de cianobacterias pueden ser dominadas por una única especie o estar compuestas por una variedad de especies, algunas de las cuales pueden no ser tóxicas. Aún dentro de un florecimiento de una única especie puede haber una mezcla de cepas tóxicas y no tóxicas<sup>2</sup>. Algunas cepas son mucho más tóxicas que otras, algunas veces por más de tres órdenes de magnitud. Esto puede significar que una cepa extremadamente tóxica, aún cuando ocurra en pequeñas cantidades entre un número mayor de cepas no tóxicas, puede transformar en tóxico a dicho florecimiento algal.

Las cepas tóxicas y no tóxicas correspondientes a las mismas especies de cianobacterias no pueden ser separadas por identificación microscópica. Para confirmar que una cepa particular de cianobacterias es productora de toxinas, es importante aislar un cultivo puro de esa cepa, preferiblemente libre de otras bacterias y entonces detectar y cuantificar las concentraciones de toxina en el cultivo puro (ya sea por bioensayos o análisis químicos); y, si fuera posible, purificar y caracterizar totalmente las toxinas.

Para el caso de *Microcystis spp.*, los resultados reportados indican que la ocurrencia de microcistinas es altamente probable cuando dicho género está presente. A modo de ejemplo, en Portugal, los florecimientos de cianobacterias dominados por *M. aeruginosa* ocurren anualmente en varios cuerpos de agua. De las 26 cepas halladas en uno de estos florecimientos, 9 fueron identificados como toxigénicos productores de microcistinas (35%).

Hace unos años, en Portugal, se detectó una contaminación de suplementos dietarios producidos a partir de *Aphanizomenon flos-aquae* con cianobacterias toxigénicas. Todos los productos distribuidos a partir de ciertos centros comerciales de Europa y Norte América estaban contaminados con toxinas procedentes de cepas de *M. aeruginosa*.<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup> Este documento es el resultado de la traducción y resumen del libro de Ingrid Chorus y Jamie Bartram, "Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management" publicado por WHO en 1999. Algunas actualizaciones se citan en el pie de página correspondiente.

<sup>2</sup> Una cepa es un subgrupo genéticamente específico dentro de una especie particular y cada especie puede tener decenas o cientos de cepas, cada una de ellas con diferentes características.

<sup>3</sup> Martin Saker The detection of toxic cyanobacteria in drinking water supplies and in dietary supplements produced for human consumption. Laboratorio de Ecotoxicología Dr Augusto Nobre.  
[www.cimar.org/Arquivo/apresentacoes\\_2005\\_04.pdf](http://www.cimar.org/Arquivo/apresentacoes_2005_04.pdf)

A diferencia de otras sustancias químicas tóxicas, las cianotoxinas se encuentran usualmente contenidas dentro de las células cianobacterianas o unidas a ellas, y solo un pequeño porcentaje del total se halla disuelto en el agua, a menos que las toxinas se hayan liberado por el envejecimiento del florecimiento o el tratamiento con alguicidas haya causado la ruptura de las células.

A diferencia de las bacterias patógenas, estas células no proliferan dentro del cuerpo humano después de la ingesta y sólo lo hacen en el ambiente acuático.

Las cianotoxinas pertenecen a diversos grupos de sustancias químicas, cada una de las cuales muestran mecanismos de toxicidad específicos en vertebrados. Algunas cianotoxinas son potentes neurotoxinas (anatoxina, anatoxina(s), saxitoxina) y otras poseen actividad tóxica primaria sobre el hígado (microcistinas, nodularina y cilindrospermopsina). Los lipopolisacáridos, definidos como componentes estructurales de las paredes celulares de las bacterias Gram-negativas, aparentemente son la causa de ciertos efectos negativos sobre la salud, tales como gastroenteritis o respuestas alérgicas.

Se ha sugerido que la sustancia  $\beta$ -N-metilamino-L-alanina (BMAA), un aminoácido neurotóxico asociado con una compleja enfermedad demencial similar Alzheimer, con signos de parkinsonismo y de enfermedad atípica de neurona motora, es producido por una gran variedad de cianobacterias. Se cree que el BMAA es capaz de unirse a proteínas endógenas y funcionar así como una “toxina lenta” y de esta forma estar implicado en la etiología de otras enfermedades neurodegenerativas de latencia prolongada, tal como la enfermedad de Alzheimer.

En el Anexo se encuentran resumidos en una tabla los principales grupos de cianotoxinas que resultan de importancia desde una perspectiva de salud pública y de exposiciones agudas.

Las cianobacterias pueden producir varias toxinas simultáneamente y se ha caracterizado más de una microcistina a partir de una única cepa, aunque usualmente solo una o dos toxinas son dominantes para una cepa específica.

Las microcistinas se encuentran distribuidas geográficamente en cuerpos de agua dulce preferentemente. *Microcystis* es un género que no fija nitrógeno y frecuentemente es dominante bajo condiciones ricas en nutrientes (especialmente donde hay un aporte significativo de amonio), aunque también forma florecimientos en aguas menos contaminadas.

*Microcystis* sp., comúnmente *M. aeruginosa*, se relaciona más frecuentemente con florecimiento algales hepatotóxicos en todo el mundo.

A partir de la información disponible, la Organización Mundial de la Salud calculó un Valor Guía Provisional para microcistina-LR en agua de bebida de 1  $\mu\text{g}/\text{L}$ . Este valor está basado en una Ingesta Diaria Tolerable (IDA o TDI, por sus siglas en inglés) de 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Los conocimientos actuales sobre la ocurrencia de florecimientos de cianobacterias y las concentraciones de toxinas en los cuerpos de agua infestados con cepas potencialmente tóxicas muestran que los valores frecuentemente son bastante superiores a 1  $\mu\text{g}/\text{L}$ , estando alrededor de los 100  $\mu\text{g}/\text{L}$  o más. Esto coloca a las microcistinas entre las sustancias que con más frecuencia se encuentran en las aguas en concentraciones relevantes para la salud pública y con probabilidades de producir un impacto sobre la salud pública si dichas aguas se consumen sin haberse removido previamente las células cianobacterianas.

Con respecto a las tecnologías de tratamiento de aguas con microcistinas, y otras cianotoxinas, se puede decir que constituyen un nuevo desafío. Las microcistinas son péptidos cíclicos con considerable estabilidad con respecto a la degradación química y biológica. La destrucción térmica ocurre solo a temperaturas superiores a 120°C, por lo cual las microcistinas son

prácticamente insensibles a la ebullición del agua, el método más común de tratamiento del agua para beber.

Se han visto serios problemas cuando los reservorios fueron tratados con sulfato de cobre. Se está investigando si ciertos pasos del tratamiento de aguas para potabilización podrían inducir el daño de las células con liberación de toxinas, por ejemplo a partir de la pre-oxidación de las aguas que podría dañar las células pero no las toxinas, o la acumulación de grandes cantidades de material celular cianobacteriano en los filtros de las plantas de tratamiento.

## **DESARROLLO DE CIANOBACTERIAS**

En cualquier año o estación, los cuerpos de agua individuales pueden tener sus propias poblaciones de cianobacterias, y su dominancia dependerá no solo del clima sino también de condiciones geoquímicas específicas del propio cuerpo de agua. Si no hubiera grandes cambios en dichas condiciones, los florecimientos tóxicos probablemente se repetirían anualmente en aquellos cuerpos de agua que tienen historia de florecimientos tóxicos.

Los desarrollos de las cianobacterias están asociados con altas concentraciones de nutrientes. El fósforo usualmente es el nutriente clave que controla la proliferación, aunque la disponibilidad de nitrógeno puede ser una variable importante a evaluar debido a que puede influenciar en la dominancia de especies que fijan o no nitrógeno.

El fósforo total (a partir de muestras no filtradas) determina la capacidad de un cuerpo de agua para generar florecimientos de cianobacterias. Si se detecta fósforo disuelto (fosfato reactivo soluble determinado a partir de muestras filtradas) a concentraciones de solo unos pocos microgramos por litro, el crecimiento de cianobacterias y de la biomasa no está limitado por fosfato.

## **CONCENTRACIONES DE CIANOTOXINAS**

Las grandes variaciones en las concentraciones de cianotoxinas regionales, estacionales, espaciales y temporales indican que la predicción o modelado de la ocurrencia de ciertas concentraciones de toxina requiere un conocimiento comprensivo del desarrollo de la población (cepa) en diferentes tipos de ecosistemas acuáticos, así como de la variabilidad de sus “cuotas de toxinas”. Las bases de datos para tales modelos predictivos todavía deben ser compiladas.

Los estudios de laboratorio con cepas puras de cianobacterias han hallado que los factores ambientales pueden inducir cambios en la toxicidad o en la concentración de toxinas (por unidad de biomasa), pero usualmente el factor no es mayor a 3 o 4, y si se calcula por número de células, los cambios en los contenidos de toxinas son probablemente aún menores. Estos cambios inducidos por el ambiente no pueden modificar en más de tres órdenes de magnitud el contenido de toxinas medido entre cepas individuales creciendo en cultivos bajo condiciones idénticas.

La mayoría de los estudios indican que las cianobacterias producen la mayoría de las toxinas bajo condiciones que son las más favorables para su crecimiento. Por ejemplo, diferentes especies de cianobacterias tienen diferentes requerimientos de luz (*Anabaena* prefiere intensidades moderadas de luz para su crecimiento). También existen ligeras diferencias entre las temperaturas óptimas de crecimiento de diferentes cepas y especies. En la mayoría de los estudios realizados, el contenido de toxina fue mayor a temperaturas entre 18 °C y 25 °C, mientras que el contenido de toxinas disminuye con temperaturas más bajas (10 °C) o muy altas (30 °C). Los gradientes de temperatura

y luz pueden causar diferencias en el contenido de toxina de dos o tres órdenes de magnitud. Muchas, sino la mayoría de las variaciones en la toxicidad de las floraciones algales “monoespecíficas” es el crecimiento y decaimiento de cepas de la misma especie, pero con cuotas de toxina variables.

Ante grandes concentraciones de fósforo, las cepas hepatotóxicas produjeron mas toxinas (microcistinas), pero para el caso de la producción de anatoxina-a, el fósforo no tuvo efecto. Las diferencias inducidas por concentraciones bajas y altas de fósforo varían entre dos y tres veces.

Las especies no fijadoras de nitrógeno, tales como *Microcystis*, producen mas toxinas bajo condiciones ricas en nitrógeno. Las especies fijadoras de nitrógeno son no-dependientes del nitrógeno en el medio para su producción de toxinas.

Los indicios sobre el rol del hierro son contradictorios. En cultivos solo se requirió zinc para obtener un crecimiento óptimo de *M. aeruginosa* y producción de toxina.

La liberación de las toxinas al agua circundante para formar toxina disuelta parece ocurrir mas frecuentemente durante la senescencia de la célula, muerte y lisis y no por excreción continua. Por lo tanto las poblaciones de cianotoxinas en las floraciones sanas producen escasa toxina extracelular, y se han medido en un rango de 0.1-10 µg/l, en tanto que las concentraciones de toxina unida a células son superiores en varios órdenes de magnitud.

En lagos o ríos, las toxinas liberadas desde las células son rápidamente diluidas por la gran masa de agua, especialmente si se produce una agitación vigorosa por acción de los vientos o las corrientes. Sin embargo, las concentraciones de toxinas disueltas pueden ser mucho mayores en las floraciones envejecidas o en declinación. La liberación de toxinas a partir de células puede aumentar a partir de tratamientos químicos para la erradicación de las cianobacterias, especialmente por el uso de alguicidas (derivados del cobre o herbicidas orgánicos). El tratamiento de una floración con sulfato de cobre, por ejemplo, puede llevar a una lisis completa de la población de la floración en tres días y liberación de todas las toxinas al agua circundante.

#### - *Microcistinas*

Las microcistinas, por tratarse de péptidos cíclicos, son extremadamente estables y resistentes a la hidrólisis química y a la oxidación a pH neutro, manteniendo su potencia aún por encima de las temperaturas de ebullición. En las aguas naturales y en la oscuridad pueden persistir por meses o años. A altas temperaturas (40 °C) y a pH elevado o bajo se ha observado hidrólisis lenta, alcanzando el 90% de destrucción en aproximadamente 10 semanas a pH 1 y en mas de 12 semanas a pH 9. Una hidrólisis química rápida solo ocurre bajo condiciones que son improbables fuera del laboratorio, por ejemplo, en soluciones de HCl 6M a altas temperaturas.

Las microcistinas pueden ser oxidadas por el ozono y otros agentes oxidantes fuertes, y degradada por la luz ultravioleta intensa. Estos procesos tienen relevancia para el tratamiento del agua aunque resulta improbable que contribuyan a la degradación en el ambiente natural.

