

Intoxicación paralítica por mariscos (IPM) por *Spondylus calcifer* contaminado con *Pyrodinium bahamense*, Costa Rica, 1989-1990

Leonardo Mata*, Gabriela Abarca*, Leonardo Marranghello** y Roxana Viquez***

* Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica. ** Vigilancia Epidemiológica, Ministerio de Salud.

*** Ciencias Biológicas Universidad Nacional, Heredia Costa Rica

(Rec. 4 -V-1990. Acep. 23-V-1990)

Abstract This paper describes an outbreak of paralytic shellfish poisoning (PSP), affecting human populations on the Pacific Coast of Costa Rica in October 1989. Numbness in arms, face and legs occurred 30 to 45 minutes after ingestion of the large clam *Spondylus calcifer*. Paralysis of legs and respiratory symptoms followed, often persisting for one week. Large amounts of the dinoflagellate *Pyrodinium bahamense* were found in the intestine of the mollusk. A toxin was detected in crude or filtered and heated macerates of intestine, muscle, mantle and hepatopancreas of *S. calcifer*, and to a lesser extent *Tagelus* sp., by injection of its crude or diluted extracts in white mice. The effects in mice consisted in paralysis and asphyxia generally leading to death in less than 5 minutes, compatible with saxitoxin. Mice were killed by the toxin in macerates diluted 1:100 to 1:1000. No toxin was detected in *Anadara tuberculosa* (Bivalvia) or in peneids. Prevention rests on intersectoral actions between state and private sectors in charge of fishing, distribution and marketing of shellfish, as well as on education of the population at large.

Key words: shellfish poisoning, Costa Rica, toxins.

Existen varios tipos de intoxicación en el hombre asociada al consumo de mariscos y pescado del mar. De ellas las más conocidas son la "intoxicación paralítica por mariscos o intoxicación por almejas" (IPM), la "intoxicación diarreica por mariscos" (IDM), y la "ciguatera" por consumo de pescado. Las tres condiciones son causadas por toxinas liberadas por dinoflagelados ("marea roja") que son ingeridos por moluscos y peces. La marea roja recibe su nombre de la coloración rojiza, parda, ó amarilla del agua de mar sobrepoblada de dinoflagelados. El fenómeno es intermitente en zonas neotropicales y tropicales entre 35 grados norte y 35 grados sur, y está determinado por cambios de temperatura, concentración de sustancias nutritivas, corrientes marinas, luz y otros factores que favorecen la multiplicación de los dinoflagelados (Ray 1971, Iwasaki 1979, Iwasaki & Iwasa 1982, Warrell 1990, Iwasaki 1989). Estos organismos unicelulares de vida libre (Orden Dinoflagellata o Dinoflagellida) y envoltura celulósica, pueden multiplicarse hasta alcanzar concentraciones de 50.000 individuos por mililitro de agua o más

durante la "floración" (blooming) o marea roja. Se han descrito miles de especies de dinoflagelados en el plancton marino, de las cuales las mayormente incriminadas en la IPM por su toxina son: *Alexandrium* (*Gonyaulax*, *Protogonyaulax*) *catenella*, *A. excavata*, *A. tamarensis* (= *Pyrodinium phoneus*), *A. acatenella*, *A. polyedra*, *A. monilata*, *Gymnodinium breve*, *G. veneficum*, *Pyrodinium bahamense*, *Prorocentrum micans*, *Glenodinium foliaceum*, *Exuviaella baltica*, *E. mariae-lebouriae* y *Ptychodiscus brevis* (Kudo 1946, Schantz 1965, Ray 1971, Dodge & Lee 1982, Schantz 1979, APHA/CSDHS 1983, Warrell 1990, World Health Organization 1990).

