

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EGE ve MARMARA DENİZİ'NDE TİCARİ AMAÇLI  
AVLANAN KABUKLU SU ÜRÜNLERİNDE SAKSİTOKSİN  
ve DİNOFİSİSTOKSİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Sadık KÜÇÜKGÜNAY

**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

Doç. Dr. Ali BİLGİLİ

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Tez No: 91078

2000 — ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**Farmakoloji ve Toksikoloji Doktora Programı**

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
**Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

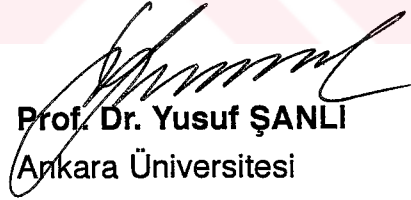
Tez Savunma Tarihi : 28 / 04 / 2000



**Prof. Dr. Hidayet YAVUZ**  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı  
Jüri Başkanı



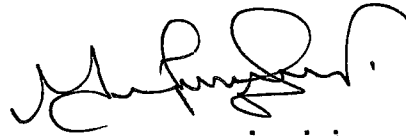
**Prof. Dr. Sezai KAYA**  
Ankara Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji  
Anabilim Dalı



**Prof. Dr. Yusuf ŞANLI**  
Ankara Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji  
Anabilim Dalı



**Prof. Dr. Rifki HAZIROĞLU**  
Ankara Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Patoloji Anabilim Dalı



**Doç. Dr. Ali BİLGİLİ**  
Ankara Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji  
Anabilim Dalı  
Raportör

## Ö N S Ö Z

Türkiye'de kabuklu su ürünlerinden kaynaklanan herhangi bir zehirlenme olgusu henüz tespit edilememiştir. Ancak, özellikle yaz aylarında, deniz kabukluları ve balık yenilmesini takiben oluşan zehirlenmelerin, hiç değilse Ege Bölgesi'nde tespit edilenlerin bir kısmının felç yapıcı kabuklu su ürünü zehirlenmesi (FKZ) olgusu olması muhtemeldir. İzmir Körfezi'nde sürdürülen çeşitli çalışmalarda *Protogonyaulax tamarensis*'in sebep olduğu, denizde renk değişikliği (kiremit kırmızısı rengi) meydana gelmektedir. Bu mikroorganizmalar, özellikle yaz aylarında yüksek yoğunluklarda bulduklarında suda çözünen zehirleri ile İzmir Körfezi'nde bulunan kefalleri bayılabilmektedirler.

Ülkemizde midye ve ıstırdye bol miktarda tüketilmektedir. Yine her yıl tonlarca midye ve ıstırdye ihraç edilmektedir. Midye ve ıstırdyeler taşıdıkları toksinler sebebiyle tüketici durumundaki insanlar için zehirlenme kaynağı olarak tehlike arz etmektedirler. Ülkemizde, bu konuda, yeterli düzeyde akademik çalışmalara rastlanılamamıştır. Ülkemizden Avrupa Birliği Ülkeleri'ne ihraç edilen birçok kabuklu su ürününün (midye ve ıstırdye) saksitoksin (STX) ve dinofisistoksin (DTX) analizi yapılmadığı gerekçesiyle geri gönderildiği durumlarla karşılaşmıştır. Midye, ıstırdye gibi su ürünleri, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün bir raporunda, insanlar için FKZ toksinleri açısından şüpheli besinler, riskli besinler arasında yer almıştır.

Dünyanın belirli bölgelerinde ortaya çıkan ve FKZ'den ileri gelen zehirlenme olguları nedeniyle, yıllardır problemin yaşandığı ülkeler başta olmak üzere konu üzerinde yoğun çalışmalar yürütülmekle beraber, yurdumuzda bu konuda bilinen kapsamlı bir çalışma henüz yapılmamıştır.

Bu çalışmanın her aşamasında desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen başta danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ali Bilgili'ye, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sezai Kaya'ya, tez izleme komitesinde bulunan Sayın Prof. Dr. Rıfki Hazıroğlu'na, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nın diğer öğretim üyeleri ve öğretim elemanları ile yardımcı personeline teşekkür eder, saygılar sunarım.