En condiciones de intensa radiación solar, las microcistinas pueden sufrir degradación fotoquímica lenta y procesos de isomerización, con una velocidad de reacción que aumenta por la presencia de pigmentos celulares solubles en agua. Ante la presencia de pigmentos la degradación fotoquímica de microcistinas en condiciones de intensa radiación solar puede alcanzar hasta el 90 % entre dos y seis semanas dependiendo de la concentración de pigmento y de toxina, aunque esto aún no ha sido objeto de ensayos. Una degradación mas rápida bajo condiciones de radiación solar se ha reportado en presencia de sustancias húmicas que podrían actuar como fotosensibilizantes en concentraciones de 2-16 mg/l de carbón orgánico disuelto. Aproximadamente el 40% de las microcistinas fue degradado en un día bajo condiciones de alta insolación.

Las microcistinas parecen ser retenidas solo débilmente en sólidos suspendidos totales en ríos y reservorios; usualmente no se adsorbe mas del 20% de las concentraciones totales de microcistinas.

La sedimentación de células vivas, no lisadas, por ejemplo en contacto con zooplacton o partículas fecales podría llevar a la acumulación y persistencia del material tóxico en los sedimentos. Estas células sedimentadas fácilmente pueden sufrir lisis por acción de las bacterias y protozoos del sedimento liberando rápidamente las toxinas. Debe tenerse presente que las microcistinas retenidas en las células intactas en el sedimento puede persistir por varios meses.

Se han aislado varias bacterias de las aguas de lagos y ríos, así como de los sedimentos que son capaces de degradar microcistinas. Por ejemplo, la anatoxina-a puede ser rápidamente degradada por bacterias asociadas con cianobacterias filamentosas.

La vida media de microcistina y anatoxina-a, en presencia de sedimentos de río y bacterias naturales, bajo condiciones de laboratorio, fue de cinco días.

Los estudios en cultivos indican que las microcistinas se degradan sólo muy lentamente (en el orden de semanas), cuando están dentro de células vivas. Del mismo modo, las películas de *M. aeruginosa* que se secan en las orillas de de los lagos pueden contener altas concentraciones de microcistinas por varios meses. Estas toxinas son liberadas nuevamente al cuerpo de agua cuando se resurgen. Por lo tanto, existe un potencial para la concentración localizada de microcistinas disueltas aun en ausencia de células vivas o de floraciones recientemente colapsadas.

Las microcistinas se bioacumulan en vertebrados e invertebrados acuáticos comunes, incluyendo peces (hígado de salmón) y zooplancton. Por consiguiente, hay un potencial considerable para que los efectos tóxicos se magnifiquen en la cadena alimentaria acuática. Tal biomagnificación de la toxicidad es muy bien conocida para el caso de los metales pesados y pesticidas. No hay razones para sospechar que la situación podría ser diferente con las cianotoxinas naturales. Resultan inciertos los niveles de acumulación de microcistina que serían necesarios para poner en riesgo a los seres humanos, pero seguramente dependerá de los niveles de consumo y la severidad de las floraciones tóxicas en las áreas donde se capturan los peces y mariscos para consumo humano.

#### - *Anatoxinas*

La anatoxina-a es relativamente estable en la oscuridad pero en soluciones puras en ausencia de pigmentos, sufre una rápida degradación fotoquímica bajo radiación solar. La vida media para la degradación fotoquímica es de 1-2 horas. Bajo condiciones normales de luz durante el día y la noche, a pH 8 o 10, y con bajas concentraciones iniciales (10 µg/l), la vida media de degradación de anatoxina-a fue de aproximadamente 14 días.

Se han realizado determinaciones cuantitativas de las concentraciones de toxina en cultivos liofilizados (secos y congelados), muestras de floraciones algales en ríos y de material particulado suspendido de las aguas (que puede contener también otras algas, algo de zooplancton y posiblemente material inorgánico como suelo y partículas de sedimento). Los resultados son usualmente expresados en miligramos o microgramos de toxina por gramo de peso seco. Las concentraciones mas altas de cianotoxinas publicadas a partir de muestras de floraciones, medidas por HPLC, son:

- microcistina - 7,300 µg/g peso seco en China y Portugal,
- anatoxina-a - 4,400 µg/g de peso seco en Finlandia,

- saxitoxinas - 3,400 µg/g de peso seco en Australia,
- anatoxina-a(S) - 3,300 µg/g de peso seco en EEUU.

Para los propósitos del tratamiento del agua y el manejo de salud pública, la unidad más relevante es la concentración de toxina por litro de agua, por ejemplo para relacionar las concentraciones ambientales con los niveles guía. La concentración de toxinas por litro usualmente se refiere a toxinas contenidas dentro de las células así como toxinas disueltas en el agua, y para un volumen definido de agua. Se han reportado concentraciones muy altas de microcistinas por litro de agua:

- Microcistina: mayor a 25,000 µg/l y
- Anatoxina-a(S): mayor a 3,300 µg/l.

### **TOXICIDAD DE MICROCISTINAS. Ensayos experimentales.**

*Microcystis* es el organismo que mas frecuentemente ha sido citado en los reportes de incidentes de intoxicaciones en humanos y ganado, causados por cianobacterias o sus toxinas.

#### *Toxicidad aguda y subaguda*

Microcistina-LR es la más tóxica. La DL50 por vía oral es 5.000 µg/kg en una cepa de ratones, 10.900 µg/kg en otra cepa de ratones, y mayor en ratas. Esto indica que, aún por vía oral, microcistina-LR muestra toxicidad aguda en roedores. No hay evidencia de hidrólisis de microcistinas por acción de peptidasas en el estómago ya que una cantidad significativa de microcistina-LR atraviesa la barrera intestinal y es absorbida.

Las microcistinas son primariamente hepatotoxinas. Luego de una exposición aguda por inyección i.v. o i.p. de microcistina, se observa daño hepático severo caracterizado por una disrupción de la estructura celular del hígado (debido a daños en el citoesqueleto), pérdida de la estructura sinusoidal, aumento en el peso del hígado debido a hemorragia intrahepática, shock hemodinámico, falla cardíaca y muerte. Otros órganos afectados son los riñones, pulmones e intestino.

La instilación intranasal de microcistina-LR en ratones ha producido necrosis extensa del epitelio de la mucosa nasal tanto de la zona olfatoria o respiratoria, que progresa a la destrucción de grandes áreas de tejido profundo hasta el nivel de los vasos sanguíneos.

#### *Administración oral repetida*

En un estudio en ratones, realizado bajo buenas prácticas de laboratorio (GLP), microcistina-LR pura fue administrada oralmente a grupos de 15 ratones machos y hembras en dosis de 0, 40, 200, o 1,000 µg/kg/día por 13 semanas.

El NOAEL fue 40 µg/kg por día. A dosis ligeramente superiores se observaron leves cambios en el tejido hepático tanto en algunos ratones machos como hembras. A dosis más altas todos los ratones de ambos sexos mostraron cambios hepáticos.

En un estudio de dosis orales, se aplicó extracto de *M. aeruginosa* a ratones en cinco concentraciones (equivalentes a 750 a 12,000 µg/kg por día de microcistina-YM) en el agua de

bebida durante un año. Con las concentraciones mas altas hubo aumento de la mortalidad, aumento de bronconeumonias (endémica en la colonia), y enfermedad hepática crónica. No hubo evidencia de cambios tumorigénicos en el hígado, a pesar de los daños hepáticos causados por la exposición oral crónica a microcistinas.

En otros estudios en cerdos, se administró extracto de *M. aeruginosa* a grupos de cinco cerdos en el agua de bebida por 44 días. El extracto contenía al menos siete variantes de microcistinas. Se identificó un LOAEL de 280 µg/kg/día de toxina, para daño hepático generalizado (evidencia histopatológica y cambios en las enzimas séricas).

### *Efectos sobre el desarrollo*

En una investigación sobre los efectos de la microcistina-LR sobre el desarrollo embrionario y fetal de ratones, se encontró asociación entre la administración de dosis de 2.000 µg/kg/día, con toxicidad materna y mortalidad, retardo del crecimiento fetal y la osificación esquelética, pero no con muerte fetal. No hubo otros efectos sobre el índice de masculinidad, implantación, pérdida postimplantación, o anomalías externas, viscerales o esqueléticas. El NOAEL para los aspectos de toxicidad del desarrollo fue de 600 µg/kg/día.

### *Carcinogenicidad*

En un estudio reciente se administró microcistina-LR a ratones por vía i.p., y se observó la inducción de nódulos neoplásicos de hasta 5 mm de diámetro en el hígado de los ratones expuestos. Algunos ratones fueron mantenidos hasta dos meses después de la cesación de las dosis y la autopsia reveló que los nódulos hepáticos persistieron.

En otros estudios en animales hubo evidencia de promoción tumoral. En un estudio, los autores concluyen que el consumo oral de extracto de *Microcystis* con el agua de bebida puede actuar directa o indirectamente como promotor tumoral. En dos experimentos separados, se observó un aumento dosis dependiente en el número de un biomarcador de cambios preneoplásicos en el hígado. La NOAEL por vía i.p. en este estudio fue 1 µg/kg.

### *Genotoxicidad*

No hay evidencia de respuesta mutagénica a partir de toxina purificada derivada de *Microcystis* en el Ensayo de *Salmonella* de Ames y en el test de esporulación multigénica en *Bacillus subtilis*.

En pruebas realizadas con toxina purificada derivada de *Microcystis* contra linfocitos humanos, se ha sugerido que las toxinas pueden ser clastogénicas debido al aumento de roturas cromosómicas relacionado con la dosis.

Se requieren ulteriores estudios de corto plazo con microcistinas para comprender mejor su potencial genotóxico y promotor de tumores. Tales estudios podrían ser útiles como datos preliminares para el diseño de estudios crónicos *in vivo* para evaluar el potencial cancerígeno. Con respecto al posible rol de las microcistinas en la promoción de tumores, se requieren estudios ulteriores especialmente para establecer una relación dosis-efecto para inducción de nódulos utilizando microcistina sola por varias vías de administración.

## TOXICIDAD ANIMAL

Las intoxicaciones directas de animales a partir de cianobacterias puede ocurrir por dos vías de exposición: a través del consumo de células cianobacterianas desde el agua, o indirectamente a través del consumo de otros animales que han acumulado las cianotoxinas a partir de su ingestión.

Es difícil atribuir inequívocamente a las intoxicaciones por cianotoxinas, la mortandad de ciertas poblaciones de animales acuáticos, especialmente peces. Una de las razones principales es que el colapso de una floración grande de cianobacterias puede conducir a concentraciones muy bajas de oxígeno en el agua como consecuencia del metabolismo bacteriano y la muerte de los peces ser desencadenada por la anoxia.

Las mejores evidencias para evaluar el potencial tóxico de las cianotoxinas sobre los organismos acuáticos provienen de estudios controlados en laboratorios con exposición de animales a cianobacterias tóxicas o a soluciones de cianotoxinas libres de células.

Las microcistinas son hepatotóxicos específicos en mamíferos. Luego de la exposición aguda a altas dosis, ellos pueden causar la muerte por hemorragia o falla hepática y pueden promover el crecimiento del hígado y ciertos tumores luego de la exposición crónica a bajas dosis.

Los alcaloides neurotóxicos (anatoxinas) han mostrado solo efectos agudos en mamíferos.

Un gran número de intoxicaciones animales se han registrado, algunas de las cuales han sido reportadas en detalle, mientras que otras son anecdóticas. Estos datos constituyen un importante aporte al cuerpo de conocimientos sobre la toxicidad cianobacteriana, debido a que demuestran los efectos bajo condiciones naturales de exposición. Sin embargo, la exposición a las cianotoxinas raramente ha sido cuantificada y no se puede extrapolar directamente a las poblaciones humanas.

Los experimentos en animales indican que la exposición repetida a dosis subagudas puede causar daño acumulativo en hígado en cantidades que no permitirían observar efectos dentro de las 24 horas.

### *Intoxicaciones en animales*

Numerosos casos de intoxicaciones animales (frecuentemente letales) dan sustento a las preocupaciones sobre los efectos nocivos de las cianotoxinas sobre la salud humana.

Además del consumo de cianobacterias a partir del agua, se ha sugerido que una fuente adicional de intoxicación para los animales terrestres son las cianotoxinas bioacumuladas en la cadena alimentaria. Por ejemplo, los mejillones de río acumulan microcistinas y son una importante fuente de alimentos para ratas de agua y aves.

La muerte de animales a partir de la toxicidad de cianobacterias ha sido reportada tanto en Norte América, Sudamérica, Europa, Australia y África. Las enfermedades más importantes fueron hepatotoxicosis. Las cianobacterias responsables fueron *Microcystis aeruginosa*, *Nodularia spumigena* y *Oscillatoria (Planktothrix) agardhii*. En la mayoría de los casos recientes, el examen postmortem mostró evidencia de ingestión de cianobacterias así como daños característicos del hígado.

