

Universidad de Costa Rica
Facultad de Microbiología
(Trabajo de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Microbiología y
Química Clínica)

IMPACTO DE LAS CIANOTOXINAS EN LA ECOLOGÍA ACUÁTICA Y LA
CALIDAD DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO: ESTADO ACTUAL DE
INVESTIGACIÓN EN COSTA RICA Y MÉXICO

Ángelo Rivera Barquero

Tutor: Dr. Adrián Avendaño López

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Enero, 2008



**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
VICERRECTORÍA DE DOCENCIA**

**FACULTAD DE MICROBIOLOGÍA
CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO**

Acta de presentación de Requisito Final de Graduación

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el lunes 14 de enero de 2008 con el objeto de recibir el informe oral del estudiante **ANGELO RIVERA BARQUERO** carné A03499, quien se acoge al Reglamento de Trabajos Finales de Graduación bajo la modalidad de **PRACTICA DE GRADUACIÓN**, para optar por el grado académico de **LICENCIADO EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA** y el título profesional de **DOCTOR EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA**.

Están presentes los siguientes miembros del tribunal:

Dra. Carolina Chaves **PRESIDENTA**
Dr. Carlos Rodríguez
Dr. Adrian Avendaño
Dra. María Laura Arias
Dra. Mónica Prado

ARTICULO 1

La presidenta informa que el expediente de **ANGELO RIVERA BARQUERO**, contiene todos los documentos de rigor, incluyendo el recibo de pago de los derechos de graduación. Declara que el postulante cumplió con todos los demás requisitos del plan de estudios correspondientes, y por lo tanto, se solicita que proceda a hacer la exposición.

ARTICULO 2

El postulante **ANGELO RIVERA BARQUERO**, hace la exposición oral de su trabajo de graduación título "Impacto de las Cianotoxinas en la ecología acuática y la calidad del agua de consumo humano: estado actual de investigaciones en Costa Rica y México".

ARTICULO 3

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan al Postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

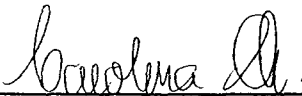
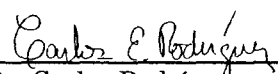
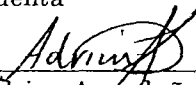
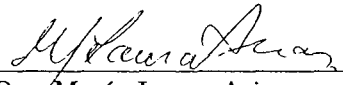
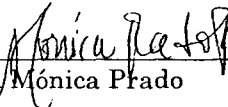

ARTICULO 4

El tribunal considera el trabajo final de graduación satisfactorio y le confiere la calificación de: 9.5

ARTICULO 5

La presidenta del Tribunal comunica al Postulante el resultado de la deliberación y lo declara acreedor al grado de **Licenciado en Microbiología y Química Clínica** y al título profesional de **Doctor en Microbiología y Química Clínica**.

Se le indica la obligación de presentarse al acto público de juramentación al que será oportunamente convocado. Se da lectura al acta que firman los Miembros del Tribunal Examinador y al Postulante, a las 11:05 am horas.

	
Dra. Carolina Chaves Presidenta	Dr. Carlos Rodríguez
	
Dr. Adrian Ayendaño	Dra. María Laura Arias
	
Dra. Mónica Prado	Ángelo Rivera Bärquero Postulante

DEDICATORIA

A mis padres, Juan R. Rivera y Rosa Barquero, por su apoyo incondicional, les agradezco por inspirarme y guiarme, sé que en este camino nunca estuve solo...

A todas aquellas personas que me brindaron su amistad en el transcurso de estos años universitarios...

Al Dr. Avendaño, por su confianza, por el tiempo dedicado al mejoramiento de este trabajo.

“Todo lo puedo en Cristo que me fortalece.” Filipense, 4.13

TABLA DE CONTENIDOS

INDICE DE CUADROS	
INDICE DE GRÁFICOS	
INDICE DE FIGURAS	
LISTA DE ABREVIACIONES Y SIMBOLOS	
INTRODUCCIÓN	1
Justificación	1
Objetivo General	2
Objetivos Específicos	2
Antecedentes	3
LAS CIANOBACTERIAS Y LAS CIANOTOXINAS	5
Características de las cianobacterias	5
Proliferación de las cianobacterias	6
Las cianotoxinas	9
Nodularina	12
Anatoxinas	13
Saxitoxina	14
Cilindrospermopsina	15
Aplisiatoxinas	16
Lingbiatoxina	17
Microcistina	17
Pigmentos y Lipopolisacáridos (LPS)	23
IMPACTO ECOLÓGICO DE LAS CIANOTOXINAS	25
Efecto antibiótico de las cianobacterias	26
Efecto sobre fitoplancton y plantas acuáticas	29
Efecto sobre protozoarios	31
Efecto sobre el zooplancton	32
Efecto sobre estadios acuáticos de insectos	34
Efecto sobre peces de agua dulce	35
Intoxicaciones de mamíferos	38

MÉTODOS DE DETECCIÓN DE CIANOTOXINAS Y CIANOBACTERIAS	39
Detección de cianobacterias productoras de toxinas	40
Detección de cianotoxinas	41
Bioensayos	42
Métodos enzimáticos	44
Métodos inmunológicos	45
Métodos analíticos	46
Técnicas moleculares	48
PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA	52
Intoxicaciones humanas por cianobacterias	54
Profilaxis contra la Intoxicación por Cianotoxinas	57
SITUACIÓN HÍDRICA EN AMÉRICA LATINA	58
Situación Hídrica de México	59
Geografía de México	60
Clima y Recursos Hídricos	61
Sistemas de tratamiento para potabilización del agua en México	62
Entorno institucional y legal del agua en México	63
Situación Hídrica de Costa Rica	64
Geografía de Costa Rica	64
Clima y recursos hídricos	65
Sistemas de tratamiento para potabilización del agua en Costa Rica	66
Entorno institucional y legal del agua en Costa Rica	67
DETECCIÓN DE CIANOBACTERIAS TOXIGÉNICAS EN AMÉRICA LATINA	71
Cianobacterias toxigénicas en México	72
Estado de Guanajuato	72
Estado de México	74
Estado de Morelos	76
Distrito Federal de México	77
Estado de Veracruz	79
Cianobacterias toxigénicas en Costa Rica	80
Región Central (Gran Área Metropolitana)	80

Región Chorotega y Pacífico Central	82
MECANISMOS DE DETOXIFICACIÓN, CONTROL Y PREVENCIÓN DE AGUAS CONTAMINADAS CON CIANOTOXINAS	86
Control químico	86
Control biológico	87
Remoción de cianobacterias y sus toxinas en plantas de tratamiento de agua	88
Coagulación y Floculación	89
Flotación por aire disuelto	89
Carbón activado	89
Cloración	90
Filtros de Arena	91
Filtración por Membrana	92
Radiación Ultravioleta	92
Sonicación	93
Ozonización	93
Medidas preventivas de la proliferación de cianobacterias toxigénicas	96
PERSPECTIVAS A FUTURO	100
CONCLUSIONES	102
REFERENCIAS	
ANEXO 1: ESTRUCTURA Y HEPATOTOXICIDAD DE MICROCISTINAS	
ANEXO 2: DIVISIÓN POLÍTICA DE COSTA RICA Y MÉXICO	

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Géneros de cianobacterias productoras de toxinas	10
Cuadro 2: Clasificación de cianotoxinas y algunos géneros y especies de cianobacterias relacionados	12
Cuadro 3: Efecto antibiótico de diferentes extractos de cianobacterias	27
Cuadro 4: Cambios anatomohistopatológicos y ultraestructurales en el hígado y riñones de peces expuestos a <i>Microcystis aeruginosa</i> o la Microcistina purificada.	36
Cuadro 5: Algunos registros de intoxicaciones animales en el ámbito mundial	39
Cuadro 6: Algunos métodos analíticos reportados para la detección de cianotoxinas alcaloides	48
Cuadro 7: Comparación entre algunos métodos para la detección de cianotoxinas	50
Cuadro 8: Algunos casos de intoxicaciones atribuidos a cianotoxinas en aguas recreativas en humanos debido a la Microcistina	56
Cuadro 9: Porcentaje de la población latinoamericana con acceso a agua potable	58
Cuadro 10: Población estimada en América Latina y el Caribe (en millones de personas)	58
Cuadro 11: Procesos de potabilización de agua utilizados en algunas plantas de tratamiento Municipales en México, 2005	63
Cuadro 12: Características climáticas por regiones de Costa Rica (1985-1997)	65
Cuadro 13: Principales instituciones directamente implicadas con los recursos hídricos en Costa Rica	68
Cuadro 14: Programas de control de calidad del agua en Costa Rica	70
Cuadro 15: Algunas especies de Cianobacterias aisladas en plantas de tratamiento de agua potable del Área Metropolitana (San José, Costa Rica)	80
Cuadro 16: Concentraciones de Microcistina en agua de consumo humano del Área Metropolitana (San José, Costa Rica), Abril 2004	82
Cuadro 17: Remoción de Microcistina y cianobacterias toxigénicas por diferentes procesos de tratamiento de agua	94
Cuadro 18: Concentraciones máximas permitidas para cianotoxinas en agua de consumo humano	98
Cuadro 19: Guías para la práctica segura en el manejo de aguas de uso recreativo	99
Cuadro 20: Guía de niveles de alerta de crecimientos de cianobacterias en agua de consumo	100

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Valores de Microcistina obtenidos en 1999 en la presa de Valle de Bravo, Estado de México	75
Gráfico 2: Valores de Microcistina obtenidos en 2001 en la presa de Valle de Bravo, Estado de México	76

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura molecular de la Nodularina	13
Figura 2: Estructura molecular de las principales de las Anatoxinas	14
Figura 3: Estructura molecular de la Saxitoxina	15
Figura 4: Estructura molecular de la Cilindrospermopsina	16
Figura 5: Estructura molecular de las Aplisiatoxinas	17
Figura 6: Estructura molecular de la Lingbiatoxina	17
Figura 7: Estructura general y variantes más frecuentes de la Microcistina	18
Figura 8: Estructura molecular de la Microcistina LR	18
Figura 9: Ubicación de sistemas acuáticos con proliferaciones de cianobacterias tóxicas en Uruguay	71
Figura 10: Ubicación de las estaciones de muestreo en el embalse Ignacio Allende, Guanajuato, México	73

LISTA DE ABREVIACIONES Y SIMBOLOS

ACH: agua para consumo humano
ADN: ácido desoxirribonucleico
ALT: alanina aminotrasferasa
APAZU: Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento en Zonas Urbanas
ASADAS: Asociaciones Administradoras de Agua
AST: aspartato aminotrasferasa
ARNr: Ácido ribonucleico ribosomal
AU: Asociaciones de Usuarios
AyA: Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados
CAAR: Comités Administradores de Acueductos Rurales
CDC: Central Disease Control
CG: Cromatografía Gases
CNA: Comisión Nacional del Agua
CRID: Red Centroamericana de Información sobre Desastres y Salud
d.C.: después de Cristo
ECD: detector de captura de electrones
ELISA: ensayos inmunoabsorbentes asociados a enzimas
ESPH: Empresa de Servicios Públicos de Heredia
FAN: floraciones algales nocivas
FAO: Organización de Alimentación y Agricultura de las Naciones Unidas
FDA: Administración de Alimentos y Drogas
GAC: carbón activado granular
GSH: Glutación
Ha: hectáreas
HPLC: Cromatografía de líquidos de alta resolución
ICE: Instituto Costarricense de Electricidad
IMN: Instituto Meteorológico Nacional
IMTA: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua
INEGI: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática de México
INIFAP: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias
LNA: Laboratorio Nacional de Aguas
LC: Cromatografía de líquidos
LD50: dosis letal 50
LDH: Lactato Deshidrogenasa
LPS: Lipopolisacáridos
MAG: Ministerio de Agricultura
MINAE: Ministerio de Ambiente y Energía
MRACC: Comité de Coordinación Regional sobre Algas, Murray
MS: Espectrómetro de masas
msnm: metros sobre el nivel del mar
N: nitrógeno
OMS: Organización Mundial de la Salud
OPS: Organización Panamericana de la Salud

P: fósforo
PAC: carbón activado en polvo
PCR: Reacción de la Cadena de la Polimerasa
pb: pares de bases
PDA: arreglo de fotodiodos
ppb: partes por billón
RFLP: polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción
RHIR: recursos hídricos internos renovables
RMN: Resonancia Magnética Nuclear
SARH: Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos
SEMARNAP: Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca
SENARA: Servicio Nacional de Aguas Subterráneas, Riego y Avenamiento
SNE: Servicio Nacional de Electricidad
UNESCO: Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura
UV: Ultravioleta
VHS: virus del herpes simplex
VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

Rivera-Barquero, Á. IMPACTO DE LAS CIANOTOXINAS EN LA ECOLOGÍA ACUÁTICA Y LA CALIDAD DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO: ESTADO ACTUAL DE INVESTIGACIÓN EN COSTA RICA Y MÉXICO.

Trabajo de Graduación. San José, Costa Rica. 2008

139 p.: 93 refs.

Las cianobacterias son microorganismos evolutivamente exitosos, debido a su amplia distribución mundial, a su gran capacidad de adaptación y competencia con otros seres vivos. Muchos géneros de cianobacterias producen sustancias bioactivas tales como: anticancerígenos, antivirales, antibióticos y gran variedad de toxinas. Una de estas toxinas es la Microcistina, posiblemente, la que ha sido objeto de mayor estudio hasta la fecha. Estas bacterias y sus toxinas producen un impacto importante en la ecología, no sólo acuática, si no también terrestre. Se ha informado de intoxicaciones, incluso muertes de animales y seres humanos, debido a las cianotoxinas. Por otro lado, el consumo crónico de Microcistina en bajas concentraciones se ha relacionado con diferentes cambios patológicos en órganos de mamíferos. Las investigaciones actuales abocan al desarrollo de metodologías para la detección, la prevención, y detoxificación del agua contaminada con cianobacterias y sus toxinas. El presente trabajo pretende revisar el estado de la investigación en Latinoamérica con énfasis en Costa Rica y México, debido al reciente interés de estos por el tema, reflejado en las publicaciones de los últimos años y la implementación de métodos para el análisis de las cianobacterias y las cianotoxinas.

Palabras clave: Cianobacteria, Toxinas, Microcistina, Agua potable, Hepatotoxina.

Tutor: Dr. Adrián Avendaño López

Facultad de Microbiología

INTRODUCCIÓN

Justificación

Las cianobacterias son capaces de producir variedad de toxinas. Una de ellas, la Microcistina ha sido asociada como agente causal de intoxicaciones agudas en animales y humanos. Sin embargo, se requieren altas concentraciones de Microcistina para que ocurra una intoxicación aguda, por lo tanto, muchos investigadores se han enfocado en el estudio del efectos crónicos de los metabolitos de las cianobacterias. Estos se presentan por el consumo de aguas contaminadas con cianotoxinas en bajas cantidades (sub-letales) durante un tiempo prolongado. No se ha determinado aún el periodo de tiempo, ni la cantidad de toxina en los cuales se empiezan a manifestar los cambios patológicos en el ser humano (Carmichael, 1994; Dawson, 1998 y Pouria *et al.* 1998).

La industria humana ha acelerado los procesos de eutroficación del agua, por medio de la contaminación de la misma con desechos químicos, esto ha permitido una mayor distribución de las cianobacterias y un incremento en la concentración de sus toxinas en el agua. Por lo tanto, las cianotoxinas constituyen un problema de salud pública vinculado de manera directamente proporcional a la contaminación producida por los seres humanos (Peinador, 1999).

Existen muchas interrogantes sobre el efecto de las cianobacterias en los ecosistemas acuáticos en distintos niveles de la cadena trófica. En países como Costa Rica y México, donde se enfatiza en la conservación de la vida presente en ríos y lagos, es trascendental el estudio y la educación sobre los efectos que conlleva la contaminación ambiental y facilita la proliferación de cianobacterias productoras de toxinas. Las investigaciones sobre el análisis toxicológico, control, prevención y detoxificación de las cianotoxinas en el agua destinada al consumo humano son importantes (Baslow, 1977 y Ghaudouani, Pinel-Alloul y Prepas, 2003).

El presente trabajo pretende ser una fuente fidedigna del estado de las investigaciones latinoamericanas en cianotoxinas y cianobacterias toxigénicas, con énfasis en las realizadas en Costa Rica y México, por otro lado, intenta informar a la comunidad científica nacional e internacional y a la población en general, sobre el impacto ecológico, y en salud pública de estas toxinas.

Objetivo General

Realizar una revisión del estado actual de la investigación científica en cianotoxinas presentes en fuentes de agua para el consumo humano en América Latina, con énfasis en Costa Rica y México.

Objetivos Específicos

1. Revisar la literatura científica escrita sobre cianotoxinas en América Latina desde el año de 1994 a la fecha.
2. Recopilar los estudios realizados en Costa Rica y México sobre cianotoxinas para establecer los aportes de dichos trabajos al conocimiento científico en estos países y en América Latina.
3. Determinar los principales aportes de los estudios sobre las cianotoxinas elaborados en Costa Rica y México.
4. Comparar con base en la literatura científica las técnicas de detección y depuración de la cianotoxinas utilizadas en Costa Rica y México.

Antecedentes

Las cianobacterias fueron descritas desde el siglo XVIII, por botánicos como Linné en 1755. Otros botánicos importantes que contribuyeron con estas primeras descripciones fueron Vaucher en 1803 y Geitler en 1932 (Bartram, Carmichael, Chorus, Jones, Skulberg, 1999).

Los efectos potencialmente letales fueron documentados por George Francis, en 1878, quien pudo observar los síntomas en animales de granja, los cuales consumieron agua contaminada con cianobacterias (conocidas entonces como algas verdeazules). En el siglo pasado en la década de los cuarenta se informa una gran cantidad de intoxicaciones en animales domésticos y salvajes alrededor del mundo debido al consumo de agua con cianobacterias. Entre 1948 y 1950, Theodore A. Olson, un microbiólogo de la Universidad de Minnesota, colectó muestras de proliferaciones de cianobacterias, y determina que los principales géneros presentes en las mismas, son *Microcystis* y *Anabaena*. Posteriormente, realizó pruebas toxicológicas demostrando que el consumo de cianobacterias es perjudicial en mamíferos (Carmichael, 1994 y De León, 2001).

A finales de los años setenta se describen posibles sustancias inhibidoras del crecimiento microbiano producidas por cianobacterias. Sin embargo, es en la década del noventa cuando los principales centros de investigación de muchos países, empiezan a dar la importancia requerida al tema, debido al impacto en el medio ambiente y a los problemas de salud pública descritos a partir de intoxicaciones agudas masivas en diferentes partes del mundo, como es el caso de Australia y Brasil (Baslow, 1977; Pouria *et al.* 1998; Kuiper-Goodman, Falconer, y Fitzgerald, 1999; Oh, Lee, Kim, Kim y Yoon, 2001 y De León, 2001).

A partir de este momento, el estudio en cianobacterias se ha dirigido a tres grandes áreas de investigación:

En primer lugar, la detección de grandes crecimientos de cianobacterias productoras de toxinas en masas de agua alrededor del mundo, y en la identificación de sus cianotoxinas. En Costa Rica, a partir de los años noventa se presenta los primeros estudios en la detección de cianobacterias relacionadas con la producción de toxinas y la

detección de Microcistina LR en masas de agua del país (Peinador, 1999 y Avendaño y Arguedas, 2006).

En segundo lugar se ha estudiado el impacto en la salud humana y en el equilibrio medioambiental. En esta rama, se han realizado numerosos estudios individuales alrededor del mundo, pero existen posiciones divergentes, en cuanto si las cianotoxinas, y más en específico la Microcistina, tiene o no tiene efecto sobre otros microorganismos: bacterias, protozoarios, zooplancton y fitoplancton (Baslow, 1977; Ostensvik, Skulberg, Underdal y Hormazabal, 1998; Ghaudouani *et al.* 2003; Babica, Bláh, Maršálek, 2006; Gonçalves *et al.* 2006 y Sicińska, Bukowska, Michałowicz y Duda, 2006).

Entre los informes sobre efectos dañinos de la Microcistina en microorganismos, existen diferentes líneas de pensamiento, algunos le atribuyen un efecto directo y otros un efecto indirecto (permeabilizando las membranas celulares a otras sustancias) sobre la inhibición en el crecimiento de otros microorganismos. En Costa Rica, no existen antecedentes de trabajo en esta línea (Dixon, Al-Nazawi y Alderson, 2004).

Finalmente, otros estudios se enfocan en la búsqueda de nuevos métodos para la detección y detoxificación de agua para ser utilizada para el consumo humano y animal, para evitar el riesgo de intoxicaciones agudas y crónicas por cianotoxinas. En este campo de la investigación se presentan los mayores esfuerzos, tanto para entender los factores ambientales que propician las proliferaciones, y así poder prevenir las intoxicación, así como eliminar las toxinas luego que se presentan los crecimientos bacterianos (Waco, 1997; Ostensvik *et al.* 1998; Muñiz *et al.* 2004; Ishii, Nishjima y Abe, 2004 y Svrcek y Smith, 2004).

El presente trabajo tendrá como eje central el estado de la investigación en Latinoamérica y especialmente en Costa Rica y México, debido al reciente interés de estos países en el tema. Los primeros avances en la investigación nacional están representados por los trabajos sobre la detección de cianobacterias reportadas en la literatura como productoras de cianotoxinas y de Microcistina LR en aguas de consumo humano (Peinador, 1999 y Avendaño y Arguedas, 2006).

LAS CIANOBACTERIAS Y LAS CIANOTOXINAS

Características de las cianobacterias

Hace 3000 millones de años, surgieron las primeras cianobacterias, las cuales han sido capaces de producir oxígeno como parte de su metabolismo fotosintético. Las bacterias, y en especial las cianobacterias, dominaron los océanos sin competidores durante 1000 ó 2000 millones de años, cuando las formas filamentosas formaron grandes masas flotantes sobre la superficie oceánica. Este largo periodo de dominio de las cianobacterias abarcó aproximadamente dos tercios de la historia de la vida en el planeta, y se le conoce como la Época de las Algas verde-azules. Este nombre hace pensar en las algas eucariontes, por lo tanto muchos científicos prefieren denominarlas cianobacterias (Hickman, Roberts y Larson, 2002).

Las cianobacterias constituyen el grupo más amplio y diverso de bacterias fotosintéticas. No se ha llegado a un acuerdo acerca del número de especies de cianobacterias. Las clasificaciones antiguas recopilaban hasta 2000 especies o más. En un sistema reciente se han reducido a 62 especies y 24 géneros. La segunda edición de Manual Bergey describe 56 géneros con cierto detalle. El contenido guanina y citosina del grupo varía desde el 35 al 71 por ciento. Aunque las cianobacterias son procariontes verdaderos, su sistema fotosintético se asemeja mucho al de los eucariotas, debido a que contienen clorofila a y el fotosistema II, y llevan a cabo la fotosíntesis oxigénica (Prescott, Harley y Klein, 2002).

Las cianobacterias muestran una amplia diversidad morfológica, pueden ser unicelulares (*Chroococcus*) o filamentosas, éstas últimas en ocasiones presentan ramificaciones (*Anabaena*). Pueden presentarse aisladas o agrupadas en colonias (*Schizothrix*), cuando las colonias se agrupan pueden observarse como manchas o puntos café en rocas sumergidas. La estructura colonial se mantiene por un exopolisacárido que se aprecia como un mucílago o una vaina firme. Otra de las estructuras presentes en las cianobacterias son las vacuolas de gas que les ayudan a la flotación y que se encuentran en especies de muy diferentes géneros (*Anabaena*). Todas las especies que forman filamentos verdaderos presentan hormogonias, definidas en 1959 por Desikachary, como cadenas cortas y motiles. Sin embargo, no todas las

hormogonias caen exactamente en esta definición, esencialmente son filamentos modificados relacionados con la reproducción y la dispersión del microorganismo y que contienen altos niveles de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes. Las colonias de algunos géneros (*Rivularia*) están constituidas por la agregación de numerosas hormogonias, mientras que otras (*Nostoc*) generalmente se originan de una hormogonia simple (Ramírez, Martínez, Martínez y Eslava, 2005 y Kinross, 2007).

Estos microorganismos convierten el nitrógeno atmosférico en compuestos que pueden ser utilizados por plantas y animales. Muchas cianobacterias filamentosas poseen heterocistos (células especializadas que fijan el nitrógeno atmosférico). Alrededor del 5 al 10 por ciento de las células pueden convertirse en heterocistos cuando las cianobacterias se encuentran en ambientes de privación de nitrato y amoníaco. Hay que señalar que la fijación de nitrógeno también la realizan cianobacterias que carecen de heterocistos. Algunas fijan nitrógeno en la oscuridad, en condiciones de anoxia. En ocasiones, almacena nitrógeno extra en forma de polímeros de arginina o ácido aspártico en gránulos de cianoficina (Carmichael, 1994 y Prescott, Harley y Klein, 2002).

Las cianobacterias también son conocidas por su papel crítico en los orígenes de la vida, debido a que fueron los primeros organismos capaces de producir fotosíntesis oxigénica, y convertir el dióxido de carbono en oxígeno. Participaron de manera fundamental en la oxigenación de la atmósfera y esto propició las condiciones necesarias para el surgimiento de organismos aeróbicos. Además, fueron precursoras de algunas organelas dentro de las células de organismos más complejos, una de estas teorías propone que algunos de estos organismos fotosintetizadores, fueron incorporados permanentemente por otros microorganismos. Eventualmente estas cianobacterias perdieron su capacidad de sobrevivir de manera independiente y llegaron a dar origen a cloroplastos (Carmichael, 1994 y Prescott, Harley y Klein, 2002).

Proliferación de las cianobacterias

Muchas especies de cianobacterias planctónicas poseen vesículas intracelulares especializadas. Los agrupamientos de estos cilindros huecos y diminutos (< 300 nm) de proteína mantienen un espacio lleno de gas en la célula, lo cual permite al organismo

regular su capacidad de flote y buscar activamente las profundidades del agua con condiciones óptimas para el crecimiento (Red Centroamericana de Información sobre Desastres y Salud, CRID, 2006b).

Sin embargo, la regulación de la capacidad de flote al cambiar la cantidad de gas en las vesículas es lenta. Las células adaptadas a la mezcla turbulenta por medio de vesículas extendidas de gas demorarán unos días en reducir su capacidad de flote a fin de adaptarse a condiciones más calmadas. Así, cuando el clima cambia de tempestuoso a radiante (es decir, las condiciones mixtas en el agua varían de turbulentas a fuertemente estratificadas), varias células o colonias excesivamente flotantes se pueden acumular en la superficie. Los vientos ligeros las transportan hasta las orillas y bahías, donde forman espumas (CRID, 2006b).

En casos extremos, estas aglomeraciones se pueden volver muy densas e incluso adquirir una consistencia gelatinosa. Generalmente, tienen la forma de rayas o espumas finas que lucen como pintura o gelatina azul verdosas. Estas situaciones pueden variar rápidamente, incluso en unas horas. Los agrupamientos masivos de cianobacterias se han ganado el término colectivo de “florecimientos de agua”, los cuales se pueden diferenciar de acuerdo a brotes masivos generales de células en toda el agua y espumas flotantes en la superficie (CRID, 2006b).

Las proliferaciones distribuidas de manera uniforme a lo largo de la capa superior del agua pueden ser bastante densas y producir una coloración visible. Las espumas se pueden separar rápidamente por el oleaje y dispersarse a través de una mezcla renovada de viento. En bahías poco profundas, las espumas pueden demorar bastante tiempo en dispersarse, debido al oleaje o en último caso, a una desintegración de las células. Las células muertas y lisadas liberan sus contenidos en el agua, donde los pigmentos pueden adoptar un color azul cobrizo. La descomposición bacteriana produce una rápida putrefacción del material. Los depósitos cerca de la orilla son desagradables, a veces repulsivos y potencialmente tóxicos (CRID, 2006b).

El crecimiento de cianobacterias en medios acuosos depende de un incremento de nutrientes. Aunque muchas cianobacterias son fotolitoautótrofos obligados, algunas tienen la capacidad de crecer lentamente en la oscuridad como quimioheterótrofas mediante la oxidación de la glucosa y algunos otros azúcares. Con la muerte de

microorganismos de la proliferación, se libera gran cantidad de materia orgánica que permite la replicación de bacterias quimioheterotrofas que agotan el oxígeno disponible causando la muerte de los peces y otros organismos (Dawson, 1998; Peinador, 1999; De León, 2001 y Prescott, Harley y Klein, 2002).

Los factores que favorecen el desarrollo de proliferaciones cianobacterianas pueden resumirse en:

1. La eutrofización de los sistemas acuáticos que consisten en el aumento de la concentración de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo (N y P) por:
 - 1.1 Los aportes puntuales de aguas residuales domésticas o industriales no tratadas, con alto contenido de N y P, vertidas directa o indirectamente a los sistemas acuáticos.
 - 1.2 Los aportes difusos de aguas provenientes del lavado de suelos de áreas cultivadas y fertilizadas con N y P, de suelos deforestados o de campos con ganadería (Carmichael, 1994 y De León, 2001).
2. El alto tiempo de permanencia del agua en el sistema acuático, favorece la dominancia de las cianobacterias en la comunidad fitoplanctónica. El manejo del tiempo de residencia, mediante la regulación de flujos de salida o de entrada, constituye una forma de control o prevención de estos eventos (De León, 2001).
3. La aridez de regiones próximas o dentro de la cuenca hidrográfica, o los efectos similares debidos a suelos sin vegetación, aportan minerales al agua además de provocar mayor turbidez por la presencia de partículas disueltas. Esto interfiere con la actividad fotosintética de otras algas que mueren y sedimentan, dejando un nicho que es colonizado por las cianobacterias (De León, 2001).
4. Existen otros factores naturales como el incremento de la temperatura (mayor a 20 grados centígrados), un pH de neutro a alcalino (pH de 6 a 9), adecuada intensidad lumínica y baja turbulencia del agua por vientos menores a 3 metros por segundo. Estos factores son los más importantes en el desarrollo de las proliferaciones. Por otro lado, la competencia que ejercen algunos microorganismos determinan las especies de cianobacterias que se desarrollan en un área (Carmichael, 1994 y De León, 2001).

Las cianotoxinas

El metabolismo secundario de las cianobacterias está asociado con la producción de sustancias bioactivas, no sólo de carácter tóxico sino también algunas de interés humano como hormonas, antineoplásicos y potenciales medicamentos contra la enfermedad de Alzheimer (Carmichael, 1994 y Kreitlow, *et al.* 1999).

Algunas de estas sustancias tienen efectos alguicidas, insectidas, antibióticos y antimicóticos que se discutirán más adelante. Se ha informado que la Microcistina tiene un efecto antiviral contra la Influenza A, asociada a la inhibición de la actividad de las proteasas responsables de la replicación viral. Otros extractos de cianobacterias poseen actividad contra el virus del herpes simplex (HSV) y del virus de la inmunodeficiencia humana adquirida (HIV) (Pouria, *et al.* 1998; Kreitlow, *et al.* 1999; Zainuddin, Mundt, Wegner, Mentel, 2002 y Schmitta, Haapakangasa y van Beelen, 2005).

Un alto porcentaje de proliferaciones de cianobacterias produce potentes toxinas (ver cuadros 1 y 2), que pueden ingresar al organismo por ingestión directa de agua contaminadas, por contacto a través de baños, por inhalación de aerosoles o por consumo de animales expuestos a cianotoxinas. Estas toxinas son asociadas al metabolismo secundario de las cianobacterias, debido a que estas sustancias no se les conoce una función primordial en la supervivencia de estas bacterias (Carmichael, 1994 y De León, 2001).

Las intoxicaciones agudas en seres humanos, por consumo de agua contaminada con cianotoxinas, son poco usuales, esto debido a sustancias producidas por cianobacterias y hongos asociados que dan características desagradables (olor y sabor) al agua. Algunas de estas sustancias son compuestos volátiles como: geosmina y 2-metil-isoborneol (2-MIB) o a la liberación de gas sulfhídrico por anoxia (Pouria *et al.* 1998; Falconer *et al.* 1999 y De León, 2001).