Los moluscos "transvectores" son filtradores que ingieren altas dosis de dinoflagelados al alimentarse (Barnes 1969, Ray 1971, Dodge & Lee 1982, Halstead & Schantz 1984, Halstead 1985). Al ser digeridos, los dinoflagelados liberan toxinas como la saxitoxina, que se impregnan en los tejidos del molusco. Los transvectores incriminados más frecuentemente en la IPM son: *Mytilus edulis*, *M. californianus*, *Saxidomus*

giganteus, *Venerupis semidecussata*, *Chlamys nipponensis*, *Crassostrea gigas*, *Buccinum undatum*, *Clinocardium nuttallii* y *Protothaca staminea* (Barnes 1969, Morris 1966, Keen & Maclean 1971, Ray 1971, Oliver 1980, APHA/CSDHS 1983). La toxina no es letal para el molusco pero genera alteraciones como retracción de los sifones, cierre de las valvas y alteración del ritmo cardíaco y respiratorio (Gainey & Shumway 1988). Hay variabilidad en el potencial del molusco de acumular niveles altos de toxina, y ésta puede persistir por largos períodos en los tejidos. La coquina (*C. nuttallii*), almeja de cuello pequeño (*P. staminea*) y la ostra del Pacífico (*C. gigas*) acumulan pequeñas cantidades de toxina. Otras como *M. californianus* y *S. giganteus* puede almacenar altas dosis (Ray 1971, Schantz 1979, Halstead & Schantz 1984).

La saxitoxina de la "almeja mantequilla" (*S. giganteus*) es uno de los venenos más potentes. Una preparación 95-100 por ciento pura posee una toxicidad promedio de 5.500 unidades-ratón (desviación estandar = 500) por mg de toxina seca, o 9 veces más (por unidad de peso) que el veneno de cobra, o 1250 veces más que el cianuro de potasio (Schantz 1965, Ray 1971, Schantz 1979). Así, la ingestión de 0.2 a 0.3 mg de saxitoxina puede ser letal para el ser humano (Schantz 1966, 1979).

No aparecen informes en la literatura médica costarricense sobre casos o brotes de IPM. No obstante, el problema lo conocen diversos profesionales, y el peligro de la "marea roja" y "marea amarilla" es reconocido por los pescadores locales. Aunque se presume que la IPM ha existido en la costa del Océano Pacífico desde la época precolombina, no es sino hasta recientemente que se le documentó científicamente. Entrevistas en varias localidades costeras indicaron que las mareas rojas se asocian con casos de IPM, lo que ha despertado el interés de biólogos, químicos, ecólogos y microbiólogos del país (Tamayo & Cicció 1983, Alfaro-Montoya 1985, Hargraves & Víquez 1985, Víquez 1985, Blanco-Brenes & Mata-Jiménez 1991, Rojas-Carrión & Mata 1987). Sus informes mencionan la presencia de *Gonyaulax monilata* y otras especies tóxicas en las mareas rojas de Costa Rica (Hargraves & Víquez 1981, 1985, Víquez 1985, Alfaro-Montoya 1985). No se encontró literatura sobre los transvectores incriminados en la IPM en Costa Rica. El objetivo de este informe es describir el brote de IPM en Costa Rica ocurrido en octubre de 1989, su cuadro clínico, causalidad,

diagnóstico de laboratorio y pautas para el control y prevención de la intoxicación.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes. Se estudió el cuadro clínico de casos de IPM notificados a la Sección de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud (7 adultos y 5 niños), y al Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) de la Universidad de Costa Rica (dos adultos).

Moluscos. Se estudiaron cuatro lotes de mariscos: 1) ostiones vaca (*Spondylus calcifer*) adultos, consumidos crudos como entremeses o "bocas" de bebidas alcohólicas. El lote se asoció con la intoxicación de los adultos notificados al INISA. Los ostiones fueron pescados el 10 de octubre de 1989 en Quebrada Ganado - entre Agujitas y Tárcoles - en la Costa del Océano Pacífico, a una profundidad de aproximadamente 5 metros. El pescador indicó que el agua estaba rojiza y turbia hasta una profundidad de 2.5 metros, por lo que no creyó que los mariscos fueran aptos para el consumo. Los ostiones fueron congelados durante 2 días, distribuidos en lotes de 10 unidades cada uno y colocados en refrigeración hasta el 14 de octubre, en que fueron consumidos. 2) Navajas (*Tagelus* sp.) utilizadas en "sopa de mariscos", a menudo consumidas junto con bebidas alcohólicas. Las navajas fueron también recolectadas en la misma región, y se asociaron al brote de IPM notificado al Ministerio de Salud en noviembre de 1989. 3) Pianguas (*Anadara tuberculosa*), vendidas sin cocción como "ceviche de chuchucas" cuando se consumen bebidas alcohólicas. El lote fue pescado durante la marea roja (octubre), pero no se asoció con IPM. 4) camarones (peneidos) del sitio de donde provenían los ostiones vaca, cosechados dos semanas después de la marea roja de octubre.

