

INTOXICACIÓN SECUNDARIA POR METALDEHÍDO EN UN TEJÓN (*MELES MELES*): ESTUDIO EXPERIMENTAL CON *HELIX ASPERSA*

Secondary metaldehyde poisoning in a badger (*Meles meles*): Experimental study with *Helix aspersa*

Panales, P.¹; Navas, I.^{1*}; María-Mojica, P.^{1,2}; Fernández, A.³; Nieto, M.B.¹; García-Fernández, A.J.¹

1. Servicio de Toxicología y Veterinaria Forense, Facultad de Veterinaria, Campus de Espinardo, Universidad de Murcia, 30100, Espinardo, Murcia.
2. Centro de Recuperación de Fauna Silvestre “Santa Faz”, Alicante, Servicio de Vida Silvestre, Generalitat Valenciana.
3. SEPRONA, 5ª Zona/Comandancia de la Guardia Civil, Plaza Pintor Inocencio Medina Vera 5, 30007, Murcia.

***Autora de correspondencia:** Isabel María Navas Ruíz. imnr@um.es

Tipo de artículo: Trabajo Fin de Grado (Veterinaria)

Enviado: 02/08/2023

Aceptado: 27/09/2023

RESUMEN

El metaldehído es un compuesto con actividad molusquicida, ampliamente utilizado para el control de caracoles y babosas, aunque su uso inadecuado puede causar intoxicaciones en otras especies no diana. Ante la muerte de un tejón (*Meles meles*), se barajó la hipótesis de una posible intoxicación secundaria por ingestión de caracoles muertos por el plaguicida. El presente trabajo tenía por objetivo diseñar un estudio experimental que permitiera arrojar luz sobre esta cuestión en la investigación de la causa de muerte del tejón.

Se diseñaron dos experimentos con la especie *Helix aspersa*, uno para evaluar si la letalidad es dosis-dependiente y otro para evaluar el tiempo de latencia desde el tratamiento molusquicida. En el experimento de dosis se hicieron cinco grupos de caracoles, denominados “Superior”, “Alta”, “Media”, “Baja” e “Inferior”, a

los que se les administró 400, 200, 133.3, 66.7 y 40 μg de metaldehído por caracol, respectivamente. Tras el experimento, los análisis de metaldehído presente por caracol en cada uno de los grupos fue el siguiente: “Superior” 137.4 μg , “Alta” 69.93 μg , “Media” 47.24 μg , “Baja” 31.72 μg e “Inferior” 6.05 μg .

En el ensayo de tiempos se aplicaron 400 μg por caracol y se sacrificaron los caracoles de cada lote a los siguientes tiempos: T0, T60, T120 y 240 minutos. Los del último lote murieron a los 270 minutos (antes del sacrificio). Las cantidades medias por caracol de cada lote fueron las siguientes: T_{0min} 352.68 μg , T_{60min} 277.41 μg , T_{120min} 206.18 μg , T_{240min} 164.8 μg y T_{270min} 90.2 μg de metaldehído.

Tras los cálculos basados en la dosis letal media de ratón se estimó que, a pesar de que se encontraran restos de metaldehído en el organismo de los caracoles, es improbable que se pueda dar una intoxicación secundaria en un tejón por el consumo de caracoles intoxicados con metaldehído.

Palabras clave: Molusquicida, caracoles, envenenamiento.

ABSTRACT

Metaldehyde is a compound with molluscicidal activity, widely used to control snails and slugs, although its inappropriate use can cause poisoning in other species, which are not the target ones. Faced with the death of a badger (*Meles meles*), the hypothesis of a possible secondary poisoning by ingestion of snails killed by the pesticide was considered. The objective of this work was to design an experimental study that would bring light on this question in the investigation of the cause of death of the badger.

Two experiments were designed with the species *Helix aspersa*, one to evaluate if the lethality is dose-dependent and another to evaluate the latency time from the molluscicidal treatment. In the dose experiment, five groups of snails were made, called “Superior”, “High”, “Medium”, “Low” and “Lower”, to which 400, 200, 133.3, 66.7 and 40 μg of metaldehyde per snail, respectively. After the experiment, the analysis of metaldehyde present per snail in each of the groups was as follows: “Higher” 137.4 μg , “High” 69.93 μg , “Medium” 47.24 μg , “Low” 31.72 μg and “Lower” 6.05 μg .

In the time test, 400 μg per snail was applied and the snails of each batch were sacrificed at the following times: T0, T60, T120 and 240 minutes. Those of the last batch died at 270 minutes (before sacrifice). The mean amounts per snail of each lot were the following: T0min 352.68 μg , T60min 277.41 μg , T120min 206.18 μg , T240min 164.8 μg and T270min 90.2 μg of metaldehyde.

After calculations based on the mean lethal dose of mice, it was estimated that, despite the fact that traces of metaldehyde were found in the organism of the snails, it is unlikely that secondary poisoning could occur in a badger due to the consumption of snails intoxicated with metaldehyde.

Keywords: Molluscicide, snails, poisoning.

INTRODUCCIÓN

Las intoxicaciones se dan con relativa frecuencia en todos los animales, tanto domésticos, como de abasto o salvajes, ya sea de forma accidental o intencionada (Studdert, 1985; Berny, 2007; Berny et al., 2010). Los pesticidas pueden clasificarse según el tipo de organismo diana (ej. fungicidas, raticidas, molusquicidas, etc), el grupo químico al que pertenecen (organofosforados, carbamatos, etc) o según su toxicidad (Díaz & Aguilar, 2018). Debido a su uso habitual tanto en la agricultura como a nivel

doméstico, es relativamente frecuente que los animales tengan acceso a ellos, intoxicándose de forma accidental; requiriendo en esos casos de actuación veterinaria inmediata (en función del tipo y la cantidad ingerida) (Daza & Ayuso, 2004; De Roma et al., 2017).

Este trabajo se centra en los molusquicidas, particularmente, en el metaldehído. Los molusquicidas son pesticidas, generalmente empleados en el ámbito doméstico, que se utilizan para el control de babosas y caracoles en jardines y cultivos (PubChem). Existen varios tipos, entre los que hay que destacar el metaldehído y el

metiocarb, siendo éstos las principales causas de intoxicaciones por molusquicidas recogidas por el CNITV (Centro Nacional de Información Toxicológica Veterinaria, Francia) en 2003 (Barbier, 2005). La importancia del metaldehído con respecto a otros molusquicidas se debe a que es el principal agente causal de las intoxicaciones por este tipo de pesticidas (Caloni et al., 2016; Bertero et al., 2020a).

Una intoxicación secundaria es la ingestión de organismos contaminados por la ingestión de una sustancia tóxica. Un ejemplo de esta situación son los rodenticidas anticoagulantes, ya que su especie diana son roedores como las ratas o los ratones, sin embargo, estos pueden llegar a afectar a otras especies no diana como es el caso de las aves rapaces o animales de compañía como los gatos (depredadores). Además de afectar a depredadores, también puede afectar a carroñeros, como el tejón o los buitres. Esto hace que los rodenticidas anticoagulantes estén presentes a lo largo de la cadena trófica, causando intoxicaciones, muchas veces fatales en especies no diana, y que pueden estar en peligro de extinción y ser importantes para el ecosistema (Joerman, 1998).

Metaldehído: características y uso

El metaldehído (CAS: 108-62-3) es un tetrámero de acetaldehído (Figura 1) usado para el control de plagas de caracoles y babosas, aunque también se usa como combustible formando parte de la composición de las pastillas de encendido de fuegos. Fue descubierto por von Liebig en 1835 y un siglo después se propuso su uso como molusquicida por Gimingham y Newton en 1937. Se fabrica haciendo reaccionar acetaldehído con varios ácidos a baja temperatura (Rumbeiha, 2014).

El metaldehído es utilizado en jardines con gran variedad de cultivos vegetales o bien ornamentales y está disponible en formulación tanto líquida como sólida, con concentraciones sobre el peso o volumen del producto comercial

que varían desde 1,8 a 8% en la forma sólida (pellet) y hasta el 20% en el caso de la forma líquida. Algunas formulaciones de metaldehído pueden presentar otros compuestos o elementos tóxicos, como el arsénico o el etilenglicol. Por lo tanto, ante un caso de muerte se recomienda un análisis forense completo del producto para evaluar el riesgo asociado con su ingestión (Rumbeiha, 2014).

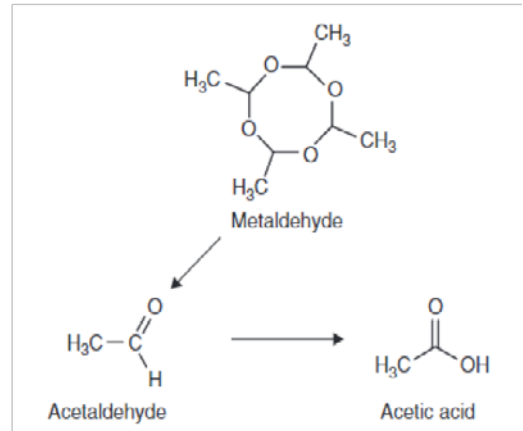


Figura 1. Estructura química del metaldehído y sus dos metabolitos principales (acetaldehído y ácido acético) (Tomado de Gupta, 2007).

