

Ege ve Marmara Denizi'nde Avlanılan Midye ve İstiridyelerin Felç Yapıcı ve İshal Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksinleri Yönünden Araştırılması ^[1]

Sadık KÜÇÜKGÜNAY *  Ali BİLGİLİ **

[1] Bu çalışma doktora tezinden güncellenerek özetlenmiştir

* Et ve Balık Kurumu Genel Müdürlüğü Sincan Et Kombinasyonu, TR-06930 Ankara - TÜRKİYE

** Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, TR-06110 Ankara - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2010-2646

Özet

Araştırma, Ege ve Marmara Denizi'nden avlanılan midye ve istiridyelerde felç yapıcı ve ishal yapıcı kabuklu su ürünü toksinlerinin bulunup bulunmadığını, varsa insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturacak düzeylerde olup olmadığını, hangi bölgelerde ve hangi mevsimlerde rastlanıldığını ortaya koymak amacıyla yapıldı. Analizler Mayıs, Temmuz ve Kasım aylarında toplanan 72 grup midye ve istiridye örneği üzerinde yapıldı. Yöntem olarak bu tip zehirlenmelerin tespitinde en güvenilir test olarak kabul edilen "fare biyolojik metot" kullanıldı. Analiz sonuçlarına göre ishal yapıcı kabuklu su ürünü toksinlerine hiç rastlanmadığı, felç yapıcı kabuklu su ürünü toksinlerinin ise İzmir ve Balıkesir'de ilkbahar sonu ve yaz aylarında bulunabileceği, ancak insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturacak miktarlarda olmadığı görüldü.

Anahtar sözcükler: *Dinofisistoksin, Fare biyolojik metot, İstiridye, Midye, Okadaik asit, Saksitoksin*

The Investigation of The Presence of Paralytic and Diarrhetic Shellfish Toxins in Commercially-Cought Mussels and Oysters from Aegian and Marmara Seas

Summary

The aim of this study was to research whether there were paralytic and diarrhetic shellfish toxins in mussels and oysters that were commercially-cought from Aegian and Marmara Seas, and in case of presence, to evaluate whether these toxins were hazardous for human health, and to assert the seasons and regions in which these toxins were abundant. Samples from 72 group of mussels and oysters which were collected in May, July and October were analyzed in the study. 'Mouse Biological Method', which was accepted as the most certain test for such toxication tests, was used as the main method. The data showed that diarrhetic shellfish toxins were not found in any region, but paralytic shellfish toxins may be found in İzmir and Balıkesir during summer and at the end of spring. In addition, the amount of toxins did not carry risk for human health.

Keywords: *Dinophysistoxin, Mouse biological method, Mussel, Oyster, Okadaic acide, Saxitoxin*

GİRİŞ

Dinoflagellate türleri, çok değişik türde doğal toksin üretebilir. Algler tarafından da üretilebilen bu toksinlerle kontamine kabuklu su ürünlerinin tüketilmesi sonucu, felç yapıcı kabuklu su ürünü zehirlenmesi (FKZ), nörotoksik

kabuklu su ürünü zehirlenmesi (NKZ), amnezik kabuklu su ürünü zehirlenmesi (AKZ), ishal yapıcı kabuklu su ürünü zehirlenmesi (İKZ), ciguatera balık zehirlenmesi ve azaspirasid kabuklu su ürünü zehirlenmesi meydana gelir ¹.



İletişim (Correspondence)



+90 312 2701932



skgunay@hotmail.com

Kontamine kabuklu su ürünlerini tüketen insanlarda görülen zehirlenmeler sonucunda FKZ toksinleri tespit edilmiştir². Aynı toksinler tatlı su siyanobakterilerince de üretilmekte olup^{2,3}, bu toksinlerle kirlenmiş suları içen insan ve hayvanlarda da sağlık açısından istenmeyen etkiler meydana getirmektedir³. Tüm dünyaya dağılım göstermiş olan bu organizmalar içme su kaynaklarında da yaygın olarak bulunmaktadır. Zehirli toksinlerin içme sularındaki düzeyleri kabuklu su ürünlerindekiinden daha düşüktür².