Búsqueda de dinoflagelados. Se observó al fresco el contenido del intestino y los tejidos de ostión vaca y otros moluscos (mezclas o individualmente), en suero fisiológico, al microscopio de luz.

Demostración de toxina. Se preparó macerados de intestino, músculo, manto y hepa-topáncreas de ostión vaca, y macerados de los otros mariscos, y se investigó la toxina en lotes ("pooles") o en especímenes individuales. Los macerados se hicieron en suero fisiológico utilizando morteros de porcelana. Se hicieron filtrados de los macerados en filtros Millipore de 0.4 μ . Algunas preparaciones fueron hervidas durante 30 minutos. El ensayo de la toxina se hizo en ratones machos blancos (cepa N:GP). Se inyectó un mililitro por la vía intraperitoneal (i.p.) de material "crudo" o filtrado, sin calentar o calentado, sin diluir o diluido (Halstead 1965). Se inocularon diluciones de 1:100 a 1:10.000, en cada uno de cuatro machos jóvenes de 15 a 20 gramos de peso. La actividad de toxina se expresó en "unidad-ratón", que se define como la cantidad de toxina que inyectada i.p. mata ratones de 18 a 20 gramos de peso en menos de 15 minutos, con síntomas característicos de parálisis y fallo respiratorio (Ray 1971). Este bioensayo detecta concentraciones mayores de 200 unidades-ratón por 100 gramos de molusco.

RESULTADOS

Brote de intoxicación paralítica por mariscos (IPM). Se notificaron 14 casos de IPM al Ministerio de Salud durante la segunda y tercera semanas de octubre de 1989. Siete adultos eran pescadores o vecinos de las comunidades pesqueras, dos adultos eran comerciantes de la Ciudad de San José, y cinco niños eran hijos de pescadores. Todas las personas afectadas habían consumido ostión vaca, la mitad de ellos junto con bebidas alcohólicas. Las comunidades involucradas están en el Golfo de Nicoya, Punta Leona, Tárcoles y Quepos. Se notificaron seis casos adicionales en febrero de 1990, asociados con el consumo de moluscos pescados en octubre de 1989 y mantenidos refrigerados desde entonces. Nuevos casos se notificaron en abril, y la primera muerte, en una mujer joven, ocurrió en abril de 1990.

Cuadro clínico. Todos los casos, menos un adulto, tenían parálisis de los miembros inferiores, y cuatro fueron hospitalizados. El cuadro estudiado con mayor detalle en dos adultos, reveló lo siguiente: *M.C.*, de 65 años de edad consumió medio ostión, el 14 de octubre al medio día, y al cabo de 30 minutos sintió hormigueo, mareos y adormecimiento de brazos, labios y piernas, con incapacidad de prensar con las manos, y flacidez en las piernas que le impidió caminar. Los síntomas fueron muy evidentes dos horas después de haber ingerido el molusco, por lo que no pudo continuar conduciendo el automóvil. El paciente presentó más de 25 espasmos por día, los cuales ascendían del tórax a la cabeza. Los espasmos habían disminuído a los cinco días, pero todavía aparecían varias veces por día. La marcha se recuperó 72-96 horas después, mas la fatiga persistió durante cinco días. Los síntomas desaparecieron a los ocho días, pero el malestar persistió hasta 15 días después. El paciente manifestó angustia persistente hasta su curación. *M.C.* (hijo del caso anterior), de 42 años de edad, el 13 de octubre consumió una quinta parte de un ostión sin que apareciera síntoma alguno. Al día siguiente comió un ostión entero, generándose en 45 minutos, hormigueo en brazos y labios y cansancio. El hormigueo persistió durante 24 horas, pero no apareció ningún otro malestar. Los casos de IPM son compatibles con un cuadro neurotóxico, asociados con síntomas respiratorios pero sin complicaciones de tipo gastrointestinal.