Mientras que las muertes reportadas ocurrieron usualmente muy poco tiempo después que el animal hubiera ingerido las películas de cianobacterias del agua, también se han observado lesiones tardías con mortalidad progresiva en animales intoxicados con *M. aeruginosa*. Los



síntomas característicos son aquellos relacionados con la insuficiencia hepática con fotosensibilización secundaria, por ejemplo reacciones similares a quemaduras solares severas.

- El primer reporte de una intoxicación por cianotoxinas fue la muerte de gatos, ovejas, perros, caballos y cerdos luego de beber una película de *Nodularia spumigena* en Lake Alexyrina, Australia. La fuente de la intoxicación fue confirmada por la determinación de las cianotoxinas en un ternero muerto. Desde entonces ha habido frecuentes casos de intoxicaciones que afectaron a animales de granja a partir de floraciones algales, así como muertes de mascotas después de nadar en cursos de agua contaminados con cianobacterias o ingerirlas. Otros animales afectados también fueron patos, gansos, visones y aún rinocerontes.
- En cuanto a los efectos sobre peces, se han observado los daños de microcistina en el Salmón Atlántico en las aguas de las costas de British Columbia y Washington State, EEUU. Los peces sufrieron degeneración hepática conocida como Net Pen Liver Disease (NPLD), y ha resultado en pérdidas económicas significativas para la industria.

Una lista de incidentes seleccionados de intoxicaciones animales por microcistinas y anatoxinas se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla Nro. 1:** Ejemplos seleccionados de intoxicaciones animales asociadas con cianobacterias

País	Especies muertas	Patología	Organismo	Referencia
Argentina	Gato	Hepatotoxicidad	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Odriozola <i>et al.</i> , 1984
Australia	Oveja	Hepatotoxicidad	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Jackson <i>et al.</i> , 1984
Australia	Oveja	Neurotoxicidad, PSPs	<i>Anabaena circinalis</i>	Negri <i>et al.</i> , 1995
Canadá	Gato	Neurotoxicidad, anatoxina-a	<i>Anabaena flosaquae</i>	Carmichael y Gorham, 1978
Canadá	Aves acuáticas	Neurotoxicidad, anatoxina-a	<i>Anabaena flosaquae</i>	Pybus y Hobson, 1986
Noruega	Gato	Hepatotoxicidad, microcistina	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Skulberg, 1979
UK Inglaterra	Perros ovejeros	Hepatotoxicidad, microcistina	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Pearson <i>et al.</i> , 1990
Escocia	Peces (trucha)	Enfermedad branquial, microcistina	<i>Microcystis Aeruginosa</i>	Bury <i>et al.</i> , 1995
EEUU	Perros	Neurotoxicidad, anatoxina-a(S)	<i>Anabaena flosaquae</i>	Mahmood <i>et al.</i> , 1988

## **PELIGROS PARA LA SALUD HUMANA**

Las evidencias para los efectos adversos sobre la salud humana derivan de tres fuentes principales: la evidencia epidemiológica que incluye las intoxicaciones humanas, las intoxicaciones en animales y los estudios toxicológicos. No obstante, la evidencia epidemiológica reviste una importancia capital ya que demuestra directamente la relación entre la exposición a la toxina y los daños sobre la salud humana, lo cual no puede ser extrapolado directamente de los experimentos con animales.

Las evidencias epidemiológicas resultan de estudios realizados sobre poblaciones humanas que han mostrados signos de intoxicaciones o de enfermedades atribuibles a la presencia de cianotoxinas en el agua de bebida o de otras fuentes de agua.

La mayoría de los casos de enfermedades humanas atribuidas a las toxinas cianobacterianas ha sido estudiado retrospectivamente, y raramente se dispone de datos epidemiológicos completos, especialmente relacionados con la exposición (número de organismos, tipo y concentración de cianotoxinas).

### **Exposición humana**

Las principales vías de exposición a cianotoxinas incluyen la oral a través del agua de bebida y la dermal a través del agua de uso recreacional. Sin embargo, la muy limitada información disponible sugiere que la inhalación de aerosoles (potencialmente posible durante una ducha, práctica de ski acuático o ciertas actividades laborales) puede ser una vía de exposición igualmente importante dado que la toxicidad de la microcistina luego de la instilación intranasal se aproxima a la observada por inyección intraperitoneal (i.p.) en animales de laboratorio. En algunos países, los suplementos dietarios con cianobacterias pueden constituir una importante vía de exposición oral para pequeñas poblaciones, si los niveles de cianotoxinas en los suplementos no son controlados. Una vía específica (intravenosa) puede afectar a ciertas poblaciones susceptibles en el caso de las clínicas de diálisis renal.

La extensión o duración de la exposición a través del año es más corta si los recursos de agua son poblados por cianobacterias en estaciones específicas. En las zonas de climas templados, los cuerpos de agua dominados por el género *Microcystis* normalmente exhiben floraciones estacionales de 3-5 meses, mientras que en algunos lugares de Australia, Sudamérica y Sudáfrica, este género puede tener floraciones de 6-10 meses.

### **Toxicidad aguda**

Brotos numerosos de enfermedad humana atribuidos a la exposición a microcistinas han sido reportados en la literatura, por ejemplo en Brasil, Australia, África, Inglaterra y Escandinavia. Las muertes humanas han sido observadas como consecuencia de la exposición intravenosa a través de la diálisis renal.

Muy difícilmente las cianotoxinas pudieran ser ingeridas por seres humanos en cantidad suficiente para alcanzar una dosis letal aguda. No obstante, las dosis estimadas indican que una dosis fatal en humanos es posible si el material pelculado es ingerido. Sin embargo, dado que dicho material es tan repulsivo resulta poco probable que pueda ser deglutido.

## ***Exposición recreacional***

Las principales preocupaciones para la salud pública se relacionan con la exposición recreacional, debido a la comunicación de ciertos casos fatales que podrían atribuirse a intoxicaciones con cianotoxinas a partir de la exposición a niveles peligrosos en aguas no tratadas.

### *Ingreso al organismo a través de la ingestión oral o la inhalación*

Se pueden distinguir tres vías potenciales de exposición a cianotoxinas: el contacto directo de las partes expuestas del cuerpo, incluyendo áreas sensibles como los oídos, ojos, boca y garganta; las áreas cubiertas por el traje de baño; la deglución accidental y la inhalación de agua. Se han reportado casos de enfermedad a partir de deglución accidental e inhalación de *Microcystis* y ellos proporcionan evidencia directa de daños a usuarios de aguas recreacionales contaminadas con floraciones algales.

Los efectos sobre la salud observados en el estudio epidemiológico prospectivo de Pilotto *et al.* (1997) ocurrieron con densidades bajas de cianobacterias y guardan una clara relación con la población celular pero no con la concentración de microcistinas. Por lo tanto este peligro pareciera ser debido a otros metabolitos cianobacterianos adicionales no identificados, o a compuestos de bacterias asociadas, aun a niveles moderados de exposición.

Los efectos medidos fueron: irritación ocular, rash cutáneo, vómitos, diarrea, signos de resfrío, úlceras en la boca y fiebre. Estos signos y síntomas mostraron un "Odds Ratio" elevado (3.44) para las personas que estuvieron en contacto con el agua con mas de 5.000 células (cianobacterias) por ml, por mas de una hora. Odds Ratios similares para las mismas manifestaciones clínicas se observaron en la gente que se bañó en las aguas con 5.000-20.000 células por ml (2.71) y mas de 80.000 células por ml (2.90).

Durante la realización de deportes que implican un contacto con el agua, la exposición a las cianotoxinas probablemente ocurra a través de la incorporación por la deglución accidental, el contacto con la mucosa nasas o la inhalación.

Evidencias bien documentadas a partir de experimentos en animales y un caso de enfermedad múltiple en humanos indican que la inhalación y la absorción a través de las mucosas nasal y faríngea pueden representar un alto riesgo en los deportes acuáticos que obligan a la inmersión de la cabeza (natación, buceo, zambullidas deportivas, remo en canoas con vuelcos) o la inhalación de aerosoles (ski acuático).

Los resultados experimentales indican un peligro de daño hepático acumulativo por la ingestión repetida de microcistinas que podrían ocurrir durante unas vacaciones con baños diarios en sitios recreacionales con alta densidad de cianobacterias productoras de microcistinas. El daño hepático subagudo probablemente pase desapercibido, ya que los signos de enfermedad hepática recién se hacen evidentes cuando el cuadro es severo. Adicionalmente, la curva dosis-respuesta para el daño hepático de las microcistinas tiene una pendiente relativamente importante. Hay escasas evidencias de daño hepático agudo cuando los niveles están próximos a aquellos que podrían producir toxicidad aguda severa y la exposición es continua para las personas si no han sido informadas del riesgo (durante unas vacaciones, por ejemplo), aumentando el riesgo de daño hepático acumulativo.

Los riesgos de la ingestión son particularmente altos para niños que juegan en aguas cercanas a la costa donde las películas de cianobacterias tienden a acumularse. Debido a que el peligro de ingesta de microcistinas está directamente relacionado con los niveles de toxinas en el agua

(toxinas unidas a las células y toxinas disueltas) y el volumen de agua ingerido o inhalado, ambos datos han sido tenidos en cuenta para establecer los niveles guía para la seguridad de agua de uso recreacional.

### *Contacto directo*

Las reacciones alérgicas y tóxicodermatosis de severidad variable son conocidas a partir de la exposición a cianobacterias y otras algas de agua dulce, pero no han sido documentadas extensamente. Los trajes de baño, y particularmente los trajes de buceo, tienden a agravar tales efectos debido a la acumulación de las cianobacterias, al incremento de la disrupción celular que aumenta la liberación de las toxinas contenidas en las células sobre la piel del usuario. Los reportes provenientes de EEUU muestran reacciones alérgicas a partir de exposiciones recreacionales y en un caso se responsabilizó al pigmento ficocianina de tales manifestaciones.

Existen relatos de testigos oculares que cuentan que en Australia, Alemania y Japón los nadadores deliberadamente se cubren a sí mismos con películas de cianobacterias para ser tomados en fotografías más llamativas, y existe un caso bien documentado de intoxicación en el Reino Unido resultado de que cadetes de la armada realizaron ciertas prácticas en kayak denominadas "Eskimo rolls" inmersos en estas películas de cianobacterias.

En una sistemática revisión de la literatura sobre exposición recreacional a cianobacterias de agua dulce<sup>4</sup>, los casos reportados y las referencias anecdóticas datan desde 1949 y describen una variedad de enfermedades asociadas con la exposición recreacional a cianobacterias: síntomas similar fiebre del heno, eritemas, prurito, síntomas gastrointestinales como los más frecuentemente reportados.

Algunos reportes de reacciones cutáneas son fuertemente sugestivos de reacciones alérgicas, y síntomas tales como rinitis, conjuntivitis, asma y urticaria también indican respuestas de hipersensibilidad inmediata. Enfermedades similar-gripe involucran una constelación de síntomas que incluyen fiebre, decaimiento, mialgias, artralgias, cefalea severa, tos y odinofagia, se explican, en la opinión de los autores, por la acción en cascada de las citocinas proinflamatorias. Si es correcto, esto implica que algunos productos cianobacterianos poseen capacidad de inducir respuestas inmunes innatas, y tales respuestas pueden necesitar que se considere en términos de su potencial de producir cambios patológicos directos en el hígado y otros órganos.

Ha habido repetidas descripciones de consecuencias adversas para la salud en nadadores expuestos a floraciones de cianobacterias. Aun contactos menores con cianobacterias en aguas de baño pueden producir irritación de la piel y probabilidad aumentada de síntomas gastrointestinales.

Las cianobacterias comparten ciertas características comunes con otros alérgenos ambientales y las investigaciones han mostrado respuestas alérgicas a cianobacterias en pacientes con alergias nasobronquiales.

Algunos reportes presentan descripciones convincentes de reacciones más severas:

- Un coronel en EEUU encontró a un adolescente muerto, aparentemente como resultado de una ingestión accidental de cianotoxinas neurotóxicas en un estanque. Este es el primer

---

<sup>4</sup> Ian Stewart, Penelope M Webb, Philip J Schluter, y Glen R Shaw. Recreational y occupational field exposure to freshwater cyanobacteria – a review of anecdotal y case reports, epidemiological studies y the challenges for epidemiologic assessment. Environ Health. 2006; 5: 6. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?tool=pmcentrez&artid=1513208>

caso fatal registrado en un ser humano atribuido a la exposición a cianobacterias, aunque existen incertidumbres alrededor de la identificación forense de la cianotoxina sospechada en este caso.