# İÇİNDEKİLER

<b>Kabul ve Onay</b> .....	<b>ii</b>
<b>Önsöz</b> .....	<b>iii</b>
<b>İçindekiler</b> .....	<b>iv</b>
<b>Simgeler ve Kısaltmalar</b> .....	<b>vi</b>
<b>Şekiller</b> .....	<b>vii</b>
<b>Çizelgeler</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Yumuşakçalar .....	2
1.1.1. Pelecypoda .....	2
1.2. Toksikolojik Önemi Olan Kabuklu Su Ürünleri .....	3
1.3. Zehirli Dinoflagellatlar .....	5
1.4. Kabuklu Su Ürünü Toksinleri .....	8
1.4.1. Felç Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksinleri .....	11
1.4.1.1. Saksitoksin .....	12
1.4.1.2. Felç Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi .....	15
1.4.2. İshal Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksinleri .....	21
1.4.2.1. İshal Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi .....	22
1.4.3. Nörotoksik Kabuklu Su Ürünü Toksinleri .....	22
1.4.3.1. Brevetoksin .....	23
1.4.4. Amnezik Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi .....	23
1.5. Diğer Biyotoksinler .....	24
1.6. Biotoksinlerin Sebep Olduğu Zehirlenmelerin Kontrolü .....	24

	v
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	
2.1. Gereç	26
2.1.1. Analiz Gereci	26
2.1.2. Hayvan Gereci	27
2.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
2.1.4. Kullanılan Laboratuvar Gereçleri	27
2.2. Metod	28
2.2.1. Felç Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksini (Saksitoksin) Tespiti	29
2.2.2. İshal Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksini (Dinofisistoksin) Tespiti	29
<b>3. BULGULAR</b>	<b>31</b>
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>38</b>
<b>5. SONUÇ</b>	<b>42</b>
<b>ÖZET</b>	<b>43</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>44</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>45</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR

AKZ	: Amnezik Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi.
$\alpha$	: Alfa
AP	: Aksiyon Potansiyel
$\beta$	: Beta
dk	: Dakika.
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DTX	: Dinofisitoksin.
FKT	: Felç Yapan Kabuklu Su Ürünü Toksini.
FKZ	: Felç Yapan Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi.
FÜ	: Fare Ünite (Mouse Unit = MU).
g	: Gram.
GTX	: Gonyatoksin.
İKT	: İshal Yapan Kabuklu Su Ürünü Toksini.
İKZ	: İshal Yapan Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi.
kg	: Kilogram.
mg	: Miligram.
$\mu$ g	: Mikrogram.
ml	: Mililitre.
MEPP	: Miniature Endplate Potential.
NKT	: Nörotoksik Kabuklu Su Ürünü Toksini.
NKZ	: Nörotoksik Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi.
ÖD	: Öldürücü Doz.
pg	: Pikogram.
Pİ	: Periton İçi Yolla.
STX	: Saksitoksin.

## ŞEKİLLER

- Şekil 1.1** : Kabuklu Zehirlenmelerinin Dünya Genelindeki Dağılımı.  
**Şekil 1.2** : Felç Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksinleri.  
**Şekil 1.3** : Saksitoksinin Kimyasal Yapısı.  
**Şekil 1.4** : FKT Protoksinlerin Toksinlere Dönüşümü.  
**Şekil 1.5** : Okadaik Asit ve Türevleri.