FKZ toksinleri; ısıya ve soğuğa⁴, asit ortama, pişirme ve haşlama işlemlerine dayanıklı, bazik ortamda ise dayanıksızdır. Tetrodotoksin gibi guanidium bileşimidirler^{5,6} ve tetrahidropurin yapısı içerirler^{7,8}. *Protogonyaulax* türü dinoflagellatalardan orijin alan saksitoksin, gonyatoksin 1, gonyatoksin 2, gonyatoksin 3, gonyatoksin 4⁹, gonyatoksin 5, gonyatoksin 6, gonyatoksin 7 ve neosaksitoksin olarak anılan dokuz farklı tip izole edilmiştir. En zehirlileri saksitoksin ve gonyatoksin 3'dür^{8,10-13}. Öldürücü dozları türe ve canlının ağırlığına göre değişir¹². Toksinler, sinir ve kas hücre zarlarında sodyum kanallarını bloke ederek sodyum geçişini^{5,6,14-16} ve çevresel sinir iletimini engellerler^{7,17}. Solunum felcine^{18,19}, solunum güçlüğüne, yüz felcine²⁰ ve kan basıncının düşmesine sebep olurlar^{6,7}.

Kabuklu su ürünleri, toksin üreten mikroorganizmaları taşımak suretiyle zehirlenmeye sebep olurlar^{21,22}. İnsanlardaki öldürücü dozu 0.3-1 mg kadardır^{9,10,22-24}. Su ürünlerinin yenilebilir et kısmı için belirlenen en düşük saksitoksin miktarı 80 µg/100 g'dır^{17,25-32}.

İKZ'leri gıda zehirlenmelerinin özel bir tipidir. Bu zehirlenmeyle ilgili Dinophysis türü dinoflagellatalardan orijin alan¹⁷ okadaik asit, dinofisistoksinler ve pektenotoksinler ve yessotoksinler olarak anılan 4 farklı toksin grubu saptanmıştır²⁸.

Bu grup toksinler, mide bağırsak ve iskelet sistemi üzerine etkilidirler³⁰. Farelere periton içi yolla uygulanan pektenotoksinlerin karaciğer nekrozuna, yessotoksinlerin ise kalp kasında hasar yaptığı tespit edilmiştir. Azaspirasidler dahil²⁸, toksinlerin tümü mide-bağırsak kanalı belirtileriyle karakterize ishal yapıcı kabuklu su ürünü zehirlenmesine sebep olurlar³¹. Tolerans düzeyi 0-60 µg/100 g'dır²⁹.

Fare biyolojik metot, toksisitenin belirlenmesi için kullanılan en güvenilir testtir ve bu test bir kontaminanttan daha fazlasının değerlendirilmesini de sağlar. Antikor ölçümlerine dayanan testleri de içine alan diğer birçok metot, dönüşüm faktörlerini kullanarak hesaplanan toksisitenin hangi toksin yoğunluklarında olduğunun tahminini sağlamaktadır³². Etik ve teknik neden-

ler fare deneylerine alternatif olarak yeni tekniklerin bulunmasını teşvik etmiştir. Fakat antikor ve saksitoksin çipleri kullanılarak yapılan yeni testlerin çok fazla iş yükü getirdiği belirtilmiştir²⁷. Kabuklu deniz ürünlerinde FKZ toksinlerini izleme şu anda uluslararası akredite "Association of Official Analytical Chemists (AOAC)" fare biyolojik metodu kullanılarak yapılmaktadır. Fare biyolojik metodunun FKZ toksinlerinin analizleri için kullanılmasının gerekliliği Avrupa Komisyonu direktiflerinde de belirtilmiştir³³.

FKZ toksinlerinin fare biyolojik metotla analizlerinde sonuçlar; 100 g kabuklu su ürünü etinde µg saksitoksin olarak hesap edilir ve saksitoksin tespiti için elde edilen süzütünün fareye enjeksiyonundan sonra bir saat süreyle fare ölümlerinin gözlenmesi ile değerlendirilir^{26,34}. Süzüntü işlemi genellikle 0.1 N HCl ile gerçekleştirilir ve pH değeri tercihen 2.5-3'e ayarlanır. PH ayarlaması için HCl asit (5N HCl) ve NaOH (0.1 N NaOH) kullanılır. Örnek 5 dak kaynatılır, sonra soğutulur ve tekrar pH ayarlaması yapılır^{34,35}. İshal yapıcı kabuklu su ürünü toksinlerinin fare biyolojik metotla analizlerinde sonuçlar; kabuklu su ürünü etinden elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonundan sonra 24 saat süreyle fare ölümlerinin gözlenmesi ile değerlendirilir^{34,36}.