Cuadro 1: Géneros de cianobacterias productoras de toxinas (Peinador, 1994; Lawton, Marsalek, Padisák y Chorus, 1999; Sivonen y Jones, 1999 y De León, 2001).

<u>Género de la cianobacteria</u>	<u>Género de la cianobacteria</u>
<i>Anabaena</i>	<i>Ondularia</i>
<i>Anabaenopsis</i>	<i>Nostoc</i>
<i>Aphanizomenon</i>	<i>Oscillatoria</i>
<i>Aphanocapsa</i>	<i>Phormidium</i>
<i>Coelosphaerium</i>	<i>Planktothrix</i>
<i>Cylindrospermopsis</i>	<i>Pseudanabaena</i>
<i>Gloeotrichia</i>	<i>Schizothrix</i>
<i>Gomphosphaeria</i>	<i>Synechocystis</i>
<i>Hapalosiphon</i>	<i>Synechococcus</i>
<i>Hormothamnion</i>	<i>Trichodesmium</i>
<i>Microcystis</i>	<i>Umekazia</i>

Similar a lo que sucede con la densidad de las cianobacterias, existen condiciones del medio que influyen en la producción de las toxinas. La concentración de fósforo y nitrógeno influyen en la regulación de la toxicidad de una proliferación cianobacteriana. Sin embargo, existe controversia en el tipo efecto de estos elementos, ya que algunos estudios revelan que concentraciones limitadas de P y N estimulan la producción de Microcistina (Giani, Bird, Prairie, y Lawrence, 2005).

Otros reportes afirman que la relación que existe entre la concentración de estos elementos y la Microcistina es directamente proporcional, y se pierde esa proporcionalidad sólo a altas concentraciones de P y N, donde se reduce la Microcistina (Rapala, Sivonen, Lyra y Niemelä, 1997 y Oh *et al.* 2001)

A diferencia de lo observado en la densidad de cianobacterias, el aumento de la temperatura tiene un efecto negativo en la producción de Microcistina, y a altas temperaturas (25-30 °C) se produce en menor proporción la cianotoxina. Existe polémica sobre el efecto de la luminosidad en la producción de Microcistina, ya que algunos estudios afirman que no existe una relación entre ellas, sin embargo, otros investigadores informaron que ha mayor luminosidad se reduce la producción de Microcistina (Rapala *et al.* 1997).

Las cianotoxinas han sido clasificadas por los síntomas que producen en animales en las dermatoxinas, las neurotoxinas y las hepatotoxinas. Otra clasificación se basa en la estructura molecular de las mismas, se dividen en péptidos cíclicos y

alcaloides. Las neurotoxinas afectan el funcionamiento de sistema nervioso y pueden causar la muerte por parálisis de los músculos respiratorios (Carmichael, 1994 y De León, 2001).

Cuatro neurotoxinas han sido estudiadas con gran detalle. De estas sólo la Anatoxina y la Anatoxina-S se encuentran exclusivamente en cianobacterias. Las otras dos, la Saxitoxina y la Neoxitocina, también pueden ser producidos por algas marinas eucariontes. Entre los géneros que producen sustancias que mimetizan el neurotransmisor acetilcolina se encuentran *Anabaena* y *Oscillatoria* (Carmichael, 1994 y De León, 2001).

Mundialmente, las hepatotoxinas son más frecuentes que las neurotoxinas, ya que existen registros en todos los continentes. Sin embargo, el desarrollo heterogéneo de metodologías para el análisis de las toxinas y el mayor esfuerzo en la estandarización de métodos para detectar hepatotoxinas, pueden contribuir a este resultado (Carmichael, 1994 y De León, 2001).

Las intoxicaciones con neurotoxinas (anatoxinas y Saxitoxinas) se manifiestan ante exposiciones a altas concentraciones y tienen efectos agudos y letales en mamíferos. Los efectos debidos a anatoxinas en animales son escasos e inexistentes en humanos (De León, 2001).

Cuadro 2: Clasificación de cianotoxinas y algunos géneros y especies de cianobacterias relacionados (Sivonen y Jones, 1999; De León, 2001 y Svrcek y Smith, 2004)

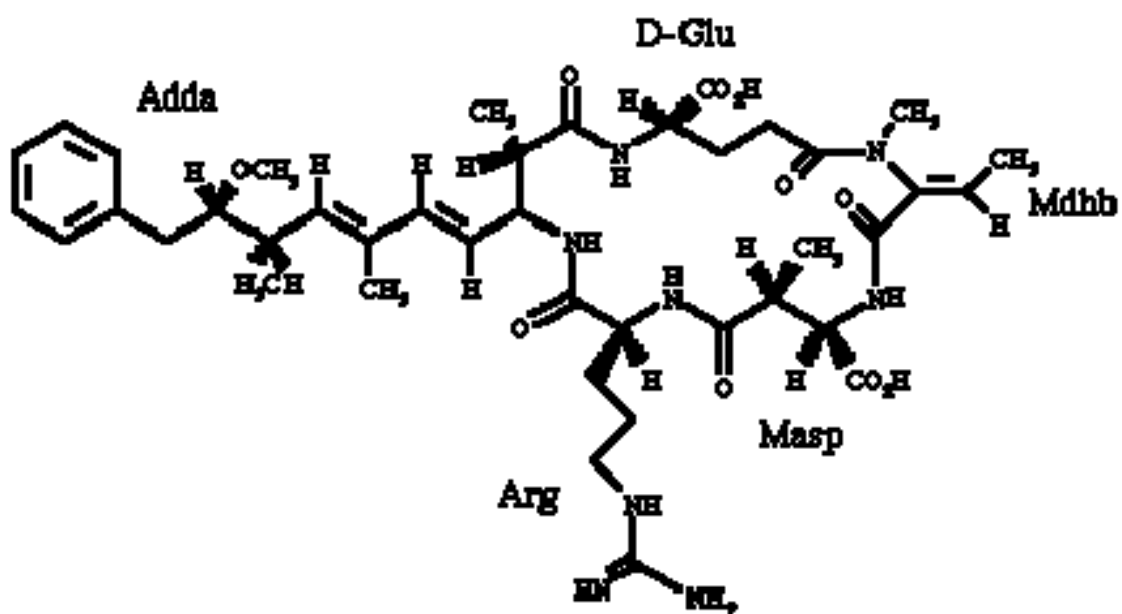
Toxina	Tipo de estructura	Cianobacteria
Anatoxina-a	Alcaloides	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Microcystis, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
Anatoxina-s	Alcaloides	<i>Anabaena</i>
Saxitoxina	Alcaloides	<i>Anabaena circinalis, Aphanizomenon flos-aquae, Cylindrospermopsis raciborskii, Lyngbya wolleii</i>
Apliasiatoxina	Alcaloides	<i>Lyngbya, Planktothrix (Oscillatoria), Schizothrix</i>
Lyngbiatoxina	Alcaloides	<i>Lyngbya</i>
Cilindrospermopsina	Alcaloides	<i>Aphanizomenon, Umekazia Cylindrospermopsis</i>
Lipopolisacáridos (LPS)	Lipopolisacárido	Todos los géneros
Microcistina	Péptidos cíclicos	<i>Anabaena, Anabaenopsis millerii, Aphanocapsa, Microcystis, Nostoc, Planktothrix (Oscillatoria), Oscillatoria limosa, Hapalosiphon</i>
Nodularina	Péptidos cíclicos	<i>Ondularía</i>

Nodularina

La estructura de la Nodularina está relacionada con el heptapéptido cíclico de las hepatotoxinas (Microcistina) pero a diferencia de éstas, la Nodularina está compuesta por sólo cinco aminoácidos en el anillo peptídico (ver figura 1). Ambas toxinas muestran el mismo efecto hepatotóxico actuando mediante la inhibición de proteinfosfatasas y presentan valores similares para la dosis letal 50. La inhibición de fosfatos proteínicos de serina-treonina representa el mecanismo de acción de la Nodularina (Schneegurt, 1997 y CRID, 2006b).

Ésta molécula actúa como una hepatotoxina. Produce hemorragias masivas en el hígado de mamíferos, daña la estructura del hígado y los riñones. Hasta la fecha, no se tienen registros de envenenamientos por *Nodularia spumigena*; sin embargo, los seres humanos pueden ser tan susceptibles a las toxinas como el resto de mamíferos. Por lo tanto, los niños pequeños, en particular, pueden ingerir accidentalmente materias tóxicas en cantidades que podrían traer graves consecuencias tales como daño al hígado, el cual no se diagnostica inmediatamente (CRID, 2006b).

Figura 1: Estructura molecular de la Nodularina (Schneegurt, 1997).



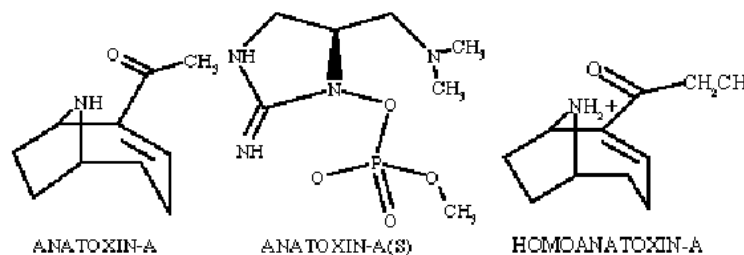
Anatoxinas

Las anatoxinas son un grupo de alcaloides neurotóxicos producidos por un gran número de cianobacterias (ver figura 2). La dosis letal 50 (LD50), varía entre los 20 µg por kilogramo, para la anatoxina-S y los 200-250 µg por kilogramo para la anatoxina-a y la homoanatoxina, haciéndolas más tóxicas que la mayoría de las Microcistinas. La anatoxina-a y la homoanatoxina mimetizan el efecto de la acetilcolina y la anatoxina-S produce el bloqueo de la acetilcolinesterasa (Kuiper-Goodman, Falconer, y Fitzgerald, 1999 y CRID, 2006b).

La Anatoxina es letal debido que no puede ser degradada por la acetilcolinesterasa o por otros complejos enzimáticos de células eucariotas. Consecuentemente, mantienen la sobreestimulación muscular, cuando los músculos respiratorios son afectados, los animales sufren convulsiones (por la disminución en la oxigenación cerebral) y muerte por sofocación. Lamentablemente, no existe aún un antídoto contra las Anatoxinas (Carmichael, 1994).

Otra neurotoxina exclusiva de las cianobacterias es la Anatoxina-S, esta cianotoxina es considerada como una variante de la Anatoxina, que produce una sintomatología similar, acompañada de excesiva salivación (de ahí la terminación “S” en su nombre). La Anatoxina S, es un organofosforado de origen natural, que posee un mecanismo de acción similar a los de compuestos organofosforados sintéticos, como son el Paratión y el Malatión (Carmichael, 1994).

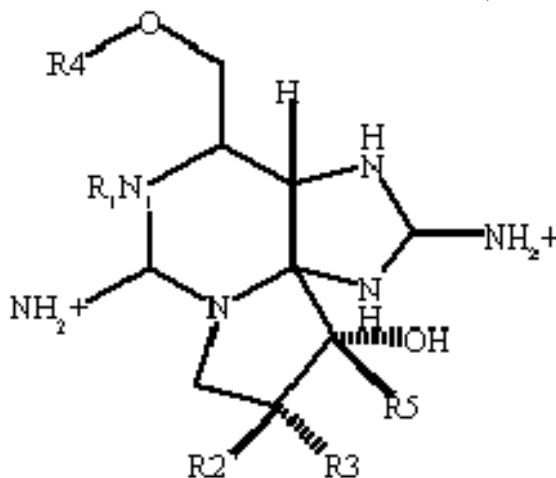
Figura 2: Estructura molecular de las principales de las Anatoxinas (Schneegurt, 1997).



Saxitoxina

Como las Anatoxinas, las Saxitoxinas son alcaloides neurotóxicos los cuales también son conocidos como “veneno paralítico de los mariscos” debido a la asociación entre estas toxinas y los mariscos. Provocan bloqueo de los canales de sodio en las células nerviosas, de ahí su efecto neurotóxico. Existen un gran número de variantes, usualmente clasificadas según los grupos base de su estructura molecular o por el organismo de origen, su estructura molecular se observa en la figura 3 (Schneegurt, 1997 y CRID, 2006b).

Figura 3: Estructura molecular de la Saxitoxina (Schneegurt, 1997).



Cilindrospermopsina

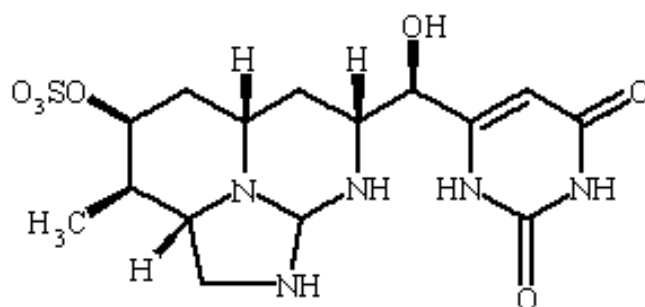
A pesar de que originalmente fue hallada en la cianobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii*, la Cilindrospermopsina puede también encontrarse en otras especies como *Aphanizomenon ovalisporum* y *Umezakia natans*. La *Cylindrospermopsis raciborskii* es considerada una especie tropical y subtropical, pero recientemente se han informado proliferaciones en regiones templadas como el noreste de Alemania donde esta toxina también puede ser relevante. En latitudes tropicales, donde la luz y la temperatura son relativamente constantes, las variaciones estacionales del plancton dependen del efecto de las lluvias, la sequía e incluso de la mezcla. Las fluctuaciones de la biomasa planctónica suelen ser de amplitud mayor en lagos tropicales, que en los templados, el inicio de la temporada de lluvias define el máximo crecimiento, cuya significancia depende del aporte de nutrientes de la cuenca de drenaje (Schneegurt, 1997; López y Serna, 1999 y CRID, 2006a).

La Cilindrospermopsina es un alcaloide cíclico (ver figura 4) y como la Microcistina, afecta primariamente al hígado. No obstante, puede afectar otros órganos en mamíferos. Estudios *in vitro* con Cilindrospermopsina purificada demostraron que inhibe la síntesis de glutatión y de proteínas en general. Es importante destacar que la Cilindrospermopsina posee toxicidad acumulativa sustancial (Falconer, *et al.* 1999 y CRID, 2006a)

Los efectos de la toxina se caracterizan por hepatitis, enteritis y daño renal. En un estudio de laboratorio, células lisadas de *Cylindrospermopsis raciborskii* productora de Cilindrospermopsina, fueron inoculadas intraperitonealmente en ratones y el resultado de esta inoculación fue el daño progresivo y necrosis en diferentes tejidos: hígado, riñones, glándulas adrenales, pulmones, corazón, bazo y timo (Falconer, *et al.* 1999).

No obstante, todavía se desconoce si la Cilindrospermopsina es la única toxina en *Cylindrospermopsis*, debido a que los graves daños causados por extractos de esta cianobacteria en riñones de ratones inoculados intraperitonealmente no son similares a los observados después de la administración de la toxina pura (Falconer, *et al.* 1999).

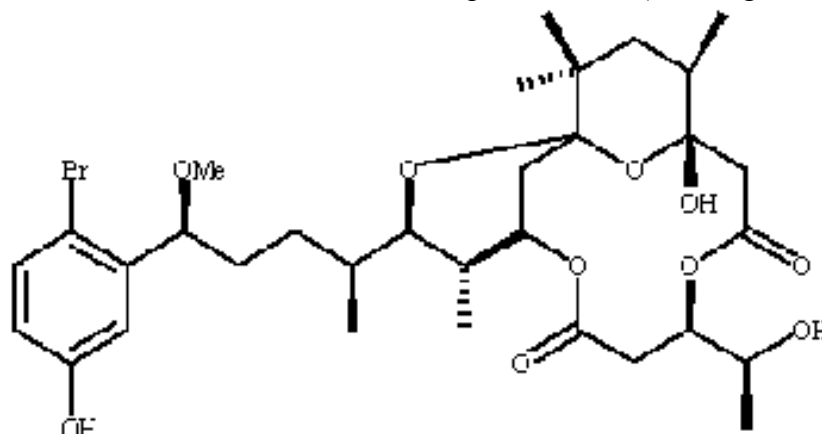
Figura 4: Estructura molecular de la Cilindrospermopsina (Schneegurt, 1997).



Aplisiatoxinas

Es producida por cianobacterias marinas como *Lyngbia*, las Aplisiatoxinas son comúnmente conocidas por la actividad dermatotóxica pues producen dermatitis. También son potentes carcinógenos. Su estructura molecular se puede observar en la figura 5 (Schneegurt, 1997).

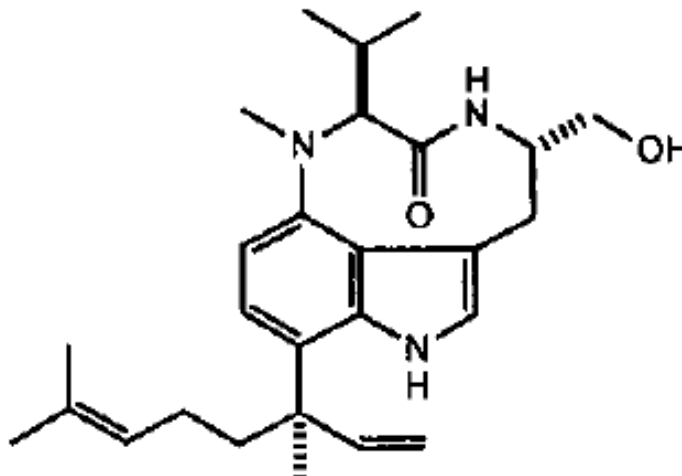
Figura 5: Estructura molecular de las Aplisiatoxinas (Schneegurt, 1997).



Lingbiatoxina

Cepas de *Lyngbya majuscula* producen Lingbiatoxina. Esta toxina causa dermatitis e inflamación oral y gastrointestinal severas. Su estructura puede verse en la figura 6 (Schneegurt, 1997).

Figura 6: Estructura molecular de la Lingbiatoxina (Schneegurt, 1997).



Microcistina

La Microcistina (también conocida como cianoginosina) pertenece a una familia de toxinas producidas por cianobacterias, principalmente por la especie *Microcystis aeruginosa*, y por otros géneros como *Anabaena*, *Oscillatoria* y *Nostoc*. La estructura de la toxina es la de un heptapéptido monocíclico (ver figura 7). Existen alrededor de sesenta variantes moleculares de Microcistina (ver figura 8 y Anexo 1). Las

Microcistinas son inhibidores de proteinfosfatasas. La Microcistina-LR es la más común de estas toxinas, con los aminoácidos variables leucina y arginina (Dawson, 1998, Diehnelt, Dugan, Peterman, y Budde, 2006 y CRID, 2006a).

Figura 7: Estructura molecular de la Microcistina LR (Ramírez *et al.* 2005).

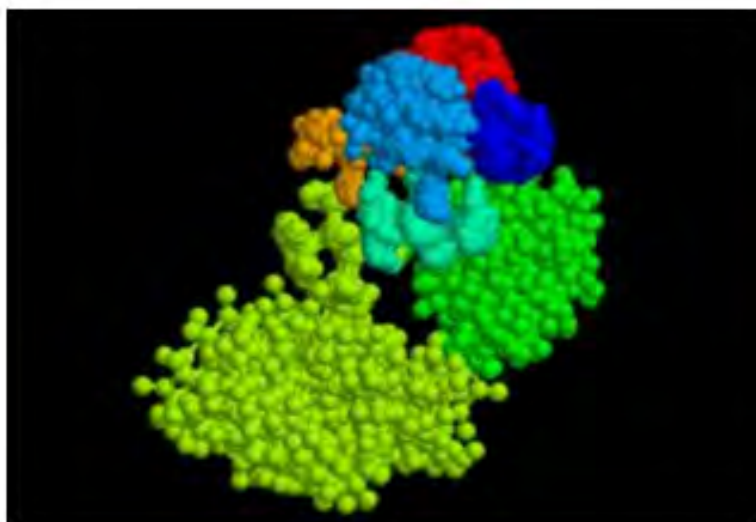
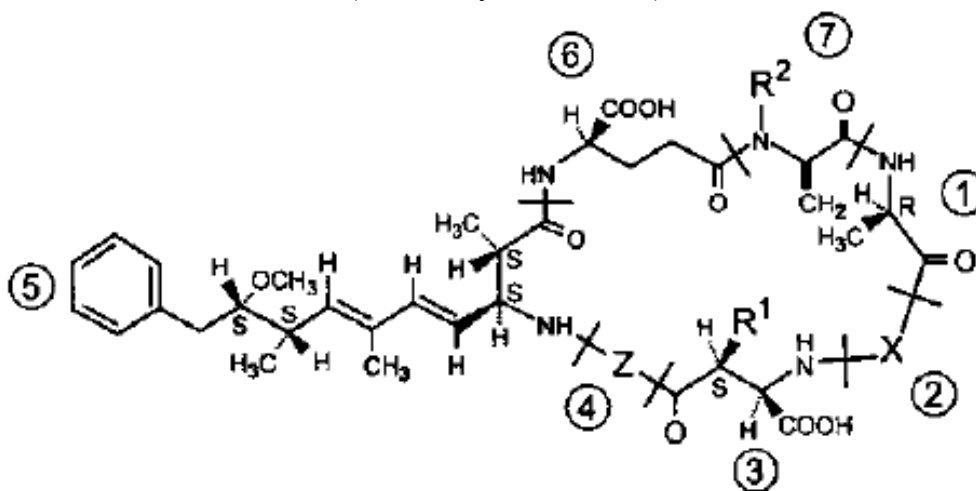


Figura 8: Estructura general y variantes más frecuentes de la Microcistina (Sivonen, y Jones, 1999).



Nota: ciclo-(Dala 1-X 2 - D-MeAsp 3 – Z 4 –ADDA 5 -D-Glu 6 –Mdha 7) X y Z son L-aminoácidos (en Microcistina-LR: X es L-Leucina (L) y Z es L- Arginina (R)); R1 y R2 son H (demetilmicrocistinas) o CH₃; D-MeAsp es D-eritro-β-ácido metilaspártico; ADDA es (2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenildeca-4,6-ácido dienoico y Mdha es N-metildehidroalanina

La Microcistina inhibe proteínofosfatasa tipo 1 y 2A. El ser humano requiere consumir 5 litros de agua con una densidad de algas alrededor de 2100 células por mililitro para poder alcanzar la dosis letal. Si bien esta densidad es fácilmente alcanzable en una proliferación cianobacteriana, el aspecto del agua provoca un natural rechazo que constituye una defensa para el potencial consumidor. El mayor riesgo es la ingestión de bajas dosis de Microcistina durante un tiempo prolongado, al promover el desarrollo de enfermedades hepáticas crónicas a mediano y largo plazo, o causan malestares hepáticos y digestivos a corto plazo (De León, 2001 y Obesity, Fitness and Wellness Week Editors, 2005).

El riesgo por contacto con agua contaminada de uso recreacional se manifiesta en la irritación dérmica y/o síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos). Los casos más graves informan internación y asistencia intensiva debido a neumonía (De León, 2001).

Los casos de intoxicación por *Microcystis aeruginosa* se caracterizan por algunos de los siguientes síntomas: diarrea, vomito, piloerección, debilidad, palidez y fotosensibilización. Las muertes ocurren por el shock, este posee dos componentes: el componente hemorrágico, debido a la destrucción hepática y el componente cardiogénico, esto debido a la hipotensión y vasoconstricción periférica, observada en ratas intoxicadas con Microcistina (OMS, 1984 y Dawson, 1998).

Las membranas celulares no son permeables al paso de la Microcistina. Es posible que esta cianotoxina ingrese a las células por medio de un transporte mediado por acarreadores (proteínas facilitadoras del paso de sustancias a través de las membranas celulares). La Microcistina causa su toxicidad en los hepatocitos mediante procesos de fosforilación proteica no balanceados que generan la rápida disrupción del citoesqueleto hepático, lo cual guía hacia una hemorragia hepática masiva y a la muerte (Dawson, 1998).

Un aminoácido inusual ADDA (ver figura 7), es esencial para la expresión de la actividad biológica de la Microcistina; cambios estereoquímicos en torno a un enlace doble conjugado genera la pérdida de la toxicidad. La inhibición de la actividad enzimática resulta de una interacción no covalente mediada por cadenas hidrofóbicas

ADDA y las cadenas glutamilcarboxil. La inhibición de proteínas fosfatasa favorece la fosforilación de proteínas del citoesqueleto y proteínas asociadas al citoesqueleto provocando redistribución de las mismas. Algunos investigadores afirman que la disrupción del citoesqueleto puede ser la causa del desacople de proteínas G y la fosfolipasa C, pues al incubar hepatocitos de rata con Microcistina se presenta una marcada inhibición de la transmisión de señales celulares mediado por proteínas G (Dawson, 1998; Diehnelt, Dugan, Peterman y Budde, 2006 y CRID, 2006a).

La Microcistina también tiene la capacidad de activar la Fosforilasa-A. Esta podría ser la causa de la marcada depleción de glucógeno en el hígado, observada luego de la administración de Microcistina (Dawson, 1998).

Muchos de los estudios sobre el efecto de la Microcistina en los hepatocitos se han realizado en ratones y ratas de laboratorio, sin embargo, se confirmó que la Microcistina causa alteraciones en los filamentos del citoesqueleto de hepatocitos humanos, colapsando dentro de la célula, similar a lo reportado en animales de laboratorio. Además, produce fragmentación celular, separación de las uniones de los hepatocitos y condensación nuclear (Dawson, 1998 y Romanowska *et al.* 2002).

La Microcistina puede producir apoptosis en diferentes líneas celulares, como los hepatocitos y leucocitos. Se desconoce el mecanismo exacto por el cual la Microcistina da inicio a la apoptosis celular, sin embargo, la inducción de estrés oxidativo y las alteraciones mitocondriales pueden estar involucradas (Gene Therapy Weekly Editors, 2003 y Obesity, Fitness & Wellness Week Editors, 2005).

El gen p53 estimula normalmente la apoptosis; la Microcistina incrementa la expresión de este gen tanto *in vitro* como *in vivo*. Por otro lado, la proteína Bcl-2 puede suprimir la apoptosis, la Microcistina puede disminuir su concentración en condiciones *in vitro*, sin embargo, no se observa este efecto en condiciones *in vivo*. Otra molécula que regula la apoptosis es la proteína Bax, que tiene un efecto pro-apoptótico y se ve aumentada su expresión tanto *in vitro* como *in vivo* ante la presencia de la Microcistina (Cortran, Kumar y Collins, 1999 y Gene Therapy Weekly Editors, 2003).

Citocromo c Oxidasa es el complejo enzimático IV de la cadena respiratoria mitocondrial. La inadecuada función de la cadena respiratoria causa disturbios energéticos en toda la célula. Aunque se desconoce el mecanismo existen reportes que

la Microcistina LR provoca la deslocalización del Citocromo C mitocondrial hacia el citosol que puede deberse al descenso de la actividad del Citocromo c Oxidasa y esto induce de la apoptosis (Majstereka *et al.* 2004).

La Microcistina LR a concentraciones equivalentes a la máxima concentración de Microcistina LR en agua de consumo humano, permitida por la Organización Mundial de la Salud (OMS), lleva a la muerte celular, esto porque provocan la activación del complejo Citocromo c Oxidasa mitocondrial. Esta activación puede ser considerada como una señal defensiva de la mitocondria contra bajas concentraciones de la cianotoxina. Sin embargo, en altas concentraciones de Microcistina LR (1 μM) se observa la inactivación de la actividad del Citocromo c Oxidasa y causa un fuerte efecto tóxico (Majstereka *et al.* 2004).

La Microcistina posee un efecto inmunomodulador. Sin embargo, existen discrepancias acerca de si ese efecto es inmunosupresor, o si al contrario potencia la actividad del sistema inmune. Un estudio afirma que al incubar leucocitos de pacientes de hemodiálisis y voluntarios sanos junto con concentraciones de 10 $\mu\text{g/L}$ de Microcistina por 24 horas, se observó que los leucocitos de los voluntarios presentaron un incremento en la tasa de apoptosis y los leucocitos de los pacientes que recibieron hemodiálisis manifestaron una reducción de la producción de especies reactivas del oxígeno (Gonçalves *et al.* 2006).

Adicionalmente, no se encontró un efecto inmunomodulador cuando monocitos fueron incubados con Microcistina (10 $\mu\text{g/L}$) y luego estimulados con lipopolisacáridos (100 ng/mL) bacterianos. No obstante, otro estudio informa que existe un efecto potenciador del sistema inmune, debido a que la Microcistina tiene actividad quimiotáctica, induce la producción de especies reactivas del oxígeno e incrementa la fagocitosis de *Candida albicans* (Gonçalves *et al.* 2006; Kujbida, Hatanaka, Campa, Colepicolo y Pinto, 2006 y Sicińska *et al.* 2006).

La Microcistina LR afecta la línea eritrocítica en seres humanos. Induce la formación de equinocitos, la hemólisis, la conversión de la oxihemoglobina a metahemoglobina y la disminución de la fluidez de la membrana eritrocítica. También disminuye la actividad de enzimas antioxidantes: catalasa, superóxido dismutasa y glutatión reductasa. Estos efectos se observan en concentraciones de 100

nanomoles/Litro (mínima concentración tóxica para los eritrocitos humanos) de Microcistina LR. Los cambios observados en la membrana de los eritrocitos y en las enzimas antioxidantes puede deberse al enlace covalente de la Microcistina con residuos sulfhidrilo (SH) de proteínas e indirectamente a la formación de especies reactivas del oxígeno (Sicińska *et al.* 2006).

Los efectos en las gónadas y embriones, así como los efectos mutagénicos en la médula ósea, fueron reportados en ratas que recibieron oralmente un extracto de *Microcystis aeruginosa*. La Microcistina LR tiene efecto genotóxico probablemente mediado por especies reactivas del oxígeno. Sin embargo, la mayor parte de este daño puede estar más relacionado con fases tempranas de la apoptosis que al propio efecto genotóxico (OMS, 1984 y Majstereka, Sicińska, Tarczyskac, Zalewskic y Waltera, 2004).

El efecto de toxicidad aguda es un problema evidente, especialmente en el caso de la Microcistina, sin embargo, es destacable el potencial efecto crónico de ésta y posiblemente de otras cianotoxinas. Estudios de laboratorio realizados con monos demostraron que la ingestión crónica de células de *Microcystis aeruginosa* durante 6-7 meses, producen daño en el citoesqueleto de los hepatocitos, necrosis y hemorragia, con el consecuente aumento en el tamaño del hígado y moderada proliferación del epitelio del conducto biliar proliferación del tejido conectivo, y pleomorfismo de los hepatocitos (OMS, 1984 y Dawson, 1998).

Además, se ha relacionado esta toxina con un efecto carcinogénico en humanos. Este es el caso del carcinoma hepatocelular en China. La incidencia de carcinoma hepatocelular en China es una de las más altas en el mundo (35-40 por cada 100000 habitantes) y algunos estudios han explorado la posibilidad de que las cianotoxinas sean parte de los factores de riesgo que posee esta población. Se observó que las cianobacterias abundaban en la superficie de las fuentes de agua del sureste de China donde la incidencia de carcinoma hepatocelular es alta, y al controlar este posible factor y junto con otros factores (como la infección de hepatitis B y la presencia de la micotoxina llamada Aflatoxina B1 en alimentos como el maíz) se redujo significativamente este tipo de carcinoma. A pesar de esto, la asociación entre las

cianotoxinas y el carcinoma hepatocelular en China debe ser confirmada con más estudios (Falconer, *et al.* 1999 y Arce, 2003).

Pigmentos y Lipopolisacáridos (LPS)

Los lipopolisacáridos son generalmente encontrados en la membrana externa de la pared de bacterias Gram negativas, este grupo incluye a las cianobacterias. Los LPS poseen actividad pirogénica y tóxica. Los lipopolisacáridos, como su nombre lo implica, están compuestos por azúcares, usualmente hexosas, además de lípidos como ácidos grasos. Los ácidos grasos que componen las moléculas de LPS producen dermatitis en animales y humanos. Los LPS cianobacterianos son considerablemente menos tóxicos que los de otras bacterias Gram negativas como *Salmonella*. La estabilidad de los LPS cianobacterianos en la superficie del agua es desconocida (Falconer *et al.* 1999).