- 1959 Saskatchewan, Canada. A pesar de las alertas de peligro con respecto al uso recreacional y casos de muertes en ganado, un grupo de personas nadaba en un lago infestado con cianobacterias. Trece personas enfermaron (cefalea, náuseas, dolores musculares, diarrea dolorosa). En las excretas de un paciente (un médico que había ingerido accidentalmente alrededor de 300 ml de agua) se encontraron numerosas células de *Microcystis spp.* y fueron identificados algunos tricomas de *Anabaena circinalis*.
- 1989 Reino Unido. Diez de 20 reclutas de las fuerzas armadas mostraron signos de intoxicación (p. Ej. Vómitos, diarrea, dolor abdominal central, ampollas en los labios, odinofagia) después de nadar y entrenar en una canoa en el agua donde había una densa floración de *Microcystis spp.* Dos de los reclutas desarrollaron una neumonía atribuible a la aspiración de microcistina y requirieron hospitalización y cuidados intensivos. La severidad de la enfermedad aparentemente estuvo relacionada con las habilidades de los nadadores y la cantidad de agua ingerida.

Los datos epidemiológicos son limitados. En dos estudios de cohorte en Australia se encontraron incrementos estadísticamente significativos de síntomas en los individuos expuestos a las cianobacterias, comparado con las contrapartes no expuestas, aunque la menor morbilidad parece el hallazgo principal. Otros cuatro son estudios pequeños (tres del Reino Unido y uno de Australia) que no reportan asociaciones significativas. Sin embargo, persiste la certeza del potencial para daños severos o muerte, dado que las cianobacterias de agua dulce, bajo condiciones de floraciones son capaces de producir potentes toxinas que causan disfunciones específicas y severas sobre el hígado y el sistema nervioso.

- 1995 Australia. La evidencia epidemiológica de efectos adversos a la salud después del contacto con aguas recreacionales fue establecido en un estudio prospectivo que involucró a 852 participantes. Los resultados mostraron una incidencia elevada de diarrea, vómitos, síntomas gripales, eritema, úlceras bucales, fiebre, irritación de ojos y de oídos dentro de los siete días que siguieron a la exposición. Los síntomas se incrementaron significativamente con la duración del contacto con el agua y con la densidad de cianobacterias.

La verdadera incidencia de enfermedades asociadas a cianobacterias a partir de la exposición recreacional no es conocida, probablemente debido a que los efectos son leves y autolimitados y la mayoría de las veces no requiere atención médica, o bien el desconocimiento de la enfermedad por parte del equipo de salud, sumado a que los síntomas y signos son inespecíficos, determinan que la enfermedad sea infradiagnosticada. Citando a Codd en el artículo mencionado se puede decir: “las evidencias de la asociación entre ciertas enfermedades humanas con las cianobacterias y sus toxinas está abierta a la crítica debido al déficit de una definición de caso detallada, a que los diagnósticos se han hecho por exclusión, y la identificación y cuantificación de las toxinas cianobacterianas en los incidentes de salud han estado ausentes hasta hace poco tiempo”.

Un amplio rango de agentes microbianos de aguas dulces puede causar trastornos agudos que semejan enfermedades atribuidas al contacto con cianobacterias, y a la inversa, enfermedades agudas que resultan de la exposición a cianobacterias o cianotoxinas en aguas recreacionales podrían ser infradiagnosticadas. Resulta difícil realizar una evaluación precisa de la exposición a cianobacterias en aguas recreacionales y al presente resulta poco confiable debido a que tampoco se dispone de biomarcadores específicos.

## *Otros impactos*

El uso recreacional de las aguas probablemente sea la ruta de exposición mas importante a cianotoxinas en algunas partes del mundo. El desarrollo de cianobacterias en lagos y ríos que son usados con propósitos recreacionales ha sido reconocido como una preocupación pública. Las floraciones de cianobacterias en las aguas se puede asociar con olores desagradables y una apariencia repugnante de las orillas de los lagos y ríos, especialmente cuando las películas de los organismos se acumulan y comienza el proceso de putrefacción. Las áreas con extensas películas de cianobacterias o estelas sueltas sobre la playa de los balnearios suelen ser evitadas por los nadadores o los bañistas debido a que constituyen un ambiente displacentero, particularmente si las condiciones anaeróbicas generadas localmente o las mismas cianotoxinas causan muertes de peces lo cual enfatiza el rechazo a tomar contacto con el agua. En los climas templados, la dominancia de las cianobacterias es mas pronunciada durante los meses de verano, cuando la demanda de uso de aguas recreacionales es mayor. En algunas regiones, las cianobacterias han sido muy abundantes por mas de una generación y los visitantes han aceptado esta calidad de agua como normal para su región. Existen múltiples observaciones anecdóticas de niños jugando con el material de las películas superficiales de cianobacterias en las orillas.

Probablemente, los sistemas de tratamiento capaces de remover cianotoxinas no están disponibles para las ciudades mas afectadas de nuestro país. Esos métodos, tales como la adsorción a algunos tipos de carbón activado granular, y oxidación, pueden ser efectivos en la remoción de cianotoxinas. Sin embargo, las condiciones de operación son críticas para el éxito. Si los procesos están operando solo periódicamente durante el crecimiento de las cianobacterias o el tratamiento del reservorio, el monitoreo del funcionamiento de la planta debe ser el adecuado para asegurar la remoción de las cianotoxinas.

Una iniciativa del Programa de Hidrología Internacional de UNESCO ha sido el establecimiento del CianoNet, que es una “red mundial para la gestión de los riesgos derivados de las floraciones algales de cianobacterias y las toxinas en los cursos de agua”, que incluye la publicación de los “incidentes reportados de efectos adversos para la salud incluyendo estudios de caso” y “estudios epidemiológicos e investigaciones de asociaciones entre poblaciones de cianobacterias, cianotoxinas y salud”.

## ***Exposición ocupacional***

El uso del agua a partir de fuentes que contienen floraciones de cianobacterias y toxinas para la irrigación de cultivos por sistemas de aerosoles representa un peligro potencial para la salud a través de varias vías de exposición. Los trabajadores o transeúntes pueden inhalar toxinas a partir de la deriva del spray y la piel puede tomar contacto con cianobacterias y toxinas disueltas.

No hay estimaciones de la real significación para la salud de estos aerosoles con agua conteniendo toxinas cianobacterianas. Los estudios con animales de experimentación han mostrado que el ingreso de microcistina a través de la mucosa nasal puede ser considerable. Asimismo las evaluaciones conjuntas de los signos irritativos cutáneos, el distress respiratorio y la irritación de la mucosa nasal observados después de exposiciones recreacionales, permiten concluir que debería evitarse la exposición ocupacional a aguas de irrigación aerosolizadas que puedan contener cianotoxinas y adecuar las prácticas de trabajo. La exposición incidental de animales o de humanos a dichos aerosoles también debería ser evitada.

## ***Exposición alimentaria***

En muchas áreas del mundo, la población humana local consume peces, bivalvos y otros animales que crecen dentro o cerca de cuerpos de agua contaminados con cianobacterias tóxicas. Por lo tanto, puede haber varias fuentes de exposición oral a neurotoxinas que se agregan al agua de bebida y al agua recreacional.

Hay varios indicadores que las plantas terrestres, incluyendo cultivos agrícolas pueden captar microcistinas de las aguas de riego. El desarrollo de un semillero de mostaza es inhibido si las raíces son expuestas a microcistina-LR en solución acuosa. Las microcistinas tienen varios efectos perturbadores sobre la fisiología y el metabolismo de las plantas, cuando niveles suficientes de toxina entran a las células. La proteína vegetal fosfatasa muestra una alta sensibilidad a la inhibición por microcistina-LR *in vitro*. El metabolismo de la sucrosa en las plantas es inhibido por la microcistina-LR cuando se administra en solución por inyección. También se observó inhibición de la fotosíntesis en forma global en plantas de alubias luego de la administración tópica sobre las hojas y este efecto, bajo ciertas condiciones de exposición, resultó irreversible. Estos resultados se observaron con diferentes diluciones de microcistina-LR que pueden ser halladas en aguas no tratadas de fuentes contaminadas con floraciones de cianobacterias (20 µg/l de toxina). La exposición a concentraciones elevadas mostró necrosis de las hojas. No es clara aún la relevancia de estos hallazgos para las situaciones habituales en el campo.

En adición a la posibilidad de acumulación interna de microcistinas, la irrigación puede llevar a la acumulación de toxinas sobre las superficies externas de las plantas. Las toxinas están depositadas cuando el agua se seca sobre la superficie de las plantas entre los períodos de irrigación o cuando el agua queda atrapada en el centro de ciertas plantas saladas. Ulteriores investigaciones son necesarias para conocer la incorporación y el destino de las microcistinas y otras cianotoxinas en las plantas que se utilizarán como alimentos y la persistencia de las toxinas sobre las superficies de las plantas.

## ***Agua de bebida***

Los casos registrados de enfermedad gastrointestinal y hepática que pueden ser atribuidos a toxinas cianobacterianas provenientes de fuentes de suministro de agua, en casi todos los casos han sido coincidentes con la decadencia natural de una floración de cianobacterias o con la lisis artificial de una floración por aplicación de sulfato de cobre. Ambos mecanismos llevan a la liberación de cianotoxinas a partir de la descomposición de las células. Mientras que los procedimientos de tratamiento pueden remover las cianotoxinas ligadas a las células intactas, no son efectivos para remover las cianotoxinas disueltas en estos casos.

- Los casos más tempranos reportados de gastroenteritis asociados con cianobacterias ocurrieron en la población de una serie de ciudades a lo largo del Río Ohio en 1931. En estos casos, las escasas lluvias habían causado que el agua de un brazo del río desarrollara una floración de cianobacterias la cual penetró en el curso principal del río. Debido a que el agua corría aguas abajo una serie de brotes de enfermedad fue reportado, los cuales no pudieron ser atribuidos a agentes infecciosos.
- En Harare, Zimbabwe, niños que vivían en un área de una ciudad servida desde un reservorio particular de agua, desarrollaron gastroenteritis cada año durante el tiempo que las floraciones algales de *Microcystis* decaían en el reservorio. Otros niños en la ciudad

que recibían agua de otras fuentes no fueron afectados y ningún agente infeccioso fue identificado.

- El brote más letal atribuido a toxinas cianobacterianas en agua de bebida ocurrió en 1988 en el área del dique de Itaparica, en Bahía, Brasil, cuando una nueva represa fue inundada y desarrolló una inmensa floración de cianobacterias. Durante un período de 42 días se reportaron alrededor de 2000 casos de gastroenteritis, 88 de los cuales fueron letales. No se identificó ningún otro agente infeccioso ni toxina, y los casos ocurrieron en pacientes que habían estado bebiendo solo agua hervida. En el agua no tratada se encontraron cianobacterias de los géneros *Anabaena* y *Microcystis*, en cantidades de 1.104 a 9.755 unidades por ml (la conversión de unidades de colonias a células por ml depende del tamaño de la colonia, pero un mínimo de 100 células por colonia es habitual en una floración mixta de estos géneros).
- Ejemplos de enfermedades que siguieron al uso de sulfato de cobre para destruir una floración de cianobacterias en depósitos de agua han sido descritos en los EEUU y en Australia. En un incidente, 62% de la población conectada a la red de agua clorada desarrolló síntomas de gastroenteritis dentro de un período de cinco días. Ningún patógeno fue hallado y se concluyó que una floración de cianobacterias en un reservorio abierto, que contenía más de 100,000 células por ml de *Schizothrix calcola*, *Plectonema*, *Phormidium* y *Lyngbya* había sido responsable. Dicho reservorio había sido tratado con sulfato de cobre.
- En Armidale, Australia, el reservorio que servía como fuente de agua había sido monitoreado para floraciones de *M. aeruginosa* tóxica durante varios años, desde 1970 cuando una floración particularmente densa ocurrió. Las floraciones de cianobacterias también habían sido monitoreadas para toxicidad y la toxina había sido caracterizada como microcistina-YM. Dentro de las tres semanas del desarrollo de la floración las autoridades trataron el reservorio con 1 ppm de sulfato de cobre con lo cual mataron la floración. Un estudio epidemiológico de la población local indicó la presencia de daño hepático ocurrido simultáneamente con la terminación de la floración.
- En 1981, una floración particularmente extensa de *Microcystis* fue monitoreada durante su desarrollo y subsecuente terminación con sulfato de cobre. Durante el mismo se recibieron quejas sobre el sabor y olor desagradable lo que condujo al tratamiento con sulfato de cobre del reservorio. Este evento fue usado como base para un estudio epidemiológico retrospectivo de la función hepática en la población que consumía dicha agua, comparada con la población de la misma región servida a partir de otros reservorios. Los datos de actividad de las enzimas plasmáticas que miden la función hepática (gamma glutamyl transpeptidasa, alanina amino transferasa, aspartato aminotransferasa y fosfatasa alcalina) se obtuvieron de muestras de sangre de pacientes del Laboratorio de Patología Regional que databan de las últimas seis semanas previas a la floración, de las semanas que duró la floración y de las seis semanas posteriores. Los datos fueron separados de acuerdo a que los pacientes tuvieran suministro de agua de Malpas o de otra fuente. Se observó un incremento estadísticamente significativo en los niveles de gamma glutamyl transpeptidasa en la sangre del grupo que tenía como fuente de agua Malpas durante el pico de la floración y su lisis con sulfato de cobre, comparada con la misma población antes y después, y con la otra población que tomaba agua de otra fuente. Los registros clínicos no dieron evidencia de brotes de hepatitis infecciosa o alcoholismo desproporcionado. Mientras que el aumento en la actividad enzimática fue indicativo de toxicidad hepática menor, hubo individuos dentro de la población estudiada que tuvieron actividad enzimática fuertemente elevada indicando daño hepático sustancial. Las enzimas séricas que mostraban estos cambios también habían sido usadas como indicador de toxicidad de



Microcystis en estudios experimentales con cerdos y roedores donde funciona como un efectivo indicador de injuria hepática.