El metaldehído se utiliza para el control de caracoles en cultivos de semillas, césped, plantas ornamentales, bayas, cítricos, hortalizas y otros cultivos, también es utilizado para síntesis en la industria química, como agente de olor y como pesticida. Por otra parte, es un combustible sólido para calentadores pequeños (reemplazo del alcohol) e iniciador del fuego (PubChem).

Toxicocinética del metaldehído

El metaldehído y sus metabolitos se absorben rápidamente en el tracto gastrointestinal (GI), aunque también puede ser absorbido por los pulmones y a través de la piel. Después de 1-3 horas de su ingestión vía oral se alcanzan

concentraciones máximas en la circulación y tejidos. Las secreciones de metaldehído regresan al tracto GI porque queda atrapado en la circulación entero-hepática (Knowles, 1991).

Se han detectado residuos de metaldehído en el cerebro, sangre e hígado de ratones (Puschner, 2006; Gupta, 2007). El metaldehído sufre una reacción de hidrólisis a pH ácido en el estómago formando acetaldehído como principal producto de degradación, luego, el acetaldehído se oxida a ácido acético (Figura 1) (Gupta, 2007).

Se encontró metaldehído, pero no acetaldehído, en el plasma y la orina de perros que recibieron una sola dosis oral de 600 mg/kg peso corporal (Booze & Oehme, 1986;). Se informaron hallazgos similares en un caso humano (Moody & Inglis, 1992). El metaldehído se puede excretar en la orina y heces (Tardieu et al., 1996). Se encuentra que la excreción urinaria es menos del 1% de la dosis oral (600 mg/kg, p.o.) administrada en perros (Booze & Oehme, 1986). Su vida media de eliminación es de 72 h (Olson, 1999).

Mecanismo de acción tóxica del metaldehído

En caracoles y babosas el mecanismo de acción es diferente que en mamíferos y aves. El metaldehído daña de forma irreversible las células productoras de moco de los caracoles y babosas y provocan su muerte, puesto que la vida de estos organismos depende de dichas células (Rumbeilha, 2014).

En mamíferos y aves, la toxicidad del metaldehído se caracteriza por signos en el SNC, acidosis metabólica y alcalosis respiratoria; pero aún se desconocen los mecanismos de acción exactos (Knowles, 1991). El mecanismo de acción propuesto es que el acetaldehído, que se forma a partir del metaldehído a un pH bajo en el estómago, es responsable de los efectos tóxicos observados con la exposición al metaldehído (Knowles, 1991). Probablemente también se formen otros productos tóxicos. El

metaldehído y su metabolito acetaldehído pueden atravesar la barrera hematoencefálica, de ahí su efecto neurotóxico en animales (Gupta, 2007). El acetaldehído actúa como factor de liberación de 5-hidroxitriptamina (5-HT) y norepinefrina. Los signos en el SNC de intoxicación por metaldehído pueden ser debidos a la disminución de las concentraciones cerebrales de ácido gamma amino butírico (GABA), norepinefrina y 5-HT, y aumento de la actividad de la monoamino oxidasa (MAO) (Homeida & Cook, 1982a; 1982b; Dolder, 2003). El acetaldehído inhibe competitivamente la oxidación de las aminas biógenas, que a su vez disminuye el ácido 5-hidroxiindolacético, un metabolito de 5-HT, al inhibir competitivamente la oxidación de 5-HT. El acetaldehído también aumenta la actividad de la MAO y disminuye los niveles centrales de 5-HT (Booze & Oehme, 1986). La vieja teoría de que la toxicidad del metaldehído es atribuible a su metabolito, el acetaldehído es cuestionable, puesto que el acetaldehído no estaba presente en plasma u orina de perros, ni suero de ratas a los que se les había administrado metaldehído (Shintani et al., 1999; Puschner, 2006). El metaldehído también afecta al equilibrio ácido base y a los electrolitos, lo cual puede causar acidosis metabólica, asociada frecuentemente con depresión del sistema nervioso central e hiperpnea (Puschner, 2006).

Toxicidad del metaldehído

El metaldehído es moderadamente tóxico por ingestión. La dosis letal media (DL50) varía desde 100 a 1000 mg/kg de peso vivo en las diferentes especies animales (Saad et al., 2017; Bertero et al., 2020a).

La intoxicación por metaldehído es mayormente aguda (Rumbeilha, 2014; Bernardino-Hernández et al., 2019), aunque experimentalmente estudios han reflejado que el metaldehído es tóxico ante una exposición crónica. En machos esta exposición crónica causa atrofia testicular y atrofia de la próstata (Verschuuren et

al., 1975; Rumbeiha, 2014). No se sabe si estos efectos son debidos a una alteración endocrina o no. También hay cierta evidencia de una carcinogenicidad potencial basada en la presencia de tumores benignos en ratas hembra y ratones de ambos sexos (USEPA, 2006).

Con respecto a su capacidad de afectar negativamente a la reproducción, estudios experimentales en ratas y conejos no han encontrado ninguno efecto sobre el desarrollo del feto (Verschuuren et al., 1975; Rumbeiha 2014). Las exposiciones más altas en ratas y conejos fueron de 150 y 80 mg/kg, respectivamente. Aunque parece que las ratas gestantes experimentaron una mayor toxicidad al metaldehído que las ratas que no estaba gestantes. En un estudio multigeneracional con ratas como modelo la supervivencia de la descendencia disminuyó, pero sólo con dosis muy altas. La exposición crónica al metaldehído causa atrofia de los testículos y de la próstata en los roedores macho. Según estudios recientes el metaldehído no es teratogénico (Rumbeiha, 2014; Gupta, 2019).

La evaluación de la carcinogenicidad del metaldehído se puede resumir en la observación de pequeños aumentos de adenomas hepatocelulares en ratones y ratas, aunque hay una falta de datos sobre su mutagenicidad (USEPA, 2006; Rumbeiha, 2014).

Respecto a su capacidad ecotóxica, el metaldehído se considera tóxico para los mamíferos terrestres y aves (Rumbeiha, 2014; Saad et al.,

2017). Los artrópodos y gusanos de tierra parece que no se ven afectados por el metaldehído (Edwards et al., 2009; Rumbeiha 2014). Hay información contradictoria sobre la toxicidad en organismos acuáticos, hay estudios que indican que estos no se ven afectados mientras que otros dicen que la concentración letal media a las 96 h para la mojarra azul es de 10 ppb y para la trucha es de 62 ppb (Bieri, 2003; Ismail et al., 2018). En aves la dosis letal de metaldehído es 500 mg/kg de peso vivo (Rumbeiha, 2014; Saad et al., 2017).

En la Tabla 1 se detallan datos de dosis letal media (DL50) vía oral en diferentes especies de mamíferos.

Cuadro clínico de la intoxicación por metaldehído

Los signos de intoxicación por metaldehído pueden comenzar después de unos minutos o hasta tres horas después de la ingestión. Según un estudio retrospectivo de tres años (2014-2016) llevado a cabo sobre casos de envenenamientos de animales de compañía en Italia, el 56% de los casos analizados (28/50) desarrollaron síntomas clínicos (se desconocía el resultado de los 22 casos restantes). Los síntomas más comunes informados en estos casos fueron: convulsiones (30 %), temblores (24 %), sialorrea (22 %), vómitos (18 %) y falta de coordinación (16 %) (De Roma et al., 2017).

Tabla 1. DL50, por vía oral, del metaldehído en diferentes especies de mamíferos.

Especies	DL50 oral (mg/kg)	Referencia
Rata	227-690	Von Burg & Stout (1991)
Ratón	200	Von Burg & Stout (1991)
Conejo	290-1,250	Von Burg & Stout (1991)
Gato	207	Von Burg & Stout (1991)
Perro	600	Von Burg & Stout (1991)
Bovino	400-500	Castle et al. (2017)
Caballos	300-400	Castle et al. (2017)

Otros autores además de los signos clínicos mostrados describen hipertermia, disnea, fasciculaciones, acidosis metabólica intensa y pérdida de consciencia (Daza & Ayuso, 2004).

Diagnóstico de la intoxicación por metaldehído

El diagnóstico de ingestión de metaldehído es usualmente establecido basándose en los signos clínicos, con o sin conocimiento de la exposición (Daza & Ayuso, 2004; García-Fernández et al., 2004). El cebo, el contenido estomacal, la orina, el plasma, el hígado pueden ser analizados para detectar presencia de acetaldehído (Roder, 2002). Hasta su análisis las muestras deben conservarse en refrigeración. El diagnóstico diferencial debe ser establecido con otros compuestos tóxicos que produzcan síndromes neurotóxicos con convulsiones, tales como la estricnina, escilirósido, organoclorados, etc (García-Fernández et al., 2004).