Molusco transvector. El ostión vaca (*S. calcifer*) (Fig., 1), variedad de *ostrea* muy apetecida, fue el principal transvector en el brote de IPM de octubre y meses subsiguientes, con base en que a) los casos de IPM ocurrieron después de la ingestión de éste y no de otros mariscos; b) el ostión vaca se recogió en áreas cubiertas por la marea roja; y c) había altas concentraciones de toxina en los tejidos del ostión. El peso promedio del molusco adulto sin la concha, medido en 36 especímenes, fue de 60.3 gramos (D.E. 12.32 g).

Dinoflagelado. Se encontró altas concentraciones de dinoflagelados en las mezclas de contenido intestinal del transvector. El examen individual del intestino de 36 ostiones reveló una alta concentración de dinoflagelados en 32. No se encontró dinoflagelados en el músculo, manto ni hepatopáncreas. Los dinoflagelados pertenecen a la especie *Pyrodinium bahamense* (Fig. 2), y estaban en su mayoría enteros y buen estado, aunque inmóviles. Ocho especímenes tenían abundantes dinoflagelados en todos los campos microscópicos, aunque 26 tenían menos. Dos moluscos "negativos" al examen, sin embargo tenían restos de dinoflagelados. El tamaño obtenido en 14 células fue de 46.9μ [2.5μ] (promedio [desviación estandar]). La teca posee un surco transversal (cingulum) y otro longitudinal (sulcus), para alojar sendos flagelos. La abundancia de dinoflagelados en el intestino de los moluscos (Fig. 2), en ausencia de otras especies de dinoflagelados, algas o diatomáceas potencialmente tóxicas, denota que esa especie predominaba en la marea roja de octubre. No se encontró dinoflagelados en *Tegelus*, *Anadara* ni camarones. Se concluyó que el *P. bahamense* se asoció causalmente con el brote de IPM. No pudo examinarse el agua de la marea roja.

Respuesta clínica de ratones a la toxina. Hubo diferencias individuales en la respuesta a la toxina contenida en tejidos del *S. calcifer*, que reflejan tanto diferencias en la concentración de toxina en los moluscos, como variabilidad individual de respuesta del ratón a la toxina. Sin embargo, el cuadro clínico fue estereotipado (Cuadro 1): pocos segundos después de la inyección i.p. de contenido intestinal o macerado de músculo, manto o hepatopáncreas, hay disminución en la actividad del ratón. Rápidamente, el animal se torna activo, su pelo se eriza y los párpados se entrecierran. En ese momento se observa frotamiento de los lados de

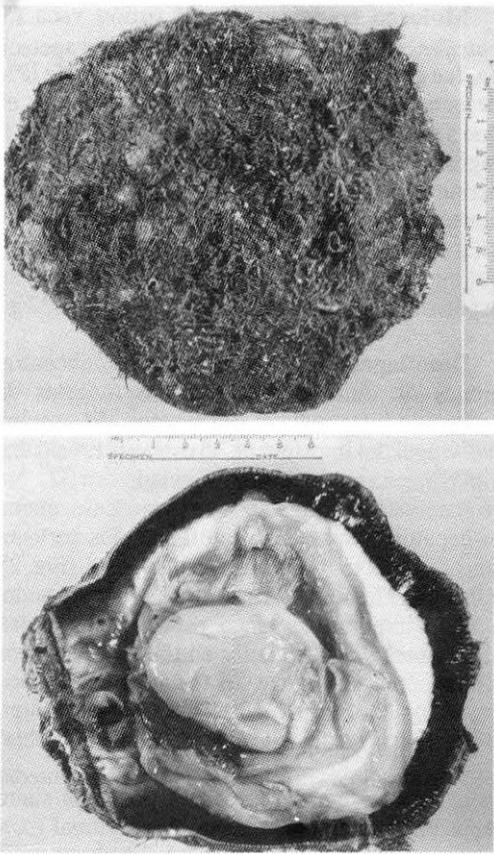


Fig. 1. *Spondylus calcifer* ("ostión vaca"), adulto de la Costa del Pacífico.

la cara con las patas delanteras y pocos segundos después hay hiperactividad y pérdida del equilibrio. El desenlace ocurre fracciones de minuto después, al aparecer espasmos respiratorios súbitos evidentes en la parte media del abdomen, muy notorios en el dorso y costados del abdomen y tórax. La mayoría de los ratones presenta estertores acompañados de saltos de hasta 15 centímetros, con parálisis y marcha incoordinada. El animal muere dramáticamente por asfixia. La muerte puede sobrevenir rápidamente, pocos segundos después de la inoculación, o puede ocurrir hasta diez o más minutos post-inoculación. Se observaron efectos claros de la toxina en el intestino y músculo hervidos durante 30 minutos.