- Un brote aún mas severo de toxicidad cianobacteriana en una población humana ocurrió en un isla alejada de la costa noreste de Australia. Debido a las protestas derivadas del mal olor y sabor del agua de red, la cual fuera atribuida a una floración de cianobacterias, las autoridades trataron el reservorio con sulfato de cobre. A la semana numerosos niños habían desarrollado una severa hepatoenteritis, y un total de 140 niños y de 10 adultos requirieron tratamiento hospitalizado. El organismo identificado como responsable de este episodio fue la cianobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii*.

Dentro de las poblaciones humanas, por una variedad de razones, habrá individuos que son más susceptibles a los daños producidos por las cianotoxinas que la población en su conjunto. Los niños son el ejemplo mas obvio, debido a que ellos beben un gran volumen de agua en proporción a su peso corporal comparado con los adultos. Los individuos que padecen alteraciones en órganos susceptibles a los efectos de las cianotoxinas son también mas vulnerables, tales como las personas con hepatitis, cirrosis hepática, hepatopatía tóxica a partir de otras fuentes o daño renal. Los pacientes con diálisis renal serán especialmente vulnerables a la presencia de cianotoxinas en el agua de diálisis a causa que el tratamiento los expone por vía intravenosa a grandes volúmenes de agua.

### Uso médico

En un incidente desastroso ocurrido en Caruaru, Brasil, 117 pacientes desarrollaron enfermedad hepática colestática y al menos 47 muertes fueron atribuidas a la diálisis con agua conteniendo toxinas cianobacterianas. El examen de los filtros de carbón de las unidades de diálisis demostró la presencia de microcistina-LR, del mismo modo que en la sangre y en el tejido hepático de los pacientes fallecidos.

- En febrero de 1996, un brote de hepatitis severa ocurrió en un centro de hemodiálisis en Caruaru, Brasil, ubicado a 134 km de Recife, la capital del estado de Pernambuco. En esta clínica, 117 de 136 pacientes (86 por ciento) experimentaron alteraciones visuales, náuseas, vómitos, debilidad muscular y hepatomegalia dolorosa, luego de un tratamiento de hemodiálisis de rutina. Subsecuentemente, 100 pacientes desarrollaron falla hepática aguda y 50 murieron. En octubre de 1997, 49 de las muertes podían atribuirse a un síndrome común denominado “Síndrome de Caruaru”. Este síndrome incluye: hepatomegalia severa y dolorosa, ictericia, diátesis hemorrágica manifestada por equimosis, epistaxis y metrorragia, transaminasas elevadas, hiperbilirrubinemia variable, tiempo de protrombina prolongado y severa trigliceridemia. La histopatología mostró disrupción de la estructura hepática, deformidades de los hepatocitos, necrosis, apoptosis, colestasis, vacuolización citoplasmática, infiltrado leucocitario y hepatocitos multinucleados. Con el microscopio electrónico: edema intracelular, cambios mitocondriales, daño del retículo endoplásmico liso y rugoso, vacuolas lipídicas y cuerpos residuales. El patrón de disrupción de la placa hepática fue idéntica a la observada en estudios experimentales con animales de laboratorio expuestos a microcistinas. El examen de los recuentos de fitoplancton de años previos mostró que las cianobacterias habían sido dominantes en el reservorio durante los meses de verano, al menos desde 1990, con los siguientes géneros presentes *Microcystis*, *Anabaena* y *Anabaenopsis* (*Cylindrospermopsis*). Las muestras recogidas el 29 de marzo de 1996 mostró que las cianobacterias más comunes eran *Aphanizomenon*, *Oscillatoria* y *Spirulina* (con un número promedio de

24.500 células por ml). El carbón del sistema interno de tratamiento de agua del centro de diálisis mostró picos de cromatograma que resultaban característicos de microcistinas cuando fueron analizados usando HPLC. Uno de estos picos tuvo un tiempo de retención que se correspondía con el de microcistina-LR, la más comúnmente hallada de la familia de las microcistinas. El suero sanguíneo de los pacientes afectados y los controles y el tejido hepático de los pacientes fallecidos mostraron un contenido de microcistina que superaba 10 ng/ml en suero y 0,1 a 0,5 ng/mg en tejido hepático. El suero y los tejidos de todos los pacientes expuestos fueron positivos para microcistinas. Las autoridades de salud de Brasil establecieron una clínica para sobrevivientes con el fin de monitorear el progreso y servir como base de datos para evaluar los efectos de salud en el largo plazo, incluyendo frecuencia de cánceres, debido a que las microcistinas son conocidos y potentes promotores de tumores de hígado en animales experimentales. La evidencia disponible biológica y química soporta que las microcistinas del reservorio de agua fueron el factor más importante en la muerte de los pacientes de la clínica de diálisis. La presencia de microcistina en el agua usada para diálisis se debió al tratamiento insuficiente del agua obtenida por transporte en camión desde el sistema de tratamiento de agua de la ciudad, así como el funcionamiento y mantenimiento insuficiente del sistema de tratamiento de agua de diálisis de la clínica.

## **Toxicidad crónica**

Mientras que la toxicidad aguda es el problema mas obvio de las intoxicaciones cianobacterianas, también pueden estar presentes los riesgos de efectos a largo plazo. Cortas exposiciones a toxinas pueden resultar en daños de largo plazo, y exposiciones crónicas de bajo tenor pueden causar efectos adversos para la salud.

Mientras que hay escasas indicaciones de alteraciones a la salud de largo plazo como consecuencia de la exposición a cianotoxinas (por ejemplo, si los animales o los hombres expuestos sobreviven, probablemente se recuperan), la exposición repetida a microcistinas a las concentraciones a las cuales frecuentemente se encuentran en las fuentes del agua de bebida, permiten la ingesta de dosis que pueden llevar a una enfermedad con potencial daño de largo plazo y eventualmente la muerte derivada de ese daño.

Experimentos en animales han mostrado daños hepáticos crónicos a consecuencia de la exposición oral continua a microcistinas. En particular la posibilidad de carcinogénesis y de promoción de crecimiento tumoral necesita una evaluación muy cuidadosa, debido a que ambos han sido puestos en evidencia en estudios experimentales en animales.

La incidencia del carcinoma hepatocelular humano en China es una de las más altas en el mundo, y varios estudios han explorado si las toxinas cianobacterianas podrían integrar la compleja lista de factores de riesgo que aumenta la incidencia de la enfermedad. La distribución del carcinoma hepatocelular varía geográficamente. En el sudeste de China, tasas inferiores a 15 casos por 100.000 habitantes se observa en algunos distritos, comparado con tasas de 60 casos por 100.000 habitantes en localidades adyacentes. Dos factores de riesgo probados son la infección con el virus de la hepatitis B y la ingestión de aflatoxina B1 a partir de ciertos alimentos, como el maíz. El tercer elemento significativo asociado es la fuente de agua de bebida. Se observaron menores tasas de mortalidad por cáncer donde el agua se obtiene de perforaciones profundas, comparada con valores más altos en los lugares donde el agua proviene de canales o estanques.

Las cianobacterias son abundantes en las aguas de superficie en el sudeste de China donde la incidencia de carcinoma hepatocelular es más elevada y se ha propuesto que las microcistinas en

el agua de bebida serían las responsables de la mayor incidencia entre las personas que beben agua de canales y de estanques.

## **PREVENCIÓN DE LAS INTOXICACIONES POR CIANOTOXINAS**

Se puede reducir la exposición humana a cianotoxinas a través de la prevención de la ocurrencia de densidades peligrosas de cianobacterias tóxicas o de la colocación de barreras tales como el tratamiento del agua de bebida o restricciones al uso de balnearios.

Las guías sobre prácticas seguras pueden ser de utilidad para la reducción de la exposición, aún para aquellas sustancias para las cuales aún no se ha podido establecer un valor guía (por ejemplo, debido a información científica inadecuada) o donde la implementación de un valor guía resulta muy difícil (por ejemplo, debido a problemas analíticos o de muestreo).

### **Ingesta diaria admisible**

Los mecanismos de reparación del organismo se encuentran permanentemente activos y aseguran que las células y los tejidos sean reemplazados en la medida que sufren daños por la acción de factores externos tales como las sustancias químicas tóxicas. La Ingesta Diaria Tolerable o Admisible (IDA o TDI, por su sigla en inglés) es la cantidad de una sustancia potencialmente peligrosa que puede ser consumida diariamente durante toda la vida con riesgos insignificantes de efectos adversos para la salud.

La exposición a varias sustancias químicas o condiciones peligrosas de manera simultánea puede llevar a interacciones de potenciación o de antagonismo. La potenciación resultará en efectos que son mayores que las respuestas causadas por las sustancias químicas individuales o condiciones peligrosas por sí mismas y estas situaciones se han observado con las cianotoxinas. Sin embargo, hay evidencia experimental que la potenciación es improbable que ocurra a niveles bajos de exposición, del orden de la IDA. Para las cianotoxinas, los datos de toxicidad animal y humana son incompletos para la mayoría de los compuestos. La información disponible ha sido revisada y solo permite la derivación de una IDA provisional para microcistina-LR. Por supuesto que esto no implica que únicamente la microcistina-LR sea tóxica, o que las otras cianotoxinas sean menos peligrosas, sino que refleja únicamente la falta de información toxicológica.

### ***Derivación de una Ingesta Diaria Admisible (IDA)***

La mayoría de los datos relevantes sobre toxicidad de microcistina han surgido tanto de reportes de enfermedades humanas relacionadas con el consumo de agua de bebida conteniendo cianobacterias como de limitados reportes de trabajos experimentales con animales.

Aunque la carcinogenicidad de las cianotoxinas no ha sido evaluada por la Agencia Internacional de Investigaciones sobre Cáncer (IARC), los procedimientos de evaluación de la misma llevarían a la conclusión que, al presente, la evidencia humana para la carcinogenicidad de las microcistinas es inadecuada y la evidencia en animales es limitada. En tales casos la práctica corriente para calcular la IDA se basa en el uso de un LOAEL o NOAEL dividido por factores de incertidumbre

o de seguridad apropiados como se describe en el Anexo de las *WHO Guidelines for Drinking Water Quality*.

Un estudio realizado con ratones de 13 semanas a los que se administró por vía oral microcistina-LR pura, fue considerado el más apropiado para derivar el valor guía de microcistina-LR. El mismo aportó un NOAEL de 40 µg/kg/día, que fue determinado en base a la histopatología del hígado y los cambios en los niveles de enzimas séricas.

Aplicando un factor de incertidumbre de 1.000 (10 para la variabilidad intra-especie, 10 para la variabilidad inter-especie y 10 para las limitaciones en las bases de datos, en particular por la falta de datos de toxicidad crónica y carcinogenicidad), se obtuvo un IDA para microcistina-LR de 0.04 µg/kg/día.

Esta IDA se soporta también en los resultados de un estudio sobre cerdos de 44 días, a los que se administró extracto de *Microcystis* en el agua de bebida, obteniendo un LOAEL de 100 µg/kg/día de microcistina-LR. A este LOAEL se le aplicó un factor de incertidumbre de 1.500 (10 para la variabilidad intra-especie, 3 para la variabilidad inter-especie ya que los cerdos guardan fisiológicamente una mayor semejanza con los humanos que los roedores, 5 para extrapolar al NOAEL y 10 porque la exposición fue menor al total de la vida). El valor provisional de IDA resultante fue por de 0.067 µg/kg/día.

Se ha utilizado el menor de los valores calculados, que fue **0.04 µg/kg/día**, para derivar el **valor guía provisional**.

### **Valores Guía para Calidad de Agua de Bebida de la Organización Mundial de la Salud**

La OMS, en 1998, ha adoptado un **valor guía provisional de 1.0 µg/l** para microcistina-LR en agua de bebida.