Tratamiento de la intoxicación por metaldehído

En el caso de ingestión de metaldehído es fácil de observar gránulos aún sin degradar en todo el tracto gastrointestinal por lo que es recomendable aplicar todo tipo de medidas de eliminación del producto del tracto gastrointestinal, incluyendo la aplicación de enemas de agua templada hasta que la solución de retorno sea clara. La eliminación agresiva de metaldehído aumenta las probabilidades de supervivencia y disminuye la duración del tratamiento. El pronóstico es bueno en animales que sobreviven las primeras 24 h post-exposición y que reciben tratamiento lo antes posible tras la misma. Después de que los signos agudos han sido controlados, el tratamiento persigue minimizar todo lo posible el daño hepático. Los barbitúricos como el pentobarbital compiten con una enzima que participa en la metabolización del acetaldehído, por lo que la opción es recomendable ya que disminuirá el riesgo de acidosis. El fenobarbital puede ser usado como alternativa

ya que favorece la metabolización del metaldehído al inducir enzimas del sistema citocromo P450 (García-Fernández et al., 2004; Puschner, 2006). Algunos productos comerciales han sido formulados con carbamatos combinados con metaldehído dando lugar a una intoxicación (Puschner, 2006).

Casística de intoxicación por metaldehído en animales domésticos

En la Tabla 2 se recogen datos de prevalencia de intoxicación por metaldehído en animales de compañía reportados en estudios publicados en la Unión Europea.

En el caso de los équidos, aunque no es tan común la intoxicación por metaldehído, se han informado algunos casos de intoxicación por esta sustancia en equinos (Egyed & Brisk, 1966; Miller, 1972; Harris, 1975; Sutherland, 1983). Un caballo de 385,5 kg desarrolló signos de toxicidad, pero sobrevivió después de la ingestión de un estimado de 38 mg de metaldehído/kg (aunque la dosis puede haber sido sobreestimada) (Miller, 1972). Una dosis fatal en dos caballos se estimó en 100 mg de metaldehído/kg. En un estudio experimental, un caballo que recibió 100 mg/kg desarrolló excitación neuromuscular y murió dentro de las 6,5 horas (Harris, 1975). Un burro anciano se enfermó 15 minutos después de la ingestión de 360 mg/kg de metaldehído con signos de cólico leve, seguido de temblor, sudoración y diarrea. A las 8 horas hubo temblor en todos los músculos y más tarde tuvo incoordinación con movimientos rápidos y superficiales. respiración y pulso débil. Este se deterioró y murió 15 horas después de la ingestión (Egyed & Brisk, 1966; Bates, 2017).

En el caso de los rumiantes, se han informado casos de intoxicación por metaldehído en ganado bovino, ovejas y cabras (Egyed & Brisk, 1966; Simmons, 1974; Stubbings et al., 1976; Williams, 1976; Longbottom & Gordon, 1979; Daniel et al., 2009). La ingestión de un esti-

Tabla 2. Intoxicaciones por metaldehído en animales de compañía (perros y gatos) en diferentes países europeos adaptada de los estudios referenciados en dicha tabla.

Periodo	Lugar	Metaldehído (%)	Perros (%)	Gatos (%)	Referencia
1983-1984	Australia	57	96	4	Studdert, 1985
1997-2006	Bélgica	0.4	39	33	Berny et. al., 2010
2001-2002	España	4	56	18	Pérez-López et al., 2004
2003	Francia	63	95	5	Bertero et al., 2020b
1999-2004	Austria	22.3	47.2	34.1	Wang et al., 2007
2005-2014	Italia	6.63	68	27	Bertero et al., 2020a
2011-2013	Italia	11.5	94.3	3	Caloni et al., 2016
2014-2020	Portugal	3	83	13	Grilo et al., 2021
2012-2015	Alemania	18.1	22.9	14.3	McFarland et al., 2017
2017-2019	Italia	6.6	100	-	Bertero et al., 2020c

mado de 0,9 kg de un cebo al 6% resultó en la muerte de siete terneros con dos recuperándose de una manada de 25 (Stubbings et al, 1976). Incluso una pequeña cantidad puede ser fatal en los terneros. En un caso, un ternero lamió un recipiente vacío que previamente había contenido gránulos de metaldehído y murió a las 2 horas (Stubbings et al., 1976). Una dosis de 780 mg/kg (300 g de un cebo al 6%) administrada por vía oral en forma de lavado a una cabra adulta dio como resultado signos clínicos en 20 minutos con hipersalivación, convulsiones, temblor muscular, debilidad y muerte 2 horas después de la ingestión (Egyed & Brisk, 1966). En un rebaño de 23 ovejas diez ovejas desarrollaron signos y siete murieron después de que tuvieran acceso a un derrame de gránulos de metaldehído (la mayor parte del material había sido limpiado, dejando un máximo de 0,9 kg disponible) (Simmons, 1974; Bates, & Payne, 2017).

En otro estudio en el que se recopiló información de llamadas entrantes recibidas por el Centro de Toxicología Veterinaria desde 1980 a 1981. Las especies involucradas fueron rumiantes para casi el 40% de las llamadas. Terneros o adultos (aunque los tóxicos involucrados son di-

ferentes) superan ampliamente en número a las ovejas y las cabras. Los factores involucrados son el tamaño de los rebaños correspondientes y la tendencia del ganado a comer todo lo que está ‘a mano’. De las intoxicaciones registradas en total 1/3 eran debidas al metaldehído (Keck et al., 1983).

Casuística de intoxicación por metaldehído en fauna silvestre

Las intoxicaciones por metaldehído en fauna silvestre son menos comunes, y no hay tantos estudios que describan este fenómeno. En la literatura científica, así como en los informes oficiales de las redes de envenenamiento de la vida silvestre, varias clases de pesticidas son regularmente involucrados en el envenenamiento agudo de la vida silvestre. Los pesticidas comunes reportados como causa de intoxicaciones en Europa son: los molusquicidas, herbicidas, inhibidores de la colinesterasa, anticoagulantes orales y otros rodenticidas. Estos productos suelen ser apetecibles para otras especies, como liebres y conejos y pueden ser identificados como agentes causales en algunos casos de intoxica-

ción. A nivel europeo (Francia, Reino Unido, Holanda, Alemania, Dinamarca y Noruega), la mayoría de los reportes por intoxicación provienen de cazadores, y aunque el metaldehído no sea el más reportado, sigue teniendo peso en la intoxicación de la fauna silvestre a nivel europeo (Berny, 2007).

En un estudio realizado en Italia en 2020 sobre el análisis de intoxicaciones en fauna silvestre y doméstica se analizaron un total de 4606 muestras entre 2005 y 2014. De estas, 41 (0,89%) se recolectaron en Campania, 2852 (61,92%) en Emilia Romagna, 1530 (33,22%) en Lombardía, 4 (0,09%) en Toscana y 2 (0,04%) en Veneto, mientras que para 177 (3,84%) especímenes se desconocía el origen geográfico, dando como resultado que el 6,63% de intoxicaciones se debían a metaldehído. En la fauna silvestre se registró un caso de envenenamiento en un tejón otro en una tórtola y cinco en especies no identificadas (Bertero et al., 2020b).

En otro estudio realizado en Portugal en el que del total de 503 muestras recibidas entre enero de 2014 y octubre de 2020 con sospecha de intoxicación por plaguicidas. Se determinó que, de los 239 casos positivos, 108 son de especies domésticas, 69 de cebos y 51 de especies silvestres. Los molusquicidas ocupaban el 47% de los casos analizados como positivos, siendo el metaldehído causante del 3% de los casos de intoxicación. Las especies silvestres más afectadas son milanos, zorros rojos, buitres, águilas, grajos y una pequeña cantidad de otras especies. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la intoxicación por molusquicidas y carbamatos sigue siendo una de las principales causas de intoxicación en especies domésticas y silvestres en Portugal (Grilo et al., 2021).

En un estudio realizado en España, se analizaron 1.157 casos sospechosos de intoxicación de fauna silvestre y doméstica en el medio natural (1.800 animales y 340 cebos) procedentes de diversas Comunidades Autónomas (CCAA)

españolas durante el periodo 2004-2010, de las cuales destaca Asturias, ya que es en la que más cebos de metaldehído se encontraron. Se ha detectado un 41,2% de casos positivos (40,8% de animales y 52,6% de cebos). Respecto a la fauna silvestre las aves rapaces diurnas fueron el grupo más afectado por las intoxicaciones (43,6% del total de animales positivos), seguido de los mamíferos carnívoros (27,1%). En cuanto al metaldehído en este estudio, se encontraron tres cebos positivos y tres animales afectados cuya intoxicación fue intencionada (Sánchez-Barbudo et al., 2012).