Toxina en tejidos crudos de *S. calcifer*.

Intestino: Los ratones inoculados con un mililitro de diluciones 1:100 y 1:1000 de macerado de varios intestinos, murieron en

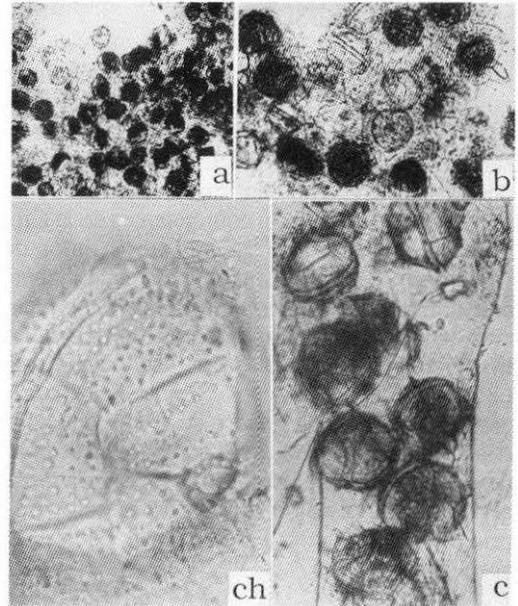


Fig. 2. *Pyrodinium bahamense* en el intestino de *Spondylus calcifer*, octubre de 1989, Costa Pacífica, Costa Rica. Preparaciones al fresco bajo microscopía de luz. a. Masas de dinoflagelados 97x; b. Organismos en que se observa el sulcus, 194x; c. Otros organismos en que se aprecia la teca, sulcus y en algunos, cingulum, 389x; ch. Organismo bajo aceite de inmersión, en que se observa las placas y superficie de la teca, 1166x.

menos de cinco minutos. Los ratones inoculados con diluciones más altas sobrevivieron más de 24 horas (Cuadro 2). La dilución 1:100 de contenido del intestino de moluscos individuales, también fue tóxica, observándose variabilidad en el tiempo de muerte de los ratones, de 50 segundos a 2 minutos y medio (Cuadro 3). **Músculo y manto:** Los ratones inoculados con un mililitro de la dilución 1:100 de mezclas de macerado de músculo o manto también murieron en 0.5 a 2.5 minutos. **Hepatopáncreas:** Se demostró toxina en este órgano, en mezclas o moluscos individuales, en diluciones 1:100 y 1:1000, con un tiempo de muerte de uno a cuatro minutos (Cuadro 4).

Toxina en filtrados de tejidos de *S. calcifer*.

Intestino: Los filtrados de macerados de intestino de mezclas y de moluscos individuales, obtenidos con membranas Millipore de 0.4μ , fueron tan tóxicos como las preparaciones crudas

CUADRO 1

Intoxicación en ratones, macerado de músculo de Spondylus calcifer filtrado y calentado

Ratón número	Concentración del extracto	Tiempo en segundos a la aparición del signo
1	0.01	45 seg, hiperactivo
		60 seg, saltos
		90 seg, asfixia y muerte
2	0.01	30 seg, hiperactivo
		40 seg, tambaleo
		50 seg, saltos
		70 seg, asfixia y muerte
3	0.005	15 seg, homniguelo nariz
		60 seg, hiperactivo, tambaleo
		60 seg, saltos, parálisis,
		90 seg, asfixia, muerte

CUADRO 2

Toxicidad en ratones, extracto crudo de intestino de moluscos (S. Calcifer) individuales

Concentración del macerado	Segundos para morir	Muertes/ inoculados	Signos clínicos
0.01	< 60	4/4	hiperquinesia
0.001	< 300	4/4	espasmos, asfixia, muerte
0.0001	sobrevive al menos 24 horas	0/4	signos leves, pelo erizado, letargo

(Cuadro 5). **Músculo y manto:** Los filtrados de músculo y manto, tanto de mezclas como de moluscos individuales, también fueron tóxicos en el ratón (Cuadro 5).