Algunos pigmentos de las cianobacterias pueden producir reacciones alérgicas en individuos susceptibles, además se han relacionado con la “picazón del nadador”. La dermatitis cianobacteriana marina (picazón del nadador o dermatitis por algas) es una dermatitis por contacto severa que puede ocurrir luego de nadar en aguas marinas que contienen brotes de ciertas especies de cianobacterias marinas. Los síntomas de picazón y quemadura se producen a los minutos u horas de haber nadado en el mar donde se encuentran suspendidos fragmentos de cianobacterias. Al cabo de 3 a 8 horas, se desarrolla una dermatitis visible y enrojecimiento, seguidos de la aparición de ampollas y una descamación aguda. También, otros componentes tóxicos tales como Apliasiatoxina, Debromoapliasiatoxina y Lingbiatoxina A, se han aislado de cianobacterias marinas (Falconer, *et al.* 1999 y CRID, 2006a).

Estas toxinas promueven el desarrollo de un cuadro inflamatorio y son promotores de tumores en la piel, pues usan mecanismos similares a ésteres de forbol al activar la proteína cinasa C. Sin embargo, se requiere mayor investigación sobre la eficiencia de las apliatoxinas y la Lingbiatoxina A como promotores de tumores en seres humanos (CRID, 2006a).

IMPACTO ECOLÓGICO DE LAS CIANOTOXINAS

Las cianobacterias son muy exitosas en su interacción con otros seres vivos y su entorno. Poseen características que reducen la competencia con otros organismos. Pueden desarrollarse en ambientes con bajas concentraciones de dióxido de carbono, además, tienen la capacidad de retenerlo por medio de su cubierta mucilaginosa. Poseen pigmentos fotosintéticos que les permite aprovechar un recurso inagotable como la luz solar, como fuente de energía y a su vez, esto reduce el paso de la misma a estratos inferiores de la masa de agua e impide el desarrollo masivo de muchas clorofíceas (Peinador, 1999).

Ciertos organismos patógenos se desarrollan en el mucílago de las colonias de cianobacterias. Durante los crecimientos masivos de cianobacterias se incrementan las interacciones entre estas y otros microbios (bacterias, hongos y ciliados) existentes en su entorno o ficósfera, algunos de los cuales pueden ser patógenos. Las interacciones pueden ser azarosas e inespecíficas o muy específicas, como la asociación entre *Pseudomonas aeruginosa* y los heterocistos (células especializadas para la fijación de nitrógeno atmosférico) de *Anabaena oscillarioides*. Si bien estas asociaciones son mutuamente beneficiosas entre los organismos planctónicos, pueden tornarse nocivas para organismos de niveles superiores, a los cuales pueden perjudicar por contacto o ingestión (De León, 2001).

Además, existe un efecto protector en algunas bacterias contra la Microcistina. Esto permite observar un panorama más amplio de la competencia y las estrategias de los seres vivos para sobrevivir y de la capacidad de algunas bacterias para la biorremediación de las cianotoxinas (Ishii, 2004).

Las cianobacterias no sólo afectan a otros microorganismos, si no también a organismos más complejos. Un gran número de reportes de intoxicaciones en especies de animales de interés económico que involucran a diferentes géneros de cianobacterias. Conforme aumenta el número de casos, se hace más importante no sólo detectar las toxinas en el agua de consumo humano y animal, por las pérdidas económicas, y por las implicaciones en salud pública que esto supone, si no también comprender las

interacciones que tienen las cianobacterias en el ecosistema (Carmichael, 1994; Pouria *et al.* 1998 y Ramírez *et al.* 2005).

Efecto antibiótico de las cianobacterias

Las sustancias antimicrobianas producidas por las cianobacterias pueden tener como blanco microorganismos procariotas y eucariotas. Existe la posibilidad que las sustancias alelopáticas, que segregan muchas cianobacterias, favorezca su desarrollo en aguas eutróficas, al eliminar la competencia de muchos organismos y al evitar ser depredadas por otros (Ostensvik *et al.* 1998; Peinador, 1999; Kreitlow, Sabine y Lindequist, 1999 y Ishii, 2004).

Los ensayos de inhibición bacteriana han revelado datos importantes sobre el efecto antibiótico de los extractos de algunas cianobacterias. Esta inhibición depende del género de cianobacteria estudiada, de la naturaleza química de la sustancia de extracción (orgánica, acuosa), del microorganismo en estudio y de las características del mismo (especialmente del tipo de pared que poseen, en el caso de bacterias), del pH del medio y del tiempo de exposición (Ostensvik *et al.* 1998).

El efecto antimicrobiano se estudia por medio de bioensayos que utilizan microorganismos, especialmente procariotas. En la mayoría de estos estudios, se extrae la sustancia sospechosa en solventes orgánicos y acuosos, y se aplican técnicas de difusión (Ostensvik *et al.* 1998 y Kreitlow, Sabine y Lindequist, 1999).

Un estudio realizado por un grupo de investigadores noruego demostró que extractos orgánicos de cianobacterias productoras de toxinas como: *Aphanizomenon flos-aquae*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Anabaena lemmermannii*, y *Microcystis aeruginosa* poseen actividad antibiótica contra bacterias Gram positivas y Gram negativas (ver cuadro 3). Sin embargo, al realizar la extracción de las toxinas en medio acuoso sólo se observó el efecto inhibitor en los extractos provenientes de *Microcystis aeruginosa* contra bacilos Gram positivos y *Bacillus subtilis*, no así en los extractos acuosos de las otras cianobacterias en estudio (Ostensvik *et al.* 1998).

Cuadro 3: Efecto antibiótico de diferentes extractos de cianobacterias
(Baslow, 1977; Ostensvik *et al.* 1998 y Kreitlow, Sabine y Lindequist, 1999).

Cianobacteria	Solvente	Bacteria (s) inhibida (s)
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	Agua	<i>Aeromonas hydrophila</i>
	Metanol	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Escherichia coli</i>
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	Metanol	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Anabaena lemmermannii</i>	Metanol	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Agua	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i>
	Metanol	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Tychonema bourrellyi</i>	Agua	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i>
	Metanol	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Oscillatoria tenuis</i>	Diclorometano	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Bacillus subtilis</i>
	Metanol	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Micrococcus flavus</i>
<i>Oscillatoria rubescens</i>	Metanol	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Micrococcus flavus</i>
<i>Anabaena solitaria</i>	Hexano	<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Micrococcus flavus</i>
<i>Limnothrix</i>	Hexano	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Micrococcus flavus</i>
	Etilacetato	<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Micrococcus flavus</i>
<i>Oscillatoria splendida</i>	No especificado	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus typhosus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Brucella bronchiseptica</i>
<i>Oscillatoria princeps</i>	No especificado	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus typhosus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Brucella bronchiseptica</i>

Otra cianobacteria, *Tychonema bourrellyi*, también se analizó para determinar si posee efecto antibiótico, y se hallaron resultados similares a los de *Microcystis aeruginosa* en el mismo estudio. Los extractos orgánicos de ambas cianobacterias poseen efectos contra bacterias Gram negativas y Gram positivas, excepto contra *Micrococcus luteus* y los extractos acuosos de ambas sólo poseen actividad contra *Bacillus subtilis* (bacilo Gram positivo), estos resultados son interesantes porque en la literatura, y a diferencia de *Microcystis aeruginosa*, no se informa que *Tychonema bourrellyi* produzca cianotoxinas, es posible que sí pueda producirlas, pero aún no ha sido informado (Ostensvik *et al.* 1998).

Algunas investigaciones muestran ausencia de actividad antibacteriana de la Microcistina RR y Microcistina LR purificadas en concentraciones de 8-10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ cuando se realizan ensayos con *Micrococcus luteus*, *Aeromonas hydrophyla*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli* (Ostensvik *et al.* 1998).

Estos hallazgos pueden deberse al uso de concentraciones sub-inhedoras de Microcistina-RR y Microcistina-LR, pues algunos estudios sugieren que la Concentración Mínima Inhedoras de la Microcistina-RR para *Escherichia coli* K12 3300 es posiblemente muy superior a los 100 $\mu\text{g/mL}$ (Dixon *et al.* 2004).

No obstante, se desconoce cuáles son las Concentraciones Mínimas Inhedoras de la Microcistina contra diferentes bacterias, o si es posible descartar de la Microcistina-RR y Microcistina-LR purificadas, el efecto inhedor sobre el crecimiento bacteriano (Ostensvik *et al.* 1998 y Dixon *et al.* 2004).

En estudios recientes plantean la hipótesis de que otras sustancias presentes en los extractos crudos de *Microcystis* son responsables de la inhibición del crecimiento de diferentes microorganismos (Ostensvik *et al.* 1998 y Dixon *et al.* 2004).

Esta hipótesis se apoya en trabajos realizados con Anatoxinas y Microcistina las cuales no poseen un efecto tóxico sobre *Pseudomonas putida* y en investigaciones que revelan que el efecto tóxico de extractos de cianobacterias productoras de Microcistina-LR, observado sobre bacterias luminiscentes, no correlaciona con la concentración de Microcistina de los mismos (Ostensvik *et al.* 1998).

Por otro lado, se han realizado estudios que sugieren que la Microcistina-RR posee un efecto directo permeabilizante sobre las membranas de *Escherichia coli*, sin embargo este efecto es sub-lethal. Debido a que la toxina permite la salida de marcadores enzimáticos específicos (beta-lactamasa) de daño de la membrana externa de *Escherichia coli*, y el paso de sustancias hidrofóbicas (Dixon *et al.* 2004).

No obstante, se desconoce cual es el mecanismo exacto de permeabilización de la Microcistina RR, y si este efecto se da en otros grupos bacterianos. De esta forma, la Microcistina puede ser considerada como un factor que favorece el paso de sustancias tóxicas para las bacterias que de otra forma no pueden atravesar la membrana lipídica (Dixon *et al.* 2004).

Efecto sobre fitoplancton y plantas acuáticas

La mayoría de los estudios relacionados con el efecto de las cianotoxinas, se enfocan en la toxicidad aguda de la Microcistina en mamíferos de laboratorio. Poco se sabe de la acumulación de las cianotoxinas dentro de la cadena alimenticia acuática. Algunos estudios informan la inhibición en el crecimiento de algas y otras cianobacterias. Desde la década del setenta ha sido informada la inhibición del crecimiento de muchas algas cuando son cultivadas junto con *Microcystis aeruginosa*, con la aparente producción de sustancias tóxicas o inhibidoras contra algas como *Clamdomonas moewusii*, *Haematococcus lacustris*, *Navicula pelliculosa* y *Cryptomonas ovata* (Baslow, 1977).

El género *Oscillatoria* reduce el crecimiento de otras cianobacterias como *Anacystis*, *Phormidium* y *Plectonema* y algas (*Chlorella*) en cultivos de laboratorio. También, se ha observado la inhibición de *Chlorella pyrenoidosa* en presencia de compuestos orgánicos volátiles de *Aphanizomenon flos-aquae* y *Microcystis aeruginosa* (Zurawell, Chen, Burke y Prepas, 2005).

El ácido linoleico y el ácido linolénico, son los principales responsables del efecto alelopático de las cianobacterias sobre las algas. No obstante, existen evidencias de que las cianotoxinas participan en este efecto inhibitorio (Zurawell *et al.* 2005).

La Microcistina LR inhibe la reproducción de la alga *Nephroselmis olivacea*. Esta inhibición fue evidente en periodos cortos (4 días), sin embargo, luego de un

periodo superior a los 10 días no se observa una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de algas expuestas a la Microcistina, estas diferencias fueron atribuidas a la degradación de la toxina (Zurawell *et al.* 2005).

La Microcistina LR pura (10 ng/mL) y extractos de *Aphanizomenon flos-aquae* reducen el número de células móviles del alga verde *Chlamydomonas reinhardtii*, las cuales compiten con las cianobacterias por espacio físico y sustancias alimenticias. Los autores de este descubrimiento proponen que el efecto paralítico de las cianotoxinas sobre algunas algas verdes, permite correlacionar con los crecimientos masivos cianobacterianos (Zurawell *et al.* 2005).

Las macrófitas también son afectadas por la presencia de cianotoxinas en el agua. Después de una exposición por 24 horas de Microcistina LR (0.5 µg/mL), la fotosíntesis de plantas acuáticas sumergidas como *Myriophyllum spicatum* y *Elodea canadensis*, se reduce en un cincuenta a un noventa por ciento; mientras que algunas algas redujeron sólo un 10 por ciento de su actividad fotosintética (Zurawell *et al.* 2005).

Las macrófitas de la familia Lemnaceae están ampliamente distribuidas en muchas zonas del planeta, y son de rápido crecimiento. Debido a su alta sensibilidad a gran número de sustancias como detergentes, metales pesados, reguladores del crecimiento y herbicidas se considera que la especie *Spirodela* es un buen sujeto de estudio para determinar el efecto de las cianotoxinas en plantas acuáticas. En concentraciones de 3-5 mg/L de Microcistina RR durante de 6 días produce la reducción de crecimiento de esta macrófita. Además, recientes estudios revelan que la Microcistina LR es tomada del medio acuático por *Spirodela* y esta cianotoxina puede contribuir con la reducción de macrófitas en aguas eutróficas en la que predominan las cianobacterias (Romanowska *et al.* 2002).

Algunos investigadores encontraron que las plantas y las algas pueden estimular el crecimiento cianobacteriano y su producción de toxinas. Algunas plantas pueden incrementar el crecimiento de la *Oscillatoria agardhii* en cultivos en acuarios, además se ha observado que algunas algas del género *Spyrogyra* pueden estimular la producción de Microcistina de *Oscillatoria agardhii* (Zurawell *et al.* 2005).

Las plantas terrestres irrigadas con agua contaminada con cianotoxinas muestran una reducción en su crecimiento y bioacumulación de las toxinas. Se ha informado, que la Microcistina no sólo reduce el crecimiento de muchas plantas, si no también reduce la eficiencia en la fotosíntesis de las mismas. Esto revela la complejidad de las interacciones alelopáticas entre las cianobacterias y otros fotoautótrofos (Zurawell *et al.* 2005).

Efecto sobre protozoarios

Los protozoarios son un importante eslabón en la cadena alimenticia acuática, particularmente, en lagos donde el zooplancton está en menor proporción. Los flagelados y los ciliados tienen la capacidad de alimentarse de formas cocoides y filamentosas de cianobacterias. El impacto ante la exposición de toxinas disueltas comparado con la ingestión de la cianobacteria toxigénica intacta consumidas por comunidades de protozoarios no ha sido estudiado directamente (Zurawell *et al.* 2005).

En 1978 se presentó el primer reporte sobre la toxicidad de las cianobacterias sobre los protozoarios. Se informó la reducción en la actividad metabólica de *Paramecium caudatum* en presencia de algunas cianobacterias como *Nostoc linckia*. Un experimento en condiciones de laboratorio demostró la reducción del crecimiento de flagelados de un 24 a 28 por ciento y de 36 a 41 por ciento en concentraciones de 1 y 10 µg/L de Microcistina respectivamente (Zurawell *et al.* 2005).

Investigaciones realizadas con cuatro variantes estructurales de Microcistina sobre *Tetrahymena pyriformis* demostraron que todas ellas redujeron la tasa de crecimiento y la densidad en los cultivos de este protozoario. La respiración de *Tetrahymena pyriformis* fue estudiada tanto en el tiempo como en las actividades aeróbicas del protozoario, según las características hidrofóbicas o hidrófilicas de algunas variantes de Microcistina. Las variantes más hidrofóbicas pueden atravesar más fácilmente las membranas, esto reduce la dosis letal 50 y facilita la afectación de las funciones normales de *Tetrahymena pyriformis* (Ward, y Codd, 1999).

Efecto sobre el zooplancton

Muchos estudios han detectado reducciones en la biomasa y cambios en la composición del zooplancton durante las proliferaciones cianobacterianas. Estas observaciones se han atribuido a factores como la toxicidad, la dificultad de alimentación a partir de formas filamentosas, la poca digestibilidad y calidad nutricional de las cianobacterias (Zurawell *et al.* 2005).

Uno de los principales componentes del zooplancton son los miembros del orden Diplostraca, estos son crustáceos, conocidos popularmente como pulgas de agua, poseen un caparazón bivalvio que encierra su cuerpo. El género *Daphnia* pertenece a este orden y es utilizado para investigaciones en zooplancton. En general, las especies del orden Diplostraca de mayor tamaño son más susceptibles a las cianobacterias tóxicas, que las de menor tamaño, esto se debe a sus hábitos alimenticios que limitan su capacidad de consumir cianobacterias tóxicas y formas filamentosas de las mismas (Martin y Davis, 2001; Hickman, Roberts y Larson, 2002 y Zurawell *et al.* 2005).

Un estudio reveló que al crear las condiciones nutricionales que propicien el incremento de cianobacterias, por medio de la adición de fuentes de nitrógeno y fósforo en una comunidad planctónica, aumenta la población de cianobacterias y la producción de Microcistina y se reduce de forma inversamente proporcional la biomasa de zooplancton. Las especies dominantes en estas proliferaciones son *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena flos-aquae* y *Microcystis aeruginosa*, las cuales representaron el 70 por ciento de la biomasa de fitoplancton. Esta reducción en la biomasa del zooplancton fue atribuida a declive en la población de individuos de *Daphnia pulicaria* de tamaño superior a 1 mm (Ghadouani, Pinel-Alloul y Prepas, 2003).

A pesar de estos hallazgos, otros informes hacen referencia a la capacidad de *Daphnia obtusa*, *Daphnia hyalina* y *Daphnia cucullata* para consumir pequeñas colonias de *Microcystis aeruginosa* productoras de Microcistina, sin observarse efectos negativos. Los mecanismos de resistencia que pueden explicar estos resultados no han sido confirmados, pero se propone que estas diferencias pueden ser atribuidas a la selección diferencial entre cepas toxigénicas y no toxigénicas o a la depleción en la tasa de filtración de los miembros del orden Diplostraca (Zurawell *et al.* 2005).

Es posible que algunos de estos crustáceos puedan poseer mecanismos de resistencia post-ingestión de la Microcistina, ya sea por asimilación o por detoxificación. Se han estudiado otros componentes del zooplancton para determinar posibles mecanismos de resistencia a la Microcistina, y se halló que algunos copépodos difieren en los niveles y en la actividad de PP1 y PP2A; a mayor actividad y nivel de estas enzimas se informa menor sensibilidad a la Microcistina. Incluso se ha documentado que algunos copépodos del género *Diaptomus* pueden sintetizar, adicionalmente, PP1 y PP2A en presencia de hepatotoxinas (Zurawell *et al.* 2005).

Numerosos factores pueden contribuir a la disparidad en la literatura sobre la toxicidad de las cianobacterias sobre el zooplancton. Un posible factor es la presencia de metabolitos diferentes a la Microcistina responsables de la toxicidad observada (Rohrlack, Henning y Kohl, 1999).

En un estudio se demostró que una fracción acuosa libre de Microcistina proveniente de *Microcystis aeruginosa* cepa PCC 7806 produce efectos tóxicos sobre *Daphnia*. Otro estudio apoya estos hallazgos, debido a que al utilizar cepas toxigénicas de *Microcystis aeruginosa* y cepas mutantes no toxigénicas de *Microcystis aeruginosa*, se observó que ambas poseen la capacidad de disminuir la tasa de ingestión de cianobacterias de *Daphnia galeata*, sin embargo sólo la cepa productora de Microcistina posee toxicidad sobre animales más complejos (Rohrlack, Henning y Kohl, 1999).

Otro factor importante es la diferencia en la capacidad ingestión de cianobacterias. El zooplancton generalmente no consume cianobacterias productoras de toxinas hasta que no exista otra fuente alimenticia disponible, incluso en esta condición el zooplancton modula la cantidad de cianobacterias toxigénicas que consume, esto le permite disminuir la cantidad de toxinas consumidas (Carmichael, 1994 y Rohrlack *et al.* 1999).

Los experimentos que estudian los efectos tóxicos de las cianobacterias en el zooplancton utilizan especies y cepas cianobacterianas que difieren en su contenido de toxinas. Por otro lado, se debe considerar cual es la vía de administración al utilizar extractos de cianobacterias o sus toxinas purificadas, la sustancia sospechosa ingresa a través del caparazón de estos crustáceos, mientras que en la ingestión de células enteras

de cianobacterias en el proceso de alimentación del zooplancton, las toxinas ingresan a través del sistema digestivo (Zurawell *et al.* 2005).

Factores ambientales pueden influir la toxicidad de las cianobacterias. Se ha demostrado que la temperatura ambiental es directamente proporcional a la sensibilidad de *Daphnia pulex* ante *Anabaena affinis* toxigénica y a la Anatoxina-a purificada (Zurawell *et al.* 2005).

Efecto sobre estadios acuáticos de insectos

Los estudios más recientes se enfocan en la búsqueda de sustancias bioactivas para el control de poblaciones de artrópodos de importancia médica como los mosquitos. Se han informado la capacidad larvicida de las cianobacterias en insectos de importancia médica en mantos acuíferos. Esto se ha observado en larvas de algunos nematóceros anómalos como los ceratopogónidos y larvas de mosquitos de las especies *Aedes aegypti* y *Culex pipiens* (Zurawell *et al.* 2005 y Kiviranta, Abdel-Hameed, Sivonen, Niemela, Carlberg, 2006).

No sólo se buscan sustancias bioactivas, si no también se proponen otras estrategias para el control de plagas. Las larvas de mosquitos se alimentan de cianobacterias, consecuentemente, algunos investigadores, estudian la posibilidad de clonar genes de larvicidas naturales en cianobacterias que posteriormente serán consumidas por las larvas (Thiery, Rippka y Marsac, 1991).

Algunas cianobacterias no son digeribles para las larvas de mosquitos, reduciendo así las poblaciones de adultos, por la falta de alimento adecuado para su desarrollo. Por lo tanto, se pueden utilizar como control biológico al emplearlas en masas de agua (Marten, 2007).

En otros estudios se demostró la efectividad de la Microcistina LR como adulticida de insectos de especies no acuáticas (*Musca domestica*) a concentraciones similares a las usadas con algunos insecticidas comerciales: Rotenona, Malatión y Carbofurán (Zurawell *et al.* 2005).

También es posible utilizar las cianobacterias para el control plagas de insectos en la agricultura como: *Helicoverpa armigera*. Un estudio reciente demostró que una cepa de *Nostoc* tiene efecto larvicida en concentraciones de 2.2 mg/cm² en cultivos

infestados con una plaga de insectos (*Helicoverpa armigera*). Este efecto es atribuido a una sustancia presente en esa cepa de Nostoc conocida como Critoficina 1, la cual además, posee efecto antimicótico, y es estudiada como sustancia antitumoral (Biondi, Piccardi, Margheri, Rodolfi, Smith y Tredici, 2004).

Efecto sobre peces de agua dulce

Muertes masivas de peces se informan en lagos con proliferaciones cianobacterianas. Con frecuencia se registra anoxia (ausencia de oxígeno) e incremento en la concentración de amonio en los niveles más profundos del sistema acuático, cuando se producen proliferaciones cianobacterianas, ocasionando la muerte de los peces, especialmente los que viven próximos al sedimento. El efecto del aumento de las poblaciones de cianobacterias sobre los peces, puede ser mecánico, al colmatar las agallas de los peces e impidiendo el intercambio gaseoso o químico, intoxicando, a los organismos a través de la cadena trófica (De León, 2001 y Zurawell *et al.* 2005).

La exposición de los peces puede ocurrir por dos vías: por medio de la ingestión de cianobacterias toxigénicas o por la inmersión en agua que contiene la cianotoxina disuelta. Los estadios tempranos son más susceptibles a la Microcistina que los adultos o los estadios juveniles. Esto se ha observado en la exposición de embriones de peces a extractos crudos de *Planktothrix agardhii*. Sin embargo, la exposición a extractos de cianobacterias posee un mayor efecto en la malformación y mortalidad durante el desarrollo embrionario de peces que las toxinas puras. En general, los cambios anatomohistopatológicos y ultraestructurales que se observan en los peces adultos son similares a los reportados en mamíferos (ver cuadro 4), no obstante, existen diferencias significativas. Por ejemplo, existe un incremento en el tamaño del hígado de peces y mamíferos después de la exposición a cianobacterias, sin embargo este incremento en el hígado de peces es atribuido a la retención de agua, en cambio en mamíferos se debe a la hemorragia producida (Zurawell *et al.* 2005; Ramírez *et al.* 2005 y Malbrouck y Kestemont, 2006).

Cuadro 4: Cambios anatomohistopatológicos y ultraestructurales en el hígado y riñones de peces expuestos a *Microcystis aeruginosa* o la Microcistina purificada. (Zurawell *et al.* 2005).

Tipo de hallazgo	Hígado	Riñones
Anatomohistopatológico	Vasodilatación severa congestión y daño hepático. Disociación de la unión hepatocito-hepatocito. Masiva licuefacción, necrosis y pérdida de la arquitectura del parénquima hepático. Disrupción de los canalículos biliares.	Dilatación de la Cápsula de Bowman y los glomérulos. Progresiva degeneración de los túbulos renales. Necrosis coagulativa del epitelio de los túbulos renales.
Ultraestructural	Condensación de mitocondrias, fragmentación y formación de vesículas en el Retículo Endoplásmico Rugoso con pérdida de ribosomas. Acumulación periférica de microfilamentos del citoesqueleto. Formación de vesículas celulares, picnosis nuclear y colapso de la membrana nuclear.	Lisis de las células del epitelio de los túbulos renales.

La Microcistina tiene un fuerte efecto citotóxico que puede deberse a la inhibición de proteínasas. Nuevas evidencias, sugieren que existen otros mecanismos, que incluyen daño oxidativo y disrupción de la osmoregulación. El aumento de especies reactivas del oxígeno, peróxidos de lípidos, y daño al ácido desoxirribonucleico (ADN) fueron informados después de la exposición a Microcistina. El Glutatión (GSH) es uno de los antioxidante más importantes en organismos complejos como los peces. La Microcistina se conjuga con el GSH, y esta conjugación de la Microcistina puede reducir las reservas intracelulares de GSH, llevando a la célula a una mayor susceptibilidad por el estrés oxidativo. La inhibición de la bomba sodio-potasio ATPasa por la Microcistina puede ser la responsable del la reducción en la capacidad de osmoregulación de las células de peces expuestos a estas hepatotoxinas (Montserrat, Pinho y Yunes, 2003; Zurawell *et al.* 2005 y Boaru, Dragos y Schirmer, 2006).

La exposición crónica a bajas concentraciones de Microcistina (0.5 µg/L de Microcistina LR) puede reducir el crecimiento de los peces por incremento de las demandas energéticas requeridas para los procesos de detoxificación, esto sugiere que la Microcistina puede ser metabolizada *in vivo*. Además, al ser metabolizada, evita la bioacumulación y la transferencia de hepatotoxinas a otros organismos de la cadena alimenticia. Sin embargo, otros estudios informan que la concentración de Microcistina en el agua es proporcional a la cantidad de la toxina detectada en los músculos de los peces y se mantiene la posibilidad de transmisión de las cianotoxinas por consumo de pescado (Zurawell *et al.* 2005 y Malbrouck y Kestemont, 2006).

Algunos informes indican que las agallas y el epitelio de la piel de los peces son barreras contra el transporte de la Microcistina. No obstante, cuando la Microcistina llega al torrente sanguíneo se observa un tropismo por el hígado. Esto se ha demostrado por los cambios patológicos hepáticos y por el aumento de lactato deshidrogenasa (LDH), alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) en el suero de peces expuestos a la toxina (Zurawell *et al.* 2005).

Cuando la Microcistina alcanza el hígado de los peces, aproximadamente el 60 por ciento de la toxina se une covalentemente a las PP1 y PP2A. La Microcistina en su forma activa (sin unión covalente a PP1 y PP2A) se ha detectado en el tracto biliar de algunos peces, esto sugiere que el hígado tiene un importante papel en la eliminación de la hepatotoxina del cuerpo de los peces (Zurawell *et al.* 2005).

Las cianobacterias son un importante componente de la dieta de algunos peces, ejemplo la tilapia, una especie tropical de interés económico en países como Costa Rica. Estudios de laboratorio indican que la tilapia y otras especies se alimentan de forma diferencial entre cepas toxigénicas y no toxigénicas de *Microcystis aeruginosa*. Esto se ha confirmado por análisis del contenido estomacal de las tilapias, donde existe un predominio de las cepas no toxigénicas, esto cuando se encuentran en un medio con una población mixta de cepas toxigénicas y no toxigénicas de *Microcystis aeruginosa* (Zurawell *et al.* 2005).

Las carpas también de forma natural se alimentan de cianobacterias. En un estudio en un lago con predominio de cianobacterias toxigénicas, las carpas se aprecian en buen estado de salud y una tasa de mortalidad cercana a la normal. No obstante, el

66 por ciento de los peces colectados muestran signos de atrofia de los hepatocitos y focos de necrosis hepática. Además, se observó aumentos en la actividad de AST y la concentración de bilirrubina en la sangre de las carpas colectadas en comparación con periodos donde no hay predominio de cianobacterias toxigénicas en el fitoplancton. A pesar de estos hallazgos, es evidente que la dosis letal 50 (DL50) en peces es típicamente mayor 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso, en cambio en mamíferos, como ratones, es aproximadamente 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso (Zurawell *et al.* 2005).

Intoxicaciones de mamíferos

Los registros más frecuentes de intoxicaciones por cianotoxinas están relacionados con animales, que bebieron agua de sistemas con cianobacterias tóxicas (ver cuadro: 5). Los primeros reportes de intoxicaciones en animales datan desde 1833, en Dinamarca. Las intoxicaciones en mamíferos implican un impacto en la economía de las regiones afectadas, por la muerte de animales de granja y domésticos y un impacto ecológico por la muerte de especies de mamíferos silvestres y otras especies animales como aves (Falconer, *et al.* 1999 y De León, 2001).

Sin embargo, estas pérdidas ayudan a comprender el riesgo que representan estas toxinas para el ser humano. Algunos de estos reportes son muy detallados, algunos otros, son anecdóticos, y en la mayor parte de estos estudios no se cuantificó la exposición a las cianotoxinas en los animales afectados. La sintomatología, es similar entre el ser humano y otros mamíferos y aunque las conclusiones de este tipo de evidencias, alertan del peligro potencial para el ser humano, no pueden ser directamente extrapoladas (Falconer, *et al.* 1999 y De León, 2001).

Cuadro 5: Algunos registros de intoxicaciones animales en el ámbito mundial
(De León, 2001).