En el Servicio de Toxicología y Veterinaria Forense (STVF) de la Universidad de Murcia se han recibido en los últimos años dos casos de muerte de tejones por metaldehído. En uno de los casos se encontraron caracoles muertos cerca del cadáver y, tras la necropsia, se observaron varios caracoles enteros y restos de otros caracoles en el estómago. Los miembros de Seprona (Guardia Civil) que llevan a cabo la investigación del caso solicitaron al STVF opinión sobre la posibilidad de que la muerte del tejón hubiera sido consecuencia de una intoxicación secundaria por consumo de caracoles tratados con metaldehído o, si, por el contrario, el tejón habría consumido también directamente el molusquicida.

Para dar respuesta a esta consulta se diseñó el presente estudio con el fin de evaluar el riesgo de intoxicación secundaria en mamíferos (en este caso tejón) por ingestión de caracoles, vivos o muertos, expuestos a un tratamiento molusquicida con metaldehído.

MATERIALES Y MÉTODOS

Modelo de ensayo con Helix aspersa

El caracol *Helix aspersa* es un gasterópodo terrestre, cuyo nombre común es caracol común o petit gris. Su tamaño es de 20-40 mm de alto y 24-25 mm de ancho y estos pesan entre 7 y 10 g, el color es parduzco con fajas oscuras transver-

sales a la línea de sutura. Respecto a su hábitat y comportamiento, se encuentra en campos y jardines, sobre todo en zonas húmedas y sombrías, pudiendo alcanzar su hábitat en altitudes de hasta 1200 metros. Respecto a su distribución, es cosmopolita, siendo sus concentraciones mayores en Francia, España, Suiza y Alemania. Respecto a la alimentación es una especie considerada fitófaga, o sea, que se alimenta de vegetales de distinta naturaleza (De la Piedra Injoque, 2005).

Solventes y reactivos

Dimetilsulfóxido (DMSO) 1% es el solvente en el que se preparó la solución madre de metaldehído que se utilizó para los experimentos con los caracoles.

Acetonitrilo (calidad HPLC) fue el solvente utilizado para la extracción de metaldehído de los caracoles de los experimentos.

Material de ensayo: solución madre de metaldehído

Se preparó una disolución madre de 2 mg/ml de metaldehído en dimetilsulfóxido (DMSO) al 1%, a partir del producto comercial metaldehído 5%.

Aplicación tópica del material de ensayo en los caracoles

En cualquiera de los ensayos realizados la aplicación de la solución de metaldehído o de DMSO a los grupos experimentales se realiza por aplicación tópica mediante micropipetas. Una vez aplicada la solución de ensayo se deja el individuo boca arriba durante 5 minutos para que se absorba la dosis aplicada.

Prueba de seguridad del DMSO (vehículo del metaldehído)

Es necesario garantizar que los efectos letales de la aplicación de la solución de metaldehído

son debidos exclusivamente a la acción éste. Para ello, es preciso comprobar que el vehículo o solvente en el que va disuelto el metaldehído no interfiere en los resultados. Previamente a los experimentos con metaldehído un grupo de caracoles fue expuesto tópicamente a una solución de DMSO al 1%, la misma que se utilizó para preparar la solución madre de metaldehído.

Ensayos de letalidad de metaldehído en *Helix aspersa*

En los ensayos realizados se siguió la metodología de los estudios de Abobakr et al. (2021) y Ismahane, (2022), en la que los caracoles reciben aplicaciones de una disolución de metaldehído en dimetilsulfóxido vía cutánea.

Cada uno de los caracoles utilizados en los diferentes ensayos fueron pesados y marcados en la concha con rotuladores de distintos colores.

Experimento 1: Ensayo de dosis crecientes.

Se hicieron cuatro grupos de 11 caracoles cada uno que recibirían diferentes dosis de metaldehído. Los grupos fueron los siguientes:

- Dosis alta (1% de solución madre de metaldehído sobre el peso del caracol).
- Dosis media (2/3 de la solución sobre el peso del caracol).
- Dosis baja (1/3 de la solución sobre el peso del caracol).
- Control (DMSO 1%).

Una vez dosificados los caracoles se introdujeron en botes de cristal de 1,5 L. Los caracoles se mantuvieron bajo observación durante 24, 48 y 72 h para registrar las muertes que puedan ocurrir durante ese tiempo en cada uno de los grupos.

Dado que la dosis máxima no consiguió la muerte de todos los individuos se repitió el ensayo con otros dos grupos de caracoles que abarcaran una concentración de metaldehído por encima y por debajo de las ya ensayadas.

Ampliación del experimento 1:

Se hicieron dos grupos de 8 caracoles cada uno que recibirían diferentes dosis de metaldehído. Los grupos fueron los siguientes:

- Dosis Superior: 2% de solución de metaldehído sobre el peso del caracol.
- Dosis Inferior: 1/5 de la solución sobre el peso del caracol.
- Control: DMSO 1%.

Experimento 2: Ensayo de tiempos

Dado que a la máxima dosis (2%) del experimento 1 todos los caracoles murieron en las primeras 24 horas, se pretendía conocer la presencia del metaldehído en los caracoles a intervalos de tiempos dobles hasta las 8 primeras horas.

Se hicieron seis grupos de caracoles de 5 individuos cada uno, a los cuales se les administró la dosis máxima al mismo tiempo. Los individuos de cada lote fueron sacrificados a distintos tiempos tras la absorción de la solución de metaldehído aplicada tópicamente:

- M0: sacrificio inmediatamente después de la absorción del metaldehído.
- M1: sacrificio a los 60 minutos de la aplicación.
- M2: sacrificio a los 120 minutos de la aplicación.
- M3: sacrificio a los 240 minutos de la aplicación.
- M4: sacrificio a los 480 minutos de la aplicación.

Conservación de los caracoles tras el ensayo

Una vez se producía la muerte de un caracol se introducía en una bolsa de plástico y se congelaba a -20°C hasta su posterior procesado analítico. Los caracoles de cada lote o grupo de tratamiento eran introducidos en su bolsa correspondiente, la cual estaba etiquetada con la fecha del ensayo y la dosis aplicada.

Puesta a punto del método analítico:

Se realizó una prueba piloto con 20 caracoles que recibieron la dosis máxima y que, posteriormente, a su muerte fueron congelados, para determinar si el método analítico propuesto era adecuado para detectar la presencia de metaldehído en los caracoles. Así, tomando como base el trabajo de Tata et al. (2022), se propuso un método de extracción basado en la metodología Quechers para detectar metaldehído en cebos y muestras procedentes de necropsias.

Deshidratación de los caracoles y determinación del grado de humedad

Los 20 caracoles congelados se dividieron en 4 grupos formados por 5 individuos cada uno, dispuestos cada grupo en una placa Petri diferente. Los pasos a realizar fueron los siguientes:

- 1- Descongelar los caracoles.
- 2- Extraer el caracol de la concha mediante unas tenazas.
- 3- Colocar el cuerpo de los caracoles en la placa Petri correspondiente de su lote (se desechan las conchas y otros fluidos).
- 4- Cortar los cuerpos (con ayuda de unas pinzas, bisturí y/o tijeras) en trozos lo más pequeños posible, por debajo de unos 5 milímetros de diámetro, con el fin de conseguir una deshidratación lo más eficiente posible.
- 5- Pesar los cuerpos de los caracoles.
- 6- Dejar secar los cuerpos a temperatura ambiente durante aproximadamente dos días realizando pesajes seriados hasta conseguir dos pesadas iguales.
- 7- Una vez que las muestras estaban deshidratadas, se pesaron para calcular la pérdida de peso y con ello calcular el porcentaje de humedad.

Durante el procedimiento se pudo observar que se pierden unos 8,4 g de peso de media durante el secado de los caracoles, esto es debido

a que son unos moluscos con una gran cantidad de agua (82% de su peso). Los individuos de esta especie suelen pesar hasta 10 g, por lo que los 8,4 g de pérdida media se acercan al 82% del peso total de estos animales.

Obtención de extractos de metaldehído para análisis por GC/MS

- 1- Los caracoles deshidratados de cada lote se trituraron mediante el uso de mortero hasta obtener un polvo seco amarillento brillante y homogéneo.
- 2- Del citado polvo se cogió 1 gramo de muestra y se introdujo en un tubo de centrifuga de 10 ml.
- 3- Al tubo se le añadieron 2 ml de acetoni-trilo.
- 4- Los tubos así preparados de cada lote se sometieron a agitación vigorosa en vórtex durante un minuto.
- 5- Los tubos fueron centrifugados durante 5 min a 3000 rpm.
- 6- Con jeringa y aguja se recogió el sobrenadante y se trasvasó a un vial cromato-gráfico pasando la solución a través de un filtro de nylon, previamente activado con acetonitrilo.

Preparación de la curva de metaldehído

Se preparó un patrón de metaldehído en acetoni-trilo con una concentración de 2 mg/ml. A partir de esta disolución se prepararon 4 diluciones eti-quetadas como SM20, SM2, SM1 y SM0,5 co-rrespondientes con los puntos de la curva patrón de metaldehído: 20, 2, 1 y 0,5 µg/ml.