Toxina en "navajas" (*Tagelus* sp.): Se encontró toxina en el lote de "navajas", aunque en

CUADRO 3

Tiempo de muerte, intoxicación en ratones inoculados con filtrados de intestino individual de S. calcifer

Ratón número	Concentración del macerado	Tiempo en segundos
1	0.01	170
2	0.01	75
3	0.01	50
4	0.01	170
5	0.005	170

CUADRO 4

Tiempo para morir de ratones inoculados con filtrados de hepatopáncreas de S. calcifer

Ratón número	Concentración del macerado	Tiempo de muerte, seg
1	0.01	120
2	0.01	150
3	0.005	60
4	0.005	150
5	0.001	120
6	0.001	120
7	0.001	180
8	0.001	270

CUADRO 5

Experimentos para evidenciar la toxina presente en Spondylus calcifer, en ratones

Material	Tratamiento	Muertes-paralizados/ inoculados
intestino	crudo	8/16
intestino	filtrado	6/6
intestino	filtrado, hervido	2/3
manto	crudo	4/4
manto	filtrado	17/26
manto	filtrado, hervido	5/5
hepatopáncreas	filtrado	8/8
Total		50/68*

* 68 ostiones diferentes

menor cantidad que en ostión vaca. Algunos ratones sucumbieron en 5 - 10 minutos, pero otros sobrevivieron 24 horas sin síntomas de la toxina.

Búsqueda de toxina en pianguas (*A. tuberculosa*) y camarones: No se observó actividad tóxica en los lotes de estos mariscos empleando el mismo bioensayo.

DISCUSION

El presente informe documenta, por primera vez en Costa Rica, un problema de salud que debe haber ocurrido intermitentemente en el pasado. Al igual que en otras regiones del globo (Halstead & Schantz 1984, Maclean & White 1985, Velásquez *et al.* 1988, Rodrigue *et al.* 1990), la intoxicación parálitica por mariscos (IPM) observada recientemente en Costa Rica, se asoció con el consumo de moluscos que habían ingerido el dinoflagelado *Pyrodinium bahamense*. Los transvectores identificados en Costa Rica son el "ostión vaca" (*Spondylus calcifer*), y en menor grado la "navaja" (*Tagelus* sp.). Se demostró la existencia de una toxina de tipo neurotóxico (posiblemente saxitoxina), en el intestino, músculo, manto y hepatopáncreas del ostión vaca y en menor grado en *Tagelus* sp., en cantidad suficiente como para generar síntomas típicos de parálisis, asfixia y muerte en ratones y en seres humanos. La toxina, que estaba presente en diluciones de manto e intestino de hasta 1:1000, es compatible con la saxitoxina. La toxina fue evidenciada en el intestino, músculo, manto y hepatopáncreas de moluscos que contenían en su intestino altas dosis de *P. bahamense*. Los moluscos no mostraron cambios en sus cualidades organolépticas ni en su aspecto general. La toxina es resistente al calor por lo que la cocción no evita la intoxicación; además, permanece estable durante meses de refrigeración y congelación, y sus efectos se exacerban con el consumo de alcohol, lo que dificulta el control y prevención de la IPM. Esta toxina causa la muerte del ratón por parálisis y fallo respiratorio, los cuales son síntomas similares a los observados en seres humanos. El pequeño brote de IPM observado en Costa Rica no permitió establecer su letalidad, pero ésta es alta a juzgar por la experiencia de Guatemala (Rodrigue *et al.* 1990). La IPM es un problema de salud relativamente raro que aparece después de las mareas rojas y en semanas subsiguientes. Con el auge de la refrigeración y congelación, el problema podría agudizarse en tanto los moluscos tóxicos almacenados podrían consumirse inadvertidamente después de que haya terminado la marea roja. La mayoría de los casos de IPM puede prevenirse mejorando el nivel de conocimiento y educación de la población sobre el peligro y manera de proceder con la marea roja. A esto debe agregarse la necesidad del control de calidad de los mariscos durante la marea roja, y de