País	Animal	Tipo de toxina	Cianobacteria	Fecha del reporte
Argentina	Vacunos	Hepatotoxina	<i>M. aeruginosa</i>	1984
Australia	Ovinos	Hepatotoxina	<i>M. aeruginosa</i>	1984
Canadá	Vacunos	Neurotoxina	<i>A. flos-aquae</i>	1978
Canadá	Aves	Neurotoxina	<i>A. flos-aquae</i>	1986
Finlandia	Perros	Hepatotoxina	<i>N. spumigena</i>	1984
Finlandia	Aves	Hepatotoxina	<i>P. agardhii</i>	1986
Noruega	Vacunos	Hepatotoxina	<i>M. aeruginosa</i>	1979
Inglaterra	Perros	Hepatotoxina	<i>M. aeruginosa</i>	1990
Escocia	Perros	Neurotoxina	<i>Oscillatoria</i>	1992
Estados Unidos	Perros	Neurotoxina	<i>A. flos-aquae</i>	1988

MÉTODOS DE DETECCIÓN DE CIANOTOXINAS Y CIANOBACTERIAS

Existe gran diversidad de métodos de laboratorio para la detección de cianobacterias y sus productos en el agua; estos pueden variar en su grado de sofisticación y de información que proveen. Métodos con costos relativamente bajos permiten evaluar de forma rápida el potencial peligro de proliferación de cianobacterias y así tomar decisiones para su manejo. Técnicas más costosas son utilizadas para la identificación y cuantificación de cianotoxinas (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

La elección de cada metodología depende en gran medida de la información requerida, por ejemplo: el análisis de agua para uso recreacional se basa en la detección de la presencia de cianobacterias potencialmente tóxicas. Por el contrario, para el agua de consumo humano es necesario la identificación y cuantificación de las cianotoxinas y para esto se necesitan técnicas costosas (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

No existe un único método que pueda ser empleado para el análisis de todas las cianotoxinas y se prefiere el uso combinado de técnicas, por ejemplo, la observación microscópica de una muestra permite decidir entre cual bioensayo o técnica fisicoquímica puede ser utilizada para una proliferación cianobacteriana en particular (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Los métodos para la detección de toxinas requieren que éstas se encuentren en su estado purificado o en disolución. Las cianobacterias primero deben ser lisadas para determinar la cantidad total de toxinas intracelulares, esto usualmente se logra por procesos de congelación-descongelación. Algunas de las muestras no requieren este paso de extracción de la toxina del interior de la cianobacteria, por ejemplo: en las muestras de agua filtrada, como las obtenidas en plantas de tratamiento de agua, las cianotoxinas se encuentran en solución debido a la destrucción mecánica que implica el proceso de filtración. Por otro lado, existen técnicas como las moleculares que no presentan la necesidad de extraer la cianotoxina (Foulds, *et al.* 2002 y Svrcek y Smith, 2004).

Las muestras para el análisis de cianotoxinas deben ser refrigeradas en la oscuridad para prevenir la degradación de las toxinas, además es necesario el almacenamiento por periodos cortos de tiempo (preferiblemente menos de 24 horas).

Cuando se requieren periodos largos de almacenaje se prefiere la congelación, sin embargo, con el proceso de congelación se produce la salida de las toxinas del interior de las bacterias, por lo tanto sólo es posible cuantificar la cantidad total de toxinas en la muestra (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Cuando se realizan análisis de calidad de agua potable es deseable detectar la cantidad total de toxinas, y conocer la cantidad de toxinas disueltas en el agua y la fracción que permanece intracelularmente. En algunos casos es necesario realizar un paso de concentración de las células bacterianas para determinar la cantidad de toxinas intracelulares (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Posteriormente, en la mayoría de técnicas para detección de cianotoxinas se debe realizar una extracción líquido-líquido. Estas extracciones pueden realizarse a partir de matrices biológicas como tejidos animales y de muestras de agua. Dependiendo de la sensibilidad y de la precisión requeridas puede ser necesario un paso adicional de purificación, este tiene el objetivo de eliminar impurezas con la menor pérdida de analito (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Este paso es indicado especialmente cuando la toxina se encuentra en bajas concentraciones, por ejemplo: sin una purificación adecuada los picos de un cromatograma pueden ser enmascarados por otras sustancias de la matriz que eluyen simultáneamente con el analito o las concentraciones de toxinas pueden ser sobreestimadas si los picos no son claramente separados de los producidos por sustancias de la matriz (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Detección de cianobacterias productoras de toxinas

La detección de cianotoxinas y de sus cianobacterias productoras, es uno de los ejes de investigación en el campo de la toxicología ambiental. Métodos rápidos y simples pueden ser empleados para el análisis de la composición de una muestra y para la identificación de géneros de cianobacterias, lo cuál es usualmente suficiente para determinar el riesgo potencial de la proliferación cianobacteriana para la salud (Oudra *et al.* 2002 y CRID, 2006a).

Existen clasificaciones que relacionan a ciertos géneros bacterianos con la producción de estas toxinas, el aislamiento de cianobacterias relacionadas con la

producción de toxinas en una muestra de agua, sugiere la posible presencia de la cianotoxina, aunque esto no siempre es correcto. Para esto se utiliza principalmente la observación por microscopia, sin embargo se pueden utilizar medios para obtener cultivos puros, como los utilizados en el primer estudio de cianobacterias en Costa Rica, en el cual se usó el medio F para agua dulce WC el cual contiene telurito potásico y ciclohexamida para evitar el crecimiento de diatomeas y hongos respectivamente. Además, se informan medios de mantenimiento como es el caso del medio líquido Z8 (Peinador, 1994; Peinador, 1999; Oudra *et al.* 2002 y CRID, 2006a).

Algunas de las indagaciones requieren conocer la densidad de cianobacterias. Esta determinación puede realizarse por métodos rápidos. La concentración de Clorofila-A posee una relación directamente proporcional a la densidad de cianobacterias por lo que su cuantificación permite tener un dato muy exacto de la biomasa cianobacteriana (Lawton, Marsalek, Padišák y Chorus, 1999).

En algunos casos, se pueden usar con éxito las imágenes por satélite como parte de un programa de monitoreo proactivo. Este es utilizado para evaluar los movimientos de la Corriente del Golfo de México que influye en el aumento en la temperatura del agua que cumple una función clave en los crecimientos de cianobacterias y dinoflagelados. El monitoreo de las temperaturas de la Corriente del Golfo a través del sensor remoto de radiación infrarroja, puede brindar información sobre la probabilidad de una proliferación y su posterior traslado (CRID, 2006a).

Detección de cianotoxinas

Con el fin de detectar cianotoxinas han sido diseñadas diferentes técnicas. Algunas evalúan el grado de toxicidad de estas sustancias. Las más usadas son los bioensayos, con inoculación de animales en el laboratorio, la detección de efectos citopáticos en cultivos celulares o la inhibición de enzimas específicas (Dawson, 1998 y Majstereka *et al.* 2004).

Las técnicas moleculares, que involucran la Reacción de la Cadena de la Polimerasa (PCR), permiten diferenciar entre cepas de cianobacterias tóxicas de cianobacterias no tóxicas. Por otro lado, existen metodologías que detectan directamente las toxinas como la inmunocromatografía y ELISA. Las técnicas

inmunológicas son rápidas, relativamente sencillas y baratas, además de la alta sensibilidad y especificidad que dan en los resultados (Metcalf, Hyenstrand, Baettie y Codd, 2000; Foulds, *et al.* 2002 y Svrcek y Smith, 2004).

Para la identificación y cuantificación de toxinas, se han utilizado diferentes técnicas, como la Espectrometría de Masas (MS) y la Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Estas técnicas tienen el inconveniente de ser costosas y de requerir de personal capacitado para su realización e interpretación (OMS, 1984; Dawson, 1998 y Muñiz *et al.* 2004).

Bioensayos

Los Bioensayos son técnicas relativamente poco costosas y que permiten evaluar la toxicidad de diferentes sustancias *in vivo*. Algunos laboratorios, especialmente del Tercer Mundo, no pueden comprar equipos sofisticados para el análisis toxicológico y tampoco pueden subcontratar a otros laboratorios para que realicen esos exámenes, y encuentran en los bioensayos una opción factible. Este tipo de metodología es indicado para muestras en las que se sospeche la presencia de cianotoxinas o en aguas donde la concentración de cianobacterias es evidente. La sola detección de una especie de cianobacteria no basta para determinar su toxicidad, cepas con diferente toxicidad pueden pertenecer a la misma especie (CRID, 2006a).

Un método usado para caracterizar su toxicidad, es la inoculación intraperitoneal de los extractos de las cianobacterias en ratones, seguida de una observación durante 24 horas. Para algunas cianotoxinas como la Cilindrospermopsina esta observación puede durar hasta por 7 días. Luego del periodo de observación se realiza un análisis de la constitución de los tejidos post-mortem, sin embargo, si en la muestra está presente más de una cianotoxina, puede ser enmascarado el efecto de la toxina que actúe más lentamente. Este método no es específico, por lo que es deseable la confirmación con otra técnica, pero tiene la ventaja de que en la mayoría de los casos en pocas horas logra evaluar la toxicidad total (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Se ha descrito la utilización de ensayos con invertebrados acuáticos, como *Daphnia* o *Artemia*, debido a la observación del efecto inhibitorio en la tasa de ingestión de alimentos que produce la Microcistina en estos microorganismos. Existen en el

mercado equipos estandarizados que utilizan crustáceos del género *Artemia* para la detección de cianotoxinas. Este ensayo ha sido aplicado, principalmente, en muestras con Microcistina, sin embargo se ha observado una buena correlación entre el contenido de Anatoxina-a y el efecto en *Artemia*. Los ensayos con *Daphnia* pueden detectar Microcistina, no obstante no ha sido estandarizada aún esta técnica (Harada, Kondo y Lawton, 1999 y Rohrlack *et al.* 1999).

El uso de adultos y larvas de mosquitos fue investigado como un potencial bioensayo. Los adultos fueron inyectados y las larvas colocadas en un extracto acuoso de cianotoxinas. Ambos métodos fueron relativamente sensibles pero su uso práctico se ha dificultado por el peligro que representa mantener un criadero de mosquitos en instalaciones inadecuadas para fines investigativos. Otros insectos como la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) pueden ser utilizados para la detección de cianotoxinas. Entre las ventajas del uso de estas moscas es su fácil manejo y mantenimiento en condiciones de laboratorio. La administración de las muestras con cianotoxinas es vía oral por medio de discos impregnados con sustancias azucaradas (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Existen estudios sobre bioensayos con insectos que detectan especialmente Saxitoxinas. Entre ellos se encuentra el uso de adultos de *Musca domestica* y de langostas (*Schistocerca gregaria*). En ambos casos se obtienen buenos resultados (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Los bioensayos con bacterias pueden servir como métodos de rutina. Una de éstas técnicas utilizan bacterias de la especie *Photobacterium phosphoreum* en la cual la toxicidad está relacionada con la reducción en la bioluminiscencia (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Apesar de la existencia de esta correlación, esta técnica no es específica debido a que no sólo responde a la Microcistina sino también a otras sustancias presentes en las cianobacterias. Otro bioensayo se basa en la inhibición de la producción de un pigmento (prodigiosina) de *Serratia marcescens* este ensayo es útil en la detección de Saxitoxina y de Microcistina (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Se ha informado el uso de cultivos celulares, específicamente hepatocitos de rata en los cuales la toxicidad es medida por la salida de Lactato Deshidrogenasa (LDH).

Esta metodología presenta una buena correlación con el bioensayo en ratón. Además, se documenta un ensayo *in vitro* con fibroblastos de hámster (V79) para Microcistina, aunque presenta falsos positivos y negativos que enmascaran los resultados. También es posible utilizar líneas celulares de neuroblastoma en el cual se analiza el bloqueo de la actividad de canales de sodio producida por las Saxitoxinas (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

El uso de radioensayos ha disminuido por los avances de los métodos enzimáticos, sin embargo, se reporta un radioensayo competitivo para la determinación de saxitocinas. En esa técnica, las saxitocinas radiomarcadas compiten con las no marcadas, por los sitios de unión a neuroreceptores en cultivos celulares (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Métodos enzimáticos

La detección de la actividad de proteinfosfatasas es un método enzimático sensible para la determinación de péptidos cíclicos debido a la capacidad de la Microcistina y las Nodularinas de inhibir esta enzima. Una versión de esta metodología está basada en la cuantificación de la radiación producida por el fósforo 32 de grupos fosfato liberado por la actividad de las proteín fosfatasas (PP1 y PP2A). El límite de detección es de nanogramos de Microcistina y los resultados se obtienen en pocas horas. Este método permite la cuantificación de Microcistina en agua de consumo antes o después de tratamientos de agua. A pesar de esto, el uso de radioactividad necesita regulaciones especiales, equipo y personal calificado (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Posteriormente, se informó una variación a esta técnica que utiliza un sistema colorimétrico, en la cual el fosfato de luciferina es hidrolizado a fosfato inorgánico y luciferina por la proteinfosfatasa 2A. Las técnicas enzimáticas permiten confirmar la actividad biológica de las cianotoxinas (Dawson, 1998).

La inactivación del complejo Citocromo c Oxidasa mitocondrial de ratas en altas concentraciones de Microcistina LR (1 μ M) causa un fuerte efecto tóxico en las mitocondrias. La detección de la actividad de este complejo enzimático puede servir como un indicador de la toxicidad *in vivo* ante la exposición a la Microcistina en fuentes de agua (Majstereka *et al.* 2004).

Existen pocos métodos enzimáticos para la determinación de cianotoxinas alcaloides, por ejemplo, se conoce de un ensayo basado en la detección de la actividad de la acetilcolinesterasa debido a la inhibición enzimática por parte de la Anatoxina-s. Sin embargo, esta técnica no es específica porque detecta otras sustancias como pesticidas organofosforados (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

Métodos inmunológicos

Se encuentran en el mercado diferentes marcas comerciales de ELISA para la detección de Microcistina. La técnica de ELISA posee alta sensibilidad, es rápida y fácil de usar. Los ensayos de ELISA para detección de Microcistina son comparables con el HPLC, en cuanto a la repetibilidad, reproducibilidad y variabilidad de los resultados de concentración de Microcistina total. En la literatura se describen ensayos de ELISA para Microcistina que poseen sensibilidad de hasta 50 pg/mL en agua (Waco, 1997; Dawson, 1998 y Svrcek, y Smith, 2004).

La principal desventaja que presenta esta técnica, es la gran variación estructural de la Microcistina y la consecuente reactividad cruzada de los anticuerpos en presencia de diferentes variantes de la cianotoxina, lo cual puede dificultar la correlación de la concentración total de Microcistina con la toxicidad de la misma (Dawson, 1998).

Se realizaron estudios para examinar la especificidad de los anticuerpos policlonales anti-Microcistina-LR de conejo usados en los ELISA competitivos. Se observaron reacciones cruzadas, con algunas variantes de la Microcistina, y se llega a la conclusión que el grupo ADDA y la arginina son esenciales para la expresión de la especificidad de los anticuerpos. Otro ELISA utiliza anticuerpos extraídos de huevos de gallinas inmunizadas; estos son capaces de reconocer Microcistina LR y RR (Svrcek, y Smith, 2004).

La técnica de ELISA también se utiliza en otras matrices como suero humano para detectar Microcistina. Un estudio realizado con muestras de suero recolectadas de pacientes de diálisis expuestos a la Microcistina en el año 1996 en Brasil, reveló que las concentraciones séricas de la cianotoxina son similares comparando la técnica de ELISA y la detección de Microcistina por Cromatografía de líquidos con detector por Espectroscopia de masas. Los ELISA competitivos que usan anticuerpos monoclonales

o policlonales son los métodos inmunológicos más utilizados para detectar Microcistina, no obstante existen otras técnicas basadas en el uso los anticuerpos como la inmunocromatografía con señal de fluorescencia que posee un límite de detección menor que las técnicas de ELISA: ver cuadro 7 (Min-Kim, Wood-Oh, Young-Jeong, Jin-Pyo y Yul-Choi, 2003 y Medical Letter on the Food and Drugs Administration and Central Disease Control Editors, 2005).

Métodos analíticos

Los métodos analíticos detectan, identifican y cuantifican las cianotoxinas por medio de sus propiedades fisicoquímicas como el peso molecular y la presencia de grupos funcionales que reaccionan con otras sustancias para producir cromóforos (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

La mayoría de estos métodos fueron utilizados en el análisis de Microcistina, sin embargo, las Nodularinas poseen características fisicoquímicas similares, por lo tanto fácilmente estas tecnologías han sido aplicadas a ambos grupos de cianotoxinas. En menor medida, algunos de estos métodos son utilizados para la detección de cianotoxinas alcaloides: ver cuadro 6 (Harada, Kondo y Lawton, 1999).

El HPLC con detector ultravioleta (UV) es una técnica ampliamente usada para identificar y cuantificar Microcistina en una muestra. No obstante, sin los apropiados estándares no es capaz de identificar las variantes de esta cianotoxina (Harada, Kondo y Lawton, 1999; Muñoz *et al.* 2004 y Svrcek, y Smith, 2004).

Por la gran diversidad de formas moleculares de la Microcistina no es posible obtener todos los estándares requeridos para la completa identificación y cuantificación de variantes de Microcistina. La técnica de HPLC con detector UV puede ser más específica si se utiliza un arreglo de fotodiodos (PDA) pero es muy limitada la habilidad para identificar Microcistinas individuales porque la mayoría de estas toxinas poseen un espectro ultravioleta similar. Además en las cianobacterias se encuentran presentes péptidos no tóxicos lo que produce cromatogramas de compleja interpretación (Harada, Kondo y Lawton, 1999; Muñoz *et al.* 2004 y Svrcek, y Smith, 2004).

Otra desventaja de estas metodologías es que la intensidad de la señal ultravioleta no es proporcional a la bioactividad de la Microcistina (Harada, Kondo y Lawton, 1999; Muñiz *et al.* 2004 y Svrcek, y Smith, 2004).

Se ha desarrollado un método para la detección de Microcistina basado en la formación del ácido 3-metoxi-2-metil-4-fenilbutírico (un derivado del grupo ADDA) por la aplicación de ozono (ozonólisis). El ácido puede ser revelado por cromatografía de gases con detector de ionización electrónica o por HPLC con detector de fluorescencia, en un procedimiento que tarda sólo 30 minutos. Esta técnica puede detectar nanogramos de Microcistina (Dawson, 1998 y Harada, Kondo y Lawton, 1999).

La Microcistina en la naturaleza no se encuentra en forma pura, si no en mezclas de sus variantes estructurales, las cuales presentan diferente toxicidad, por lo que se investiga la utilidad de algunas metodologías para determinar cualitativa y cuantitativamente la proporción de cada variante en una mezcla (Dawson, 1998).

A mediados de los noventa se informó la síntesis de una molécula llamada DMEQ-TAD que tiene como blanco dienos conjugados. Ésta reacciona cuantitativamente con las Microcistina LR, YR y RR por medio de la conjugación con el grupo ADDA (un dieno conjugado). Los productos de esta conjugación son fluorescentes y pueden ser cuantificados por HPLC. Con esta técnica se logró realizar con éxito un análisis de una mezcla de las tres variantes de Microcistina, anteriormente, mencionadas en concentraciones de 10 µg. Sin embargo, no se han realizado estudios para determinar el límite de detección de la técnica. Este método no es aplicable a muestras crudas si éstas contienen sustancias contaminantes con grupos dienos conjugados (Dawson, 1998).

Si se requiere la confirmación e identificación más detallada de las variantes de Microcistina se puede utilizar la espectrometría de masas y análisis de aminoácidos con estudios de resonancia magnética nuclear (RMN) (Harada, Kondo y Lawton, 1999 y Svrcek, y Smith, 2004).

Los recientes avances en RMN en dos dimensiones han permitido el conocimiento de Microcistinas desconocidas. La cromatografía líquida con detector de espectrometría de masas (LC/MS) es un método muy adecuado, debido a que simultáneamente separa e identifica las mezclas de Microcistinas en una muestra. Sin

embargo, la RMN y la espectrometría de masas (excepto la LC/MS) usualmente requieren de grandes cantidades de muestras (miligramos) y una compleja purificación de Microcistinas (Harada, Kondo y Lawton, 1999 y Svrcek, y Smith, 2004).

Cuadro 6: Algunos métodos analíticos reportados para la detección de cianotoxinas alcaloides (Harada, Kondo y Lawton, 1999)

Cianotoxina	Nombre del método
Cilindrospermopsina	Cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de arreglo de fotodiodos (HPLC/PDA)
Saxitoxina	Cromatografía de líquidos con detector de Espectrometría de masas (LC/MS), Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)
Anatoxina-s	Potencialmente la Cromatografía de líquidos con detector de Espectrometría de masas (LC/MS)
Anatoxina-a	Cromatografía de gases con detector de Espectrometría de masas (CG/MS), Cromatografía de gases con detector de captura de electrones (ECD) y Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)

Técnicas moleculares

La caracterización molecular de cepas de cianobacterias tóxicas presenta un gran desarrollo. Las técnicas moleculares no presentan la necesidad de extraer la cianotoxina, debido a que no detecta directamente el péptido tóxico, si no la secuencia que lo codifica. Estas técnicas utilizan la Reacción de la Cadena de la Polimerasa (PCR) para identificar los géneros de cianobacterias, y pruebas genéticas de oligonucleótidos para determinar la toxicidad (Foulds, *et al.* 2002 y Svrcek y Smith, 2004).

La enzima que sintetiza la Microcistina, conocida como la Microcistina Sintetasa, está codificada por el operón *mcy*. El operón *mcy* consiste de un arreglo de genes que reside en dos regiones (*mcy* A-C y *mcy* D-J) de *Microcystis aeruginosa*. La disrupción en algunos de estos genes (*mcy* A, B, D ó E) resulta en una cepa no toxigénica. Por esta observación se ha investigado el operón *mcy* para discriminar

entre cepas productoras de Microcistina y no toxigénicas. El PCR acoplado con iniciadores específicos puede proveer una rápida metodología para la detección de las cianobacterias productoras de Microcistina en agua. Para distinguir entre cianobacterias productoras y no productoras de Microcistina, se utiliza el iniciador MISY que fue diseñado para la amplificación de la región del gene *mcyA* de la Microcistina Sintetasa (Foulds, *et al.* 2002 y Oberholster, Botha y Grobbelaar, 2004).

Este iniciador (122 pares de bases) es específico para cepas de *Microcystis aeruginosa*; no hay amplificación de otros productos de cualquier especie de cianobacteria o eubacteria examinadas y se detectan niveles muy bajos de copias de ADN en muestras de agua inoculadas sin importar el volumen (ver cuadro 7). Algunos investigadores estudian la potencial detección de cepas productoras de Microcistina por la amplificación de genes 16S del Ácido ribonucleico ribosomal (ARNr) por PCR en cepas de *Anabaena circinalis* (Foulds, *et al.* 2002 y Oberholster, Botha y Grobbelaar, 2004).

Las técnicas moleculares no sólo permiten determinar la presencia de cianobacterias productoras de toxinas si no también pueden ser utilizadas para clasificar e identificar cepas de *Microcystis aeruginosa*. Esto se comprobó por medio de un análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) en la secuencia de *mcyB*. Luego de este análisis se hallaron diferentes sitios de inserción y delección de la secuencia en el gen *mcyB* que permiten diferenciar y clasificar entre cepas de *Microcystis aeruginosa* (Oberholster, Botha y Grobbelaar, 2004).

Estas pruebas genéticas son efectivas en muestras ambientales eliminando la necesidad de aislamiento y cultivo de los microorganismos. El refinamiento de estas nuevas técnicas permitirán determinar la presencia y el tipo de cianobacterias presentes en agua sin tratamiento de una forma rápida y fácil (Svrcek, y Smith, 2004).

Cuadro 7: Comparación entre algunos métodos para la detección de cianotoxinas (Skoog, West, Holler y Crouch, 2001; Foulds *et al.* 2002; Min-Kim *et al.* 2003 y Svrcek y Smith, 2004).

Método	Analito	Nivel de detección	Características
Bioensayos en Ratonés	Para todas las cianotoxinas	1-200 µg	No selectivos. Detectadas por la sintomatología en el animal.
Cromatografía	Anatoxina	cualitativo	Debe realizarse otra técnica para confirmar.
Inhibición de la proteinfosfatasa (Ensayo colorimétrico)	Microcistina total	0.3 µg/L sin pre-concentración	Interferencias de la matriz de la muestra. No requiere un alto nivel de entrenamiento para su uso. Relativamente barato. No discrimina entre las variantes de Microcistina.
Inhibición de la proteinfosfatasa (Radioensayo)	Microcistina total	picogramos	Selectivo. Muy sensible. Costoso y laborioso. No identifican variantes de Microcistina.
	Saxitoxinas	Depende del anticuerpo	No requiere un alto nivel de entrenamiento para su uso. Costos menores que el HPLC. Producción de anticuerpos es relativamente costosa.
ELISA	Microcistina	0.05 µg/L, sin pre-concentración	Específico para Microcistina, formas no tóxicas también son detectadas. No requiere un alto nivel de entrenamiento para su uso. Puede subestimar la concentración de Microcistina.

(Continúa cuadro)

Método	Analito	Nivel de detección	Características
Inmunocromatografía con detector de fluorescencia	Microcistina	95.38 pg/mL	Muy sensible. Requiere un nivel moderado de entrenamiento. Facilidad para generar anticuerpos. Relativamente costoso.
Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) con detector Ultravioleta (UV)	Microcistina, depende de estándares analíticos	0.02 µg/L, depende del factor de concentración	Requiere un moderado nivel de entrenamiento. Alta especificidad en la identificación de Microcistina. Altos costo. Lentos. Carencia de estándares comerciales
HPLC con detector PDA	Microcistina, depende de estándares analíticos	0.02 µg/L, depende del factor de concentración	Requiere un moderado nivel de entrenamiento. Alta especificidad en la identificación de Microcistina. Puede sobreestimar la concentración de Microcistina.
HPLC con detector Espectrómetro Masas (MS)	Microcistina, depende de estándares analíticos	0.02 µg/L, depende del factor de concentración	Requiere un moderado nivel de entrenamiento. Alta especificidad. Costos altos.
HPLC con detector fluorescente	Saxitocinas individuales o grupo de Saxitoxinas	34 µg/L,	No han sido estandarizados los protocolos. Moderado nivel de entrenamiento. Requiere preconcentración de la muestra. Altos costos de equipo y de operación.
Cromatografía Gases (CG) con detector MS	Anatoxina	1 µg/L	Alta especificidad. Altos costo del equipo.
Reacción de la Cadena de Polimerasa (PCR)	Cianobacterias productoras Microcistina	3 copias de ADN	Elimina la necesidad de aislamiento y cultivo de los microorganismos.

PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA

Las actividades humanas disminuyen la calidad del agua y ponen en riesgo la salud de los consumidores. Se ha relacionado la proliferación de cianobacterias con diversas fuentes de contaminación, entre las que se pueden mencionar: la agricultura, la industria y los desechos municipales. La agricultura moderna requiere grandes cantidades de fertilizantes que en su formulación contienen fósforo, urea y nitrato de amonio. Solamente, una mínima porción de cantidad de fertilizante agregada a los suelos es utilizada por los cultivos, la mayoría es arrastrada por el agua fluvial a ríos y lagos que se enriquecen enormemente en su contenido de nutrientes inorgánicos (eutroficación) (Vergara, 2002).

Los desechos industriales son la principal fuente de contaminación de aguas en los países del primer mundo. Los desechos industriales generan una contaminación doce veces mayor, por litro de efluente, que los desechos de origen municipal, debido a que los primeros son más concentrados. Sin embargo, los desechos municipales aunque no sean muy concentrados, se producen en grandes volúmenes y en esto radica su importancia en proceso de contaminación del agua (Vergara, 2002).

Los efectos dañinos para la salud causados por cianotoxinas provienen de los resultados de las investigaciones epidemiológicas de intoxicaciones en humanos, estudios toxicológicos en condiciones controladas y reportes de envenenamientos en animales. La evidencia epidemiológica es el resultado de estudios en poblaciones que muestran los síntomas de intoxicación o daño atribuidos a la presencia de cianotoxinas en agua de consumo y otras fuentes de agua. La mayoría de estos estudios son retrospectivos, sin embargo rara vez está disponible información como el número de cianobacterias en el agua, el tipo y la concentración de cianotoxinas (Falconer, *et al.* 1999).

Las cianotoxinas cuya estructura está conformada por péptidos cíclicos representa el mayor riesgo para la salud humana debido a que se han informado intoxicaciones agudas y efectos a largo plazo ante la exposición crónica a bajas concentraciones. La Microcistina es el péptido cíclico del cual se documentan más

casos de intoxicación. Las neurotoxinas alcaloides (anatoxinas y Saxitoxinas) sólo muestran efectos agudos en mamíferos. Es posible que estos alcaloides se acumulen en altas concentraciones en la biota marina y de agua dulce. En muchas partes del mundo, los seres humanos consumen pescado, mariscos y animales que se han desarrollado en o cerca de masas de agua expuestas a la contaminación con cianobacterias tóxicas, es probable que las neurotoxinas puedan ser consumidas por los seres humanos al ingerir estos alimentos contaminados (Falconer, *et al.* 1999).

Las características climáticas de los países determinan en gran medida la exposición a las cianotoxinas que puede sufrir una población. En países como Estados Unidos y Canadá el periodo de exposición durante 1 año es menor debido a que el tiempo de crecimiento de la proliferación de cianobacterias es corto (3 a 5 meses) comparado con países de climas más cálidos como Costa Rica y otras zonas del planeta como Australia y Sudáfrica en los cuales el periodo de exposición va de 6 a 10 meses (Ramírez, *et al.* 2005).

La mayor cantidad de muertes de seres humanos a causa de toxinas cianobacterianas se ha limitado a pacientes sometidos a diálisis renal. Se conoce de daños a la salud a partir de numerosos informes de irritaciones en la piel y/o mucosas, y también a partir de casos documentados de enfermedades luego de la exposición a través del consumo de agua potable o ingestión accidental de agua de uso recreativo, así como a la ingestión o aspiración de espuma. Los casos de enfermedad atribuidos a las cianotoxinas están relacionados a la presencia de crecimientos cianobacterianos masivos en fuentes de agua, sin embargo también puede darse la liberación artificial de las toxinas del interior de estas bacterias por métodos para el tratamiento del agua, por ejemplo cuando se utiliza sulfato de cobre que rompe las células bacterianas pero no elimina la toxina (Falconer, *et al.* 1999; Ramírez, *et al.* 2005 y CRID, 2006b).

Otra fuente de exposición es a partir de tabletas alimenticias de concentrados de algas. En algunos países las cianobacterias son utilizadas como suplementos dietéticos por ser asociadas a propiedades terapéuticas. En Estados Unidos más de un millón de personas consumen estas tabletas. La producción masiva de cianobacterias para consumo humano inició en el siglo pasado en la década del cincuenta (Falconer, *et al.* 1999).

La cantidad de biomasa producida con las técnicas actuales permite la utilización de la misma en la extracción de pigmentos para la industria alimentaria. Las especies más utilizadas como suplemento dietético son: *Spirulina platensis*, *Spirulina maxima* y *Aphanizomenon flos-aqua*. El género *Spirulina* crece en lagos artificiales en regiones como el sur de California, Hawai, Tailandia y Japón. Esta cianobacteria no es asociada a toxinas. Al contrario, *Aphanizomenon flos-aqua*, es reproducida en lagos naturales. Algunas cepas de *Aphanizomenon flos-aqua* pueden producir Saxitocina y anatoxina-A. Además, al obtenerse de lagos naturales puede contaminarse con otras cianobacterias como: *Anabaena* y *Microcystis* toxigénicas. Si no se realiza un adecuado control de calidad, se incrementa el riesgo al consumidor (Falconer, *et al.* 1999).

Intoxicaciones humanas por cianobacterias

El término FAN (floraciones algales nocivas) lo designó la Comisión Oceanográfica Intergubernamental de la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO), y se usa para designar microalgas, bacterias y ciliados que pueden producir daños al hombre por sus efectos adversos en la salud humana, en la acuicultura, turismo y en las poblaciones naturales de organismos marinos en las zonas costeras. Esta es una definición muy amplia, la presente revisión se centra en las proliferaciones cianobacterianas, enfatizando en aquellas de carácter toxigénico en humanos, e incluye no sólo las zonas costeras, sino también las de mantos dulceacuícolas: ríos, lagos, embalses artificiales, entre otros (Vargas y Freer, 2004).

Los registros de intoxicaciones humanas han presentado diferente gravedad y datan desde 1931, como se muestra en los ejemplos del cuadro 8. La primera observación de intoxicaciones humanas con cianobacterias data de la dinastía Han de China al rededor del año 1000 después de Cristo (d.C.). El General Zhu Ge-Ling informó la pérdida de soldados, con síntomas de intoxicación, luego que bebieran de un río con “agua verdosa” mientras se encontraban en una campaña militar en el sur de China (Dawson, 1998 y Bartram, Carmichael, Chorus, Jones y Skulberg, 1999). En el Siglo XX los casos más graves se refieren al “síndrome de Caruaru” el cual consiste en el desarrollo de severos disturbios hepáticos y debe su nombre debido a que

126 pacientes de una clínica de la Ciudad de Caruaru al Norte de Brasil, sufrieron intoxicación hepática, luego de que se utilizó agua contaminada con cianobacterias, para las soluciones de diálisis (Pouria *et al.* 1998).