Bu çalışma ile, Ege ve Marmara Denizi'nden avlanılan midye ve istiridyelerde felç yapıcı ve ishal yapıcı kabuklu su ürünü toksinlerinin bulunup bulunmadığının, varsa insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturacak düzeylerde olup olmadığının, hangi bölgelerde ve hangi mevsimlerde rastlanıldığının ortaya konulması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada, 1999 yılında Ege ve Marmara Denizi'nden avlanılan midye ve istiridyeler kullanıldı. Midye ve istiridye örnekleri, Ege Denizi'nin İzmir, Balıkesir (Ayvalık) ve Çanakkale sahilleri ile Marmara Denizi'nin Çanakkale, Balıkesir (Bandırma) ve İstanbul sahillerinden, Mayıs, Temmuz ve Kasım aylarında ikişer defa olmak üzere her noktadan toplam altı kez toplandı. Kış mevsiminde midye ve istiridye avlanılmadığı için örnek toplanmadı. Toplanan her grup örnek en az ikişer adet olmak üzere toplam 36 grup midye ve 36 grup istiridye örneği toplandı.

Toplanan bu örnekler, 18°C'de muhafaza edilerek analizleri 1999 yılı içerisinde tamamlandı ve yerel etik kurul ilkelerine uyuldu.

FKZ Toksin Tespiti

Midye ve istiridye örneklerinin ayıklanan 150 g kadar et kısmı parçalandıktan sonra, 100 g örnek bir behere

tartıldı. Üzerine 100 ml 0.1 N HCl asit ilave edilerek iyice karıştırıldı. Karışım, pH metre ile pH'sı 2.5'a ayarlandı. Hafif ateşte beş dakika kaynatıldı. Oda sıcaklığına kadar soğutuldu. pH'sı tekrar 2.5'a ayarlandı. Karışım, dereceli kaba aktarılarak distile su ile 200 ml'ye tamamlanarak karıştırıldı. Santrifüj tüplerine bir miktar alındı ve 3000 devirde beş dakika santrifüj edildi. Her süzüntüden, 18-21 ağırlığındaki üç adet test faresine periton içi yolla birer ml enjekte edildi. Fareler birer saat gözlem altında tutuldu. Ölüm görülen örneklerde 0-80 µg/100 g miktarlarında FKZ toksinlerinin bulunduğu tespit edildi.

İKZ Toksin Tespiti

Midye ve istiridye örneklerinin iç kısımlarından 20-25 g bir cam balona tartıldı. Örnek, bir parçalayıcıda parçalandı ve sonra 20 g tartıldı. Tartılan 20 g örnek üzerine 100 ml aseton ilave edilerek, karıştırıcı vasıtasıyla beş dakika karıştırıldı. 500 ml'lik bir balon içerisinde üstteki sıvı kısmı süzgeç kağıdı yardımıyla süzülerek alındı. Bu işlem üç defa yapıldı. Elde edilen süzüntü (yaklaşık 300 ml) 40-50°C'de bir evaporatorda buharlaştırıldı. Asetonik faz tamamen buharlaştırıldıktan sonra 15 ml distile su ile tekrar süspanse edildi. 100 ml'lik ayırma hunisinde 50 ml etil eter ile süzüntü işlemi gerçekleştirildi. Eter ile su fazının süzüntü işlemi 2 kez tekrar edildi. Eter süzüntüleri 1 balon içinde toplandı. Evaporatorda buharlaştırıldı. Son kalıntıya 4 ml %1'lik Tween 60 ilave edilerek, %1'lik Tween 60 içinde çözdürüldü. Her süzüntüden, 18-21 g ağırlığındaki üç adet test faresine periton içi yolla birer ml enjekte edildi. Fareler, 24 saat gözlem altında tutuldu. Ölüm görülen örneklerde 0-80 µg/100 g miktarlarında İKZ toksinlerinin bulunduğu tespit edildi.