A tal fin se consideró que el peso corporal promedio de un adulto es de 60 kg y la ingesta de agua promedio para los adultos es de 2 litros por día. Se utilizó la IDA provisional de 0.04 µg/kg/día y se asumió que el agua de bebida participaría de la IDA en un 0,8. La concentración resultante de 0.96 µg/l se redondeó a 1.0 µg/l. En aguas conteniendo células cianobacterianas, este valor guía debería ser aplicado a la concentración total de microcistinas (ligadas a las células y extracelulares).

Se pueden tolerar excesos a este valor provisional, cuando, por ejemplo, se espera que la exposición se discontinue en el futuro inmediato debido a la implementación de medidas para eliminar las cianotoxinas del agua de bebida o las cianobacterias de la fuente de agua. En tales circunstancias, es importante que se comunique al público las razones que hacen tolerable la excedencia, y se tomarán recaudos especiales con la población particularmente susceptible (pacientes con enfermedades hepáticas, en tratamiento de diálisis renal) y se informará a los padres de niños y a los establecimientos asistenciales.

La técnica analítica utilizada generalmente para la detección y cuantificación de las microcistinas y para la cual existen materiales de referencia cuantitativos disponibles es la cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

También se utilizan bioensayos, con ratones o el ensayo de fosfatasa, que pueden medir concentraciones de toxina en agua o en muestras de floraciones. Los valores se expresan como microcistina-LR TE, procurando que el ensayo haya sido calibrado utilizando microcistina-LR como estándar de cuantificación.

## Valor guía para calidad de agua recreacional

La presencia de las películas superficiales que forman las cianobacterias en un indicador rápidamente detectado de un riesgo alto de efectos adversos a la salud para aquellos bañistas que toman contacto con ellos.

Es difícil definir concentraciones seguras de cianobacterias en aguas recreacionales en relación a los efectos alérgicos o reacciones de piel, debido a la gran variabilidad de sensibilidad individual. La agravación de las reacciones térmicas debidas a la acumulación de material cianobacteriano y el aumento de la disrupción de células bajo el traje de baño puede constituir un problema aún con valores de densidad inferiores a los propuestos en los valores guías.

Se han definido una serie de valores guías asociados con incremento de la severidad y probabilidad de efectos adversos a tres niveles como se describe a continuación:

### *1. Bajas probabilidades de efectos adversos a la salud o relativamente leves*

Se puede proponer un valor guía de 20.000 cianobacterias (células) por ml, correspondiente a 10 µg/l de clorofila *a* bajo condiciones de dominancia de cianobacterias, para la protección de los efectos adversos para la salud, no debidos a la toxicidad de las cianotoxinas, sino al potencial irritativo y alérgico de otros compuestos cianobacterianos, a partir de los datos del estudio epidemiológico prospectivo de Pilotto *et al.* (1997). En dicho estudio los efectos para la salud reportados se relacionaban con la densidad de cianobacterias y la duración de la exposición, siendo afectado menos del 30% de los individuos expuestos. Con esta densidad de cianobacterias, y dominancia de productores de microcistina, se puede esperar una concentración de 2-4 µg/l de toxina, la que llegaría hasta 10 µg/l cuando la floración fuera altamente toxigénica. Nótese que el valor es bastante próximo al que establece la OMS como valor guía provisional para calidad de agua de bebida, 1 µg/l para microcistina-LR, considerándolo seguro para el consumo durante toda la vida.

Considerando que los efectos sobre la salud debidos a microcistina son improbables, la provisión de información para los visitantes a los balnearios con niveles de bajo riesgo resulta suficiente. Adicionalmente, se recomienda que las autoridades estén informadas en orden a iniciar la vigilancia del sitio.

### *2. Probabilidad moderada de efectos adversos a la salud*

A concentraciones elevadas de células cianobacterianas, la probabilidad de síntomas irritativos es alta. Adicionalmente, las cianotoxinas pueden alcanzar concentraciones con alto impacto potencial sobre la salud. Para evaluar el riesgo, bajo estas circunstancias, y dado el riesgo de ingestión asociado a las actividades acuáticas que implican sumergimiento, se pueden utilizar los mismos datos a partir de los cuales se derivó el valor guía de calidad de agua potable. Los nadadores tragan involuntariamente agua y el daño a partir de la ingestión sería comparable con el que produce el agua de bebida con el mismo contenido de toxina. Un nadador puede ingerir cantidades de hasta 100 o 200 ml de agua en una sesión, y un esquiador acuático podría ingerir aún más.

El valor guía de alerta moderada en salud para aguas recreacionales es una densidad de 100.000 células cianobacterianas por ml, equivalente a aproximadamente 50 µg/l de clorofila *a* si hay dominancia de cianobacterias. Con esta densidad, la concentración probable de microcistinas sería de 20 µg/l, si se trata de una floración de *Microcystis* y tiene un promedio de toxina contenida en las células de 0.2 pg, o 0.4 µg microcistina por µg clorofila *a* (sería posible encontrar hasta 50 µg/l

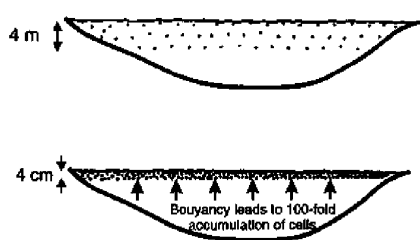
de microcistina). Esta concentración de toxina es equivalente a 20 veces el valor guía provisional de la OMS para microcistina-LR en agua de bebida, pero podría resultar en un consumo de una cantidad próxima a la IDA para un adulto de 60 kg que traga 100 ml de agua mientras nada (comparado con los 2 litros diarios calculados como agua de bebida). Sin embargo, un niño de 15 kilos que consume 250 ml de agua durante una extensa jornada de juego en el balneario estaría expuesto a 10 veces la IDA. Los riesgos a la salud también estarían aumentados si la persona expuesta fuera particularmente susceptible (por ejemplo, debido a hepatitis crónica B). Por lo tanto, la densidad de cianobacterias que probablemente causa una concentración de 20  $\mu\text{g/l}$  de microcistina debería ser motivo de acciones de control.

Existen otras razones adicionales para incrementar el nivel de alerta a 100.000 células por ml, tales como el potencial que tienen de formar películas superficiales, algunas especies que ocurren frecuentemente (particularmente *Microcystis* spp. y *Anabaena* spp.). Estas películas pueden incrementar la densidad celular local, y por lo tanto la concentración de toxinas por un factor de 1.000 o mayor en pocas horas, cambiando rápidamente el riesgo de moderado a alto para bañista y otros deportistas acuáticos cuyo cuerpo toma contacto con el agua.

### 3. Alto riesgo de efectos adversos para la salud

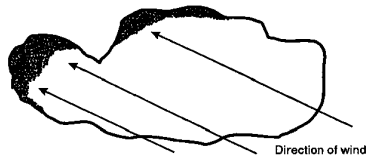
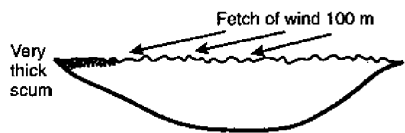
Existen evidencias abundantes de efectos adversos potencialmente severos para la salud asociados con la formación de películas superficiales de cianobacterias tóxicas. Hasta la fecha no se ha asociado inequívocamente un caso humano fatal con la ingestión oral de estas películas, pero si existen reportes numerosos de animales que han muerto por consumir agua conteniendo este material pelculado de cianobacterias. Esta discrepancia puede ser explicada por el hecho que los animales pueden beber grandes volúmenes de agua contaminada comparada con la pequeña cantidad de estas películas verdosas que puede ingerir accidentalmente un ser humano durante un baño en un balneario, lo que resultará en una dosis mucho menor. Las películas de cianobacterias pueden contener miles y hasta millones de veces mayor densidad de células. Se ha calculado que un niño jugando en una de estas películas de *Microcystis* por un período prolongado, ingeriría una cantidad letal de microcistina, aunque no ha habido reportes de casos ocurridos hasta la fecha. Basándose en la evidencia de la DL50 oral en ratones de la microcistina-LR que es de 5.000-11.600  $\mu\text{g/kg}$ , para un niño de 10 kg la ingestión de 2 mg de microcistina o menos podría causar un daño hepático, considerando que se han publicado concentraciones de hasta 24 mg/l de microcistina en dichas películas. Se han observado ocasionalmente estas películas enriquecidas, de consistencia gelatinosa, y la ingestión accidental de pequeños volúmenes podría causar severos daños. Evidencias anecdóticas indican que los niños, y aún adultos, pueden resultar atraídos a jugar en estas películas verdosas de cianotoxinas.

**Figura Nro. 1:** Ilustración esquemática de una floración algal formadora de películas superficiales en un lago, modificando el perfil de riesgo de cianotoxinas, desde moderado a muy alto.

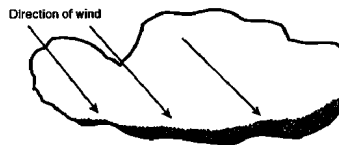


Nivel de riesgo moderado: 50  $\mu\text{g/l}$  clorofila *a* o 100.000 células/l o posiblemente 20  $\mu\text{g/l}$  de microcistina en la superficie del cuerpo de agua de 4 m.

Nivel de riesgo alto: acumulación de células en la película (100 veces): 5.000  $\mu\text{g/l}$  clorofila *a* o 10.000.000 células/l o posiblemente 2.000  $\mu\text{g/l}$  de microcistina en una capa de 4 cm en la superficie del cuerpo de agua



Nivel de riesgo muy alto: acumulación (1.000 veces) de la película sobre una orilla por acción del viento: 50.000  $\mu\text{g}/\text{l}$  clorofila *a* o 100.000.000 células/1 o posiblemente 20.000  $\mu\text{g}/\text{l}$  de microcistina concentrada en una bahía del cuerpo de agua



**Tabla Nro. 2:** Guías para las prácticas seguras en el manejo de balnearios que pueden producir o contener células cianobacteriana y/o toxinas

Nivel o situación guía	Cómo se deriva el nivel guía	Riesgos para la salud	Acciones recomendadas
Formación de películas de cianobacterias en las áreas balnearias	Inferencia a partir de intoxicaciones letales en animales. Historias de casos reales en humanos	Potencial para intoxicaciones agudas  Potencial para enfermedades de largo plazo con algunas especies de cianobacterias  Efectos adversos de corto plazo para la salud: p.ej. irritación de piel, trastornos gastrointestinales	Acción inmediata para prevenir el contacto con las películas; posible prohibición de nadar y otras actividades que impliquen contacto con el agua.  Investigaciones de seguimiento de salud pública  Informar a las autoridades de salud relevantes.
100,000 células cianobacterianas por ml o 50 $\mu\text{g}$ clorofila <i>a</i> por litro con dominancia de cianobacterias	A partir de valores guía provisionales de calidad de agua de bebida para microcistina-LR y datos correspondientes a otras cianotoxinas	Potencial para enfermedades de largo plazo con algunas especies de cianobacterias  Efectos adversos de corto plazo para la salud: p.ej. irritación de piel, trastornos gastrointestinales	Vigilar las películas  Restringir el uso del balneario y ulterior investigación del peligro  Señalizar el lugar con avisos de riesgo.  Informar a las autoridades de salud relevantes.
20.000 células cianobacterianas por ml o 10 $\mu\text{g}$ clorofila <i>a</i> por litro con dominancia de cianobacterias	Estudios epidemiológicos de seres humanos expuestos en balnearios	Efectos adversos sobre la salud de corta duración, p.ej. irritación de piel, trastornos gastrointestinales, probablemente de baja frecuencia	Señalizar el lugar con avisos de riesgo.  Informar a las autoridades relevantes.

## **Valores guía para calidad de agua usada en diálisis renal**

Los pacientes de diálisis renal son de alto riesgo cuando el agua usada para diálisis contiene contaminantes tales como cianotoxinas. Para estos pacientes se utilizan grandes volúmenes de agua (120 litros) y la vía de exposición es similar a la vía i.v., lo cual permite una mayor absorción de toxina que la ingestión oral. Un incidente muy severo ocurrió ocasionando un número de muertes elevado a partir de la exposición por esta vía.

Las Guías de Calidad de Agua de Bebida de la OMS no consideran la calidad especialmente alta que debe tener el agua necesaria para los tratamientos de diálisis, terapias endovenosas u otros usos clínicos. Los procesos de tratamiento que se usan en las plantas de tratamiento convencionales para agua de superficie (tales como coagulación, clarificación y filtración con arena) son efectivos normalmente para remover células cianobacterianas pero no lo son para remover o destruir las cianotoxinas disueltas, especialmente a partir de fuentes de agua con elevado contenido orgánico y dominancia de cianobacterias. En consecuencia, las clínicas y los hospitales con necesidad de aguas de calidad especial, para tratamientos de diálisis o para transfusión (administración intravenosa), pueden necesitar que se les provea un tratamiento adicional de las aguas para la remoción de cianotoxinas. Tales tratamientos varían desde filtración con carbón activado granular, siguiendo por ósmosis reversa, hasta los tratamientos más elaborados que incluyen filtración con membrana (p.ej. filtros con tamaño de poros de 25  $\mu\text{m}$ ). La extensión del tratamiento necesario dependerá de la calidad de la fuente de agua municipal.