En 1979 en una población aborigen de la Isla Palm (fuera de la costa norte de Queensland) al norte de Australia se informaron numerosas intoxicaciones humanas con Cilindrospermopsina. En ese lugar 140 niños y 10 adultos requirieron tratamiento médico luego de ingerir agua contaminada con *Cylindrospermopsis raciborskii* (Bartram *et al.*, 1999).

Durante el uso del agua recreativa, los peligros para la salud humana surgen a través de contacto directo de las partes expuestas del cuerpo, incluidas áreas sensibles tales como oídos, ojos, boca y garganta así como áreas cubiertas por el traje de baño, ya que pueden retener materia celular; por ingestión accidental al tragar agua contaminada o por inhalación al aspirar agua que contiene células bacterianas. Las cianobacterias son conocidas por sus reacciones dérmicas alérgicas o irritantes de gravedad variada. No obstante, no existen muchos informes de casos. Los trajes de baño y especialmente los trajes de buceo suelen agravar estos efectos ya que acumulan cianobacterias y fomentan el rompimiento de células y liberación del contenido celular (CRID, 2006b).

Cuadro 8: Algunos casos de intoxicaciones atribuidos a cianotoxinas en aguas recreativas en humanos debido a la Microcistina (Pouria *et al.* 1998; De León, 2001 y CRID, 2006b).

Lugar y año del Registro	Cantidad de personas intoxicadas	Tipo de exposición	Sintomatología
Canadá, 1959	Trece personas En el excremento de un paciente se identificó varias células de <i>Microcystis</i> y algunas tricomas de <i>Anabaena circinalis</i> .	Ingestión de agua contaminada con cianobacterias	Dolores de cabeza, náuseas, dolores musculares y diarreas con dolor
Brasil, 1985	Primer reporte para América Latina: 2000 casos	Consumo de agua contaminada con Microcistina	Gastroenteritis 88 de los casos fueron letales
Inglaterra, 1989	Diez soldados	Ingestión accidental de agua al nadar y aspiración de espuma al practicar canotaje en aguas con una fuerte proliferación de <i>Microcystis</i>	Dos de ellos desarrollaron una neumonía severa atribuida a la inhalación de la toxina <i>Microcystis</i> .
Australia, 1995	Un estudio prospectivo con 852 personas	Después de 2 a 7 días de la exposición con aguas recreativas contaminada con cianobacterias.	Elevada incidencia de diarrea, vómito, síntomas de gripe, erupciones en la piel, úlceras en la boca, fiebre, irritación del ojo u oído
Brasil, 1996	126 pacientes dializados	Primer registro mundial de intoxicación por vía sanguínea por Microcistina	Patologías hepáticas 60 murieron en 10 meses

Profilaxis contra la Intoxicación por Cianotoxinas

Existen pocos tratamientos efectivos contra los daños producidos por la Microcistina en el hígado, por lo tanto, muchos investigadores consideran que la profilaxis más que el tratamiento, es vital para el intoxicado (Dawson, 1998).

Desde los años ochenta se investigan algunas sustancias para determinar su potencial efecto profiláctico, esas investigaciones se realizaron de una forma un poco empírica, debido al desconocimiento del mecanismo de acción de las cianotoxinas. A finales de la década del ochenta, una de las sustancias investigadas como potencial medicamento profiláctico fue el Rojo de Tripán. Durante el análisis se observó un efecto protector contra dosis letales de Microcistina-LR administradas a ratones durante tres meses. Por otro lado, el Rojo de Tripán no causó daño a los hepatocitos. Los autores del artículo proponen que sus resultados pueden extenderse también a otras variantes de Microcistina: RR, LY y LA (Dawson, 1998).

La Rifampicina y la Ciclosporina A tienen un amplio espectro de actividad biológica. La Ciclosporina A en dosis de 10 mg/kg otorgó protección completa en ratones que consumieron 100 µg/kg de Microcistina LR (1.6 veces la LD50) si se administra 0.5-0.3 horas antes que la toxina. Esta protección no se observó cuando se coadministró o cuando fue dada posterior a la cianotoxina. Asimismo, no protegió contra dosis mayores de Microcistina. Es improbable que el efecto profiláctico de la Ciclosporina A sea debido a la inmunosupresión (Dawson, 1998).

La Rifampicina es un antibiótico usado en humanos a concentraciones de 600 mg por día. Una dosis similar fue administrada intragastricamente en ratones, una hora antes de la inyección intraperitoneal de la concentración equivalente a 2 LD50 de Microcistina-LR y no se produjo intoxicación en ninguno de los animales. Cuando se inyectó intraperitonealmente la Rifampicina, se obtuvo protección a dosis mayores a 4 LD50. Además, se observa que el efecto profiláctico se mantiene incluso cuando se administra la Rifampicina 15 minutos después de la inyección con Microcistina (Dawson, 1998).

Otra opción terapéutica son los anticuerpos producidos contra la Microcistina. Estos parcialmente antagonizan la inhibición de proteínas fosfatasa, siendo los anticuerpos policlonales más efectivos que los monoclonales (Dawson, 1998).

SITUACIÓN HÍDRICA EN AMÉRICA LATINA

La Conferencia Especial de las Naciones Unidas sobre el Agua, realizada en Mar del Plata, Argentina, en 1977, recomendó que el período 1981-1990 fuera designado como la Década Internacional del Agua Potable y el Saneamiento. El propósito de esta intención era "llegar en 1990 a proporcionar a toda la gente del planeta agua segura y en cantidad adecuada; a la vez proveerla de facilidades sanitarias básicas, asignando prioridad a los pobres y menos privilegiados. Los objetivos trazados fueron demasiado ambiciosos. En particular, los programas de abastecimiento de agua y saneamiento en América Latina y el Caribe no procedieron a un ritmo que garantizara el logro de las metas fijadas (ver cuadro 9) (OPS y OMS, 2007).

Cuadro 9: Porcentaje de la población latinoamericana con acceso a agua potable (OPS y OMS, 2007)

Año	Porcentaje de Cobertura de abastecimiento de agua		
	Urbana	Rural	Población Total cubierta
1988	88	55	79
1995	84	41	73

La información disponible en el cuadro 9 indica una disminución en la cobertura regional. Sin embargo, las discrepancias entre ambos años pueden deberse en gran parte a la revisión de los datos proporcionados por Brasil. Otros países latinoamericanos también indican falta de progreso en el sector (OPS y OMS, 2007). América Latina y el Caribe concentran una importante parte de la población mundial (ver cuadro 10). Además, entre este grupo de naciones del Tercer Mundo se encuentran algunas de los países más pobres del planeta. Por esto garantizar el suministro de agua potable es indispensable para el desarrollo humano de los latinoamericanos.

Cuadro 10: Población estimada en América Latina y el Caribe (en millones de personas) (OPS y OMS, 2007)

1990	1995	2000
433,0	373,7	513,3

Situación Hídrica de México

La situación del agua en México corresponde a un panorama de contrastes: mientras diversas regiones del centro y norte del país, presentan condiciones de escasez, de sobreexplotación y de contaminación, a tal punto que su disponibilidad se convierte paulatinamente en un factor limitante del desarrollo; en el sur del país, los excedentes de agua, ligados a otros factores físicos y socioeconómicos, también lo hacen. El balance nacional medio de agua, aunque registra un aparente superávit, no refleja los problemas más graves que afectan a un gran número de los acuíferos y cuencas de ese país, como lo expresan los balances regionales que muestran un déficit considerable en casi la mitad del territorio (Guzmán, 1997).

Existen algunas discrepancias sobre la superficie de agua dulce en México, al respecto: se estima que corresponde a 704375 hectáreas (ha), en otros estudios se estima en más de un millón y utilizando sensores remotos en 985017 hectáreas (Guzmán, 1997).

México posee 320 cuencas hidrográficas, agrupadas en 37 regiones hidrológicas y 13 gerencias regionales administrativas de la Comisión Nacional del Agua (CNA). En estas 13 gerencias se encuentran 70 lagos naturales, con superficies mayores a 10 hectáreas, que en conjunto cubren una superficie de 370891 hectáreas (Guzmán, 1997).

En las cuencas de los ríos Pánuco, Lerma, San Juan y Balsas se recibe el 50 por ciento de las descargas de aguas residuales del país. Los acuíferos más contaminados se localizan en la Comarca Lagunera, el Valle de México, la región del Bajío y el Valle del Mezquital, como resultado de los lixiviados de los agroquímicos. Los procesos de deforestación también contribuyen ampliamente a la degradación de la calidad del agua en las cuencas (Guzmán, 1997 y Food and Agriculture Organization, FAO, 2000b).

De acuerdo con los datos del Plan Nacional Hidráulico, México cuenta con aproximadamente 1264 embalses artificiales. Por cada hectárea de agua de cuerpos naturales, México ha embalsado 10 ha. en presas. Algunas de estas presas y otras obras de almacenamiento poseen una capacidad cercana a los 180 kilómetros cúbicos (km³). En las regiones áridas las presas se utilizan principalmente para riego y en las zonas húmedas para generación de energía eléctrica. En la actualidad, el 95 por ciento del almacenamiento se concentra en 63 presas con capacidad mayor a los 100 millones de metros cúbicos (m³) (Guzmán, 1997; López y Serna, 1999 y FAO, 2000b).

Al igual que los lagos naturales, éstos están sometidos a un progresivo enriquecimiento de nutrientes, que conduce a la eutroficación, a la proliferación de cianobacterias que confieren al agua propiedades organolépticas desagradables y en algunos casos, traen consigo toxicidad. En los embalses artificiales, la eutroficación se presenta con rapidez, de manera que su tiempo de vida útil varía de 10 a 100 años (Guzmán, 1997; López y Serna, 1999 y FAO, 2000b).

En lo relativo a las aguas subterráneas, se han identificado en el país 459 acuíferos, para los que se estima una extracción total de 24 km³ anuales a través de aproximadamente 140000 aprovechamientos subterráneos. Se han detectado problemas de sobreexplotación en 80 acuíferos ubicados principalmente en las regiones noroeste, norte y centro-oeste (FAO, 2000b).

Geografía de México

México se encuentra situado entre los meridianos 118° 27' Oeste y 86° 42' Oeste y los paralelos 32° 43' Norte y 14° 32' Norte. Limita al norte con los Estados Unidos de América, al sureste con las Repúblicas de Guatemala y Belice, al este con el Golfo de México y Mar Caribe y al oeste con el Océano Pacífico. La extensión territorial del país es cercana a los 1,96 millones de kilómetros cuadrados (km²). La superficie con potencial agrícola se ha calculado en 34,7 millones de hectáreas (ha) y la superficie cultivada en 1997 fue de 22,1 millones ha, de las cuales 5,3 millones de ha se cultivaron bajo riego y el resto en seco. Administrativamente el territorio nacional está integrado por 31 estados y un Distrito Federal (Food and Agriculture Organization, FAO, 2000b).

La formación más importante del relieve mexicano es la altiplanicie o meseta mexicana. Dicha meseta, de altitud superior a los 500 metros, está limitada al oeste por la Sierra Madre Occidental, al este por la Sierra Madre Oriental y por la Sierra Volcánica Transversal o Eje Volcánico, al sur de la Ciudad de México. Se divide en dos grandes áreas: la Meseta Norte, desde la frontera norte hasta San Luis Potosí y la Meseta Central, de altitud entre los 2 000 y 3 000 metros) y más húmeda y llana que la primera. Al este y oeste de estas Sierras se sitúan las Llanuras Costeras del Golfo y Pacífico, respectivamente. La primera se extiende desde la frontera norte hasta la Península de

Yucatán y la segunda desde el Valle de Mexicali a Tuxpan, siendo esta última más estrecha y escarpada; en el noroeste se encuentra la estrecha Península de la Baja California, extremadamente árida. Al este del Istmo de Tehuantepec, que une México con América Central, se encuentra la Región Sureste. En su extremo noreste está la Península de Yucatán, muy plana y con una altitud inferior a los 300 metros. Al sureste, se encuentran las tierras altas de Chiapas, una extensión de las cordilleras de América Central (Food and Agriculture Organization, FAO, 2000b).

Clima y Recursos Hídricos

La República Mexicana presenta una gran variedad de climas. Por su latitud, México se encuentra dentro de la Zona Intertropical, pero debido a la altitud, sus temperaturas no son tan elevadas como se esperaría (FAO, 2000b).

Los climas predominantes (con una temperatura media anual entre los 10 °C y los 26 °C) son: los secos en el 28 por ciento del territorio, cálidos-subhúmedos en el 23 por ciento, muy secos en el 21 por ciento y templados-subhúmedos con 21 por ciento. El resto del territorio presenta climas muy cálidos, con temperaturas medias anuales mayores a los 26 °C, o fríos, con temperaturas menores a 10 °C. La influencia marítima, generadora de masas de aire húmedo que penetran procedentes del Golfo de México y el Océano Pacífico, contribuye a las escasas oscilaciones térmicas a lo largo del año y a su carácter moderador (FAO, 2000b).

La precipitación es escasa en el norte del país y más abundante en el sureste y en las vertientes del Golfo de México y del Pacífico al sur del Trópico de Cáncer. La lluvia a lo largo del año se concentra principalmente en los meses de junio a octubre. Con cierta frecuencia se presentan períodos de sequías, sobre todo en el norte del país. La precipitación media anual en México es de 772 milímetros (mm), que suponen un volumen de agua en todo el territorio de 1512 km³. De este volumen total, cerca del 73 por ciento se pierde en evaporación de las masas de agua, por lo que los recursos hídricos internos renovables anuales (RHIR) son de 409 kilómetros cúbicos (km³) (FAO, 2000b).

Sistemas de tratamiento para potabilización del agua en México

México adoptó los “Objetivos de Desarrollo del Milenio” durante la Cumbre de Naciones Unidas de 2000, comprometiéndose a reducir, para el 2015, a la mitad el porcentaje de personas que en 1990 no contaban con agua potable. Los avances indican que las metas han sido rebasadas, pues la población que tiene acceso a agua potable dentro y fuera de la vivienda pasó de 78.4 por ciento en 1990 a 88.0 por ciento en 2005. Sin embargo, en este último año más de 10 millones de habitantes no tiene acceso al agua potable de la red pública y, aún persisten rezagos en las zonas rurales donde la cobertura llega a 68.8 por ciento, en contraste con el 94.3 por ciento de las zonas urbanas (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, INEGI, 2007).

En 2005, existían en el país 24.7 millones de viviendas habitadas, 9 de cada 10 contaban con sistema de cañería. La calidad del servicio en las viviendas que cuentan con agua (24 millones) es diferencial: 67 de cada 100 la tienen dentro de la vivienda, y 2 de cada 100, de llave pública o de otra vivienda. En el mismo año, 2.2 millones de viviendas (9.2%) no recibían agua entubada y se abastecían de pipa, pozo, río, arroyo o lago (INEGI, 2007).

La ubicación de las viviendas en el ámbito rural o urbano muestra diferenciación en el acceso al servicio: mientras 7 de cada 10 viviendas urbanas disponían de agua entubada dentro de la vivienda, la proporción en las rurales era de 3 de cada 10. Asimismo, 5.4 por ciento de las primeras y 32.3 por ciento de las segundas no disponen de agua de la red pública (INEGI, 2007).

La Comisión Nacional de Agua (CONAGUA) ha incrementado gradualmente el volumen de agua desinfectada, principalmente a través de la cloración. Según el último Censo de Captación, Tratamiento y Suministro de Agua de 2004, la infraestructura para la potabilización del agua suministrada en el país estaba constituida por 864 plantas, con una capacidad instalada de 166428 litro por segundo (L/s), operando al 71 por ciento de su capacidad; sólo 770 plantas se encontraban en operación (INEGI, 2007).

En el cuadro 11 se muestran los principales procesos de potabilización del agua utilizados en México. El ablandamiento (desmineralización del agua) y la remoción de hierro manganeso (desalinización del agua) no han sido evaluados para determinar si reducen la cantidad de cianotoxinas. La eficiencia detoxificación del agua en caso de

presencia de cianotoxinas es muy variable según el tipo de tratamiento, por lo tanto, existe riesgo que ante un eventual crecimiento de cianobacterias toxigénicas, algunas de las plantas de tratamiento no puedan responder de la mejor forma.

Cuadro 11: Procesos de potabilización de agua utilizados en algunas plantas de tratamiento Municipales en México, 2005 (Comisión Nacional del Agua, CNA, 2005)

Proceso	Número de Plantas ^{a,b}	Porcentaje de Plantas
Ablandamiento	27	5.53
Adsorción	11	2.25
Clarificación convencional	184	37.3
Clarificación de patente	128	26.23
Electrólisis reversible	2	0.41
Filtración directa	55	11.22
Filtración lenta	7	1.43
Ósmosis inversa	62	12.7
Remoción de Hierro- Manganeso	12	2.46

^a Solo se representan los datos de las plantas potabilizadoras con capacidad instalada mayores a un litro por segundo (L/s), excepto las de procesos especiales para desalinización o desmineralización del agua.

^b No se incluyen plantas potabilizadoras de los sectores industrial, comercial y de servicios.

Entorno institucional y legal del agua en México

En el pasado reciente, la política hidráulica se ejecutó a través de un conjunto de organismos y dependencias, lo cual provocó una considerable dispersión de funciones. Por ello, en 1989 se creó la Comisión Nacional del Agua (CNA), como un órgano desconcentrado de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH), como única autoridad facultada para administrar las aguas mexicanas (FAO, 2000b).

A partir de esa fecha se han introducido reformas en el marco jurídico y en la competencia de las diferentes instituciones que participan en el manejo del agua. En 1992, la Ley de Aguas Nacionales formalizó los avances institucionales que se habían logrado con la CNA. En 1994 con la nueva administración federal, la CNA cambió de la SARH a la Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP), también como un órgano desconcentrado. Además de la CNA, el Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA) se encarga de la investigación, capacitación y asistencia técnica en riego y drenaje, infraestructura hidráulica y

abastecimiento de agua. El Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) también lleva a cabo investigación de agricultura bajo riego. La responsabilidad del servicio de agua potable y saneamiento recae directamente en los municipios mientras que el control de la contaminación lo ejerce el Gobierno Federal. En 1990 comenzó un nuevo programa denominado Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento en Zonas Urbanas (APAZU) para impulsar un nuevo marco jurídico institucional (FAO, 2000b).

Situación Hídrica de Costa Rica

Según el informe “The Biennial Report on Freshwater Resources” del 2002-2003, Costa Rica es el tercer país, más rico en oferta hídrica de la región centroamericana, con 112,4 kilómetros cúbicos y el primero en per cápita de agua con 29579 metros cúbicos por año por habitante. La esorrentía promedio anual en todo el país fue de 2179 mm, en el período 1970-1989 (Anónimo, 2004).

Costa Rica se ha distinguido por gozar de altas coberturas en los servicios de agua potable y saneamiento, sin embargo, el Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados (AyA), con el apoyo técnico de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) Organización Mundial de la Salud (OMS) identifican deficiencias en la calidad de la prestación de los servicios, organización, ausencia de planificación e insuficiente inversión que puedan garantizar en el mediano y largo plazo el sostenimiento de las coberturas (OPS, 2003).

Geografía de Costa Rica

La República de Costa Rica tiene una extensión de 51 100 kilómetros cuadrados (Km²), ubicada entre los 8° y 11° Norte de latitud y los 82° y 85° Oeste de longitud. Limita al Norte con Nicaragua, al Sureste con Panamá, al Este con el Mar Caribe con un litoral de 212 kilómetros, y al Oeste con el Océano Pacífico y un litoral de 1 254 kilómetros. La Isla del Coco (24 Km²) en el Pacífico forma parte de su territorio (Food and Agriculture Organization, FAO, 2000a).

La cordillera Guanacaste-Tilarán cruza del extremo noroeste al sureste, hasta la parte media del país. A partir de este punto se bifurca en un ramal hacia el este, donde se extiende la Cordillera Central con sus volcanes Irazú y Poás, y otro ramal que

continúa hacia el sureste hasta la frontera con Panamá, la Cordillera de Talamanca. Entre ambas cordilleras se encuentra el Valle Central, asiento de las principales ciudades: Heredia, San José, Alajuela y Cartago. En el nordeste del país y bordeando la costa Atlántica se extienden llanuras húmedas y boscosas, mientras que en el extremo noroeste y suroeste se encuentran las Penínsulas de Nicoya y Osa, respectivamente. Entre ambas penínsulas, se localiza la franja costera del Pacífico, limitada al este por las Cordilleras antes mencionadas. Administrativamente, el país se divide en siete provincias (San José, Alajuela, Cartago, Heredia, Puntarenas, Limón y Guanacaste) y seis regiones de planificación (Central, Huetar Norte, Huetar Atlántico, Chorotega, Pacífico Central y Brunca) (Food and Agriculture Organization, FAO, 2000a)

Clima y recursos hídricos

El clima se define tropical húmedo entre los 0 y 600 metros (m), subtropical húmedo entre los 600 y 1 600 m, y frío para zonas de mayor altitud. Está influenciado por los vientos alisios provenientes del Caribe, por los vientos monzónicos del Pacífico y por el sistema montañoso que determina sus variaciones regionales. Las características climáticas por regiones se resumen en el cuadro 12 (FAO, 2000a).

Cuadro 12: Características climáticas por regiones de Costa Rica (1985-1997)
(FAO, 2000a)

Región	Precipitación promedio anual Milímetros (mm)	Estación de lluvias	Temperatura media anual (°C)
Chorotega	2006	Mayo-octubre	28,0
Huetar Norte	3527	Mayo-febrero	25,5
Huetar Atlántico	3933	Todo el año	25,2
Pacífico Central	2801	Mayo-noviembre	27,3
Central	3461	Mayo-noviembre	21,6
Brunca	3809	Mayo-noviembre	26,4

El país se divide en dos vertientes: la vertiente del Atlántico, húmeda y lluviosa, sin déficit hídrico en todo el año y la Vertiente del Océano Pacífico, más seca, con marcada disminución de caudales en el estiaje. El territorio se divide en 34 cuencas principales (17 por vertiente), con tamaños entre 207 km² y 5 084 km² (FAO, 2000a).

Se ha estimado que la contaminación de las aguas superficiales se origina en un 20 por ciento debido a los efluentes no tratados de aguas residuales urbanas (sólo el 3 por ciento de los sistemas reciben tratamiento), 40 por ciento por los desechos sólidos e industriales (alguna carga de metales pesados), y el 40 por ciento restante por el sector agrícola. De dicho sector, un 70 por ciento de contaminación surge de los desechos de los beneficios de café. Las cuencas más contaminadas son las de los ríos Grande de Tárcoles y Grande de Terraba, cuyas descargas afectan también las aguas marítimas del Golfo de Nicoya (FAO, 2000a).

Sistemas de tratamiento para potabilización del agua en Costa Rica

En Costa Rica se aplican métodos convencionales de tratamiento por medio de filtración lenta y filtración rápida. La filtración rápida es el sistema más utilizado porque permite tratar un mayor volumen de líquido en mucho menor tiempo. En este caso el agua se hace pasar por rejillas para eliminar la materia gruesa; luego se lleva a tanques de coagulación-floculación en donde se les suministran coagulantes y floculantes (sales de aluminio o de hierro, o bien, polímeros sintéticos). Una vez floculada el agua se envía a los sedimentadores y luego a filtros rápidos. Posteriormente se pasa a los tanques de distribución, donde se le suministra gas cloro. En el caso de la filtración lenta no se hace uso de ningún reactivo químico. El agua se potabiliza por medio de sistemas físicos a través de sedimentadores y se desinfecta posteriormente mediante la aplicación de cloro (Sánchez y Coto, 2003).

Los acueductos con tratamiento por métodos convencionales (floculación y coagulación química, decantación y filtración), que incluyen desinfección, se abastecen de fuentes superficiales y aquellos acueductos en los que se practica la desinfección como único tratamiento, se abastecen de fuentes subterráneas generalmente de muy buena calidad. Durante el año 2002 el 97.3 por ciento de la población costarricense (3987369 habitantes) recibió agua para consumo humano (ACH). Esta información no debe llevar a confusión, pues vale aclarar que agua para consumo humano no es sinónimo de agua potable. El agua para consumo humano (ACH) es aquella agua utilizada para la ingesta, preparación de alimentos, higiene personal, lavado de utensilios, servicios sanitarios y otros menesteres domésticos; esta puede ser potable o

no potable. Por otro lado, el agua potable es aquella que, al ser consumida, no causa daño a la salud del usuario, para lo cual debe cumplir con los requisitos físico-químicos y microbiológicos indicados en el “Reglamento para la Calidad del Agua Potable”. En el año 2002 del total de la población abastecida a través de los cuatro principales entes operadores de acueductos (3509931 habitantes), el 68.7 por ciento (2410502 habitantes) reciben agua sometida a desinfección constante. Esto implica que el 31.1 por ciento de la población recibe agua sin desinfección, lo que representa un alto riesgo para la salud de los usuarios (OPS y OMS, 2003; Sánchez y Coto, 2003; OPS y Ministerio de Salud, 2003 y Anónimo, 2004).

Los acueductos pequeños no cuentan con los recursos económicos para instalar sistemas adecuados de tratamiento de aguas crudas. Generalmente los sistemas se reducen a separación de sólidos gruesos, sedimentación por gravedad y filtración mediante filtros de arena. Tampoco se cuenta con los recursos técnicos para brindar un control permanente de la eficiencia de los procesos de tratamiento y desinfección. Debido a la amenaza de enfermedades por transmisión hídrica, los pobladores que se abastecen de agua proveniente de acueductos municipales y comunales acostumbran dar algún tipo de tratamiento al líquido antes de consumirlo tales como: hervirlo, filtrarlo, agregarle hipoclorito de sodio (Sánchez y Coto, 2003).

Entorno institucional y legal del agua en Costa Rica

Las entidades administradoras del agua para consumo humano son: la más importante es el AyA, sin embargo también son administradoras del agua las Municipalidades, los Comités Administradores de Acueductos Rurales (CAAR) y Asociaciones Administradoras de agua (ASADAS), la Empresa de Servicios Públicos de Heredia (ESPH) y acueductos privados. En el cuadro se pueden ver otras instituciones importante en Costa Rica relacionadas con el agua (Sánchez y Coto, 2003).

Algunas de estas instituciones coordinan entre sí, para desarrollar actividades en el manejo del agua, por ejemplo, desde 1975 se formó el Comité Nacional de Hidrología y Meteorología, integrado por miembros del ICE, IMN, AyA, SENARA y el Servicio Nacional de Electricidad (SNE), encargado de coordinar las actividades de hidrología y

meteorología en el país y en 1990 se creó la Secretaría Técnica de Manejo de Cuencas con la responsabilidad de la gestión integral de las cuencas hidrográficas (FAO, 2000a).

Cuadro 13: Principales instituciones directamente implicadas con los recursos hídricos en Costa Rica (FAO, 2000a)

Nombre de la entidad	Función
Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE)	Administración, políticas y estrategias sobre los recursos hídricos, manejo de cuencas, derechos, concesiones y solución de conflictos entre usuarios. A dicho Ministerio pertenecen el Instituto Meteorológico Nacional (IMN) y su Departamento de Aguas.
Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados (AyA)	En agua potable, alcantarillados y saneamiento urbano y rural, conservación de cuencas y control de contaminación.
Instituto Costarricense de Electricidad (ICE)	Generación hidroeléctrica, manejo de información hidrológica, protección de cuencas, fuentes y cauces.
Ministerio de Salud	Calidad del agua para consumo humano y saneamiento.
Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG)	Control de agroquímicos, manejo de suelos y protección y conservación de cuencas hidrográficas.
El Servicio Nacional de Aguas Subterráneas, Riego y Avenamiento (SENARA)	Responsable del riego, avenamiento, control de inundaciones y aprovechamiento de aguas superficiales y subterráneas. Organiza a los interesados en Asociaciones de Usuarios (AU) brindándoles asistencia técnica y capacitación para el manejo eficiente de los sistemas de riego.
Archivo Nacional de Pozos	Almacena más de 9000 registros nacionales, información básica para el otorgamiento de los permisos de perforación y explotación de aguas subterráneas.

La Constitución de la República reconoce las aguas y sus cauces como bienes de dominio público inalienables y de completo dominio del Estado. La Ley Orgánica del Ambiente obliga los estudios de impacto ambiental en proyectos de recursos hídricos continentales y marítimos, y en proyectos de riego mayores de 2 500 ha. La Ley

General de Salud Número 5395 regula la calidad de las aguas. El marco regulatorio se complementa con leyes constitutivas de las entidades públicas, a quienes confiere autoridad asociada a sus funciones y atribuciones (FAO, 2000a)

Según el Ministerio de Salud en el Decreto número 32327-S (Publicado en La Gaceta Número 84 del 3 de mayo del 2005) del Reglamento de la Calidad del Agua Potable se establecen cuatro niveles de Control de la Calidad del Agua (ver cuadro 14)

Como se puede apreciar según los niveles de Control de la Calidad del Agua, no existe una normativa sobre la presencia de cianotoxinas en el agua en Costa Rica. Sólo se indica que las cianobacterias toxigénicas deben estar ausentes en las muestras analizadas, sin embargo se analizan por cianobacterias ocasionalmente y solamente cuando existe la identificación previa del riesgo para la salud.

Para presentarse un valor de 1 µg/L de Microcistina-LR, primero debe haber una alta concentración de cianobacterias, que por lo general pueden ser observadas a simple vista y facilitan la prevención de intoxicaciones. El problema radica en que al presentarse dichas concentraciones tóxicas, no existen en todas las plantas de tratamiento, las estrategias adecuadas para la eliminación de la toxina.

Cuadro 14: Programas de control de calidad del agua en Costa Rica
(Ministerio de Salud, 2004)

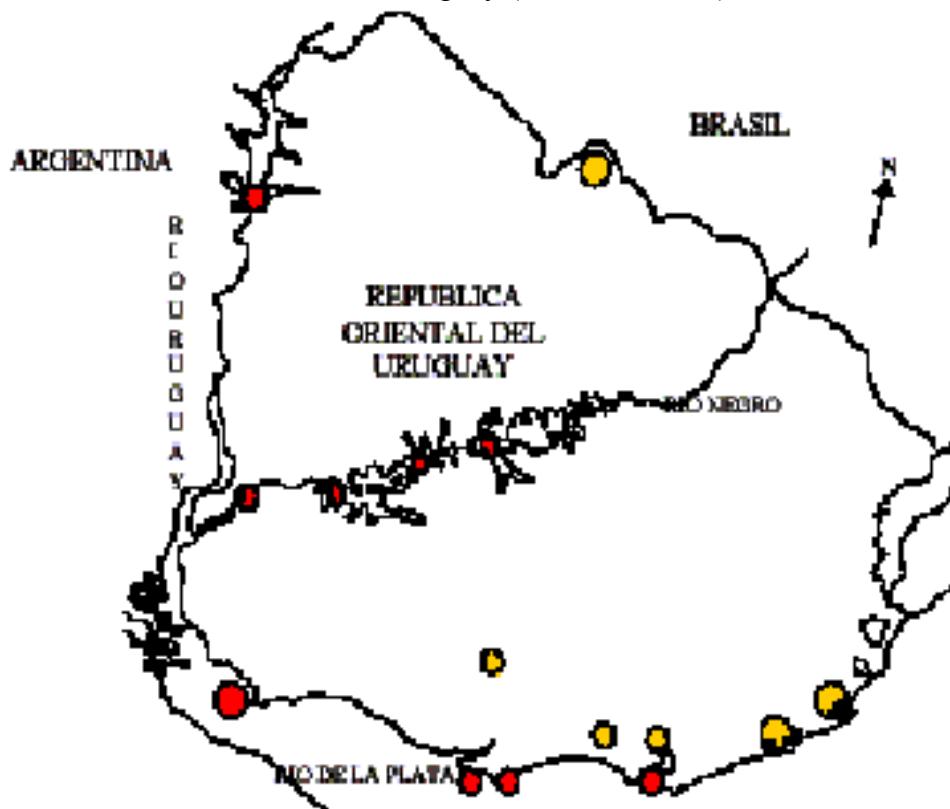
Nivel	Tipo de programa	Algunos parámetros
Primero	Programa de control básico junto con la inspección sanitaria, para evaluar la operación y mantenimiento en la fuente, el almacenamiento y la distribución del agua potable	Coliformes fecales, <i>Escherichia coli</i> , color aparente, turbiedad, olor, sabor, temperatura, pH, conductividad, y cloro residual libre o combinado
Segundo	Programa de control básico ampliado, el análisis de tendencias temporales de variaciones de calidad en fuentes de abastecimiento, a ser aplicado en muestras de agua potable en la fuente, su almacenamiento y distribución	Son todos los establecidos en el primer nivel, ampliados con: dureza total, cloruro, fluoruro, nitrato, sulfato, aluminio, calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro, manganeso, zinc, cobre, plomo
Tercero	Corresponde al programa de control avanzado del agua potable.	Son todos los establecidos en el segundo nivel ampliados con: nitrito, amonio, arsénico, cadmio, cromo, mercurio, níquel, antimonio, selenio y residuos de plaguicidas
Cuarto	Programas ejecutados por situaciones especiales, de emergencia o porque la inspección sanitaria identifica un riesgo inminente de contaminación del agua	Dependen de la situación identificada: sólidos totales disueltos, sustancias orgánicas de significado para la salud. Otros parámetros como: <i>Salmonella</i> sp., <i>Vibrio cholerae</i> 01 toxigénico, <i>Aeromonas hydrophila</i> , nematodos, <i>Entamoeba histolytica</i> , Enterovirus <i>Cryptosporidium</i> , Virus de Hepatitis A y Cianobacterias tóxicas.