la destrucción de los lotes tóxicos. Se recomienda mejorar el acervo de los pescadores y comerciantes de mariscos involucrados en la IPM. Asimismo, debe mejorarse el sistema de vigilancia y notificación de la marea roja y casos de IPM. Para ello debe realizarse acciones intersectoriales entre los entes del estado y los responsables de la pesca, comercio y distribución de los mariscos. Debe realizarse el examen de moluscos durante la marea roja (control de calidad), empleando técnicas como las aquí descritas para evidenciar e identificar dinoflagelados y sus toxinas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración de los funcionarios del INISA Marcela Vives, Freddy Fernández y Roldan Ajún. Armando Ruiz, Alfonso Mata y Oscar Blanco aportaron información técnica y María Luisa Fournier determinó la especie del transvector (Universidad de Costa Rica). Los especímenes de molusco fueron enviados por Mario Carranza (referido por Herbert Nanne). Guillermo López-Calleja y Willy Carrillo, del Ministerio de Salud, también enviaron ostiones y otros mariscos.

RESUMEN

Se estudió un brote de intoxicación parálitica por mariscos (IPM) que afectó varias poblaciones humanas de la Costa Pacífica de Costa Rica, en octubre de 1989. El cuadro clínico en adultos consistió en adormecimiento de brazos, cara y piernas, 30 a 45 minutos después de ingerir moluscos crudos. El cuadro se acompañó de dificultad o incapacidad para caminar (parálisis) y síntomas respiratorios y neurológicos durante varios días. El principal transvector fue el "ostión vaca" (*Spondylus calcifer*) el cual contenía en su intestino grandes cantidades de *Pyrodinium bahamense*. Por inoculación de ratones blancos se demostró una toxina en preparaciones crudas y filtradas de intestino, músculo, manto y hepatopáncreas del ostión vaca y, en menor grado, de "navajas" (*Tagelus* sp.). El efecto de la toxina fue inmediato, y consistió en parálisis seguida de muerte por asfixia. La toxina es resistente al calor y no ocasiona alteraciones en la apariencia y características organolépticas de los tejidos del molusco. No se demostró toxina en "pianguas" (*Anadara tuberculosa*) ni en

camarones peneidos. Se recomienda establecer un sistema de vigilancia de la marea roja, el examen periódico de mariscos en esa época, la educación del personal a cargo de la pesca y comercialización de moluscos, y la educación de la comunidad y personal de salud para reconocer los casos leves y moderados.