Son esenciales los monitoreos continuos del desempeño de los equipos para asegurar una calidad adecuada del agua. Los sistemas de tratamiento de agua para instalar en hospitales y clínicas requieren de monitoreos rigurosos y mantenimiento regular, incluyendo limpieza de los filtros y recarga de carbón activado, de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Es muy importante que las especificaciones de los fabricantes incluyan el asesoramiento para su adecuación al mantenimiento y desempeño del equipo bajo condiciones locales. La capacidad adsorbente del carbón activado, por ejemplo, puede ser agotada tiempo antes de lo previsto si se satura por la presencia de otros compuestos orgánicos presentes en el agua y algunos fabricantes podrían no haber sido advertidos sobre ello.

## **Cálculo de riesgo asociado con el consumo de productos contaminados con microcistinas**

El Estado de Oregon, EEUU, ha adoptado como valor límite para la contaminación con microcistinas de productos derivados de cianobacterias, 1  $\mu\text{g/g}$  (1 ppm). El consumo de 2 g (sugerido por algunos productores) para una persona de 60 kg de peso, de un producto conteniendo 1  $\mu\text{g/g}$  resultaría en una ingesta de microcistina de 0.033  $\mu\text{g/kg}$ . Esta ingesta es ligeramente inferior a la ingesta diaria tolerable (IDA o TDI) de 0.04  $\mu\text{g/kg/día}$  recomendada por la OMS para microcistina-LR en agua de bebida (WHO, 1998). Sin embargo, la ingesta superior a 2 g por día de un producto conteniendo microcistinas a concentraciones cercanas al valor límite del Estado de Oregon puede exceder la IDA y un consumo de 2 g por día en los niños también la excede debido al menor peso corporal. El cálculo del valor guía de la OMS para agua potable considera un 20 % de la ingesta proveniente de otras fuentes. Para personas que consumen productos cianobacterianos, esta proporción puede resultar inapropiada.



## **Sabores y olores**

Las cianobacterias desde hace mucho tiempo son consideradas como una molestia indeseable en la industria del agua de bebida debido a la capacidad que ciertos géneros poseen de producir compuestos odoríferos con olor a tierra o barro, especialmente geosmina y 2-methyl isoborneol (2-MIB), para los cuales el umbral de detección de olor es menor a 10 ng/l resultando muy bajo entre los individuos sensibles.

Debido a esto, se consideró la posibilidad de utilizar los compuestos odoríficos como una señal de alarma temprana del desarrollo de floraciones de cianobacterias productoras de toxinas. Sin embargo, no hay evidencias de la existencia de una correlación entre la producción de toxina y la producción de los compuestos generadores de olor y sabor que podrían proporcionar un alerta de toxicidad.

Al presente, los olores a tierra o barro en el agua pueden indicar la presencia de cianobacterias y/o actinomicetes. Los problemas de sabor y olor pueden ser utilizados como una señal de peligro para desencadenar investigaciones ulteriores que develen si la ocurrencia de cianobacterias podría resultar en la presencia de cianotoxinas.

Es importante resaltar que no se aplica la regla inversa: la falta de olor y sabor no significa que las cianobacterias están ausentes.

**ANEXO:**

**Tabla:** Resumen de estudios epidemiológicos que investigaron exposición recreacional a cianobacterias

<b>País; año de estudio, autores, referencia</b>	<b>Diseño del estudio</b>	<b>Principales resultados reportados</b>	<b>Tamaño del estudio (n)</b>	<b>Odds ratio (95% intervalo de confianza)</b>
UK, 1990 Philipp	Transversal	Ningún hallazgo estadísticamente significativo	246	
UK, 1990 Philipp & Bates	Transversal	Ningún hallazgo estadísticamente significativo	363	
UK, 1990 Philipp et al	Transversal	Ningún hallazgo estadísticamente significativo	246	
Australia, 1992 El Saadi et al	Caso-control	Ningún hallazgo estadísticamente significativo	Aprox. 48 (sujetos que reportaron exposición recreacional)	
Australia, 1995 Pilotto et al	Cohorte prospectiva	Aumento de síntomas a los 7 días luego de la exposición a más de 5,000 células cianobacterianas/mL para >1 hora vs no expuestos	852 (total) 338 (no prior exposición or síntomas)	1.3 (0.7–2.6) 3.4 (1.1–10.8)
Australia & EEUU, 1999–2002 Stewart et al	Cohorte prospectiva	Aumento reportado de síntomas respiratorios leves y otros síntomas dentro de los tres días de la exposición a cianobacterias en superficies de >12 mm <sup>2</sup> /mL vs <2.4 mm <sup>2</sup> /mL	1,331 (total) 1,137 (sin síntomas previos) 1,149 (sin síntomas respiratorios previos)	1.7 (1.0–2.9) (cualquier síntoma) 2.1 (1.1–4.0) (síntomas respiratorios)

Fuente: Environ Health. 2006; 5: 6.

**Tabla:** Cianotoxinas con importancia para la salud pública a partir de exposición aguda

Toxina o grupo de toxinas	Clasificación por sistema u órgano blanco principal	Género productor de toxina	DL <sub>50</sub> (i.p. ratón)
Microcistinas	Hepatotoxinas	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanocapsa</i> , <i>Hapalosiphon</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Snowella</i> , <i>Woronichinia</i>	25->1000 µg/kg
Nodularinas	Hepatotoxinas	<i>Nodularia</i>	30–60 µg/kg
Anatoxina-a, homoanatoxina-a	Neurotoxinas	<i>Anabaena</i> , <i>Arthrospira</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Raphidiopsis</i>	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Cylindrospermum</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Planktothrix</i> , 200–375 µg/kg
Anatoxina-a(s)	Neurotoxina	<i>Anabaena</i>	20–40 µg/kg
Saxitoxinas	Neurotoxinas	<i>Anabaena</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Planktothrix</i>	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Lyngbya</i> , 10–30 µg/kg
Cilindrospermopsina	Citotoxina general (compromiso multiorgánico, que incluye hígado, riñón, tracto gastrointestinal, corazón, bazo, timo, piel)	<i>Anabaena</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Umezakia</i>	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Raphidiopsis</i> , 2.1 mg/kg (24 horas) 200 µg/kg (5–6 días)
Aplisiatoxina, debromoaplisiatoxina	Dermotoxinas; probable toxina inflamatoria gastro-intestinal	<i>Lyngbya</i>	107–117 µg/kg
Lingbiatoxina A	Posible toxina inflamatoria gastro-intestinal	<i>Lyngbya</i>	250 µg/kg (?DL <sub>100</sub> )

Fuente: Environ Health. 2006; 5: 6.

**Tabla:** Percepción del problema de eutrofización en diferentes países y continentes

Región / país	Lagos naturales	Reservorios, ríos y sistemas de irrigación	Estuarios, lagos y áreas cerradas	Aguas marinas costeras
<b>AFRICA</b>				
Central	+	++	+	
Norte		+	++	+
Sur		++		
<b>AMÉRICA CENTRAL</b>				
Caribe	+	+		+
Guatemala / Nicaragua	+			
México	+	++		
<b>AMÉRICA DEL NORTE</b>				
Canadá	++	+	+	
EEUU	++	++	++	+
<b>AMÉRICA DEL SUR</b>				
Argentina / Chile	+	++	+	+
Brasil	+	++	++	+
Colombia / Ecuador / Perú	+	++	+	+
Venezuela / Suriname	+	+	++	
<b>ASIA</b>				
China	++	+	+	
India / Pakistán	+	++	+	
Indochina	+	+		
Indonesia / Filipinas	++	+		
Japón	++	+	++	+
<b>OCEANÍA</b>				
Australia / Nueva Zelanda	++	++	++	+
<b>EUROPA</b>				
Bélgica		+		
Dinamarca	++			+

Región / país	Lagos naturales	Reservorios, ríos y sistemas de irrigación	Estuarios, lagos y áreas cerradas	Aguas marinas costeras
Francia		++	+	++
Alemania	++	++	+	+
Grecia		+	+	+
Irlanda	++	+		
Italia	++	++	+	++
Países Bajos		++	++	
Portugal		++	+	
España		++	+	
Reino Unido	++	++		
Austria	++			
Checoslovaquia	+			
Finlandia	++		+	+
Hungría	+	+		
Noruega	++	+	++	+
Polonia	++	+		
Rumania				+
Rusia	+	++	+	+
Suecia	++		+	++
Suiza	++			
Yugoslavia				+

Fuente: Adaptado de Earthwatch, 1992. Citado en Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring y management. WHO 1999

Una breve revisión sobre la percepción pública de las cianobacterias como un peligro para la salud indica que las floraciones serán frecuentemente percibidas como una prioridad alta, incluso mayor que lo que sugeriría un análisis racional de la información científica disponible, por cierto limitada. Los encabezados de los periódicos han proclamado en otros países “Aguas mas tóxicas que el cianuro” luego de que se hallaran cianobacterias en ciertos cuerpos de agua. Si bien es cierto que, comparativamente, las cianotoxinas resultan más tóxicas que el cianuro, ponderado por unidad de masa, esto no significa que el agua de bebida conteniendo bajas concentraciones de cianotoxinas pueda estar siquiera próxima a la peligrosidad de una solución letal de cianuro, como sugiere el titular del periódico. La experiencia indica que, en algunos países, la preocupación del público con respecto a las cianobacterias, frecuentemente ha sido mayor que la de la comunidad profesional.

## PROCESO DE EVALUACIÓN DE RIESGO

### Identificación del peligro y caracterización

En el contexto de la gestión de riesgos, un peligro es usualmente entendido como una propiedad de una sustancia (o actividad) de producir daño. Muchas sustancias son peligrosas pero no necesariamente conducirán a injurias o enfermedades bajo las circunstancias a las que se exponen los seres humanos. Aun luego de la exposición, no necesariamente ocurrirá un efecto adverso para la salud, pero siempre existe la probabilidad. Por lo tanto, un peligro es definido como una propiedad intrínseca de un agente biológico, químico o físico para causar efectos adversos a la salud humana bajo condiciones específicas de exposición. Esta definición implica que bajo ciertas condiciones similares, el agente causará similares efectos adversos sobre la salud.

El término “riesgo” refiere a una probabilidad, que la exposición a un peligro llevará a un efecto adverso para la salud y se expresa usualmente como una frecuencia en un tiempo dado. Por ejemplo, las Guías de Calidad de Agua de Bebida de la OMS definen valores guía como concentraciones de sustancias químicas específicas estimando que pueden producir un riesgo adicional insignificante para la población que las consume. Para ellos adoptan un punto de referencia que generalmente refiere al “riesgo aceptable”, aunque algunas personas prefieren el término “riesgo tolerable” (debido a que el riesgo nunca sería aceptable pero si puede ser tolerado).

La identificación del peligro involucra la identificación de efectos adversos para la salud potenciales asociados con el agente particular, basado sobre estudios realizados bajo condiciones específicas, tales como especies probadas y condiciones experimentales. Los estudios epidemiológicos y de toxicidad animal son listados y ordenados en función de la mayor información predictiva que proporcionan, y esto es seguido por ensayos *in vitro* y predicciones de relación cualitativa entre estructura y actividad (QSAR).

La caracterización del peligro es la fase de extrapolación de la evaluación de riesgo dirigida a realizar una caracterización predictiva de un peligro para los seres humanos basado en estudios animales (extrapolación entre especies) bajo condiciones de baja exposición (extrapolación de altas a bajas dosis). Los puntos finales de la caracterización del peligro es la estimación de un “dosis segura” tal como una ingesta diaria tolerable (TDI) o equivalente. En general, las TDIs son determinadas únicamente cuando hay alguna probabilidad de que exista un umbral en la relación entre dosis y efecto, basada en parte sobre el conocimiento teórico del mecanismo de acción. Para los carcinógenos genotóxicos ha sido aceptado que no hay una dosis umbral por debajo de la cual no se observa el efecto, por ej. que la iniciación del proceso de carcinogénesis no ocurrirá. Cuando tales sustancias químicas no pueden ser completamente evitadas, como ocurre con ciertos toxicantes y contaminantes naturales, se usan modelos matemáticos (los cuales presumen linealmente a bajas dosis) para estimar, aunque sea por extrapolación, la posibilidad de efectos adversos a bajas dosis. La dosis correspondiente a un nivel de riesgo de 1 en  $1 \times 10^5$  o 1 en  $1 \times 10^6$  ha sido considerada como un riesgo insignificante o tolerable.