DETECCIÓN DE CIANOBACTERIAS TOXIGÉNICAS EN AMÉRICA LATINA

En América Latina se han realizado grandes esfuerzos en algunos países por detectar las cianotoxinas en el agua de consumo humano y animal. Entre los países que lideran estas investigaciones se encuentran: Brasil y Uruguay. Recientemente, otras naciones se han interesado en este campo de investigación entre ellos: Costa Rica, Panamá y México (Peinador, 1999; De León, 2001; Vergara, 2002; Vargas y Freer, 2004; Ramírez *et al.* 2005 y Avendaño y Arguedas, 2006).

En Uruguay se registran proliferaciones cianobacterianas desde 1982 (ver figura 9). Sin embargo la presencia de toxinas (Microcistina) se determinó a partir de 1999, resultando tóxicos el 100 por ciento de los eventos analizados (De León, 2001).

Figura 9: Ubicación de sistemas acuáticos con proliferaciones de cianobacterias tóxicas en Uruguay (De León, 2001).



Nota: Áreas de color rojo: proliferaciones de cianobacterias con toxicidad comprobada. Áreas de color amarillo: proliferaciones de cianobacterias en sistemas acuáticos utilizados para uso humano (No hay análisis de toxicidad)

A partir del año 2000 se han desarrollado estudios piloto en la cuenca del Río Negro y el Embalse Salto Grande, a través de diversos proyectos para determinar los factores ambientales asociados a la presencia de las proliferaciones en Uruguay (De León, 2001).

Cianobacterias toxigénicas en México

Las investigaciones sobre cianobacterias realizadas en México se basan en la detección de cianobacterias y sus toxinas en fuentes de agua. La mayor parte de estos estudios se concentran en la Región Central de ese país, en los estados de Guanajuato, México, Morelos y Distrito Federal y en la Región Llanura costera del Golfo del Sur, específicamente en el Estado de Veracruz, ver Anexo 2 (López y Serna, 1999; Vásquez, 2001; García, Molina, Quiroz, y Trejo, 2003; Ramírez *et al.* 2005; Patronato pro Valle de Bravo, 2005 y Gobierno de Xochimilco-UNESCO, 2005).

Estado de Guanajuato

El embalse Ignacio Allende se ubica en el Río de la Laja, en la Cuenca del Río Lerma, su represa se localiza a 1834 metros sobre el nivel del mar (msnm), a 12 kilómetros al suroeste de San Miguel de Allende (ver figura 10), su capacidad de almacenamiento es de 251 millones de metros cúbicos. Fue construido en 1968. En la actualidad tiene múltiples usos, como son: irrigación, consumo doméstico, pesquerías, acuicultura extensiva y recreación. El clima del área es seco, semicálido extremo con régimen de lluvias en verano, la mayor pluviosidad es de junio a septiembre (110 a 250 milímetros), la precipitación media anual es de 48 milímetros y la temperatura media anual es de 18 a 22 °C (López y Serna, 1999).

Figura 10: Ubicación de las estaciones de muestreo en el embalse Ignacio Allende, Guanajuato, México (López y Serna, 1999)



Se realizaron recolectas mensuales durante un ciclo anual, a partir de julio de 1990. Las muestras se tomaron en la superficie de tres sitios (ver figura 11), estación norte (E-N), estación centro (E-C) y estación sur (E-S). Las cianobacterias alcanzaron las mayores densidades en especial en septiembre en la E-N, con un valor máximo de hasta 200810 organismos / litro. Se presentó un largo período con proliferación de cianobacterias de julio a octubre, en la E-C, y de julio a noviembre en E-N y E-S (López y Serna, 1999).

En la E-S las cianobacterias prevalecieron durante todo el año, con excepción de marzo y abril que fue cuando el fitoplancton alcanzó la más baja densidad. En general, son dominantes (por su alta frecuencia y gran densidad) cinco cianobacterias: *Anabaena variabilis*, *Microcystis aeruginosa*, *Nostoc comune*, *Nostoc punctiforme* y *Chroococcus dispersus*. La proliferación de cianobacterias en verano y la asociación de especies dominantes compuesta por *Anabaena variabilis*, *Aulacoseira granulata* y *Ceratium hirundinella*, así como la alta frecuencia de *Fragilaria crotonensis*, se asocia a cuerpos de agua tropicales eutróficos (López y Serna, 1999).

Otro aspecto que resalta en las fluctuaciones de densidad planctónica, es la coincidencia del período de proliferación de cianobacterias con el de las densidades más bajas del zooplancton, en especial en septiembre para la E-N, julio para la E-C y julio y agosto para la E-S, este evento también es coincidente con la época de lluvias y de ascenso en el nivel de agua en el embalse. Durante el invierno, la densidad total del zooplancton en las tres estaciones de estudio tendió a recuperarse y a finales de la sequía, marzo a agosto, cuando las clorofíceas fueron abundantes, el zooplancton acusó otra recuperación en sus densidades (López y Serna, 1999).

Los resultados sugieren que el embalse Ignacio Allende es un sistema eutrófico, en el que existe una marcada estacionalidad en los factores ambientales asociada a los periodos de lluvias y estiaje (López y Serna, 1999).

Estado de México

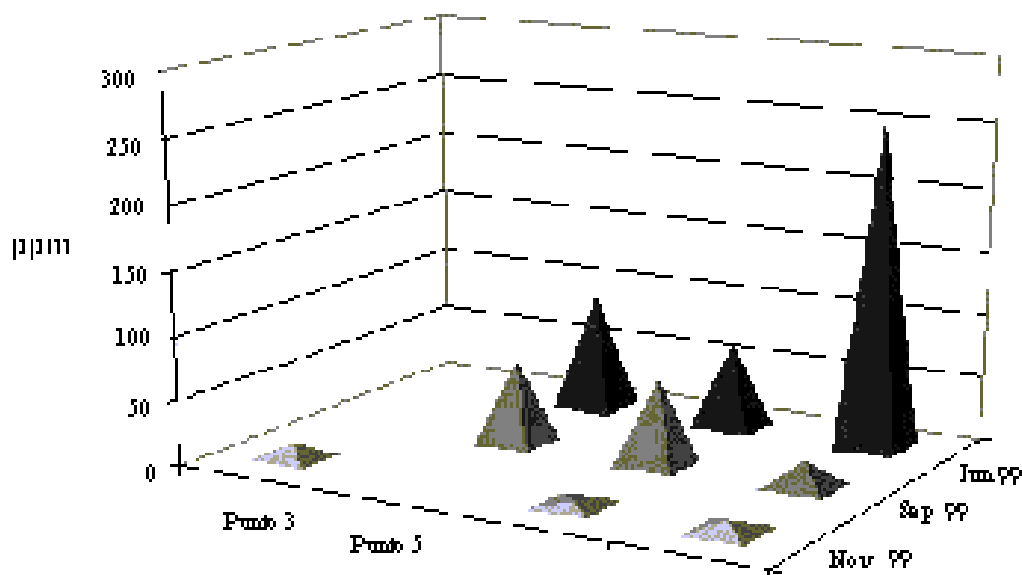
Con relación a la presencia de cianobacterias en fuentes de abastecimiento de agua para consumo humano en México, se ha informado su presencia en el Valle de Bravo en el Estado de México, de esta última se tienen registros de proliferaciones de 1998 a la fecha y de la presencia de Microcistina-LR (Ramírez *et al.* 2005 y Patronato pro Valle de Bravo, 2005).

La presa Valle de Bravo y los diferentes cuerpos de agua que conforman el sistema Cutzamala, proveen cerca del 30 por ciento del agua potable a los habitantes (aproximadamente seis millones) de la ciudad de México. La Cuenca de Valle de Bravo-Amanalco, formada por más de la mitad del territorio de Valle de Bravo, todo el territorio de Amanalco y porciones menores de otros seis municipios, es una unidad ecológica, de la que el lago es solo una parte (Ramírez *et al.* 2005 y Patronato pro Valle de Bravo, 2005).

El lago, por su ubicación en la parte baja de la Cuenca, se ve afectado por todas las actividades sociales y económicas que se desarrollan en la parte media (área agrícola y urbana de Amanalco) y la parte alta (áreas forestales), así como en la misma parte baja que incluye toda el área urbana de Valle de Bravo y Avándaro (Ramírez *et al.* 2005 y Patronato pro Valle de Bravo, 2005).

En estos sitios durante casi 6 meses al año se aprecia la presencia de cianobacterias con proliferaciones de las mimas durante el verano. Durante junio, septiembre, y noviembre de 1999 se detectó la presencia de Microcistina-LR. Las concentraciones más altas se observaron en el mes de junio con valores de 2551 miligramo / kilogramo, peso en base seca. El valor más bajo se determinó en noviembre, cuando aparentemente la proliferación había desaparecido, en este mes el valor máximo fue de 109 miligramo / kilogramo, peso en base seca (ver gráfico 1) (Ramírez *et al.* 2005).

Gráfico 1: Valores de Microcistina obtenidos en 1999 en la presa de Valle de Bravo, Estado de México (Ramírez *et al.* 2005).



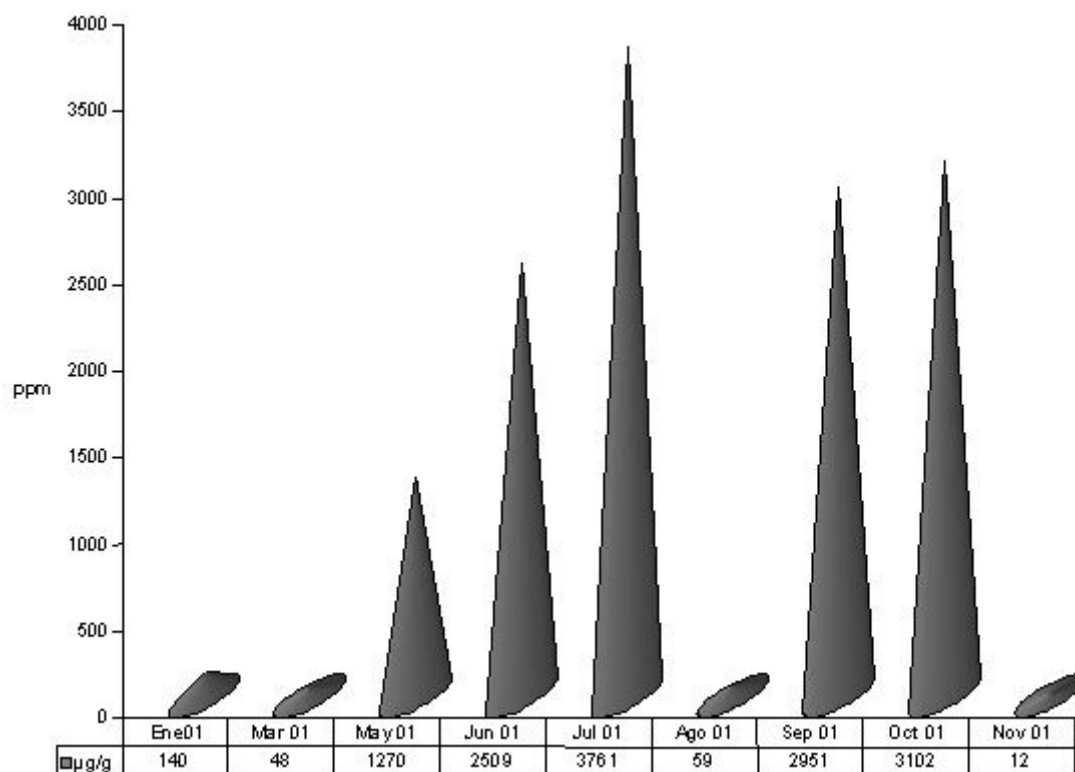
	Punto 3	Punto 5	Punto 6	Punto 7
Jun 99	109	No detectable	90	90
Sep 99	No detectable	131	130	199
Nov 99	No detectable	920	190	2551

Valores en ppm./peso seco

El manejo inadecuado de agroquímicos, así como las aguas residuales de las áreas urbanas de los dos municipios, propician el aumento de cianobacterias como las del género *Anabaena*. En el año 2000 no se registraron proliferaciones de

cianobacterias, pero en el año 2001 las concentraciones de Microcistina-LR se incrementaron de enero a julio y la mayor concentración fue de 3761 μg de toxina por gramo. Aunque en agosto se identificó un decremento en la concentración de Microcistina-LR, los niveles observados en julio se alcanzaron en septiembre y octubre, para disminuir nuevamente en noviembre (ver gráfico 2). Una situación similar podría presentarse en otros cuerpos de agua eutroficados de México, como es el caso del Lago de Chapala (Ramírez *et al.* 2005).

Gráfico 2: Valores de Microcistina obtenidos en 2001 en la presa de Valle de Bravo, Estado de México (Ramírez *et al.* 2005).



Estado de Morelos

El lago Tonatiahua se ubica en el Parque Nacional Zempoala del Estado de Morelos, este parque se localiza a 65 km al sur de la Ciudad de México y a 38 km de la Ciudad de Cuernavaca (García, Molina, Quiroz, y Trejo, 2003).

El lago se ubica geográficamente a 19° 03' 19'' Norte y 99° 19' 00'' Oeste. El clima que predomina es templado y sub-húmedo. La temperatura media anual oscila entre 12 °C y 18 °C y la del mes más frío -3 °C y 12 °C. El lago Tonatiahua está ubicado a una altura de 2810 metros sobre el nivel del mar (msnm) y presenta agua durante todo el año. Se realizó un estudio entre agosto de 1998 y marzo 1999 para determinar la distribución de especies fitoplanctónicas. En este estudio se informa la presencia de *Anabaena* y *Microcystis*, sin embargo las cianobacterias no son predominantes en este lago. Los investigadores afirman que las características propias de la zona pueden ser las responsables de estas observaciones (García, Molina, Quiroz, y Trejo, 2003).

Distrito Federal de México

En México se realiza el Proyecto UNESCO-Xochimilco el cual es un plan participativo de recuperación de la ciudad, e incluye el manejo de aguas del lago del mismo nombre (ver Anexo 2). Así, también se realizan estudios sobre la presencia de cianobacterias. La aceleración de cambios ambientales, sociales, urbanos y económicos en las últimas décadas amenaza la calidad del agua de la región que está inscrita en la Lista del Patrimonio Mundial de la UNESCO en 1987 (Gobierno de Xochimilco-UNESCO, 2005).

La continua demanda de agua de la población local y de la ciudad tiene un efecto negativo sobre el espacio patrimonial. La mayor parte de estos impactos son irreversibles, al convertirse este cuerpo de agua en un sistema artificial, dependiente de los aportes de aguas tratadas de las plantas de la ciudad (Gobierno de Xochimilco-UNESCO, 2005).

En general se puede decir que las alteraciones que han transformado el funcionamiento hidráulico del lago son: la extracción excesiva del agua subterránea que ha llevado a la eliminación de los caudales de agua subterránea que alimentaban al lago a través de los manantiales, y el aporte a través de aguas residuales tratadas (Gobierno de Xochimilco-UNESCO, 2005).

Otro impacto es la descarga de aguas residuales, debido al incremento de las zonas urbanas por causa de los asentamientos irregulares en las inmediaciones del Lago de Xochimilco (Gobierno de Xochimilco-UNESCO, 2005).

Por otra parte, las alteraciones mencionadas están íntimamente relacionadas entre sí y por su incidencia simultánea provocan un deterioro permanente del ambiente en general y de los ecosistemas que están ligados al agua en el Lago de Xochimilco. El abastecimiento de agua, realizado al lago en forma artificial desde 1953, se lleva a cabo con volúmenes de agua residual tratada en la Planta del Cerro de la Estrella. Suponiendo que estos volúmenes cumplen con las Normas Oficiales Mexicanas establecidas para usos agrícolas, al Lago llegarían aguas de aceptable calidad. Sin embargo las descargas de aguas residuales de diferentes usuarios (Domésticos, industrias pequeñas, pesticidas y fertilizantes agrícolas) los volúmenes almacenados se contaminan y este proceso es continuo y permanente (Gobierno de Xochimilco-UNESCO, 2005).

Al hundimiento del subsuelo producido por la extracción de agua subterránea de forma continua, se suma la evidencia de la inducción del flujo de agua del lago hacia los pozos produciendo una fuente de contaminación potencial a los recursos hídricos subterráneos. Además, este cuerpo de agua contaminado representa un foco directo de infección para la salud humana, ya que la población tiene acceso directo a los cuerpos de agua. El funcionamiento del agua en Xochimilco es un proceso muy complejo (Gobierno de Xochimilco-UNESCO, 2005).

Con el manejo actual se presenta una contaminación de manera continua y deterioro permanente del agua, lo cual impide un desarrollo equilibrado de la flora, fauna, producción agrícola y se incrementa la contaminación de los escurrimientos superficiales y del agua subterránea. En general, se ha observado que el agua tratada que alimenta a los canales de Xochimilco, promueve el crecimiento de las comunidades cianobacterianas, evidenciando su alto contenido de materia orgánica y de nutrientes inorgánicos disueltos, que les confieren el alto grado de eutroficación (Gobierno de Xochimilco-UNESCO, 2005).

A través de estos estudios se ha podido observar que muchas especies se han mantenido a lo largo del tiempo (cerca de 70 años), como es el caso de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*. Esta cianobacteria llamó la atención no solo por su

prevalencia sino también por su gran abundancia, especialmente en septiembre y noviembre del 2001 (en el parque ecológico) y diciembre y enero del 2002. Sin embargo, hubo ausencia de esta cianobacteria en muestras recolectadas en octubre del 2004 (a lo largo de todos los canales, sólo se encontró un ejemplar, en una sola estación) lo cual puede deberse a que en ese año se prolongó la época de lluvias (Gobierno de Xochimilco-UNESCO, 2005).

Estado de Veracruz

La sierra de Tuxtlas, en el estado de Veracruz, es una región sometida a una constante deforestación para dedicar las tierras principalmente a la ganadería. Esta región tiene una gran importancia ecológica al ser actualmente el límite norte de la distribución de la selva alta perennifolia en América, además de ser uno de los últimos remanentes de la selva veracruzana (Vásquez, 2001).

Por estas razones, recientemente la zona fue declarada Reserva de la Biosfera. Orográficamente Los Tuxtlas se caracterizan por la existencia de los volcanes Santa Marta, San Martín y San Martín Pajapan. Su topografía abrupta influye en el clima de la zona, así como en la estructuración de la red de drenaje, además de que favorece la presencia de cuerpos de agua estables. En los alrededores del volcán San Martín, desde Catemaco hasta su límite occidental, se encuentra cerca del 80 por ciento de las lagunas de agua dulce de la región (Vásquez, 2001).

Al determinar la composición taxonómica de la comunidad fitoplanctónica en las lagunas y ríos principales de la zona se informó que en los ríos Chuniapan y Saltillo Caracolar hubo predominio de cianobacterias de las especies: *Merismopedia glauca* (no relacionada con toxinas) y *Oscillatoria chlorina* (toxigénica) (Vásquez, 2001).

Otros géneros como *Microcystis*, y *Anabaena*, estuvieron en algunos de los ríos muestreados en lluvias, aunque en el estudio no indica la presencia o ausencia de estos géneros en la época seca, se podría esperar que las concentraciones de estos sean mayores, lo anterior porque las lluvias permiten la dilución de la materia orgánica y por lo tanto la reducción de las cianobacterias (Peinador, 1999 y Vásquez, 2001).

Cianobacterias toxigénicas en Costa Rica

En Costa Rica los estudios realizados con cianobacterias se centran en la detección de los géneros presentes en aguas de consumo y en agua de zonas costeras, para esto se han utilizado principalmente técnicas de cultivo e identificación microscópica de las cianobacterias aisladas. Antes del año 2004 la presencia de cianotoxinas sólo era considerada una posibilidad en Costa Rica, debido a la presencia de géneros cianobacterianos de reconocida toxigenicidad, sin embargo en ese año, se demostró la presencia de la toxina en agua de consumo humano (Peinador, 1994; Vargas y Freer, 2003; Vargas y Freer, 2004 y Avendaño y Arguedas, 2006).

Región Central (Gran Área Metropolitana)

En 1994 se publica la primera investigación que se realiza en Costa Rica sobre la presencia de cianobacterias tóxicas en plantas de tratamiento de agua potable. En ese estudio se analizaron siete plantas de tratamiento del Área Metropolitana (San José) y se recolectaron 336 muestras de agua entre febrero y diciembre de 1992. Se informa la identificación de cincuenta especies de cianobacterias de las cuales veinticinco pertenecen a géneros documentados como productores de toxinas (ver cuadro 15), además se llega a la conclusión que hay una alta incidencia (30%) de cianobacterias en las plantas de tratamiento de agua del Área Metropolitana (Peinador, 1994).

Cuadro 15: Algunas especies de Cianobacterias aisladas en plantas de tratamiento de agua potable del Área Metropolitana (San José, Costa Rica) (Peinador, 1994).

Géneros Tóxicos	Géneros no relacionados con toxinas
<i>Anabaena</i>	<i>Gloeotheca</i>
<i>Cylindrospermopsis</i>	<i>Calotrix</i>
<i>Microcystis</i>	<i>Dermocarpa</i>
<i>Nostoc</i>	<i>Merismopedia</i>
<i>Oscillatoria</i>	<i>Spirulina</i>
<i>Phormidium</i>	<i>Pleurocapsa</i>
<i>Pseudanabaena</i>	<i>Aphanothece</i>

Para tres especies de cianobacterias seleccionadas: *Microcystis flos aqua*, *Oscillatoria subtilissima* y *Phormidium retzii* no hubo diferencia significativa en cuanto a su presencia entre la salida y entrada de la planta, indicando ineficiencia del tratamiento. Es preocupante que las tres de especies analizadas en detalle aparecieron tanto en el agua cruda como en la tratada debido a que la población humana abastecida por estas plantas es cercana al millón de personas (Peinador, 1994).

Debido a los reportes de la presencia de géneros de cianobacterias vinculados con la producción de toxinas en el país, se realiza el primer estudio en Costa Rica sobre la presencia de cianotoxinas en plantas de tratamiento de agua para consumo humano. Se seleccionaron seis plantas de tratamiento de agua en el Área Metropolitana de Costa Rica, durante los meses de mayo a octubre del 2003 (estación lluviosa) y entre los meses de enero a abril del 2004 (estación seca) para realizar la determinación de la presencia de Microcistina por medio de la técnica de ELISA competitivo (Avendaño y Arguedas, 2006).

En este estudio se tomaron muestras crudas (pretratadas) y muestras tratadas. Se obtuvo una positividad de dos de tres muestras de la planta alta de Tres Ríos en la estación seca (solamente en las muestras de agua pretratadas), sin embargo en la estación lluviosa esta planta no presentó positividad para ninguna de las muestras (ver cuadro 16) (Avendaño y Arguedas, 2006).

El resto de las plantas obtuvo valores por debajo de los 0.5 partes por billón (ppb) en todas las muestras tanto en la estación seca como la estación lluviosa (Avendaño y Arguedas, 2006).

En la estación lluviosa, las muestras de agua tanto de entrada (cruda) como de la salida (tratada) de las plantas analizadas se tomaron en lugares donde el movimiento del agua es turbulento. Al ser agua en constante movimiento esto no favorece ni el crecimiento ni la permanencia de las cianobacterias o sus productos en estos puntos en específicos. Además, la lluvia contribuye como un efecto diluyente de la concentración de cianotoxinas. En la estación seca se favorece el crecimiento de las proliferaciones cianobacterianas debido a una mayor disposición de horas y cantidad de luz solar durante el día, temperaturas superiores a 25 grados centígrados (°C) y además, la

disminución de las precipitaciones reduce el caudal y la velocidad de la corriente y esto favorece la acumulación de las cianobacterias y la disponibilidad de nutrientes por la disminución de la dilución de los mismos (Avendaño y Arguedas, 2006).

Cuadro 16: Concentraciones de Microcistina en agua de consumo humano del Área Metropolitana (San José, Costa Rica), Abril 2004
(Avendaño y Arguedas, 2006)

Ubicación	Tipo de muestra	Afluente	Concentración (ppb)
Tres Ríos	Agua superficial del filtro/proliferación	Embalse de Orosi	Más de 3.00
Tres Ríos	Agua superficial del filtro	Embalse de Orosi	1.36

La mayoría de plantas del Áreas Metropolitana tienen como afluente fluvial al Río Virilla, mientras que la planta Alta de Tres Ríos tiene como afluente al Embalse de Orosi y al Río Tiribí. La disminución de la velocidad del agua en los embalses permite la proliferación de cianobacterias, esto fue confirmado por la inspección visual del Embalse de Orosi (Avendaño y Arguedas, 2006).

Región Chorotega y Pacífico Central

Desde 1997, el Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas de la Universidad de Costa Rica, ha colectado muestras de agua, tanto en superficie como a 5 metros de profundidad, en diversos sectores de la costa pacífica (Vergara, 2002; Vargas y Freer, 2003 y Vargas y Freer, 2004).

Las colectas se realizaron en promedio cada 22 días, en la parte interna del Golfo de Nicoya, Puntarenas, estero de Puntarenas, Paquera, Puerto Caldera y Quepos. Se anotaron las observaciones de los pescadores y sus familiares acerca de los padecimientos asociados con las cianobacterias. Se aisló la cianobacteria *Trichodesmium erythraeum*. Las células diferenciadas en el centro de las colonias de *Trichodesmium erythraeum*, son capaces de fijar nitrógeno atmosférico que permite al alga crecer bajo las condiciones oceánicas pobres en nutrimentos, en el plancton marino se encuentran pocas especies de cianobacterias, siendo esta especie una de las

principales cianobacterias fijadoras de N en el agua marina (Vergara, 2002; Vargas y Freer, 2003 y Vargas y Freer, 2004).

Además, ha sido asociada con proliferaciones cianobacterianas en diversas partes del mundo, como Japón, Tailandia, el Mar de Arabia y el cono suramericano donde ha relacionado con el síndrome conocido como "fiebre de Tamandaré" o "tingui" denominado así por el nombre de una localidad en la costa noreste de Brasil (Vergara, 2002; Vargas y Freer, 2003 y Vargas y Freer, 2004).

Este síndrome se caracteriza por una dermatitis de contacto, y es la causa de grandes molestias en las poblaciones afectadas. Según algunos pescadores entrevistados en la zona de Punta Cuchilla (Paquera) y Puntarenas, al momento de lavar sus redes de pesca y tener contacto con el agua de mar contaminada, presentaron dermatitis generalizada en algunos casos (Vergara, 2002; Vargas y Freer, 2003 y Vargas y Freer, 2004).

La acción de las olas ayuda a disolver los bultos que forma esta cianobacteria y vuelve inactiva la enzima nitrogenasa, motivo por el cuál los mares tranquilos son un requisito previo para las proliferaciones de estos microorganismos. Las proliferaciones de *Trichodesmium* generalmente están asociadas con bacterias y aunque se desconoce la función que desempeñan estas bacterias, se cree que esta asociación puede ser beneficiosa para la cianobacteria, por lo que el significado ecológico es de potencial importancia, ya que podrían utilizarse para mitigación de las proliferaciones. Las cianobacterias como *Trichodesmium* son tema de interés por parte de la comunidad científica, debido al impacto negativo que éstas están produciendo en zonas costeras del área centroamericana y del Caribe (Vergara, 2002; Vargas y Freer, 2003 y Vargas y Freer, 2004).

Por otro lado, los ríos Cañas y Liberia sirven como cuerpos receptores de aguas residuales domésticas tratadas mediante lagunas de estabilización de las ciudades del mismo nombre; se realizó un total de 28 muestreos de cada río y en las lagunas por un período de cinco años y medio. En cada río se escogió tres estaciones de muestreo muy cercanos entre sí y que presentaran condiciones de contaminación diferentes: la primera a 40 metros antes de la descarga de la laguna de estabilización, la segunda estación en la descarga de las lagunas y la tercera a 100 m luego de la descarga. El río Cañas está

situado a 196 km al norte de la ciudad de San José (10° 25' N, 85° 07' O) a 196 metros sobre el nivel del mar y con una temperatura media que oscila entre 26.9 °C y 29 °C y el río Liberia a 235 km también al norte de la ciudad de San José (10° 38' N, 85° 27' O) a 200 metros sobre el nivel del mar y con una temperatura media normal que oscila entre 23°C y 32 °C (Peinador, 1999).

Se observó que en el río Cañas la frecuencia de muestras positivas es significativamente menor en la primera estación (antes de la descarga de la laguna de estabilización) que en las otras dos estaciones. Esto puede deberse al mayor grado de contaminación orgánica existente en las estaciones localizadas en la descarga y luego de esta, producto del efluente de las lagunas de estabilización (Peinador, 1999).

El caudal del río Cañas disminuye considerablemente en época seca lo cual provoca una menor dilución de los efluentes de las lagunas y por tanto una mayor contaminación en la segunda y tercera estaciones de muestreo del río. Esto explica el porqué durante esta época hay mayor frecuencia de cianobacterias en esas estaciones de muestreo con respecto a la primera estación en Cañas y no hay diferencia significativa entre las otra dos estaciones. Contrariamente, el aumento en la dilución de la materia orgánica de los efluentes, provoca una menor contaminación del agua posterior a la descarga de la laguna de estabilización en dicho río (Peinador, 1999).

Esta menor contaminación parece reflejarse en la disminución de la frecuencia de cianobacterias encontrada durante la época lluviosa en esa estación de muestreo. En el río Liberia la frecuencia de cianobacterias encontradas no refleja, tan claramente como en el río Cañas, la relación que puede existir entre estas y el grado de contaminación. Esto se debe a que el río Liberia presenta un alto grado de contaminación en la primera estación de muestreo con la consecuente multiplicación de las cianobacterias (Peinador, 1999).

Conjuntamente con esa disimilitud observada entre esos sitios de muestreo, el incremento del índice de similitud entre la descarga y luego de la descarga en ambos ríos, reafirma la influencia de los efluentes de las lagunas sobre los ecosistemas respectivos. En términos generales, el aumento en el número de especies de cianobacterias no es significativo entre un lugar y otro, si se evidencia una sustitución de especies. Cambios como los observados en el número de especies, frecuencia de

muestras positivas y/o sustitución de especies implican necesariamente un cambio en la comunidad general de organismos ya que no es prudente esperar que sólo la comunidad de cianobacterias cambie su estructura como respuesta a las condiciones del medio (Peinador, 1999).