Análisis cromatográfico de los extractos de ca-racoles

Los extractos de los caracoles de todos los ensayos y pruebas anteriormente descritos fueron analizados mediante cromatógrafo de gases Agilent modelo 7890B acoplado a es-

pectrómetro de masas Agilent modelo 5977A, en el Servicio de Instrumentación Científica (SUIC) del Área Científica y Técnica de Investigación (ACTI) de la Universidad de Murcia. La columna utilizada fue la HP-5MS, de 30 m de longitud y 0,25 mm de diámetro interno con un grosor de película de 0,25 micrómetros. La temperatura de inyección fue de 280°C, con una presión de helio de 8,23 psi y un flujo de 54 ml/min temperatura inicial del horno es de 60°C durante 3 minutos, aumentando 10°C/min hasta 310°C y manteniendo esta temperatura durante 12 minutos. El volumen de inyección fue de 2 microlitros. La fuente de ionización es EI a una temperatura de 230°C y una energía de 70 eV. Se midió en modo SCAN. El análisis de datos se realiza con el programa MassHunter de Agilent. Con estas condiciones el metaldehído aparece en el minuto 7,91 (Figura 2) con un espectro de masas dos iones principales de relación m/z 45 y 89 (Figura 3).

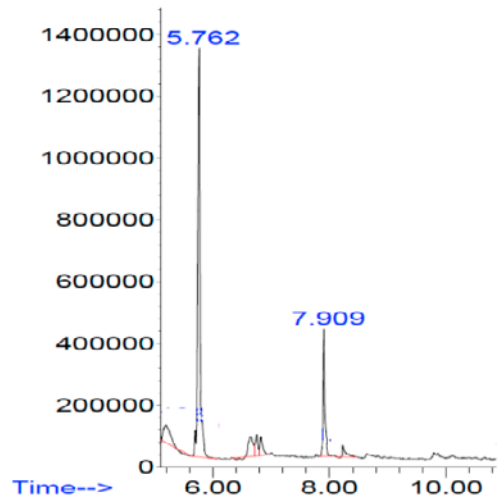


Figura 2. Cromatograma del metaldehído con tiempo de retención 7.91 minutos. El tiempo de retención 5.76 corresponde al DMSO (vehículo usado para la aplicación del metaldehído).

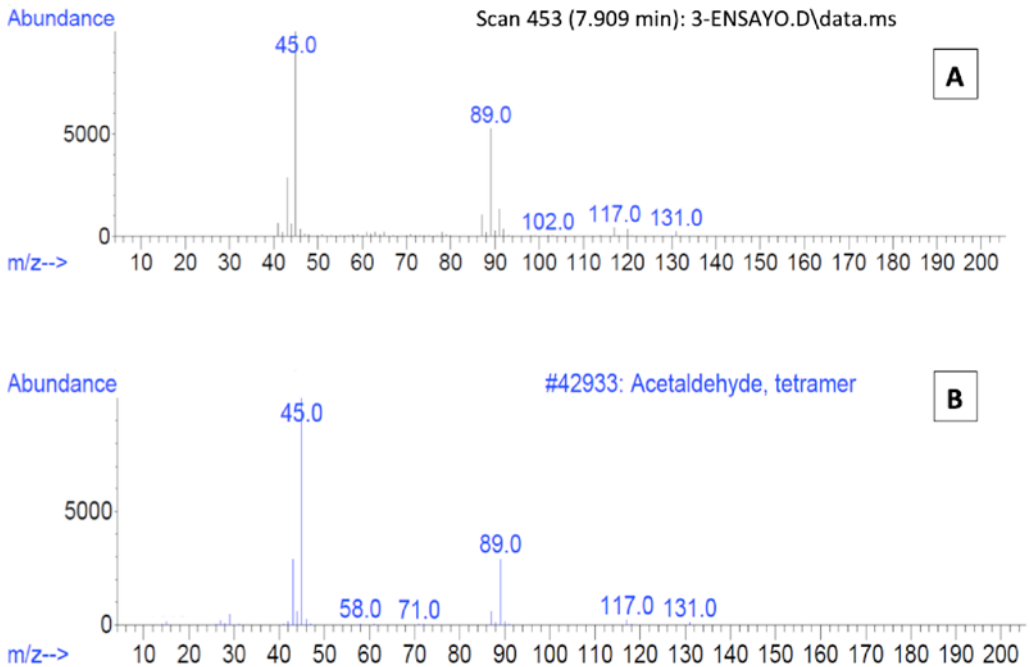


Figura 3. Espectro de masas del metaldehído analizado en la muestra patrón de mayor concentración (A) y espectro de masas del metaldehído (tetrámero de acetaldehído) de la espectroteca NIST (B).

RESULTADOS

Curva de calibrado del metaldehído

En la figura 4 se presenta la curva de calibrado del metaldehído con la técnica diseñada para este estudio. La linealidad es muy buena ($r=0,9999$) y el límite de cuantificación se ha establecido en 100 ng/ml (0,1 µg/ml).

*Experimentos con *Helix aspersa**

Ninguno de los caracoles de los experimentos que fueron tratados solo con el DMSO, vehículo del metaldehído, murió durante los experimentos ni se les observaron comportamientos extraños.

Ensayo de letalidad

En la tabla 3 se detallan las muertes y los tiempos en los que se produjeron las mismas tras observación a intervalos de 24 horas. La concentración inicialmente denominada alta (1% de metaldehído sobre el peso del caracol) produjo la muerte a 7 de los 11 caracoles tratados (63,6%), por lo que se ensayó una concentración dos veces superior (2%) en la que todos los caracoles murieron en las primeras 24 horas. En la ampliación del segundo ensayo se incluyó la dosis denominada “inferior”, la cual se correspondía con una quinta parte de la concentración alta. Esta concentración no produjo la muerte de ninguno de los caracoles del lote. Los resultados produjeron la curva de letalidad que se muestra en la figura 5.

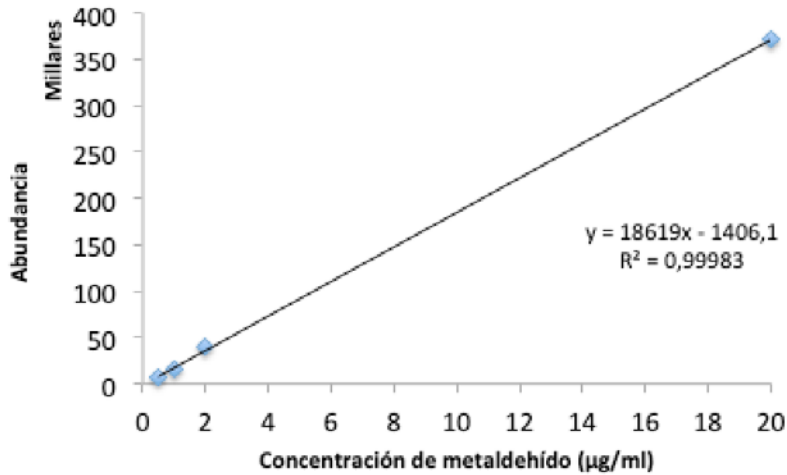


Figura 4. Curva de calibrado del metaldehído por cromatografía de gases/espectrometría de masas.

Tabla 3. Registro de los caracoles utilizados en los ensayos, junto con la concentración aplicada, número de muertes, hora de muerte y supervivencia.

Concentración aplicada	Caracoles	Muertes (%)	Hora de muerte	Supervivientes (%)
Superior (2%)	8	8 (100)	<24h	0 (0.0)
Alta (1%)	11	6 (54.5)	<24 h	4 (36.4)
		1 (9.1)	<48h	
Media (2/3 del 1%)	11	5 (45.5)	<48 h	6 (54.5)
Baja (1/3 del 1%)	11	3 (27.3)	<72h	8 (72.3)
Inferior (1/5 del 1%)	8	-	-	8 (100)
Control (1% DMSO)	7	-	-	7 (100)
Control (2% DMSO)	4	-	-	4 (100)

Concentraciones de metaldehído al final del ensayo de letalidad

En la tabla 4 se detallan las concentraciones de metaldehído calculadas tras el análisis de los caracoles muertos en el ensayo de letalidad.