Con las cianotoxinas, la evaluación de riesgo se ha hecho más difícil por la escasez de estudios epidemiológicos y toxicológicos de validez científica reconocida. Los datos disponibles sobre animales son limitados, particularmente en el caso de efectos crónicos y a largo plazo de cianotoxinas.

La falta de datos se refleja en el hecho que las guías de la OMS han sido acordadas solo para un grupo de cianotoxinas y solo se trata de valores guía provisionales para la toxina más estudiada

(microcistina-LR). Las incertidumbres con respecto al destino ambiental de las cianotoxinas (por ejemplo, en que medida son acumuladas en pescados y bivalvos que puede consumir el hombre) se suman a esas dificultades.

## **Evaluación de exposición y caracterización del riesgo**

La evaluación de la exposición puede aplicarse a los casos de personas enfermas durante un brote de enfermedad que se presume asociado a las cianotoxinas, o bien a la evaluación de la probable exposición de la gente a través del consumo de agua de bebida o de la práctica de nadar en cuerpos de agua conocidos por contener ciertos niveles de cianotoxinas o cianobacterias.

La caracterización del riesgo es la estimación cualitativa o cuantitativa, incluyendo la ponderación de las incertidumbres, de la severidad y la probable ocurrencia o ausencia de efectos adversos para la salud potenciales o conocidos en una población expuesta. Esta estimación se basa en la identificación del peligro, la caracterización y la evaluación de la exposición. Se puede expresar como “riesgo probable” (tal como el número de personas en la población que se espera que desarrolle cáncer por exposición a una sustancia tóxica).

Alternativamente, la caracterización de riesgo puede ser considerada como el establecimiento de niveles para la exposición diaria durante toda la vida a los cuales el riesgo es “insignificante”.

## **Desarrollo de políticas**

Los procesos de identificación del peligro, caracterización del peligro, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo pueden ser considerados como actividades científicas racionales. En contraste, el desarrollo de las políticas toma en cuenta, además de la evaluación racional, los valores sociales. Requiere la valoración de efectos específicos sobre la salud (eritema cutáneo, gastroenteritis, cáncer o muerte). Las principales definiciones de evaluación de riesgo combinan una estimación de frecuencias con la valoración de la severidad de las consecuencias.

Si bien se han propuesto varias aproximaciones para la comparación racional del valor de los diferentes efectos adversos para la salud, las mismas están fuertemente determinadas por la percepción pública y las preocupaciones sociales, de modo que los análisis racionales puede tener una relevancia limitada. La experiencia con el cumplimiento de las restricciones al uso balneario de aguas recreacionales, determinadas por déficit en la calidad, han mostrado que las reacciones del público pueden variar entre un extremo que proclama que “no hay nada malo con esta agua, nosotros hemos nadado en ellas durante años sin que hayamos padecido ninguna enfermedad, las autoridades no saben de lo que hablan” hasta el otro “esta agua han matado un perro y me están dañando, algo debe hacerse inmediatamente”.

El conocimiento de las características de un peligro, la ocurrencia local de las condiciones peligrosas y una evaluación de la seriedad de los efectos de la exposición, provee las bases para el desarrollo de las políticas. Sin embargo, también se deben considerar otros factores que incluyen: la severidad de otros peligros y efectos sobre la salud asociados que podrían competir por los recursos limitados; la relación costo/efectividad de las acciones preventivas y de remediación; y la disponibilidad de soluciones técnicas y de experiencia en la aplicación en el país o en la región. Para el desarrollo de una política efectiva todos estos factores deben ser evaluados conjuntamente. En la mayoría de las circunstancias debería realizarse en un ámbito donde todas las partes

interesadas puedan estar representadas, por ejemplo, los proveedores del servicio, asociaciones profesionales, representantes públicos y expertos en los asuntos que se consideran.

### **Acciones de gestión. Estructura de niveles de alerta.**

Una Estructura de Niveles de Alerta es una secuencia de acciones de monitoreo y gestión que los operadores de plantas de tratamiento de agua y funcionarios pueden usar para brindar una respuesta gradual al comienzo y progreso de una floración de cianobacterias. Las circunstancias y alternativas operacionales podrán variar dependiendo de las fuentes de provisión de agua y las capacidades analíticas y de tratamiento disponibles. El modelo de respuesta gerencial, presentado como un “árbol de decisión”, está basado sobre puntos críticos de control. El árbol de decisión brinda los elementos necesarios para la evaluación de una floración de cianobacterias potencialmente tóxica, con acciones apropiadas y respuestas, a través de tres estadios “umbrales”. La secuencia de niveles de respuesta está basada en la detección inicial de cianobacterias en un Nivel de Vigilancia, que progresa a un número de cianobacterias moderado y severo, así como la detección de toxinas por encima de las concentraciones guías para el Nivel de Alerta 1. Las condiciones del Nivel de Alerta 1 requiere la toma de decisiones relativas al tratamiento apropiado del agua de bebida en base a la eficacia del mismo y las concentraciones de toxinas detectadas (si fuera posible medirlas). A niveles muy altos de biomasa de cianobacterias en agua cruda, los riesgos potenciales para la salud están asociados con fallas en el sistema de tratamiento, o la incapacidad de implementar algún tratamiento efectivo. Esto indica la progresión a una situación de riesgo intensificado con condiciones de Nivel de Alerta 2.

### **Nivel de Vigilancia**

El Nivel de Vigilancia acompaña los estadios tempranos del desarrollo de una floración algal, cuando las cianobacterias son detectadas en muestras de agua cruda no concentrada. El valor indicativo para el Nivel de Vigilancia es la detección de una colonia, o cinco filamentos, o una cianobacteria en 1 ml de agua, aunque este umbral puede ser adaptado de acuerdo al conocimiento local y datos de monitoreo histórico. El sabor y el olor pueden volverse detectables para la población servida y ello indicaría que se encuentra por encima del Nivel de Vigilancia, pero su ausencia no indica la ausencia de cianobacterias tóxicas. Por ejemplo, el reconocimiento de fuertes olores a tierra o barro a partir de ciertos compuestos altamente odoríferos como la geosmina producida por *Anabaena*, se puede dar a concentraciones menores a 1.000 células por ml. En contraste, *Microcystis* produce compuestos de olor muy débil que solo serían detectados con concentraciones de células 100-1.000 veces mayores que esto y por lo tanto es improbable que sea percibido en el agua cruda.

La presencia de cianobacterias en bajas concentraciones (y la detección algunas veces de sabores y olores característicos) puede estar indicando un peligro de formación de floraciones algales; por lo tanto, cuando el Nivel de Vigilancia se supera, es aconsejable aumentar la frecuencia de muestreos al menos una vez a la semana, tal que puedan monitorearse los cambios en la biomasa de cianobacterias.



## **Nivel de Alerta 1**

El umbral para el Nivel de Alerta 1 (biomasa de cianobacterias 2.000 células por ml o 0.2 mm<sup>3</sup> l<sup>-1</sup> biovolumen o 1 µg l<sup>-1</sup> clorofila *a*) proviene de los valores guías de la OMS para microcistina-LR y de los contenidos mas altos de microcistina registrados para células cianobacterianas. En otras palabras, el umbral es el nivel de biomasa de cianobacterias, asumiendo que las especies son un potencial productor de microcistina y que las concentraciones de microcistina en el agua cruda podrían exceder los valores guías de OMS. Por consiguiente, las condiciones del Nivel de Alerta 1 requieren una evaluación preferentemente basada en análisis de concentración total de toxina en el agua cruda por una técnica cuantitativa tal como cromatografía líquida de alta presión – HPLC- o ensayo inmunoenzimático –ELISA-, a los fines de considerar si se podrán reducir las concentraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas en la fuente de agua cruda o si el sistema de tratamiento del agua disponible será efectivo para reducir las concentraciones de toxina hasta niveles aceptables.

Las condiciones del Nivel de Alerta 1 requieren la consulta con las autoridades de salud para la evaluación del estado de la floración y la calidad del agua tratada para consumo humano. Esta consulta debería ser iniciada tan pronto como fuera posible y continuar hasta que los resultados de los análisis de toxina en el agua de bebida estuvieran disponibles. Dado que la biomasa de cianobacterias potencialmente tóxicas aumenta en el agua cruda, el riesgo de efectos adversos para la salud humana depende de la existencia de sistemas efectivos de tratamiento del agua de bebida.

Por lo tanto, el monitoreo continuo de la biomasa de cianobacterias y de concentraciones de cianotoxinas es esencial. El programa de monitoreo debería tener al menos una frecuencia semanal y extenderse a través del cuerpo de agua para establecer la variabilidad espacial de la población de cianobacterias y de las concentraciones de toxinas. Esto puede resultar apropiado al mismo tiempo que se procede a realizar las advertencias al público a través de los medios masivos de comunicación o señalizaciones. Las autoridades gubernamentales con responsabilidad legal deben ser contactadas, de la misma manera que otras organizaciones o instalaciones que prestan asistencia o cuidado a miembros de la población mas vulnerables (tales como pacientes de diálisis renal).

Para las cianobacterias tóxicas que no producen microcistinas que surjan de los resultados de los bioensayos, será necesario que las autoridades locales de salud realicen una detallada evaluación de riesgo basada en los peligros inherentes de la toxina detectada, sus concentraciones en el agua de bebida tratada y la exposición esperada. Si los niveles de biomasa correspondientes al Nivel de Alerta 1 se mantienen pero las toxinas o la toxicidad no es detectada en las cianobacterias o en las muestras de agua cruda, se deberá continuar con el monitoreo regular para asegurar que las cepas o especies toxigénicas no desarrollan en las semanas o en los meses siguientes.

## **Nivel de Alerta 2**

El umbral para el Nivel de Alerta 2 (biomasa de cianobacterias 100.00 células por ml o 10 mm<sup>3</sup> l<sup>-1</sup> biovolumen o 50 µg l<sup>-1</sup> clorofila *a*, con la presencia de toxinas confirmada por análisis químico o técnicas de bioensayo) describe una floración tóxica y establecida con gran biomasa y posiblemente también películas superficiales localizadas (aunque estas películas también se pueden formar bajo condiciones del Nivel de Alerta 1). El programa de muestreo indicará que la floración es generalizada y no habrá ninguna señal de declinación de la población de

cianobacterias en el corto plazo. Las condiciones en el Nivel de Alerta 2 indican un incremento significativo del riesgo de efectos adversos sobre la salud humana a partir de las fuentes de agua no tratadas, o tratadas con sistemas inefectivos, aún para exposiciones de corta duración. Resultan de suma importancia la disponibilidad de sistemas efectivos de tratamiento del agua y la evaluación continua del desempeño de dichos sistemas. Mientras que las medidas hidrofísicas para reducir el crecimiento de las cianobacterias todavía pueden ser intentadas en esta fase, la aplicación de alguicidas puede incrementar el problema aumentando las concentraciones de toxinas disueltas como consecuencia de la lisis celular. Los sistemas de filtración combinados con floculación-coagulación pueden remover las toxinas ligadas a células, mientras que las toxinas disueltas pueden escapar del sistema de tratamiento.

Si no se dispone de tratamientos avanzados efectivos, tales como carbón activado, las condiciones del Nivel de Alerta 2 podrían resultar en la activación de un plan de contingencia para el suministro de agua apropiado para el operador y la comunidad. Esto puede involucrar cambios a una fuente alternativa para consumo humano, la implementación de sistemas de tratamiento contingente, o en algunas circunstancias la provisión de agua de bebida segura para los consumidores a través de tanques o agua embotellada. También puede ser necesario ampliar la difusión de información a través de los medios y aun promover contactos directos con los consumidores a través de cartas o folletos con advertencias apropiadas. Podría enfatizarse que el agua aún sería apropiada para otros propósitos tales como lavado de ropa, eliminación de excretas en los sanitarios, etc. La clausura de las redes de agua no se justifican debido a que los efectos adversos para la salud derivados de la interrupción del suministro pueden resultar mas graves (falta de agua para eliminar las excretas en los sanitarios o para extinguir incendios) que el riesgo de las toxinas cianobacterianas en si mismo.

Los monitoreos de la floración algal deberían continuar en función de determinar cuando comienza a declinar. La secuencia al Nivel 2 puede continuar a través de la desactivación de las condiciones del nivel de alerta con comunicación a los medios y recomendaciones a las autoridades gubernamentales y de salud para la confirmación de esto. Es posible que el colapso de una floración, o ciertas acciones de gestión conduzcan a una declinación desde el Nivel 2 al Nivel 1 o más. Del mismo modo, la secuencia puede escalar rápidamente, saltando el Nivel 1 para ir directamente al Nivel 2, si no se realiza un adecuado monitoreo o no está disponible la información de alerta tempranamente. Las poblaciones de cianobacterias en los cuerpos de agua naturales, especialmente en climas cálidos, puede duplicar en tamaño en menos de dos días. Por lo tanto las frecuencias del monitoreo necesitan considerar tales potenciales tasas de crecimiento rápido de las poblaciones.