MECANISMOS DE DETOXIFICACIÓN, CONTROL Y PREVENCIÓN DE AGUAS CONTAMINADAS CON CIANOTOXINAS

Las medidas de control de las cianobacterias se aplican en presencia de un crecimiento exponencial de estas bacterias en una masa de agua. Idealmente deben controlarse las condiciones que favorecen la proliferación de cianobacterias, por ejemplo: las fuentes de nitrógeno y fósforo provenientes de la industria y la agricultura. Sin embargo, cuando las cianobacterias se empiezan a reproducir deben tomarse otras medidas adicionales como la utilización de algicidas y otras sustancias que degraden a las cianobacterias y sus toxinas. Una forma ecológica de reducir estas bacterias y sus cianotoxinas es utilizar otros microorganismos capaces de degradarlas.

Control químico

En las fuentes de agua sin tratamiento el principal control se realiza por medio de sustancias que evitan la proliferación de cianobacterias (Ramírez, 2005).

No obstante, debe considerarse la estabilidad de las cianotoxinas en las fuentes de agua. Las variantes de Microcistina son muy estables y resistentes a hidrólisis enzimática, su vida media es de alrededor de tres semanas en solución a pH 1 y 40 °C. Para degradarlas completamente se requiere un tratamiento a refluo con ácido 6N-hidroxilórico y ácido trifluoroacético. Sin embargo, es necesario evaluar la pérdida de toxicidad de estos metabolitos en la naturaleza y para esto se deben tomar en cuenta algunos factores como: la dilución, adsorción, descomposición térmica con ayuda del pH, fotólisis y la degradación biológica (Ramírez, 2005).

En mediciones realizadas en campo se encontró que la degradación primaria de la Microcistina-LR ocurrió en una semana. El mecanismo de inactivación es probablemente por la modificación de la cadena ADDA. La Microcistina tiene estabilidad ante la irradiación de luz solar, aunque al combinarse con pigmentos contenidos por la cianobacteria (ficocianinas), descomponen significativamente la toxina por isomerización de un doble enlace en la cadena ADDA. Experimentos realizados en laboratorio para determinar la velocidad de degradación tanto de

Nodularina como Microcistina, mostraron que la primera era más resistente a la degradación (Dawson, 1998 y Ramírez, 2005).

Cuando no existen otras fuentes de agua disponibles las sustancias algicidas se utilizan para hacer un efectivo control del crecimiento de las cianobacterias. El uso de algicidas tiene una mejor relación costo-efectividad que la remoción de las cianotoxinas del agua. Los principales algicidas son sulfato de cobre, citrato de cobre y permanganato de potasio. La efectividad de estas sustancias depende de la adecuada distribución en el agua, el contacto con los microorganismos diana, la sensibilidad diferencial de las cianobacterias y la reducción de la toxicidad del cobre por la formación de complejos con sustancias orgánicas o con ligandos inorgánicos en condiciones alcalinas (Hrudey *et al.* 1999).

Entre sus desventajas se encuentran que el uso de estas sustancias tiene un impacto ecológico negativo y que se seleccionan poblaciones de cianobacterias resistentes a estas sustancias lo que incrementa el problema. Otra desventaja es que el uso de algicidas es sólo recomendado cuando se encuentran bajas densidades de cianobacterias ya que estas sustancias dañan a estas bacterias y permiten la salida de sus toxinas. El peligro del uso de estas algicidas en aguas con altas densidades de cianobacterias se demostró en la Isla de Palm, Australia, donde los miembros de la comunidad sufrieron una hepato-enteritis, luego que el agua fue tratada con sulfato de cobre para reducir un crecimiento masivo de cianobacterias (Hrudey *et al.* 1999).

Control biológico

Los primeros reportes identifican algunos virus que pueden controlar las proliferaciones de estas bacterias. Algunos hongos parásitos y algas como *Ochromonas danica* reducen la cantidad de cianobacterias en condiciones naturales. Sin embargo, las bacterias poseen las condiciones más adecuadas para su uso como control biológico. Las mixobacterias (bacterias Gram negativas aerobias) son importantes en la reducción de la proliferación de cianobacterias. Por otro parte, en una cepa de *Pseudomonas* se aisló una enzima que puede degradar Microcistina, no obstante, sólo se ha observado esta degradación en condiciones controladas. Otro estudio revela que una cepa del género *Sphingomonas* llamada 7CY es capaz de degradar algunas cianotoxinas. Este

tipo de bacterias son bacilos Gram negativos aerobios que pueden degradar algunas variantes estructurales de Microcistina: Microcistina-LY, Microcistina-LW, Microcistina-LR y Microcistina-LF. Este efecto se observa espontáneamente cuando la bacteria es expuesta ante las variantes de Microcistina. Esta bacteria tiene el efecto sobre otras cianotoxinas, pero no espontáneamente. La Nodularina-Har es degradada por esta cepa bacteriana cuando también se encuentra en el medio la Microcistina-RR. Esto sugiere que la cepa 7CY requiere de las enzimas inducidas por la degradación inicial de la Microcistina-RR para luego poder utilizar la Nodularina-Har como fuente de nutrientes (Hrudey, Burch, Drikas y Gregory, 1999; Ishii, Nishijima y Abe, 2004 y Oberholster, Botha y Grobbelaar, 2004).

Este principio de depuración de toxinas por medio de microorganismos es parte de técnicas como los filtros lentos de arena, que forman una biopelícula que degradan algunas sustancias.

Las biopelículas son una fuente de microorganismos capaces de reducir la cantidad de cianobacterias o sus toxinas. Una investigación realizada con una mezcla de bacterias aislada de una biopelícula demostró que la combinación de las mismas en condiciones aerobias es efectiva en la degradación de Microcistina (Inamori *et al.* 1998).

En el estudio también se aislaron de la biopelícula algunos otros microorganismos: *Aeolosoma hemprichi* (Oligochaeta) y el rotífero *Philodina erythrophthalma* que contribuyen con la degradación de células de *Microcystis viridis* (productora de Microcistina). Estos dos microorganismos permiten la salida de la cianotoxina para que luego las bacterias puedan degradarla (Inamori *et al.* 1998).

Remoción de cianobacterias y sus toxinas en plantas de tratamiento de agua

Las plantas de tratamiento utilizan diversos métodos para la potabilización del agua: coagulación, floculación, sedimentación, flotación por aire disuelto, cloración, ozonización, filtración, radiación ultravioleta entre otros. Estos métodos van dirigidos hacia una gran cantidad de agentes dañinos para la salud: metales pesados, microorganismos, virus y sustancias tóxicas orgánicas e inorgánicas.

Se ha investigado la capacidad de reducir la cantidad de cianotoxinas en el agua mediante métodos utilizados actualmente en las plantas de tratamiento. La mayoría de estos estudios evalúan cada método por separado, algunos pocos investigan la utilización de combinaciones de estos. La efectividad de estas técnicas varía desde un cien por ciento de efectividad hasta no ser efectivos del todo. Esto pone en riesgo a las poblaciones que reciben agua “potabilizada” por algunas de estas técnicas que son poco o no efectivas contra las cianotoxinas.

Coagulación y Floculación

La floculación consiste en una agitación suave que permite la agregación de partículas, para posteriormente ser eliminadas del agua por medio de filtración o sedimentación. La coagulación es un proceso de formación de agregados de moléculas de alto peso molecular a partir de partículas como polvo y microorganismos que se encuentran dispersos en agua. Esto se logra por la adición de sustancias químicas como sales de hierro y de aluminio y polímeros sintéticos (Svrcek y Smith, 2004).

Existen estudios que revelan que la coagulación con sales de hierro, y la floculación son efectivas para la eliminación de cianotoxinas intracelulares manteniendo la integridad de las cianobacterias. Sin embargo, las sales de hierro, pueden estimular el crecimiento de algunas cepas toxigénicas de cianobacterias (Svrcek y Smith, 2004).

Flotación por aire disuelto

La flotación es un método de clarificación, el cual es utilizado luego de un primer paso de floculación-coagulación. La flotación por aire disuelto consiste en aumento de la presión del agua y posteriormente la reducción de la mismas, lo que ocasiona la formación de burbujas que arrastran a la superficie las partículas que deben ser eliminadas como las cianobacterias (Svrcek y Smith, 2004).

Carbón activado

El carbón activado es una medida efectiva para remover una gran variedad de contaminantes, incluyendo las cianotoxinas. Existen dos tipos principales de formas para utilizar el carbón activado: el carbón activado en polvo (PAC), el cual es

adicionado intermitentemente al agua y el carbón activado granular (GAC) que es usado en reactores en columna (Svrcek, y Smith, 2004 y Ramírez, 2005).

La efectividad del carbón depende de factores propios de cada presentación: granular o en polvo. La efectividad del PAC depende de la cantidad de carbón activado utilizado y del tipo de cianotoxina. Incluso difiere entre las variantes estructurales de una misma cianotoxina, por ejemplo es más fácil de remover la Microcistina-RR que la Microcistina-LR. Además, dependiendo del material usado para fabricar el carbón se afectarán los resultados. Un estudio reveló que el PAC proveniente de madera es más efectivo que el de la hulla y el carbón de residuos de coco. Esto es posible porque la mayoría de los poros del PAC de madera poseen un diámetro entre 2 a 50 nm (la Microcistina posee un diámetro aproximado de 1.2 y 2.6 nm) en cambio los otros tipos de PAC poseen poros con diámetros mayores a los que presenta la PAC de madera (Svrcek, y Smith, 2004 y Ramírez, 2005).

El GAC es también muy eficiente para la remoción de cianotoxinas. Sin embargo la vida útil de GAC es limitada la eficiencia de la remoción decrece con el tiempo (Kull, Backlund, Karsson y Meriluoto, 2004).

El carbón activado en polvo y granular se ven afectados por la presencia de materia orgánica debido a la competencia de la estas sustancias orgánicas con la cianotoxinas por los sitios de unión del carbón activado (Svrcek, y Smith, 2004 y Huang, Cheng y Cheng, 2006).

Cloración

El tratamiento con cloro es usado en bajas concentraciones en el agua de consumo (usualmente menos de 1 mg/L). El uso de cloro para la reducción de cianotoxinas causa controversia, debido a la gran variedad en los resultados de la efectividad del mismo sobre estas toxinas. En un estudio se reveló que la cloración a concentraciones mayores a las recomendadas para el tratamiento de agua para consumo humano es efectiva para eliminar la Microcistina, la cual se transforma en algunos isómeros que no inactivan proteín fosfatasas (Kull *et al.* 2004).

Sin embargo, a las concentraciones usuales de cloro en agua tratada y con efecto adicional de materia orgánica este tratamiento no es adecuado para reducir la

concentración de cianotoxinas y no es recomendable aumentar la concentración de cloro debido a que puede tener efectos hematológicos y cancerígenos (Rodríguez, Picado, y Sequeira, 2003 y Kull *et al.* 2004).

Por otro lado, algunas investigaciones demostraron que la cloración era ineficiente para eliminar las toxinas provenientes de las cianobacterias, estudios más recientes señalan que la Microcistina y Nodularina son destruidas rápidamente con una solución de cloro e hipoclorito de calcio y con menor efectividad con hipoclorito de sodio. El cloro y el hipoclorito de calcio en una concentración de 1 miligramos por litro (mg/L) eliminaron cerca del 95 por ciento de las toxinas en 30 minutos. Por otro lado, el hipoclorito de sodio a la misma concentración solo removió el 40 por ciento y con de 5 mg/L o más, eliminó el 70 al 80 por ciento (Ramírez, 2005).

La variabilidad de los resultados de estas investigaciones puede deberse a las condiciones en que fueron realizadas. El aumento de la materia orgánica presente en el medio reduce significativamente la destrucción de las cianotoxinas. Además, el pH es uno de los factores determinantes de la efectividad del cloro, debido a que a pH altos (mayores a 8) el cloro no se encuentra en su forma activa: ácido hipocloroso (Svrcek, y Smith, 2004).

Filtros de Arena

La filtración es un proceso mediante el cual partículas en suspensión son removidas del agua. Los filtros pueden clasificarse como filtros de arena rápidos y filtros de arena lentos dependiendo de la tasa de remoción de partículas. Los filtros rápidos utilizan una gran variedad de medios granulares, además pueden acompañarse de un paso de clarificación, por ejemplo, la flotación por aire disuelto, en cuyo caso el proceso se conoce como filtración convencional o puede operar sin clarificación llamado filtración directa (Svrcek, y Smith, 2004).

En un estudio en Costa Rica se determinó la presencia de Microcistina en agua tratada con filtros rápidos de arena, esto apoya las observaciones de otros investigadores que afirman que el uso de estos filtros no es cien por ciento efectivos para la destrucción cianotoxinas, esto se observa en el cuadro 17 (Avendaño y Arguedas, 2006).

Las cianobacterias pueden liberar sus toxinas luego de aplicarse la filtración y los filtros de arena en teoría son incapaces de eliminar cianotoxinas. Sin embargo, se ha observado que los filtros lentos de arena permiten la formación de biopelículas que permiten la biodegradación de sustancias disueltas (Svrcek, y Smith, 2004).

Los filtros lentos de arena son muy efectivos para la remoción de cianobacterias, sin embargo, bajo condiciones de verano con estancamiento de agua pueden proliferar cianobacterias como fue observado en una planta de tratamiento en Costa Rica (Peinador, 1994).

Filtración por Membrana

Los procesos de filtración por membrana, particularmente la microfiltración y la ultrafiltración son métodos económicamente viables para pequeñas y grandes comunidades. Son efectivos para la remoción de cianotoxinas intracelulares. Existen evidencias que se produce poco daño a las cianobacterianas, y que la cantidad de cianotoxinas liberadas que atraviesan las membranas es insignificante. La ultrafiltración, además, puede tener propiedades de absorción o exclusión de la Microcistina lo que reduce la cantidad de toxinas en el agua filtrada. Sin embargo, estos tipos de filtración no son muy adecuados para la reducción de las cianotoxinas debido al tamaño de sus poros que permiten el paso de estas toxinas. Un experimento realizado en Australia logró remover Microcistina-LR y Nodularina en concentraciones de 8 µg/L utilizando la nanofiltración que utiliza membranas con tamaños de poros que pueden excluir directamente a las cianotoxinas (Hrudey *et al.* 1999).

Radiación Ultravioleta

La absorción de luz ultravioleta (UV) causa el rompimiento de los enlaces moleculares de muchas sustancias químicas. Desde mediados de los años setenta la radiación UV ha sido ampliamente utilizada para la reducción de microorganismos. Existe controversia sobre la efectividad de este método para reducir la cantidad de cianobacterias y sus toxinas. Se ha observado que la fotólisis de la Microcistina por la luz UV se incrementan en presencia de los pigmentos de las cianobacterias llamadas ficocianinas, similar con la luz solar en condiciones naturales. Por medio de este

proceso se puede degradar Microcistina y Anatoxina-a pero en dosis varios ordenes de magnitud mayores a los utilizados en las plantas de tratamiento de agua, lo que lo hace impracticable (Hrudey *et al.* 1999 y Svrcek y Smith, 2004).

Sonicación

Recientes estudios demuestran que la irradiación ultrasónica con 640 kilohertz (kHz) de extractos crudos de cianobacterias degrada la Microcistina-LR. La degradación de esta cianotoxina se atribuye a la producción de radicales hidroxilo, sin embargo se cree que otros procesos de hidrólisis/pirólisis son importantes en el proceso. Por medio de análisis de inhibición de proteínofosfatasas se determinó que los productos resultado de la degradación de Microcistina debido la sonicación no son tóxicos. Por lo tanto, esta técnica puede ser utilizada de forma práctica para la detoxificación de cianotoxinas en el agua (Medical Devices & Surgical Technology Week Editors, 2005).

Ozonización

El ozono es uno de los oxidantes más poderosos que se conocen y que se han utilizado efectivamente para la desinfección y oxidación de una amplia gama de compuestos en el tratamiento del agua. Algunos estudios mostraron que la preozonización a concentraciones de 1 mg/L fue suficiente para eliminar completamente la toxicidad causada tanto por las hepatotoxinas como por la anatoxina-a, posteriormente observaron que la eficiencia de eliminación dependía de la concentración de ozono. Por otro lado, su uso para reducir la concentración de cianobacterias es restringido debido a que puede incrementar la destrucción de las cianobacterias, con la consecuente liberación de las toxinas (Hrudey *et al.* 1999 y Ramírez, 2005).

Cuadro 17: Remoción de Microcistina y cianobacterias toxigénicas por diferentes procesos de tratamiento de agua (Hrudey *et al.* 1999 y Ramírez *et al.* 2005)

Proceso de tratamiento	Condiciones fisicoquímicas	Localización de la Cianotoxina	Porcentaje (%) de eliminación
Floculación	Floculación con FeCl_3	Extracelular	No efectivo
Filtración por Membrana		Intracelular	99 %
Filtros de arena rápidos		Extracelular Intracelular	> 60% <10%
Filtración lenta de arena		Extracelular Intracelular	~ 99% Probablemente significativo
Filtración de arena con otros métodos	Filtro de arena más floculación con $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ y cloro	Extracelular	11-18%
	Filtro de arena más $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5 mg/L, 30 minutos pH 8.5	Extracelular	No efectivo
Combinación: Coagulación-Sedimentación-Flotación por aire disuelto		Extracelular Intracelular	> 80% <10%
Combinación: coagulación-sedimentación-filtración		Extracelular Intracelular	> 90% <10%
Combinación: Precipitación-sedimentación		Extracelular Intracelular	> 90% <10%
Flotación por aire disuelto		Extracelular	> 90%

(Continúa cuadro)

Proceso de tratamiento	Condiciones fisicoquímicas	Localización de la Cianotoxina	Porcentaje (%) de eliminación
Radiación ultravioleta		Extracelular	Insignificante
Cloración (postfiltration)	0.5 mg/L, 20 minutos, pH 5.5-6.6 (más floculación y filtro de arena)	Extracelular	11-18%
	Cl ₂ , Ca(OCl) ₂ 1 mg/L, 30 minutos	Extracelular	>95%
	NaOCl 5mg/L, 30 minutos	Extracelular	70-80%
	>0.5 mg/L (después de la reacción), <pH 8	Extracelular	>95%
Cloramina	20 mg/L, 5 días	Extracelular	17%
Permanganato de potasio		Extracelular	95%
Peróxido de hidrogeno		Extracelular	Insignificante
Adsorción con carbón activado	Polvo de carbón activado 100 mg/L	Extracelular	>90%
	Carbón activado granular 70 x 7 – 8 centímetros	Extracelular	>90%
	Carbón activado granular 3 x12 cm (más floculación, filtro de arena y cloro)	Extracelular	100%
Ozonización	1 mg/L, 30 minutos, más floculación, filtro de arena y Cloro	Extracelular	100%

Medidas preventivas de la proliferación de cianobacterias toxigénicas

En las áreas afectadas por la ocurrencia de cianobacterias tóxicas es importante adoptar medidas de monitoreo adecuadas y brindar información a la población potencialmente involucrada. Un adecuado registro de datos puede facilitar un monitoreo más efectivo, y a una mejor comprensión del ecosistema. Por ejemplo: si en una región existen datos sobre poblaciones de cianobacterias, será posible decidir si la repentina aparición de una especie de cianobacteria toxigénica, es nueva en el área o si las especies endémicas se han vuelto tóxicas (CRID, 2006a).

Por lo anterior, en un embalse se debe considerar no sólo la calidad del agua sino también la composición de la comunidad acuática. Los organismos del plancton se han utilizado como indicadores de las condiciones que prevalecen en los cuerpos de agua. Sin embargo, para emplearlos con certeza, se deben conocer sus respuestas ante cambios estacionales. De esta forma será posible predecir en qué momentos y bajo qué condiciones el sistema se encuentra con mayor susceptibilidad de presentar una proliferación de especies no deseables; así se podrán reconocer las especies que sólo se presentan estacionalmente y las que prevalecen resultado de su mayor tolerancia (López y Serna, 1999).

Los parámetros de apoyo importantes incluyen temperatura, salinidad, clorofila (biomasa del fitoplancton) y circulación de la corriente superficial (por el potencial riesgo de traslado de algas peligrosas). El conocimiento de la distribución temporal y geográfica de los nutrientes inorgánicos (nitratos, amonio y fósforo) y sus fuentes así como otros factores de crecimiento del fitoplancton, serán importantes al momento de planificar y operar un programa de monitoreo. La identificación y cuantificación de cianobacterias en fuentes de agua provee un sistema de alarma temprano de potenciales proliferaciones de cianobacterias tóxicas. Cuando las condiciones son favorables para la aparición de cianobacterias, se deben intensificar las actividades de monitoreo y de clasificación taxonómica de las especies potencialmente tóxicas y eventualmente un análisis de las toxinas cianobacterianas (Lawton *et al.* 1999 y CRID, 2006a).

Métodos rápidos y simples pueden ser empleados para el análisis de la composición de una muestra y para identificar géneros, lo cuál es usualmente suficiente para determinar el riesgo potencial de la proliferación cianobacteriana. Algunas de las

indagaciones requieren determinar la densidad de cianobacterias. Métodos rápidos para la cuantificación pueden ser útiles para estimar el número de células bacterianas. La estimación de la biomasa de cianobacterias también puede cuantificarse por la determinación de la clorofila *a*, ésta técnica tiene una buena relación tiempo-efectividad (Lawton *et al.* 1999).

En las áreas afectadas, los médicos y los hospitales deben recibir información sobre problemas de salud relacionados con proliferaciones de cianobacterias, diagnóstico y tratamiento de intoxicaciones vigilancia de grupos en riesgo y procedimientos de reporte a las autoridades de Salud Pública. El público general ya sean usuarios de aguas recreativas o de consumo deben recibir toda información relacionada con el riesgo de la cianotoxinas para su salud (CRID, 2006a).

Los enfoques sobre seguridad de aguas son diferentes dependiendo de si se trata de cianobacterias presentes en aguas recreacionales o de la presencia de cianobacterias y sus toxinas en aguas de consumo humano. Por ejemplo: la cantidad de agua consumida accidentalmente por un bañista (100 - 250 mililitros) es menor comparada con la ingesta diaria de agua de una persona adulta (2 litros). Si un bañista consume accidentalmente 200 ml de agua con una concentración de 20000 células cianobacterianas por mililitro (equivalente a 10 µg/L de Microcistina en condiciones de predominio de cianobacterias altamente toxigénicas) esta persona consumirá 2 µg de Microcistina, la cual es la máxima cantidad diaria de esta cianotoxina permitida que una persona adulta puede ingerir sin riesgo según la OMS (Svrcek y Smith, 2004 y CRID, 2006b).

Además se debe considerar que el agua de consumo va a ser ingerida por un prolongado periodo de tiempo en grandes cantidades, y esto hace que las restricciones sobre la cantidad de toxinas en esta sean mayores (ver cuadro 18)

Cuadro 18: Concentraciones máximas permitidas para cianotoxinas en agua de consumo humano (Svrcek y Smith, 2004)

Cianotoxina	País / organización	Máxima Concentración Aceptable
Microcistina	Organización Mundial de la Salud	1.0 µg/L
	Australia	1.3 µg/L
	Canadá	1.5 µg/L
	Nueva Zelanda	1.0 µg/L
	Estados Unidos	1.0 µg/g
Nodularina	No hay una Recomendación Oficial	Su presencia debe ser considerada como un riesgo para la salud
Anatoxina	No hay una Recomendación Oficial	3.0 µg/L ^a
Saxitoxina	No hay una Recomendación Oficial	3.0 µg/L ^b
Cilindrospermopsina	No hay una Recomendación Oficial	1.0 µg/L ^c

^a Valor recomendado para la Anatoxina-a. ^b Valor basado en su efecto genotóxico.

^c Valor utilizado en Australia, esta concentración se puede correlacionar con 20000 células/mililitro.

Aún no es claro si se han identificado todas las cianotoxinas importantes. Los daños a la salud causados en aguas recreativas por la presencia de altas concentraciones de cianotoxinas, especialmente Microcistina se deben diferenciar de los síntomas irritantes (especialmente irritación de piel y mucosas) producidos por sustancias cianobacterianas desconocidas. Por lo tanto, un valor guía único no es apropiado y en su lugar se deben definir una serie de valores guía asociados con la severidad y probabilidad incrementada de los efectos sobre la salud en tres niveles (ver cuadro 19) (CRID, 2006b)

Cuadro 19: Guías para la práctica segura en el manejo de aguas de uso recreativo (CRID, 2006b)

Nivel guía	Situación	Cómo se definió el nivel guía	Riesgos para la salud	Medidas típicas
Probabilidad relativamente leve y/o baja de efectos adversos sobre la salud	20000 células cianobacterianas/mL o 10 µg de clorofila-a/L con predominio de cianobacterias	De estudios epidemiológicos	Efectos adversos sobre la salud a corto plazo: irritación de piel, enfermedades gastrointestinales	Colocar señales de advertencia en el lugar Informar a las autoridades pertinentes
Probabilidad moderada de efectos adversos sobre la salud	100000 células cianobacterianas/mL o 50 µg de clorofila-a/L con predominio de cianobacterias	Del valor guía provisional para Microcistina-LR en agua potable y datos sobre otras cianotoxinas	Efectos adversos sobre la salud a corto plazo: irritación de piel, enfermedades gastrointestinales Algunas especies cianobacterianas tienen potencial para causar enfermedades a largo plazo.	Vigilar la formación de espuma o condiciones que la favorecen. Prohibir el baño e investigar el peligro Colocar señales de advertencia en el lugar Informar a las autoridades pertinentes
Riesgo elevado de efectos adversos sobre la salud	10000000 de células/L ó 5000 µg/L de clorofila-a (posiblemente 2000 µg/l de Microcistina en los primeros 4 cm de la superficie agua)	Derivado de intoxicaciones orales letales en animales Historiales reales de casos de enfermedades humanas	Efectos adversos sobre la salud a corto plazo: irritación de piel, enfermedades gastrointestinales Algunas especies cianobacterianas tienen potencial para causar enfermedades a largo plazo Potencial para producir intoxicación aguda	Adoptar medidas inmediatas para controlar el contacto con la espuma; posible prohibición de actividades que impliquen contacto con el agua Realizar una investigación de seguimiento en salud pública Informar al público y autoridades pertinentes

En el caso de agua utilizada para el consumo pero que no ha sido tratada deben seguirse otras normativas más estrictas que las presentadas en el cuadro 19. En estos casos se consideran tres niveles de alerta de los crecimientos cianobacterianos (ver cuadro 20).

Cuadro 20: Guía de niveles de alerta de crecimientos de cianobacterias en agua de consumo (Murray Regional Algal Coordinating Committee, MRACC, 2002).

Nivel guía	Situación	Riesgos para la salud	Medidas típicas
Alerta baja	500 a 2000 células/mL Algunas especies de cianobacterias pueden dar problemas de olor y sabor en el agua en estas concentraciones.	Si humanos u otros animales consumen el agua contaminada debe vigilar si presentan signos de enfermedad.	Usar otras fuentes de agua. Si es posible el agua debe tratarse para evitar un crecimiento potencialmente tóxico
Alerta media	2000 a 15000 células/mL	Pueden haber manifestaciones irritantes al entrar en contacto directo con la piel de personas sensibles	Usar otras fuentes de agua para consumo humano y animal. Tratar el agua con carbón activado. Se recomienda no consumir mariscos y eliminar las vísceras (principalmente sistema digestivo) de peces.
Alerta alta	Mayores a 15000 células/mL	Pueden haber intoxicaciones de humanos y animales	No beber agua sin tratamiento del área contaminada. Buscar otra fuente de agua. Evitar el contacto y uso de agua esta agua. No consumir pescado ni mariscos de la zona afectada.

PERSPECTIVAS A FUTURO

La contaminación ambiental y el efecto invernadero poseen una estrecha relación con la proliferación de cianobacterias toxigénicas. Los procesos de eutroficación (enriquecimiento nutricional) del agua con sustancias de origen industrial y fertilizantes propician el incremento de estas bacterias (Ramírez *et al.* 2005).

Los cambios climáticos contribuyen al aumento de la incidencia de muchas enfermedades. Esto es de particular interés en zonas templadas del planeta donde el incremento de la temperatura por el efecto invernadero favorece la fotosíntesis y el metabolismo de las cianobacterias. Por lo tanto, si la tendencia al incremento de la temperatura global continua, serán más frecuentes las intoxicaciones por los productos de las cianobacterias (Epstein, 1997).

La investigación sobre la toxicidad crónica con estas sustancias en el ser humano y el impacto en el equilibrio ecológico es un campo de la toxicología ambiental que requerirá más estudios a largo plazo debido a la complejidad de las relaciones entre los seres vivos y las toxinas.

Los avances en la identificación de sustancias permitirán la detección de nuevas cianotoxinas y sus variantes estructurales, por lo que será necesario analizar la toxicidad de estas nuevas especies químicas. Sin embargo, actualmente, los estudios de bioprospección, incluyen estos metabolitos en sus investigaciones, para detectar el potencial uso de las mismas en beneficio del ser humano. Este tipo de estudios será de gran importancia en el futuro.

En países como Costa Rica y México no existe una legislación clara sobre las medidas de prevención y de detoxificación de las fuentes de agua contaminadas con cianotoxinas. Aunque no hay iniciativas al respecto, se prevé que esto será tema de discusión por las autoridades competentes en nuestros países, en los próximos años, debido a que en otras naciones, especialmente del primer mundo, ya existe regulación y planes de manejo de aguas contaminadas con estas toxinas (Sánchez y Coto, 2003 y FAO, 2000b).

CONCLUSIONES

Las cianobacterias causaron un significativo impacto ecológico desde su aparición en la Tierra debido a que fueron responsables de la oxigenación de la atmósfera.

Existe gran variedad de géneros de cianobacterias que son toxigénicos, además son muchos los tipos de toxinas producidas por estas bacterias.

Las variaciones estacionales, el pH, temperatura, precipitaciones y otros factores físicos aumentan o disminuyen la concentración de cianotoxinas en el agua.

El calentamiento global influye en el crecimiento de las cianobacterias permitiendo una mayor cantidad de proliferaciones toxigénicas.

El crecimiento de las cianobacterias en parte es debido a las actividades humanas, agrícolas e industriales que aumentan la cantidad de nutrientes en las fuentes de agua por la contaminación con sustancias ricas en fósforo y nitrógeno.

El efecto de las cianobacterias y sus productos tóxicos sobre otros seres vivos es muy complejo y su comprensión es motivo de investigación internacional.

Las cianotoxinas afectan negativamente a la agricultura debido a que plantas terrestres irrigadas con agua contaminada con cianotoxinas muestran una reducción en su crecimiento y bioacumulación de las toxinas.

Las intoxicaciones de animales de interés humano afectan a la economía de sus propietarios.

La presencia de cianobacterias produce coloraciones y olores desagradables esto afecta las actividades recreacionales y tiene efectos negativos en el turismo.

Las intoxicaciones agudas se informan en distintas zonas del mundo debido a la ingestión de agua contaminada con cianotoxinas, sin embargo, las muertes documentadas se deben a la administración de las toxinas por diálisis con agua contaminada.

Los daños a la salud humana debido a la ingestión de cianotoxinas pueden ser atenuados por el uso de algunos medicamentos, sin embargo, se requieren más estudios farmacológicos.

Las cianotoxinas producen intoxicaciones crónicas, en cuyo caso, deben tomarse en cuenta la calidad del agua de consumo humano.

Las técnicas que se emplean para la detección de las cianobacterias y sus toxinas depende de la experiencia del personal de laboratorio y la información, costos, especificidad y sensibilidad requeridas.

Los planes de manejo diseñados por diferentes organismos internacionales y las concentraciones máximas de cianotoxinas permitidas en agua de consumo y agua recreacional deben ser estandarizados.

En las plantas de tratamiento de agua debe ser considerada la efectividad de los distintos métodos debido a la gran variabilidad que existen entre ellos.

Las condiciones climáticas y el inadecuado manejo de desechos hace que México y Costa Rica sean países adecuados para la proliferación de las cianobacterias en sus fuentes de agua.

La experiencia de Costa Rica y México en este campo se limita a la identificación de las especies de cianobacterias y la detección de cianotoxinas en algunas masas de agua.