Ensayo de tiempos para concentraciones de metaldehído

Todos los caracoles fueron sacrificados en los tiempos establecidos según el diseño del experimento, a excepción del lote 5 (M4) porque

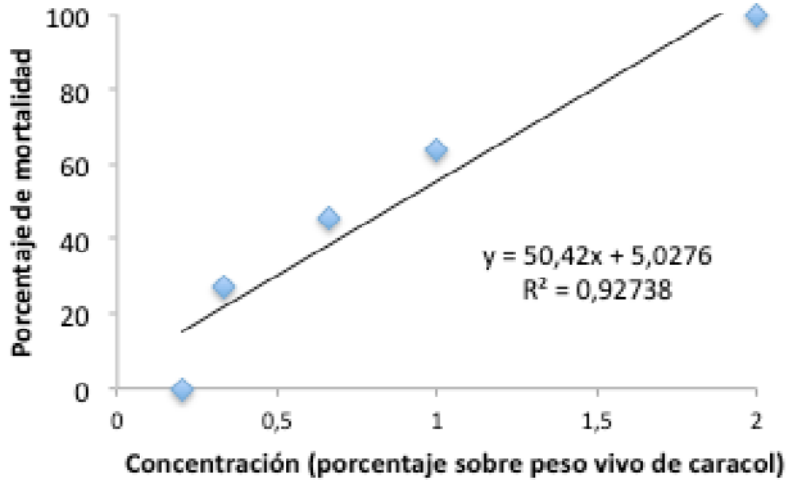


Figura 5. Curva de letalidad del ensayo de dosis creciente del metaldehído.

Tabla 4. Concentraciones de metaldehído en los caracoles muertos durante el ensayo de letalidad y porcentaje de pérdida de producto con respecto al aplicado en el tratamiento.

Concentración aplicada	Cantidad estimada por caracol (μg)	Data de muerte tras la administración (horas)	Concentración analizada (μg por caracol)	% metaldehído en caracol con respecto al aplicado
Superior (2%)	400	<24	137.40	34.35
Alta (1%)	200	<24	69.93	34.97
Media (2/3 del 1%)	133.3	<48	47.24	35.44
Baja (1/3 del 1%)	66.7	<48	31.72	47.56
Inferior (1/5 del 1%)	40	<72	6.05	15.13

Tabla 5. Concentración de metaldehído analizada en los caracoles sacrificados a distintos tiempos tras la administración de una dosis de 2% de metaldehído sobre el peso del caracol (se estiman 400 μg por caracol).

Lote de caracoles	Nº de caracoles	Hora de sacrificio/muerte (min)	Media de la concentración analizada de metaldehído ($\mu\text{g}/\text{caracol}$)
Lote 1/M0	5	Sacrificio in situ (0 min)	352.68
Lote 2/M1	5	Sacrificio en 1 h (60 min)	277.41
Lote 3/M2	5	Sacrificio en 2 h (120 min)	206.18
Lote 4/M3	5	Sacrificio en 4 h (240 min)	164.80
Lote 5/M4	5	Muerte a las 4:30h (270 min)	90.20

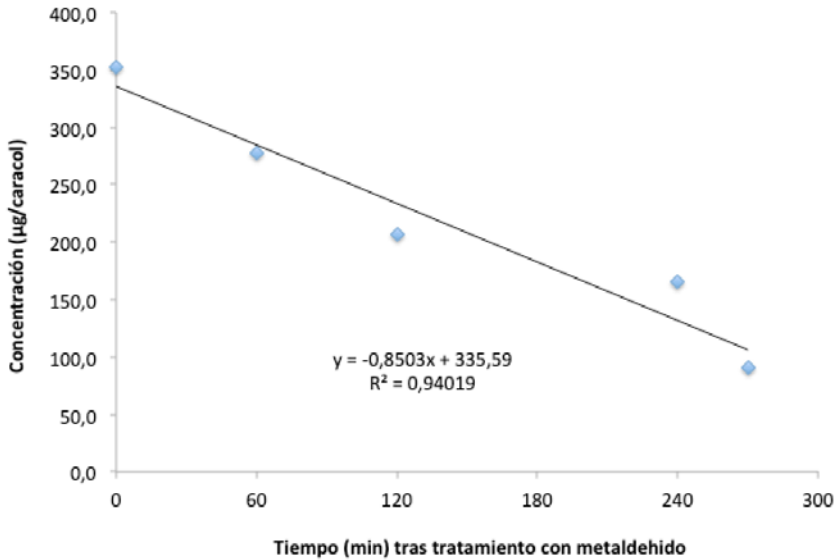


Figura 6. Concentraciones de metaldehído en los caracoles en el ensayo de tiempos.

los caracoles aparecieron muertos a 4.30 horas tras aplicación del tratamiento, no llegando con vida al tiempo propuesto de 8 horas (Tabla 5). Las concentraciones de metaldehído en los caracoles descienden con el tiempo desde su administración (Figura 6).

DISCUSIÓN

Dado que este estudio surge por el encuentro de un tejón que se intoxicó posiblemente de forma secundaria con metaldehído se discutirá si, a partir del estudio experimental llevado a cabo, puede darse dicha intoxicación secundaria en esta especie mediante el consumo de caracoles muertos por metaldehído.

El tejón ibérico es un animal que, dependiendo del sexo, la disponibilidad de alimento y la estación del año puede pesar 5,9-9,3 kg (machos) y 4,8-9,2 kg (Revilla et al., 2007), debido a que no hay estudios específicos de toxicidad del metaldehído con esta especie, no se tiene información sobre dosis tóxica ni letal de dicho compuesto

para esta, por lo que se acudió al criterio de utilizar la dosis letal media reportada para alguna otra especie de mamífero. En este caso, según la tabla 1, el ratón, la rata y el gato tendrían las DL50 de metaldehído más bajas, con valores de 200, 227 y 207 mg/kg, respectivamente (Von Burg & Stout, 1991). En evaluación de riesgo es necesario plantear el peor caso de todas ellas alrededor de 200 mg/kg peso vivo.

Para la realización de los cálculos con el fin de determinar el riesgo de intoxicación secundaria se utilizaron, de la tabla 4, los datos de cantidad de metaldehído estimada por caracol (µg), y la concentración analizada de metaldehído (µg por caracol), y de la tabla 5, la media de la concentración analizada de metaldehído (µg/caracol), para así contemplar todos los escenarios posibles. El objetivo era estimar cuantos caracoles sería necesario ingerir por un tejón para alcanzar la dosis de metaldehído que provocaría una intoxicación. Dadas las diferencias de peso entre sexos se han hecho los cálculos, tanto para hembras

Tabla 6. Caracoles necesarios para intoxicar tejones con metaldehído por su ingestión teniendo en cuenta la cantidad estimada de metaldehído por caracol en el ensayo de letalidad y la DL50 de 200 mg/kg por vía oral en ratón (Von Burg & Stout, 1991).

Caracoles necesarios para llegar a DL50				
Concentración aplicada a los caracoles	Cantidad estimada por caracol - CE (mg)	Hembras de 5 kg (C. letal: 1000 mg)*	Machos de 6 kg (C. letal: 1200 mg)	Ambos sexos de 9 kg (C. letal: 1800 mg)
Dosis superior	0.4	2,500**	3,000	4,500
Dosis alta	0.2	5,000	6,000	9,000
Dosis media	0.13	7,502	9,002	13,503
Dosis baja	0.07	14,993	17,991	26,987
Dosis inferior	0.04	25,000	30,000	45,000

*Cantidad letal (C.Letal): $DL50 \times \text{Peso vivo}$; $200 \text{ mg/kg} \times 5 \text{ kg} = 1000 \text{ mg}$.

**Caracoles para efecto letal: $C.Letal / CE \text{ por caracol}$: $1000 \text{ mg} / 0,4 \text{ mg} = 2500 \text{ caracoles}$.

Tabla 7. Caracoles necesarios para intoxicar tejones con metaldehído por su ingestión teniendo en cuenta la concentración de metaldehído analizada por caracol en el ensayo de letalidad y la DL50 de 200 mg/kg por vía oral en ratón (Von Burg & Stout, 1991).

Caracoles necesarios para llegar a DL50				
Concentración aplicada a los caracoles	Concentración analizada por caracol - CE (mg)	Hembras de 5 kg (C. letal: 1000 mg) *	Machos de 6 kg (C. letal: 1200 mg)	Ambos sexos de 9 kg (C. letal: 1800 mg)
Dosis superior	0.137	7,278**	8,734	13,100
Dosis alta	0.070	14,300	17,160	25,740
Dosis media	0.047	21,169	25,402	38,103
Dosis baja	0.032	31,526	37,831	56,747
Dosis inferior	0.006	165,289	198,347	297,521

*Cantidad letal (C.Letal): $DL50 \times \text{Peso vivo}$; $200 \text{ mg/kg} \times 5 \text{ kg} = 1000 \text{ mg}$.

**Caracoles para efecto letal: $C.Letal / CE \text{ por caracol}$: $1000 \text{ mg} / 0,13740 \text{ mg} = 7278 \text{ caracoles}$.

como para machos, en los límites inferior y superior de peso, tomando la referencia de Revilla et al. (2007). Así pues, para el caso del peso mínimo se tomó el dato de 6 kg en machos y de 5 kg en hembras, y para el peso máximo 9 kg para ambos sexos.