BULGULAR

FKZ toksini bulunup bulunmadığının ortaya konulması için; Ege Denizi, İzmir kıyılarından Temmuz ayında toplanan 2 grup midye ve Mayıs ayında toplanan ikinci grup istiridye örneğinden elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu sonucunda her 1 gruptan birer fare ölümü görüldü. Balıkesir kıyılarından, Mayıs ayında ikinci defa toplanan midye ve Temmuz ayında toplanan birinci grup istiridye örneğinden elde edilen süzüntünün farelere enjeksiyonu sonucunda birer fare ölümü görüldü. Çanakkale kıyılarından toplanan midye ve istiridye örneklerinin analizinde hiçbir fare ölümü görülmedi. Marmara Denizi, Balıkesir kıyılarından Temmuz ayında toplanan birinci grup midye ve istiridye örneklerinden elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu sonucunda birer fare ölümü görüldü. Toplanan diğer midye ve istiridye örneklerinden elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu sonucunda hiçbir fare ölümü görülmedi (*Tablo 1*).

İKZ toksini bulunup bulunmadığının ortaya konulması için; midye ve istiridye örnekleri üzerinde yapılan analizlerde farelere yapılan enjeksiyonlar sonucunda hiçbir fare ölümü görülmedi (*Tablo 2*).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kabuklu su ürünü zehirlenmesi tüm dünyanın bir problemidir. Dünya genelinde proteinli besin maddesi ihtiyacının artması ile su ürünlerine yönelimin hız kazanması nedeniyle bu zehirlenmelere maruz kalma riski de artmaktadır. Ciddi planlama, düzenli olarak kabuklu su

Tablo 1. Ege ve Marmara Denizi'nden toplanan midye ve istiridye örneklerindeki saksitoksin bulguları (ölen fare sayısı/süzüntü uygulanan fare sayısı)

Table 1. Paralytic shellfish toxin findings in mussel and oyster samples obtained from Aegean and Marmara Seas (died mouse number/mouse number processed extraction)

Örnek Çeşidi	Örnek No	Ege Denizi			Marmara Denizi			Toplam
		İzmir	Balıkesir	Çanakkale	Çanakkale	Balıkesir	İstanbul	
Ölen fare/süzüntü uygulanan fare Midye	Mayıs-1	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/18
	Mayıs-2	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/18
	Temmuz-1	1/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	2/18
	Temmuz-2	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/18
	Kasım-1	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/18
	Kasım-2	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/18
Ölen fare/süzüntü uygulanan fare İstiridye	Mayıs-1	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/18
	Mayıs-2	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/18
	Temmuz-1	0/3	1/3	0/3	0/3	1/3	0/3	2/18
	Temmuz-2	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/18
	Kasım-1	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/18
	Kasım-2	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/18
Toplam	12	3/36	2/36	0/36	0/36	2/36	0/36	7/216

Tablo 2. Ege ve Marmara Denizi'nden toplanan midye ve istiridye örneklerindeki İKZ toksin bulguları (Ölen fare/Süzüntü uygulanan fare)**Table 2.** Diarrhetic shellfish toxin findings in mussel and oyster samples obtained from Aegean and Marmara Seas (Died mouse number/Mouse number processed extraction)

Örnek Çeşidi	Örnek Sayısı	Ege Denizi			Marmara Denizi			Toplam
		İzmir	Balıkesir	Çanakkale	Çanakkale	Balıkesir	İstanbul	
Midye	6	0/18	0/18	0/18	0/18	0/18	0/18	0/108
İstiridye	6	0/18	0/18	0/18	0/18	0/18	0/18	0/108
Toplam	12	0/36	0/36	0/36	0/36	0/36	0/36	0/216

ürünlerinde toksin düzeylerinin izlenmesi ve yaygın halk sağlığı programları ile bu tür zehirlenmelerin önüne geçilebilir ¹⁴.

FKZ toksinlerinin tespitinde kullanılan ELISA, yüzey plazmon rezonans biosensör deneyleri ve fare deneyleri gibi testlerin kullanımı, son kullanıcının amaçlarına yönelik olarak seçilip kullanılmalıdır ³⁷. Kromatografik metotlar her zaman toksisitenin güvenilir indikatörü değildir. Fare deneyi AB direktiflerinde kabuklu su ürünlerinin analizlerinde kullanılan geçerli metot olarak yer almıştır ³³.

İKZ toksinlerin identifikasyonu amacıyla 2002, 2006 ve 2007 yıllarında zehirlenme olgularında toplanan numunelerde fare deneyi, yüksek performanslı likid kromatografisi ve protein fosfataz 2A inhibisyon testleri kıyaslanmış ve uygulamalar sonrası bu testler arasındaki korelasyonların çok yüksek olduğu saptanmıştır ³⁸⁻⁴⁰.