La mayoría de estudios de identificación de cianobacterias y sus toxinas en masas de agua de Costa Rica y México se realizó en las zonas más populosas y económicamente más estables de ambos países.

La presencia en Costa Rica de cianobacterias toxigénicas fue documentada desde 1994, desde entonces pocos estudios se han realizado en este campo.

El informe de cianobacterias toxigénicas tanto en agua tratada como no tratada en plantas potabilizadoras de Costa Rica revela la ineficiencia del proceso.

La presencia de Microcistina sólo en agua pretratada de una planta de tratamiento de Costa Rica indica que los procesos de potabilización del agua en esa planta son eficientes.

La legislación en Costa Rica considera que las cianobacterias toxigénicas deben estar ausentes en las muestras de agua analizadas.

No existe una normativa sobre la presencia de cianotoxinas en el agua de consumo humano en Costa Rica.

Según la información revisada no existe legislación en México sobre la presencia de cianobacterias especial las productoras de toxinas en fuentes agua.

Aunque en Costa Rica y México utilizan algunos métodos que permiten la detoxificación de cianotoxinas, no son utilizados en todas las plantas de tratamiento.

En Costa Rica y México una gran cantidad de habitantes no disponen de agua para consumo humano y se exponen a las intoxicaciones por cianotoxinas debido al consumo de agua de otras fuentes.

Internacionalmente se realizan esfuerzos e inversiones financieras para investigar el potencial de las cianobacterias como productoras de sustancias bioactivas de interés económico, industrial y médico.

REFERENCIAS

1. Anónimo (2004). *Situación del agua en Costa Rica*. [En línea] <http://www.una.ac.cr/campus/ediciones/otros/agua.pdf> [consulta: 7 Mayo 2007]
2. Arce, F. (2003). *Prevención secundaria de recurrencias de cáncer de hígado asociado a hepatitis B con nuevas drogas quimioterapéuticas*. Tesis para optar por la Maestría en Ciencias Biomédicas Mención en Fisiología Celular. Universidad de Costa Rica. [en línea] <http://www.conicit.go.cr/boletin/boletin17/5FrederickArce.pdf> [consulta: 9 Septiembre 2007]
3. Avendaño, A., Arguedas, C. (2006). Microcistina en plantas de tratamiento de agua para consumo humano en un ambiente tropical: el Área Metropolitana de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical / Internacional Journal of Tropical Biology and Conservation* 54 (3)
4. Babica, P., Bláha, L., Maršálek, B. (2006). Damage of cell membrane and antioxidative system in human erythrocytes incubated with Microcystin-LR in vitro. *Journal of Phycology* 42 (1): 9-20
5. Bartram, J., Carmichael, W., Chorus, I., Jones, G., Skulberg, O. (1999). Introduction. En: Chorus, I. y Bartram, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. [En línea] http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality.pdf [consulta: 01 Noviembre 2006]
6. Baslow, M. (1977). *Marine Pharmacology: A study of toxins and other biologically active substances of marine origin*. New York, USA: 29-38

7. Biondi, N., Piccardi, R., Margheri, M., Rodolfi, M., Smith, G., Tredici, M. (2004). Evaluation of *Nostoc* Strain ATCC 53789 as a Potential Source of Natural Pesticides. *Appl Environ Microbiol* 70 (6): 3313–3320
8. Boaru, D., Dragoş, N., Schirmer, K. (2006). Microcystin-LR induced cellular effects in mammalian and fish primary hepatocyte cultures and cell lines: A comparative study. *Toxicology* 218 (2-3): 134-148
9. Carmichael, W. (1994). The Toxins and Cyanobacteria. *Scientific American* 270 (1): 78-8
10. Comisión Nacional del Agua, CNA (2005). Inventario Nacional. [En línea] <http://www.cna.gob.mx/eCNA/Espaniol/publicaciones/Inventarionacional05/plantaspotabilizadoras.pdf> [consulta: 7 Mayo 2007]
11. Cortran, R., Kumar, V., Collins, T. (1999). *Bases Patológicas de la Enfermedad*. Editorial Saunders (6): 22-24
12. Dawson, R. (1998). The Toxicology of Microcystin. *Toxicon* 36 (7): 953-9
13. De León, L. (2001). Floraciones algales de agua dulce: Cianobacterias, Cianotoxinas. [En línea] <http://www.fcien.edu.uy> [consulta: 6 Agosto 2006]
14. Diehnelt, C., Dugan, N., Peterman, S. Budde, W. (2006). Identification of Microcystin toxins from a strain of *Microcystis aeruginosa* by liquid chromatography introduction into a hybrid linear ion trap-fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer. (Resumen). *Analytical Chemistry*. 78 (2): 501

15. Dixon, R., Al-Nazawi, M., Alderson, G. (2004). Permeabilising effects of sub-inhibitory concentrations of Microcystin on the growth of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters* 230: 167-170
16. Embajada de México en Corea (2007). *Datos básicos de México*. [En línea] www.sre.gob.mx/corea/esp/image/mapa.gif [consulta: 28 Septiembre 2007]
17. Epstein, P. (1997). The Impact of Climate Change on Human Health in New England. *New England Regional Climate Change Impacts Workshop Summary Report*. 3–5.
18. Falconer, I., Bartram, J., Chorus, I., Kuiper-Goodman, T., Utkilen, H., Burch, M., Codd, G. (1999). Safe levels and safe practices. En: Chorus, I. y Bartram, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. [En línea] http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality.pdf [consulta: 01 Noviembre 2006]
19. Food and Agriculture Organization, FAO (2000a). Sistema de Información sobre el Uso del Agua en la Agricultura y el Medio Rural de la FAO: Costa Rica. [En línea] http://www.fao.org/ag/agl/aglw/aquastat/countries/costa_rica/indexesp.stm [consulta: 4 de Mayo 2007]
20. Food and Agriculture Organization, FAO (2000b). Sistema de Información sobre el Uso del Agua en la Agricultura y el Medio Rural de la FAO: México. [En línea] <http://www.fao.org/ag/agl/aglw/aquastat/countries/mexico/indexesp.st> [consulta: 4 de Mayo 2007]
21. Foulds, I., Granacki, A., Xiao, C., Krull, U., Castle, A., Horgen, P. (2002). Quantification of Microcystin-producing cyanobacteria and *Escherichia coli* in water by 5'-nuclease PCR. *Journal of Applied Microbiology*: 825–834

22. García, J., Molina, F., Quiroz, H., Trejo, R. (2003). Especies del Fitoplancton presentes en el lago de Tonatiahua. *Acta Universitaria*. 13 (2): 53-66
23. Gene Therapy Weekly Editors. (2003). Hepatology; Microcystin-LR causes collapse of actin filaments in human hepatocytes. *Gene Therapy Weekly*: 18. [En línea] <http://proquest.umi.com/pqdweb?did=434191451&sid=1&Fmt=3&clientId=30259&RQT=309&VName=PQD> [consulta: 15 Noviembre 2006]
24. Ghadouani, A., Pinel-Alloul, B., Prepas, E. (2003). Effects of experimentally induced cyanobacterial blooms on crustacean zooplankton communities. *Freshwater Biology* 48: 363–381
25. Giani, A., Bird, D., Prairie, Y., Lawrence, J. (2005). Empirical study of cyanobacterial toxicity along a trophic gradient of lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62 (9), 2100-2109
26. Gobierno de Xochimilco-UNESCO. (2005). *Proyecto para la identificación participativa de un plan de rehabilitación integral del patrimonio cultural de Xochimilco*. [en línea] <http://www.unescomexico.org/xochimilco/docs/docs2/docs-proeycto/informe-ambiental.pdf> [consulta: 20 febrero 2007]
27. Gonçalves, E., Dalboni, M., Peres, A., Manfredi, A., Manfredi, S., Azevedo, S., Magalhães, V., Draibe, S., Canziani, M., Cendoroglo, M. (2006). Effect of Microcystin on leukocyte viability and function. (Resumen). *Toxicon* 47 (7): 774-779
28. Guzmán, M. (1997). *Programa de Ordenamiento Ecológico y Territorial del Estado de Jalisco*. [En línea] <http://www.semades.jalisco.gob.mx/moet/SubsistemaNatural/agua/AguaSuperficial/AguaSupP1.htm> [consulta: 20 Marzo 2007]

29. Harada, I, Kondo, F., K., Lawton, L. (1999). Laboratory analysis of cyanotoxins.
En: Chorus, I. y Bartram, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. [En línea]
http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality.pdf [consulta: 01 Noviembre 2006]
30. Hickman, C., Roberts, L., Larson, A. (2002). *Integrated Principles of Zoology*.
España: Editorial McGraw-Hill: 33-34
31. Hrudey, S., Burch, M., Drikas, M., Gregory, R. (1999). Remedial measures.
En: Chorus, I. y Bartram, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. [En línea]
http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality.pdf [consulta: 01 Noviembre 2006]
32. Huang, W., Cheng, B., Cheng, Y. (2006). Adsorption of Microcystin-LR by three types of activated carbon. (Resumen). *Journal of Hazardous Materials*.
33. Inamori, Y., Sugiura, N., Iwami, N., Matsumura, M., Hiroki, M., Watanabe, M., (1998). Degradation of the toxic cyanobacterium *Microcystis viridis* using predaceous micro-animals combined with bacteria. *Phycological Research* 46, 37-44
34. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática México, INEGI. (2007). Estadísticas a propósito del día mundial del agua. [En línea]
<http://www.inegi.gob.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2007/agua07.pdf> [consulta: 7 Mayo 2007]

35. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática de México, INEGI. (2006). *Mapa fisiográfico de México*. [En línea] <http://www.visitingmexico.com.mx/mapas-mexico.php> [consulta: 16 diciembre 2007]
36. Ishii, H., Nishijima, M., Abe, T. (2004). Characterization of degradation process of cyanobacterial hepatotoxins by a Gram-negative aerobic bacterium. *Water Research* 38: 2667-2676
37. Kinross, J. (2007). *Algal Web*. [en línea] <http://www.lifesciences.napier.ac.uk/algalweb/index.htm> [consulta: 12 Abril 2007]
38. Kiviranta, J., Abdel-Hameed, A., Sivonen, K., Niemela, S., Carlberg, G. (2006). Toxicity of cyanobacteria to mosquito larvae - screening of active compounds. (Resumen). *Environmental Toxicology & Water Quality* 8 (1): 63 – 71 [En línea] <http://www.InterScience.wiley.com> [consulta: 16 diciembre 2007]
39. Kreitlow, S., Sabine, M., Lindequist, U. (1999). Cyanobacteria: a potential source of new biologically active substances. *Journal of Biotechnology* 70: 61
40. Kuiper-Goodman, T., Falconer, I., Fitzgerald, J. (1999). Human health aspects. En: Chorus, I. y Bartram, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. [En línea] http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality.pdf [consulta: 01 Noviembre 2006]

41. Kujbida, P., Hatanaka, E., Campa, A., Colepicolo, P., Pinto, E. (2006). Effects of Microcystins on human polymorphonuclear leukocytes. (Resumen). *Biochemical & Biophysical Research Communications* 341 (1): 273-277 [En línea] <http://search.epnet.com/login.aspx?direct=true&db=aph&an=1946368=es> [consulta: 01 Noviembre 2006]
42. Kull, T., Backlund, P., Karsson, K., Meriluoto J. (2004). Oxidation of the Cyanobacterial Hepatotoxin Microcystin-LR by Chlorine Dioxide: Reactions Kinetics, Characterization, and Toxicity of Reaction Products. *Environmental Science and Technology* 38, 6025-6031
43. Lawton, L., Marsalek, B., Padisák, J., Chorus, I. (1999). Determination of cyanobacteria in the laboratory. En: Chorus, I. y Bartram, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management.* [En línea] http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality.pdf [consulta: 01 Noviembre 2006]
44. López, E., Serna, J. (1999). Variación estacional del zooplancton del embalse Ignacio Allende, Guanajuato, México y su relación con el fitoplancton y factores ambientales. *Revista de Biología Tropical.* 47(4)
45. Malbrouck, C., Kestemont, P. (2006). Effects of Microcystins on Fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 72-85
46. Majstereka, I., Sicinskaa, P., Tarczyskac, M., Zalewskic, M., Waltera, Z. (2004). Toxicity of Microcystin from cyanobacteria growing in a source of drinking water. *Comparative Biochemistry and Physiology* 139: 175–179

47. Martin, J., Davis, G. (2001). An updated Clasification of the Crustacea. *Science Series Of the Natural History Museum of Los Angeles* (39): 132
48. Marten, G. (2007). Larvicidal algae. (Resumen). *Journal of the American Mosquito Control Association* 23 (2): 177–183 [En línea] [http://www.bioone.org/perlserv/?request=get-toc&issn=875671X& volume](http://www.bioone.org/perlserv/?request=get-toc&issn=875671X&volume) [consulta: 16 diciembre 2007]
49. Medical Devices & Surgical Technology Week editors. (2005). Environmental Health; Cyanobacterial toxin examined, degradation and detoxification described. *Medical Devices & Surgical Technology Week*: 199
50. Medical Letter on the CDC and FDA Editors (2005). Diagnostics; Simple colorimetric method detects exposure to Microcystins. *Medical Letter on the CDC and FDA*, 48
51. Metcalf, J., Hyenstrand, P., Baettie, K., Codd, G. (2000). Effects of physicochemical variables and cyanobacterial extracts on the immunoassay of Microcystin-LR by two ELISA kits. *Journal of Applied Microbiology*, 532-538
52. Min-Kim, Y., Wood-Oh, S. Young-Jeong, S., Jin-Pyo, D. Yul-Choi, E. (2003). Development of an ultrarapid one-step fluorescence immunochromatographic assay system for the quantification of Microcystins. (Resumen). *Enviromental Science and Technology*. 37 (9): 1899
53. Ministerio de Salud. (2004). *Compendio de Reglamentos* (2): 5-6. [En línea] <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd29/compendiovol2.pdf> [consulta: 01 Noviembre 2006]

54. Monserrat, J., Pinho, G., Yunes, J. (2003). Toxicological Effects of Hepatotoxins (Microcystins) on Aquatic Organisms. *Comments on Toxicology* 9: 89–101
55. Muñiz, P., Allis, O., Healy, B., Lehane, M., Ní Shuilleabháin, A., Furey A., James, K. (2004). Determination of toxic cyclic heptapeptides by liquid chromatography with detection using ultra-violet, protein phosphatase assay and tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 55: 1395-1402
56. Murray Regional Algal Coordinating Committee, MRACC. (2002). *Blue-green algal bloom management*. [en línea] www.murraybluegreenalgae.com/ [consulta: 2 Marzo 2007]
57. Oberholster, P., Botha, A., Grobbelaar, J. (2004). *Microcystis aeruginosa*: source of toxic Microcystins in drinking water. *African Journal of Biotechnology* 3 (3), 159-168
58. Obesity, Fitness & Wellness Week editors. (2005). Apoptosis; Microcystin-LR examined, effect on p53, Bcl-2 and Bax expression defined. *Obesity, Fitness & Wellness Week: 68* [En línea] <http://proquest.umi.com/pqdweb?did=896964731&sid=1&Fmt=3&clientId=30259&RQT=309&VName=PQD> [consulta: 15 Noviembre 2006]
59. Oh, H., Lee, S., Kim, J., Kim, H., Yoon, B. (2001). Seasonal Variation and Indirect Monitoring of Microcystin Concentration in Daechung Reservoir, Korea. *Applied and Environmental Microbiology*: 1484-1489
60. Organización Mundial de la Salud, OMS. (1984). *Aquatic (marine and freshwater) biotoxins*. Geneva: 70

61. Organización Panamericana de la Salud, OPS, Ministerio de Salud (2003). *Calidad del agua potable en Costa Rica: Situación actual y perspectivas*. [En línea] <http://www.cor.opsoms.org/TextoCompleto/documentos/Calidad%20agua%20potable.pdf> [consulta: 7 Mayo 2007]
62. Organización Panamericana de la Salud, OPS, Organización Mundial de la Salud, OMS, 2007. [En línea] Evaluación de mediados de la década sobre agua potable <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacg/e/evalua.html> [consulta: 7 Mayo 2007]
63. Ostensvik, O., Skulberg, O., Underdal, B., Hormazabal, V. (1998). Antibacterial properties of extract from selected planktonic freshwater cyanobacteria: A comparative study of bacterial bioassays. *Journal of Applied Microbiology* 84: 1117-112
64. Oudra, B., Loudiki, M., Sbiyyaa, B., Sabour, B., Martins, R., Amorim, A., Vasconcelos, V. (2002). Detection and variation of Microcystin contents of *Microcystis* blooms in eutrophic Lalla Takerkoust Lake, Morocco. *Lakes & Reservoirs: Research and Management*, 35–44
65. Patronato pro Valle de Bravo. (2005). *Lago y cuenca hidrológica*. [En línea] www.provalle.org [consulta: 15 diciembre 2006]
66. Peinador, M. (1994). Cianobacterias potencialmente tóxicas en plantas de tratamiento de agua de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 42: 5-8
67. Peinador, M. (1999). Las cianobacterias como indicadores de contaminación orgánica. *Revista de Biología Tropical* 47 (3): 381-391

68. Pouria, S., De Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R., Barreto, V., Ward, C., Preiser, W., Poon, K., Neild, G., Codd, G. (1998). Fatal Microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *Lancet* 352 (9121): 21
69. Prescott, L., Harley J., Klein, D. (2002). *Microbiología*. España: Editorial McGraw Hill: 509-515
70. Ramírez, P., Martínez, E., Martínez, M. Eslava, C. (2005). Cianobacterias, microorganismos del fitoplancton, y su relación con la salud humana. [En línea] <http://www.ine.gob.mx/publicaciones/libros/440.html> [consulta: 28 Diciembre 2006]
71. Rapala, J., Sivonen, K., Lyra, C., Niemelä, S. (1997). Variation of Microcystins, Cyanobacterial Hepatotoxins, in *Anabaena* spp. As a Function or growth Stimuli. *Applied and Environmental Microbiology* 2206-2212
72. Red Centroamericana de Información sobre Desastres y Salud (CRID). (2006a). Algas y cianobacterias en aguas costeras y estuarias. [En línea] http://www.crid.or.cr/crid/CD_Agua/pdf/spa/doc14617/doc14617-6.pdf [consulta: 12 Enero 2007]
73. Red Centroamericana de Información sobre Desastres y Salud (CRID). (2006b). Algas y cianobacterias en aguas dulces. [En línea] http://www.crid.or.cr/crid/CD_Agua/pdf/spa/doc14617/doc14617-1.pdf [consulta: 12 Enero 2007]
74. Rodríguez, E., Picado, R., Sequeira, W. (2003). Evaluación y plan de manejo de las áreas donde se ubican las fuentes de agua potable y la red de conducción de los acueductos municipales (Ciudades de Cachí y Paraíso) San José, Costa Rica: 152, 158.

75. Rohrlack, T. Henning, M. Kohl, J. (1999). Mechanism of inhibitory effects of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in *Daphnia galeata*'s ingestion rate. *Journal of Plankton Research*. 21(8): 1489-1500
76. Romanowska-Duda, Z., Mankiewicz, J., Tarczynska, M., Walter, Z., Zalewski, M. (2002). The Effect of Toxic Cyanobacteria (Blue-Green Algae) on Water Plants and Animal Cells. *Polish Journal of Environmental Studies* 11 (5), 561-566
77. Sánchez, V., Coto, J. (2003). Potabilización de agua: la situación y experiencia en Costa Rica. [En línea] <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd57/costarica.pdf> [consulta: 7 Mayo 2007]
78. Schmitta, H., Haapakangasa, H., van Beelen, P. (2005). Effects of antibiotics on soil microorganisms: time and nutrients influence pollution-induced community tolerance. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1882–1892
79. Schneegurt, M. (1997). *A Webserver for Cyanobacterial Research*. [En línea] <http://www.cyanosite.bio.purdue.edu/index.html> [consulta: 28 diciembre 2006]
80. Sicińska, P. Bukowska, B. Michałowicz, J. Duda, W. (2006). Damage of cell membrane and antioxidative system in human erythrocytes incubated with Microcystin-LR in vitro. (Resumen). *Toxicon* 47 (4): 387-397
81. Sivonen, K., Jones, G. (1999). Cyanobacterial toxins. En: Chorus, I. y Bartram, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. [En línea] http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality.pdf [consulta: 01 Noviembre 2006]

82. Skoog, D., West, D., Holler, F., Crouch, S. (2001). *Química Analítica*. España: Editorial McGraw-Hill.
83. Svrcek, C., Smith, D. (2004). Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment options: A review. *Journal of Environmental Engineering and Science* 3: 155-186
84. Thiery, I., Rippka, N., Marsac, T. (1991). Selection of cyanobacteria isolated from mosquito breeding sites as a potential food source for mosquito larvae. (Resumen). *Appl Environ Microbiol* 57 (5): 1354–1359
85. Vargas, M. y Freer, E. (2003). Floraciones algales nocivas en la costa pacífica de Costa Rica: Toxicología y sus efectos en el ecosistema y salud pública. *Acta Médica Costarricense* 45 (4) [En línea] http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003477442004000500016&lng=es&nrm=iso [consulta: 15 Diciembre 2006]
86. Vargas, M. y Freer, E. (2004). Proliferaciones algales nocivas de cianobacterias (Oscillatoriaceae) y dinoflagelados (Gymnodiniaceae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 52 (11): 121-125 [En línea] http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003477442004000500016&lng=es&nrm=iso [consulta: 15 Diciembre 2006]
87. Vázquez, G. (2001). Diversidad y distribución de las comunidades de fitoplancton y peces de ríos y lagunas del volcán San Martín de la reserva de la biósfera Los Tuxtlas. [en línea] <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfS022.pdf> [consulta: 2 Marzo 2007]
88. Vergara, D. (2002). La contaminación de aguas y la proliferación de organismos productores de toxinas. *Natura* (10): 44-49

89. Waco (1997). Microorganisms under scrutiny. *Nature*: 387, 739
90. Ward, C. Codd, G. (1999). Comparative toxicity of four Microcystins of different hydrophobicities to the protozoan, *Tetrahymena pyriformis*. *Journal of Applied Microbiology* 86: 74-882
91. Wikipedia. (2007). *División política de México*. [en línea] http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ee/MX-DF_Divisi%C3%B3n_pol%C3%ADtica.png [consulta: 2 Marzo 2007]
92. Zainuddin, E., Mundt , S., Wegner, U., Mentel, R. (2002). Cyanobacteria a potential source of antiviral substances against influenza virus. *Med Microbiol Immunol* 191: 181–182
93. Zurawell, R. Chen, H. Burke, J. Prepas, E. (2005). Hepatotoxic Cyanobacteria: A Review of the biological importance of Microcystins in Freshwater environments. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 8: 1–37

ANEXO 1: ESTRUCTURA Y HEPATOTOXICIDAD DE MICROCISTINAS

Cuadro 1: Relación entre la estructura y hepatotoxicidad de Microcistinas
(Ramírez *et al.* 2005)

Grupo estructural	Nombre de la Microcistina	Dosis Letal 50 (Microgramo/ kilogramo intraperitoneal en ratón)
L-aminoácidos (R1, R2)	Microcistina-LR, Microcistina-YR, Microcistina-LA	<100
	Microcistina-WR	100-400
	Microcistina-RR, Microcistina-(O)R	400-800
Grupos metil en Mdha y/o b-Me- Asp	3-desmetilmicrocistina-LR (-RR)	100-400
	7-desmetilmicrocistina-LR (-RR)	100-400
	3,7-didesmetilmicrocistina-LR	100-400
ADDA	O-demetil-ADDA-Microcistina-LR	<100
	O-acetil-O-demetil-ADDA-Microcistina-LR	<100
	6(Z)-ADDA Microcistina-LR (RR)	>800
Ester	D-Glu(C ₃ H ₇ O) éster Microcistina-LR	>800
	D-Glu (CH ₃ O) éster Microcistina-LR	>800
Mdha	Dihidromicrocistina-LR	100-400
	Microcistina-LR-GSH	400-800

ANEXO 2: DIVISIÓN POLÍTICA DE COSTA RICA Y MÉXICO

Figura 1: División política de la Republica de México (Embajada de México en Corea , 2007).

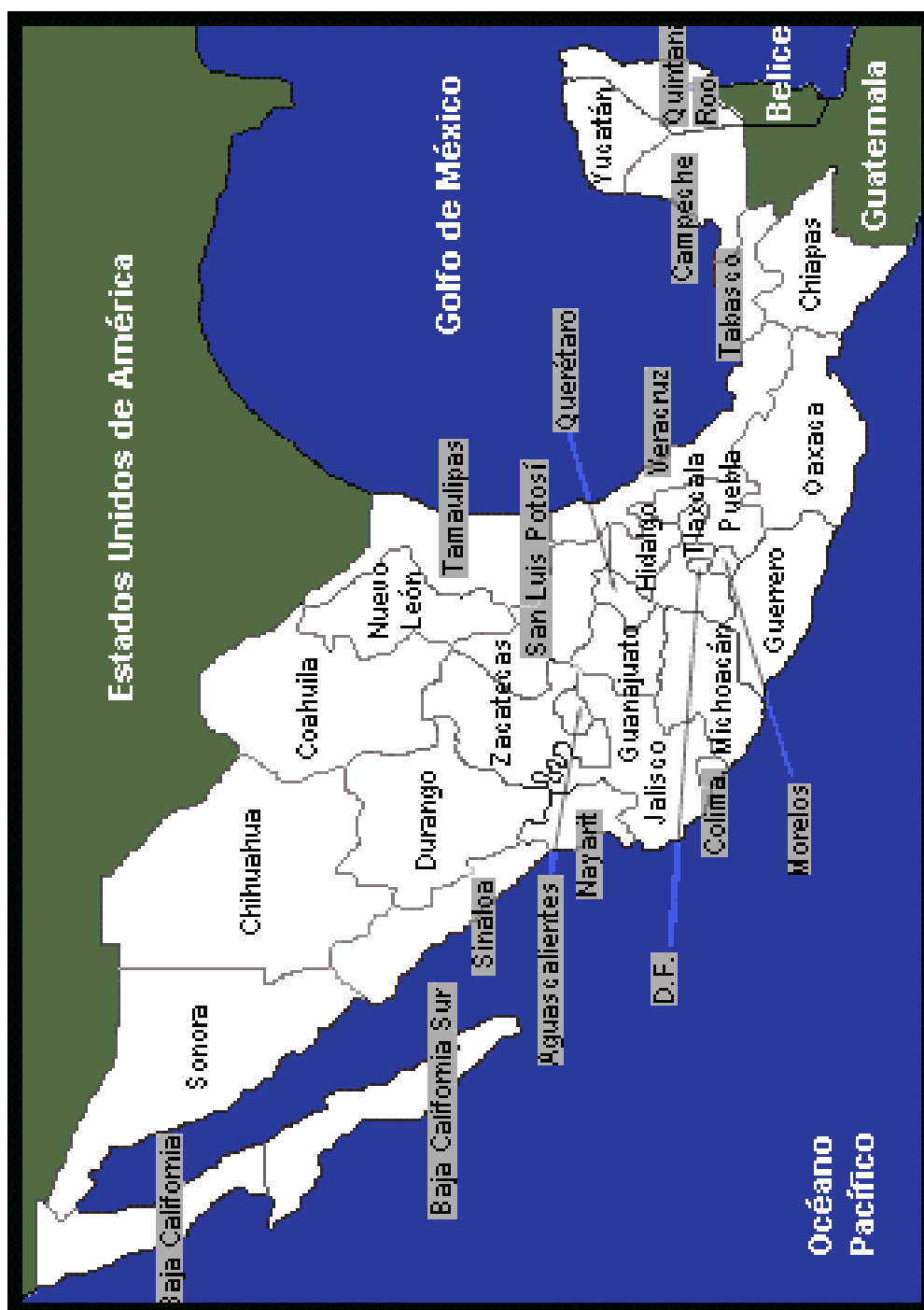


Figura 2: Mapa fisiográfico de la Republica de México
 (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática de México, INEGI, 2006).

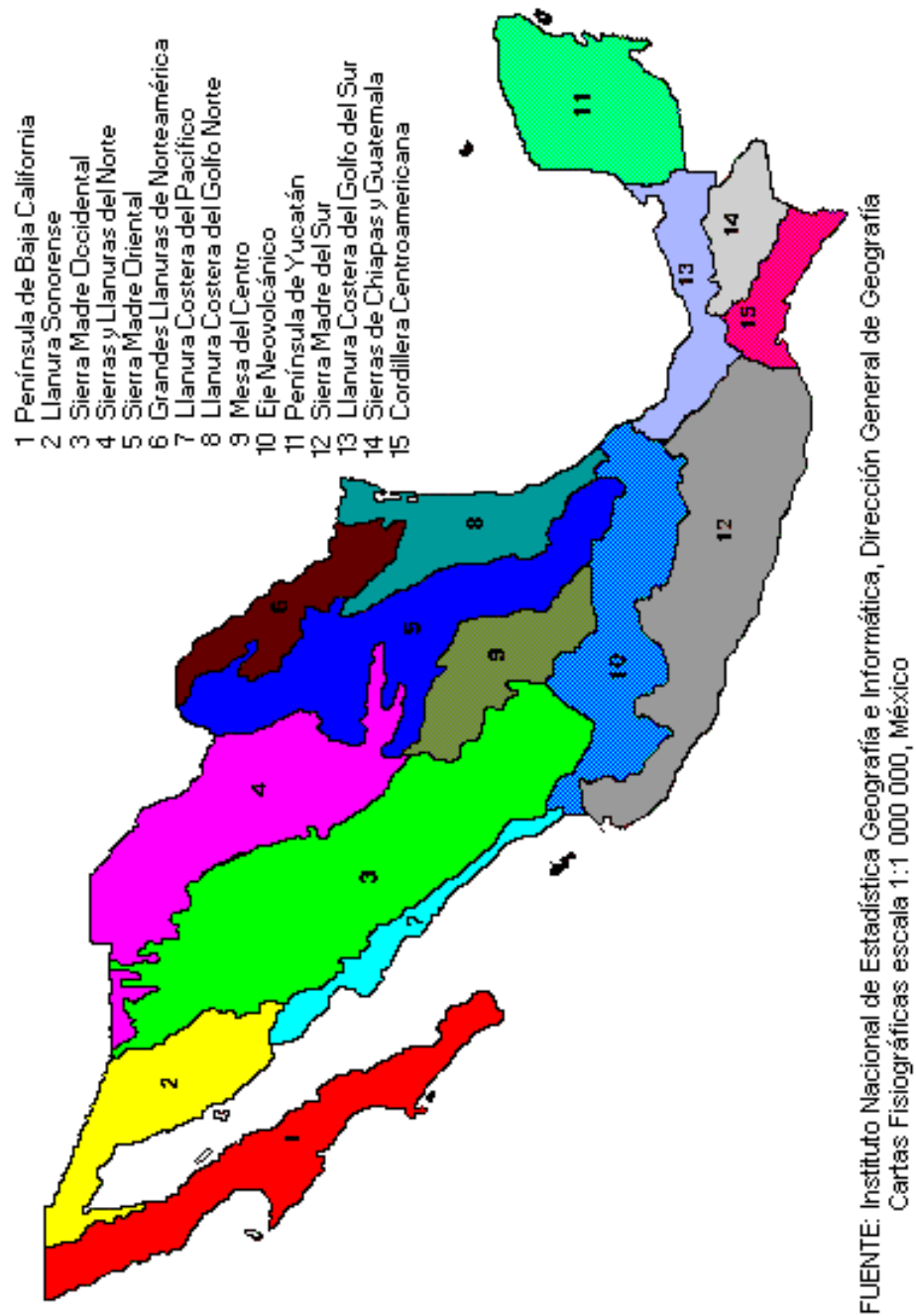


Figura 3: Ubicación de localidad de Xochimilco, Distrito Federal de México (Wikipedia, 2007)



Figura 4: División política de la Republica de Costa Rica
(Wikipedia, 2007)



Nota: 1: Alajuela, 2: Cartago, 3: Guanacaste, 4: Heredia, 5: Limón, 6: Puntarenas, 7: San José (Capital)