En los tres diferentes escenarios propuestos, se aplicó el mismo cálculo. Así, si la dosis letal media es de 200 mg/kg, en el caso de que el tejón pesara 5 kg serían necesarios 1000 mg de metaldehído para producir la intoxicación; en caso de que pesara 6 kg serían necesarios 1200

mg de metaldehído y en caso de que pesara 9 kg serían necesarios 1800 mg de metaldehído.

Una vez calculados los mg de metaldehído necesarios para provocar intoxicación, se calcula cuantos caracoles serían necesarios para llegar a esa cantidad de metaldehído mediante una regla de tres. Como ejemplo, en caso de que el tejón pesara 5 kg, el cual necesita 1000 mg de metaldehído para intoxicarse, e ingiriera caracoles que han recibido la dosis máxima con una cantidad estimada de metaldehído de 0,4 mg por caracol, se necesitarían 2500 caracoles.

Por los resultados obtenidos en las tablas con los diferentes escenarios, se observa que, en el peor escenario posible para sufrir una intoxicación aguda letal, un tejón necesitaría ingerir 2,500 caracoles expuestos a dosis letal de metaldehído o recién muertos por la acción de dicho plaguicida. Este escenario no parece muy probable.

A pesar de lo dicho en el párrafo anterior, se debe plantear algunas situaciones posibles. El estudio llevado a cabo parte de la premisa de una utilización del producto acorde a las indicaciones del fabricante en cuanto a cantidad. No es infrecuente que el uso de los plaguicidas por personas no adiestradas se haga sin leer las

indicaciones y se utilice más producto del recomendado. Suponiendo, en un escenario extremo que el uso del producto fuera 10 veces mayor que el recomendado, con los datos de este estudio, la ingestión necesaria para alcanzar la dosis letal en un tejón de 5 kg sería de 250 caracoles. Esta cantidad podría llegar a ser considerada como un potencial peligro, aunque tampoco es fácil asumir que un tejón ingiera de una sola vez esa cantidad.

Los tejones son animales omnívoros y también carroñeros, estos consumen raíces, frutos, setas, hongos subterráneos, moluscos, otros invertebrados, anfibios, reptiles y carroña. Los tejones maximizan el uso de los alimentos abundantes y predecibles, como es el caso del caracol (Revilla et al., 2007). Esto facilitaría que la intoxicación ocurriese, pero aun así es difícil que se den todas las circunstancias necesarias, como son: que el tejón se encuentre 250 caracoles, todos ellos tratados con una dosis 10 veces mayor a la recomendada, y que al encontrarlos este los ingiriera todos. Se puede decir que sí existiría la posibilidad de que llegara a ocurrir, pero es poco probable que ocurra.

Respecto a los tejones que están en crecimiento y que por lo tanto pesan menos que un

Tabla 8. Caracoles necesarios para intoxicar tejones con metaldehído por su ingestión teniendo en cuenta la media de la concentración analizada de metaldehído, en los caracoles utilizados para el ensayo de tiempos y la DL50 de 200 mg/kg por vía oral en ratón (Von Burg & Stout, 1991).

Lotes de caracoles	Caracoles necesarios para llegar a DL50			
	Media de la concentración analizada de metaldehído - CE (mg)	Hembras de 5 kg (C. letal: 1000 mg) *	Machos de 6 kg (C. letal: 1200 mg)	Ambos sexos de 9 kg (C. letal: 1800 mg)
Lote 1/M0	0.353	2,835**	3,403	5,104
Lote 2/M1	0.277	3,605	4,326	6,489
Lote 3/M2	0.206	4,850	5,820	8,730
Lote 4/M3	0.165	6,068	7,282	10,922
Lote 5/M4	0.090	11,086	13,304	19,956

*Cantidad letal (C.Letal): $DL50 \times \text{Peso vivo}; 200 \text{ mg/kg} \times 5 \text{ kg} = 1000 \text{ mg}$.

**Caracoles para efecto letal: $C.Letal / CE \text{ por caracol}; 1000 \text{ mg} / 0,35268 \text{ mg} = 2835 \text{ caracoles}$.

tejón adulto, estos sí presentan un mayor riesgo a intoxicarse, puesto que necesitarían una menor cantidad de caracoles para alcanzar la dosis necesaria, por ejemplo en un animal de 2 kg con 100 caracoles sometidos a una dosis 10 veces mayor que la que se debería de aplicar, este se intoxicaría, aunque también se debe tener en cuenta que estos animales de menor peso, comen una menor cantidad de alimento, por lo que presentan mayor riesgo que un tejón adulto, pero sigue siendo improbable que ocurra dicha situación.

CONCLUSIONES

La intoxicación secundaria por metaldehído en tejón por ingestión de caracoles tratados puede llegar a darse, pero es poco probable, puesto que se requeriría la ingestión, en el caso de un tejón adulto, de 250 caracoles tratados con una dosis 10 veces superior a la recomendada como molusquicida. En el caso de un tejón joven (peso estimado de 2 kg) tendría que ingerir 100 caracoles en la misma situación. Aunque el escenario es muy poco probable, es necesario concienciar a la población de que, debido a su modo de uso, el metaldehído presente en los molusquicidas sigue siendo causa de intoxicación primaria, por la ingestión directa del producto.

AGRADECIMIENTOS

Al Servicio de Toxicología y Veterinaria Forense (STVF) y a SERTOXMUR por aportar la financiación para llevar a cabo los experimentos y los análisis de este estudio. Agradecimiento especial a D. Francisco Sola, Técnico Especialista de Toxicología, por su ayuda durante el trabajo de laboratorio.

A D. José Rodríguez Martínez (Jefe de Servicio) y D^a. María José Gabaldón Martínez (Facultativa) del Servicio Universitario de Instrumentación Científica del ACTI de la Universidad de Murcia, por su gran disposición e inestimable ayuda con los análisis de metaldehído.

BIBLIOGRAFÍA

- Abobakr, Y., Gad, A. F., Abou-Elnasr, H. S., Abdelgalil, G. M., Hussein, H. I. & Selim, S. (2021). Contact toxicity and biochemical impact of metaldehyde against the white garden snail *Theba pisana* (Müller, 1774). *Pest Manag. Sci.*, 77(7), 3208-3215.
- Barbier, N. (2005). *Bilan d'activité du Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires pour l'année 2003* (Doctoral dissertation).
- Bates, N. (2017). Acute poisoning in horses: part 1. *Livest. Sci.*, 22(2), 105-109.
- Bates, N. & Payne, J. (2017). Common farm poisons: part 1. *Livest. Sci.*, 22(5), 258-263.
- Bernardino-Hernández, H. U., Mariaca-Méndez, R., Nazar-Beutelspacher, A., Álvarez-Solís, J. D., Torres-Dosal, A. & Herrera-Portugal, C. (2019). Conocimientos, conductas y síntomas de intoxicación aguda por plaguicidas entre productores de tres sistemas de producción agrícolas en los altos de Chiapas, México. *Rev. Int. Contam.*, 35(1), 7-23.
- Berny, P. (2007). Pesticides and the intoxication of wild animals. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 30(2), 93-100.
- Berny, P., Caloni, F., Croubels, S., Sachana, M., Vandenbroucke, V., Davanzo, F. & Guitart, R. (2010). Animal poisoning in Europe. Part 2: companion animals. *Vet. J.*, 183(3), 255-259.
- Bertero, A., Chiari, M., Vitale, N., Zandoni, M., Faggionato, E., Biancardi, A. & Caloni, F. (2020a). Types of pesticides involved in domestic and wild animal poisoning in Italy. *Sci. Total Environ.*, 707, 136129.
- Bertero, A., Fossati, P. & Caloni, F. (2020b). Indoor poisoning of companion animals by chemicals. *Sci. Total Environ.*, 733, 139366.
- Bertero, A., Rivolta, M., Davanzo, F. & Caloni, F. (2020c). Suspected environmental poisoning by drugs, household products and pesticides in domestic animals. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 80, 103471.