Ham İKZ toksinleri üzerinde 1978-1982 yıllarında Osaka'da meydana gelen zehirlenmelerde rol oynayan deniz tarağından asetonla ekstraksiyon yapılarak izole edilen dinofisitoksin 1, dinofisitoksin 3, pektenotoksin 1 ve okadaik asit gibi toksinlerle süt emen fare ve tavşanlar üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmış, ince bağırsak incelemesinde epitelyum hasarı ve lamina propria ödem görülmüştür ³¹.

Bu tip zehirlenmelerin daha çok Mayıs ve Eylül ayları arasında ve kırmızı renk değişikliği (red-tide) olayının meydana geldiği denizlerde görüldüğü bildirilmektedir ^{6,7,12,16}. Shanghai'da yapılan bir çalışmada kontamine örneklerin hep Mayıs, Haziran ve Temmuz aylarında olduğu tespit edilmiştir ⁴¹.

Örnekleme planında kabukluların zehirliliği ihmal edilebilir bir düzeyden öldürücü bir düzeye bir haftadan daha kısa sürede çıkabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Midyeler için bu süre 24 saatten bile kısa olabilir. Zehirlilik seviyesi hayvanın yaşadığı coğrafik bölgeye, su akıntısına ve denizdeki renk değişikliği olaylarına göre değişiklik gösterir ²⁹.

Ege ve Marmara Denizi kıyılarında, literatür kayıtlarında belirtildiği gibi dünyanın çeşitli bölgelerinde meydana gelen kırmızı renk değişikliği olayları pek fazla görülmemektedir. Sadece İzmir Körfezi'nde *Protogonyaulax tamarensis*'in sebep olduğu varsayılan renk değişikliği az da olsa meydana gelmektedir ¹².

Tablo 1 ve **2**'de görüldüğü şekilde FKZ toksini bulunup bulunmadığının ortaya konulması için yapılan çalışmalarda, Ege Denizi kıyılarından toplanan midye ve istiridye örneklerinin analizi sonucunda sadece Mayıs ve Temmuz aylarına ait 4 grupta (2 grup midye ve 2 grup istiridye) birer fare ölümü ve Marmara Denizi kıyılarından toplanan midye ve istiridye örneklerinin analizi sonucunda sadece Temmuz ayına ait 2 grupta birer fare ölümü görülmüş ve FKZ toksin varlığı yönünden tüm sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir. İKZ toksini bulunup bulunmadığının ortaya konulması için ilkbahar, yaz ve sonbahar mevsimlerinde toplanan 36 grup midye ve 36 grup istiridye örneğinden elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu sonucunda fare ölümü görülmemiş ve tüm sonuçlar İKZ toksin varlığı yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak Marmara ve Ege Denizi'nden temin edilen midye ve istiridye örneklerinin hiç birinde İKZ toksin bulunmadığı, aynı bölgelerden alınan örneklerden yapılan analizler sonucunda örneklerin bir kısmında FKZ toksin bulunabileceği, ancak bu düzeylerin insan sağlığı açısından risk oluşturacak düzeyde olmadığı sonucuna varıldı. FKZ toksin varlığı yönünden, bölgesel olarak İzmir ve Balıkesir kıyıları ile mevsimsel olarak da ilkbahar ve yaz mevsimi dikkat çekmektedir.

Midye ve istiridyelerin değişik zaman dilimlerinde farklı miktarlarda toksin içermeleri, bazılarının sadece gelişme dönemlerinde toksin taşımaları ve bunu kısa süre içerisinde vücutlarından atmaları, bazılarının ise toksini uzun yıllar bünyelerinde taşıyabilmeleri nedeniyle özellikle sahillerimizden temin edilen balık ve kabuklu su ürünleri tüketimi aşamasında meydana gelebilecek zehirlenmelerin iyi takip ve kontrolü için, renk