REFERENCIAS

- American Public Health Association/California State Department of Health Services (APHA/CSDHS). 1983. Control of Communicable Diseases in California, p. 190-193. *In* J. Chin *et al.* (eds.). California State Department of Health Services.
- Alfaro-Montoya J. 1985. Efecto de *Cochlodinium catenatum* sobre moluscos y vertebrados: resultados preliminares. *In* Memorias del Primer Seminario sobre la Problemática Pesquera de Costa Rica. 17 p. Universidad de Costa Rica, Sede de Occidente, Puntarenas.
- Barnes, R.D. 1969. Zoología de los Invertebrados. Interamericana, México. p. 340-368.
- Blanco-Brenes, O. & A. Mata-Jiménez. Mareas Rojas. *In* O. Blanco-Brenes & A. Mata-Jiménez. (eds.). Biología Tropical. La Cuenca del Golfo de Nicoya. Editorial Universidad de Costa Rica, en prensa.
- Dodge, J.D. & J.J. Lee. 1982. Order 2. Dinoflagellida Butschli, 1885, p. 22-41. *In* Illustrated Guide to the Protozoa, Society of Protozoologists. Lawrence, Kansas.
- Gainey, L.F. & S.E. Shumway. 1988. A compendium of the responses of bivalve mollusks to toxic dinoflagellates. *J Shellfish Res.* 7:623-628
- Halstead, B.W. 1965. Poisonous and Venomous Marine Animals of the World: Invertebrates. Vol I. U.S. Govt. Print. Off., Washington, D.C. 994 p.
- Halstead, B.W. & E.J. Schantz. 1984. Intoxicación Parálitica por Mariscos, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Pub. offset No. 79. 59 p.
- Hargraves, P.E. & R. Viquez. 1981. The dinoflagellate red tide in Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 29:31-38.
- Hargraves, P.E. & R. Viquez. 1985. Spatial and temporal distribution of phytoplankton in the Gulf of Nicoya, Costa Rica. *Bull. Mar. Sci.* 37:577-585.
- Iwasaki, H. 1979. Physiological ecology of red tide flagellates, p. 357-402. *In* M. Levandowsky, S.H. Hutner & L. Provasoli. (eds.). Biochemistry and Physiology of Protozoa, Academic Press, Nueva York.
- Iwasaki, H. 1989. Recent progress of red tide studies in Japan: an overview, p. 3-9. *In* T. Okaichi, D. Anderson & T. Nemoto (eds.). Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology. Elsevier Science, Nueva York.
- Iwasaki, H. & K. Iwasa. 1982. Studies on the red tide flagellate - VII *Prorocentrum micans* (Levandinoides Type) appeared in Ise Bay, 1978. *Bull. Fac. Fisheries (Mie University)* 9:49-56.
- Keen, A.M. & J.H. Mclean. 1971. Sea Shells of Tropical West America. Marine Mollusks from Baja California to Peru, 2nd ed. Stanford University, Stanford. 96 p.
- Kudo, R.R. 1946. Protozoology. (Order 6 Dinoflatellata), 3rd. ed. Charles C. Thomas, Illinois. p 245-262.
- Maclean, J. & A. White. 1985. Toxic dinoflagellate blooms in Asia: a growing concern, p. 517-530. *In* D.M. Anderson, A.W. White & D.G. Baden (eds.). Toxic Dinoflagellates. Elsevier, Nueva York.
- Marranghello, L. 1989. Ministerio de Salud, Vigilancia Epidemiológica, La Nación, Costa Rica octubre.
- Morris, P.A. 1966. A Field Guide to Pacific Coast Shells, Including Shells of Hawaii and the Gulf of California. 2nd ed. Houghton Mifflin, Boston. p 128-129.
- Oliver, A.P.H. 1980. The Larousse Guide to Shells of the World. Larousse, Nueva York. p. 304-305.
- Ray, S.M. 1971. Paralytic shellfish poisoning: A status report, p. 171-200. *In* T.C. Cheng (ed.). Current Topics in Comparative Pathobiology 1:171-200.
- Rodrigue, D.C., R.A. Etzel, S. Hall, E. de Porras, O.H. Velazquez, R.V. Tauxe, E.M. Kilbourne & P.A. Blake. 1990. Lethal paralytic shellfish poisoning in Guatemala. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 42:267-271.
- Rojas-Carrión, J.C. & A. Mata. 1987. Consideraciones Microbiológicas y de Contaminación en Aguas de Mar. Asignatura 5P-1438, Escuela de Química, Universidad de Costa Rica.
- Schantz, E.J. 1965. Chemical studies on shellfish poisons, p. 18-21. *In* W.A. Felsing, Jr. (ed.). Proceedings of the Joint Sanitation Seminar on North Pacific Clams. Alaska Dept. Health and Welfare, US Pub Health Serv. Washington, D.C.
- Schantz, E.J. 1979. Poisonous dinoflagellates, p. 403-419. *In* M. Levandowsky, S.H. Hutner & L. Provasolia (eds.). Biochemistry and Physiology of Protozoa. Academic, Nueva York.
- Tamayo, G. & J.F. Ciccío. 1983. El peligro de las mareas rojas. *Ingen. Cienc. Quím.* (Costa Rica) 7:8-12.
- Velásquez, O.H., F. Rosales & E. Canahui. 1988. Epidemia de Intoxicación por Saxitoxinas (Intoxicación Parálitica por Mariscos). Ministerio de Salud, Guatemala. 49 p.

Viquez, R. 1985. Problemática de la marea roja en el Golfo de Nicoya, p. 14. *In* Memorias, Primer Seminario sobre la Problemática Pesquera de Costa Rica, Puntarenas, Costa Rica. McGraw-Hill, Nueva York.

Warrell, D.A. 1990. Venomous and poisonous animals, p. 537- 541 *In*: K.S. Warren & A.A.F. Mahmoud (eds.).

Tropical and Geographic Medicine. McGraw-Hill, Nueva York.

World Health Organization. 1990. Report of WHO Consultation on Public Health Aspects of Seafood-Borne Zoonotic Diseases, WHO/CDS/VPH/90.86. Ginebra. 25 p.