- Bieri, M. (2003). The environmental profile of metaldehyde. *BCPC SYMP SER*, 255-262.
- Booze, T. F. & Oehme, F. W. (1986). An investigation of metaldehyde and acetaldehyde toxicities in dogs. *Toxicol. Sci.*, 6(3), 440-446.
- Caloni, F., Cortinovis, C., Rivolta, M. & Davanzo, F. (2016). Suspected poisoning of domestic animals by pesticides. *Sci. Total Environ.*, 539, 331-336.
- Castle, G.D., Mills, G.A., Gravell, A., Jones, L., Townsend, I., Cameron, D.G. & Fones, G. R. (2017). Review of the molluscicide metaldehyde in the environment. *Environ. Sci. Water Res. Technol.*, 3(3), 415-428.
- Daniel, R., Lewis, D. & Payne, J. (2009). Metaldehyde poisoning in a dairy herd. *Vet. Rec.*, 165(19), 575.
- Daza, M. & Ayuso, E. (2004). Intoxicaciones más frecuentes en pequeños animales. *AVE-PA*, 24(4), 231-239.
- De la Piedra Injoque, R. (2005). Biología del caracol (*Helix aspersa muller*) y propuesta de instalación de un criadero mixto modificado. Tesina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Lima, Perú.
- De Roma, A., Miletto, G., D'Alessio, N., Rossini, C., Vangone, L., Galiero, G. & Esposito, M. (2017). Metaldehyde poisoning of companion animals: a three-year retrospective study. *J. Vet. Res.*, 61(3), 307-311.
- Díaz, O. & Aguilar, C. C. R. B. (2018). Los pesticidas; clasificación, necesidad de un manejo integrado y alternativas para reducir su consumo indebido: una revisión. *Rev. Cient. Agroecos.*, 6(2), 14-30.
- Dolder, L. K. (2003). Metaldehyde toxicosis. *Vet. Med.*, 98(3), 213-215.
- Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Vasko-Bennett, M., Little, B. & Askar, A. (2009). The relative toxicity of metaldehyde and iron phosphate-based molluscicides to earthworms. *Crop Prot.*, 28(4), 289-294.
- Egyed, M. N. & Brisk, Y. L. (1966). Metaldehyde poisoning in farm animals. *Vet. Rec.*, 78(22), 753-754.
- García Fernández, A.J., María Mojica, P., Martínez López, E., Motas Guzmán, M. & Romero, D. (2004). Convulsivant Agents strychnine, metaldehyde, scilliroside, crimidine. *Cons. Difus. Vet.*, (116), 49-57
- Grilo, A., Moreira, A., Carrapiço, B., Belas, A. & São Braz, B. (2021). Epidemiological study of pesticide poisoning in domestic animals and wildlife in Portugal: 2014–2020. *Front. Vet. Sci.*, 7, 616293.
- Gupta, P.K. (2019). Toxic effects of pesticides and agrochemicals. *Concepts and Applications in Veterinary Toxicology: An Interactive Guide*, Springer, 59-82.
- Gupta, R. C. (2007). Metaldehyde. *Veterinary Toxicology*, 2nd edition, Academic Press, 518–521.
- Harris, W. F. (1975). Metaldehyde poisoning in three horses. *Mod. Vet. Pract.*, 56(5), 336-337.
- Homeida, A. M. & Cooke, R. G. (1982a). Anti-convulsant activity of diazepam and clonidine on metaldehyde-induced seizures in mice: effects on brain γ -amino butyric acid concentrations and monoamine oxidase activity. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 5(3), 187-190.
- Homeida, A. M. & Cooke, R. G. (1982b). Pharmacological aspects of metaldehyde poisoning in mice. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 5(1), 77-81.
- Ismahane, D. E. M. B. R. I. (2022). Etude de la toxicité aigüe d'un molluscicide «Métaldéhyde 6% GR» sur l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Memoria de Máster, Centre Universitaire Abdel Hafid Boussouf - Mila).
- Ismail, S. W. M., Dahalan, F. A., Zakaria, A., Shakaff, A. Y. M., Ahmad, S. A., Abd Shukor, M. Y., Sabullah, M. K., Abdul Khalil, K. & Ab Jalil, M. F. (2018). The acute toxicity of the metaldehyde on the climbing perch. *E3S Web Conf.*, 34, 02031.
- Joermann, G. (1998). A review of secondary-poisoning studies with rodenticides. *Bull. OEPP*, 28(1-2), 157-176.

- Keck, G., Lorgue, G. & Jaussaud, P. (1983). Toxicological field data in ruminants. En Ruckebusch, Y., Toutain, P.L., Koritz, G.D., (eds) *Veterinary Pharmacology and Toxicology*, 733-736.
- Knowles, CO. (1991) Miscellaneous pesticides. Hayes, W.J., Laws, E.R., (eds) *Handbook of Pesticide Toxicology*, Academic Press, New York, 1471-1517.
- Longbottom, G. M. & Gordon, A. S. (1979). Metaldehyde poisoning in a dairy herd. *Vet. Rec.*, 104(20), 454-455.
- McFarland, S. E., Mischke, R. H., Hopster-Iversen, C., Von Krueger, X., Ammer, H., Potschka, H., Stürer, A., Begemann, K., Desel, H. & Greiner, M. (2017). Systematic account of animal poisonings in Germany, 2012-2015. *Vet. Rec.*, 180(13), 327-327.
- Miller, R. M. (1972). Metaldehyde poisoning in horses (two case reports). *Vet. Med., Small Anim. Clin.*, 67(10), 1141-1141.
- Moody, J. P. & Inglis, F. G. (1992). Persistence of metaldehyde during acute molluscicide poisoning. *Hum. Exp. Toxicol.*, 11(5), 361-362.
- Olson, K. (1999) *Poisoning and Overdose*, 3rd edn. Appleton and Lange, Paramount Publishing Business and Professional Group.
- Pérez-López, M., Nóvoa-Valiñas, M. C., García-Fernández, M. A. & Melgar-Riol, M. J. (2004). Two years' activity of the veterinary toxicology attention service of Lugo, Spain. *Vet. Hum. Toxicol.*, 46(1), 47-49.
- PubChem sitio web (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). National Library of Medicine. (Visitado por última vez el 1 de julio de 2023).
- Puschner, B. (2006) Metaldehyde. En Peterson, M.E., Talcott, P.A. (eds). *Small Animal Toxicology*. W.B. Saunders, Philadelphia, P.A., 830-839.
- Revilla, E., Casanovas, J.G. & Virgós, E. (2007). Meles meles Linnaeus, 1758, 308-311. En: Palomo, L. J., Gisbert, J. y Blanco, J. C. (eds). *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos Terrestres de España*. Dirección General para la Biodiversidad -SECEM-SECEMU, Madrid.
- Roder, J.D. (2002) *Manual de toxicología veterinaria*. Multimédica S.A., Barcelona, 220-221.
- Rumbeiha, W. K. (2014). Metaldehyde. En Wexler, P. (Ed.). *Encyclopedia of Toxicology*, 3rd edition, Academic Press, 227-229.
- Saad, A. M., Ismail, S. W. & Dahalan, F. A. (2017). Metaldehyde toxicity: A brief on three different perspectives. *J. Civ. Eng. Technol.*, 8(2), 108-114.
- Sánchez-Barbudo, I., Camarero, P. & Mateo, R. (2012). Intoxicaciones intencionadas y accidentales de fauna silvestre y doméstica en España: diferencias entre Comunidades Autónomas. *Rev. Toxicol.*, 29 (1), 20-28.
- Shintani, S., Goto, K., Endo, Y., Iwamoto, C. & Ohata, K. (1999). Adsorption effects of activated charcoal on metaldehyde toxicity in rats. *Vet. Hum. Toxicol.*, 41(1), 15-18.
- Simmons, J. R. (1974). An outbreak of metaldehyde poisoning in sheep. *Vet. Rec.*, 95(10), 211-212.
- Stubbings, D. P. (1976). Three cases of metaldehyde poisoning in cattle. *Vet. Rec.*, 98(18), 356-357.
- Studdert, V. P. (1985). Epidemiological features of snail and slug bait poisoning in dogs and cats. *Aust. Vet. J.*, 62(8), 269-272.
- Sutherland, C. (1983). Metaldehyde poisoning in horses. *Vet. Rec.*, 112(3), 64-65.
- Tardieu, D., Thouvenot, N., Fargier, C., de Saqui-Sannes, P. & Petit, C. (1996). Phenobarbital-type P-450 inducers protect rats against metaldehyde toxicity. *Vet. Hum. Toxicol.*, 38(6), 454-456.
- Tata, A., Pallante, I., Zacometti, C., Moressa, A., Bragolusi, M., Negro, A., Masaro, A., Binato, G., Gallochio, F., Angeletti, R., Pozzato, N. & Piro, R. (2022). Rapid, novel screening of toxicants in poison baits, and autopsy specimens by ambient mass spectrometry. *Front. Chem.*, 10, 982377.

- USEPA (2006). Reregistration Eligibility Decision for Metaldehyde. *Prevention, Pesticides And Toxic Substances*, 7508. Office of Prevention, Pesticides, and Toxic Substances -2005-0231.
- Verschuuren, H. G., Kroes, R., Den Tonkelaar, E. M., Berkvens, J. M., Helleman, P. W. & Van Esch, G. J. (1975). Longstubb-term toxicity and reproduction studies with metaldehyde in rats. *Toxicol.*, 4(1), 97-115.
- Von Burg, R. & Stout, T. (1991). Metaldehyde. *J. Appl. Toxicol.*, 11(5), 377-378.
- Wang, Y., Kruzik, P., Helsberg, A., Helsberg, I. & Rausch, W. D. (2007). Pesticide poisoning in domestic animals and livestock in Austria: a 6 years retrospective study. *Forensic Sci. Int.*, 169(2-3), 157-160.
- Williams, B. M. (1976). Metaldehyde poisoning in cattle. *Vet. Rec.*, 98(18), 358-359.