değişikliği olayı görülen sahillerin tespiti ve toplum sağlığı için etkin izleme programları kapsamında bu toksinlerin analizleri yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. **Wang DZ:** Neurotoxins from marine dinoflagellates: A brief review. *Mar Drug*, 6 (2): 349-371, 2008.
2. **Humpage AR, Magalhaes VF, Froscio SM:** Comparison of analytical tools and biological assays for detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *Anal Bioanal Chem*, [Epub ahead of print], 2010.
3. **Humpage AR, Ledreux A, Fanok S, Bernard C, Briand JF, Eaglesham G, Papageorgiou J, Nicholson B, Steffensen D:** Application of the neuroblastoma assay for paralytic shellfish poisons to neurotoxic freshwater cyanobacteria: Interlaboratory calibration and comparison with other methods of analysis. *Environ Toxicol Chem*, 26 (7): 1512-1519, 2007.
4. **Ng PKL, Chia DGB, Koh EGL, Tan LWH:** Poisonous Malaysian crabs. *Nature-Malaysiana*, 17, 4-9, 1992.
5. **Eastaugh J, Shepherd S:** Infectious and toxic syndromes from fish and shellfish consumption. *Arch Intern Med*, 149, 1735-1740, 1989.
6. **Sakamoto Y, Lokey R, Krzanovski J:** Shellfish and fish poisoning related to the toxic dinoflagellates. *South Med J*, 80, 860-870, 1987.
7. **Noble RC:** Death on the half - shell: The health hazards of eating shellfish. *Perspect Biol Med*, 33 (3): 313-322, 1990.
8. **Sousa JVB, Bragana MB:** Neurotoxins in bivalve molluscs and their transformation products. *Alimentaria*, 222, 29-41, 1991.
9. **Asakawa M, Miyazamawa K, Noguchi T:** Studies on paralytic shellfish poison (PSP) oxification of bivalves, in association with appearance of *Alexandrium tamarensis* in Hiroshima bay, Hiroshima prefecture. *J Food Hyg Soc Japan*, 34, 50-54, 1993.
10. **Hungerford JM, Wekell MM:** Analytical methods for marine toxins. *Food Poisoning*, 7 (16): 415-473, 1992.
11. **Kelly GJ, Hallegraff GM:** Dinoflagellate toxins in Australian shellfish. *Toxins and Targets*, 1-9, 1992.
12. **Koray T:** Az bilinen doğal bir afet: Kırmızı renkli deniz ve neden olduğu zehirlenmeler. *Bilim ve Teknik Derg*, Aralık, 9-14, 1988.
13. **Lassus P, Bardouil M, Ledoux M, Murail I, Bohec M:** Paralytic phycotoxin uptake by scallops (*pecten maximus*). *Aquatic Living Res*, 5 (4): 319-324, 1992.
14. **Smart D:** Clinical Toxicology of Shellfish Poisoning. In, Meier J, White J (Eds): *Clinical Toxicology of Animals Venoms and Poisons*. pp. 33-53. CRC Press, Inc. New York, London, Tokyo, 1995.
15. **Özay G:** Bazı deniz kabuklularında saksitoksin (paralytic shellfish poison) kontaminasyonu ve insan sağlığı açısından taşıdığı riskler. *Gıda Sanayi Derg*, 6 (1): 16-24, 1992.
16. **Smith DS, Kitts DD:** Development of a monoclonal-based enzyme-linked immunoassay for saxitoxin-induced protein. *Toxicon*, 32 (3): 317-322, 1993.
17. **Schulze K:** Shellfish poisoning caused by algal toxins. *Berl Münch Tierarztl Wschr*, 98, 383-387, 1985.
18. **Saldade-Castaneda O, Vasquez-Castellaos JL, Galvan J, Sanchez-Anguiano A, Nazar A:** Poisoning from paralytic shellfish toxins in Oaxaca, Mexico. *Salud Publica-de-Mexico*, 33, 240-247, 1991.
19. **Tanado K, Yasuda K, Ushiyama H, Nishima T:** Effect of calcium on the mouse bioassay method for paralytic shellfish poison (hygienic studies on health food (III)). *J Food Hyg Soc Japan*, 32, 402-407, 1991.
20. **Wu CH, Huang JMC, Vogel SM, Atchison VD, Narahashi, T:** Actions of *Ptychodiscus brevis* toxins on nerve and muscle membranes. *Toxicon*, 23, 481-487, 1985.
21. **Citterio B, Manzano M, Maifreni M, Comi G:** Natural fish and shellfish poisons. *Ann Microbiol Enzimol*, 42, 203-216, 1992.
22. **Lucas B, Thielert G, Peters K:** The problem of the selective estimation of PSP toxins in mussels. *Zeitschrift Lebensmittel Untersuch Forch*, 190, 491-495, 1990.
23. **Ellenhorn MJ, Barceloux DG:** *Medical Toxicology*. Elsevier Science Publishers Company Inc, USA, 1988.
24. **Pirinçi İ:** Deniz ürünlerinde bulunan toksinler. In, Kaya S (Ed): *Veteriner Klinik Toksikoloji*. s. 352-353, Medisan, Ankara, 1995.
25. **Aran N:** Gıda Kaynaklı Mikrobiyel Toksinler. *Gıda Sanayi Derg*, 7 (1): 31-46, 1993.
26. **Pac:** Paralytic Shellfish Poison. <http://www.pac.dfo.mpo.gc.ca/ops/fm/shellfish/Biotoxins/PSP>. Accessed: 06.03.2000.
27. **Fonfría ES, Vilariño N, Campbell K, Elliott C, Haughey SA, Ben-Gigirey B, Vieites JM, Kawatsu K, Botana LM:** Paralytic shellfish poisoning detection by surface plasmon resonance-based biosensors in shellfish matrixes. *Anal Chem*, 79 (16): 6303-6311, 2007.
28. **Dominguez H J, Paz B, Daranas AH, Norte M, Franco JM, Fernández JJ:** Dinoflagellate polyether within the yessotoxin, pectenotoxin and okadaic acid toxin groups: Characterization, analysis and human health implications. *Toxicon*, 2009 ([Epub ahead of print]).
29. **Huss HH:** Biotoxin. Assurance of sea food quality. *FAO Fisheries Technical Paper*. p. 334, 1994.
30. **Vale C, Botana LM:** Marine toxins and the cytoskeleton: okadaic acid and dinophysistoxins. *FEBS J*, 275 (24): 6060-6066, 2008.
31. **Hamano Y, Kinoshita Y, Yasumoto T:** Studies on diarrhetic shellfish toxins. Enteropathogenicity of diarrhetic shellfish toxins in intestinal models. *J Food Hyg Soc Japan*, 27, 375-379, 1996.
32. **Laycock MV, Donovan MA, Easy DJ:** Sensitivity of lateral flow tests to mixtures of saxitoxins and applications to shellfish and phytoplankton monitoring. *Toxicon*, 55 (2-3): 597-605, 2010.
33. **Campbell K, Stewart LD, Doucette GJ, Fodey TL, Haughey SA, Vilariño N, Kawatsu K, Elliott CT:** Assessment of specific binding proteins suitable for the detection of paralytic shellfish poisons using optical biosensor technology. *Anal Chem*, 79 (15): 5906-5914, 2007.
34. **Anon:** Su Ürünleri Kalite Kontrol El Kitabı. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı. Ankara, 1996.

35. **Quillam MA:** AOAC mouse bioassay for PSP toxins. <http://www.maritimes.dfo.ca/science/mesd/he/lists/phyco toxins-o/ms00541>. Accessed: 06.03.2000.
36. **WHO:** Aquatic (Marine and Fresh Water) Biotoxins. *Enviromental Health Criteria, 37th World Health Organisation*. Geneva. 1984.
37. **Campbell K, Huet AC, Charlier C, Higgins C, Delahaut P, Elliott CT:** Comparison of ELISA and SPR biosensor technology for the detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 877 (32): 4079-4089, 2009.
38. **Prassopoulou E, Katikou P, Georgantelis D, Kyritsakis A:** Detection of okadaic acid and related esters in mussels during diarrhetic shellfish poisoning (DSP) episodes in Greece using the mouse bioassay, the PP2A inhibition assay and HPLC with fluorimetric detection. *Toxicon*, 53 (2): 214-227, 2009.
39. **Mouratidou T, Kaniou-Grigoriadou I, Samara C, Kouimtzis T:** Detection of the marine toxin okadaic acid in mussels during a diarrhetic shellfish poisoning (DSP) episode in Thermaikos Gulf, Greece, using biological, chemical and immunological methods. *Sci Total Environ*, 366 (2-3): 894-904, 2006.
40. **Louppis AP, Badeka AV, Katikou P, Paleologos EK, Kontominas MG:** Determination of okadaic acid, dinophysistoxin -1 and related esters in Greek mussels using HPLC with fluorometric detection, LC-MS/MS and mouse bioassay. *Toxicon*, 55 (4): 724-733, 2010.
41. **Wu JY, Zheng L, Wang JH:** Contamination of shellfish from Shanghai seafood markets with paralytic shellfish poisoning and diarrhetic shellfish poisoning toxins determined by mouse bioassay and HPLC. *Food Addit Contam*, 22 (7): 647-651, 2005.