## ÇİZELGELER

- Çizelge 1.1** : Deniz Ürünleri Üretimi (ton) ve Bölgelere göre Dağılımı.
- Çizelge 1.2** : İnsanlardaki Zehirlenmeler ve Etkili Organizmalar.
- Çizelge 1.3** : Su Kaynaklı Biyotoksinler.
- Çizelge 1.4** : Kabuklu Zehirlenmelerinin Klinik Özellikleri.
- Çizelge 1.5** : FKT'lerin Nispi Zehirlilikleri.
- Çizelge 1.6** : FKZ Salgınları : 2334 Olguda 137 Ölüm = % 5.9.
- Çizelge 1.7** : FKZ Olgusunda Yaşa Duyarlılık ve Ölüm Oranı.
- Çizelge 1.8** : Biyotoksinlerin İzlenmesi.
- Çizelge 3.1** : Ege Denizi'nden Toplanan Midye Örneklerindeki STX ve DTX Bulguları.
- Çizelge 3.2** : Marmara Denizi'nden Toplanan Midye Örneklerindeki STX ve DTX Bulguları.
- Çizelge 3.3** : Ege Denizi'nden Toplanan İstridye Örneklerindeki STX ve DTX Bulguları.
- Çizelge 3.4** : Marmara Denizi'nden Toplanan İstridye Örneklerindeki STX ve DTX Bulguları.
- Çizelge 3.5** : Midye ve İstridye Örneklerinde Türkiye Geneli STX ve DTX Bulguları.
- Çizelge 3.6** : Midye ve İstridye Örneklerinde Türkiye Geneli Mevsimlere göre STX ve DTX Bulguları.

## 1. GİRİŞ

Dünya çapında, insan ve hayvanların besin ihtiyacının karşılanmasında su ürünlerinin önemi büyüktür. Su ürünleri potansiyeli, henüz tespit edilebilmiş değildir. Sayısız türdeki su ürünlerinin, ne kadarının besin maddesi olarak kullanılabileceğinin belirlenmesi gerekmektedir (Concon, 1988).

İstiridye ve diğer su ürünü yumuşakçalar, tarih öncesi zamanlardan beri insanlar için besin kaynağı olarak değerlendirilmiştir (Noble, 1990).

Dünyanın bazı bölgelerinde kabuklu su ürünlerinin tüketimi sonucu insanlarda belirli zehirlenme olaylarının tek hücreli deniz alglerinin en önemli üyeleri olan dinoflagellatların oluşturduğu toksinlerden ileri geldiği bilinmektedir. Bu tür alglerle beslenen bazı deniz canlıları, zehirli bileşikleri vücutlarında biriktirerek taşımaktadır. Bunların tüketimi yoluyla toksinler, insan besin zincirine girebilmektedir (Özay, 1992).

Asırlardır, deniz kabuklularının tüketimi sonucu ortaya çıkan akut zehirlenmelere rastlanmış olup, etyolojik çalışmalar ilk defa içinde bulunduğumuz yüzyılda başlamıştır. Kaliforniya'da, 1920 yıllarında midye tüketimi sonucu oluşan öldürücü zehirlenmelerde durum incelenmiştir. Belirli bir dinoflagellata türü ile zehirli yumuşakçalar arasındaki ilişki, ilk kez bu olayda Dr. Sommers ve arkadaşları tarafından kurulmuştur (Özay, 1992). Kabuklu su ürünü zehirlenmesi ile ilgili ilk bilgiye 17. yüzyılın sonlarına kadar pek rastlanmamıştır. İlk belge Kaptan George Vancouver tarafından yazılmıştır (Concon, 1988).

Konu ile ilgili olarak, kabuklu su ürünü zehiri, kabuklu zehiri, kabuklu zehirlenmesi gibi terimler kullanılmaktadır. Aslında kabuklular doğal olarak zehirli değildirler. Virchow isimli bilim adamı, 1885 yılında kabuklu zehirlenmesini bilimsel olarak incelemiş ve eserlerinde bahsetmiştir. Yaklaşık 100 yıldan beri süre gelen gözlemler sonucu elde edilen sonuçlar, kabuklu zehirlenmesinin asıl sorumlusunun toksinler olduğunu ortaya koymuştur (Schulze, 1985).

Kabuklu tüketimi ile dört tip zehirlenme sendromu oluşur. Bunlar; Felç yapıcı, nörotoksik, ishal yapıcı ve amnezik kabuklu zehirlenmesidir (Smart, 1995).

İnsan besini olabilen su ürünleri 6 grupta incelenebilir.

1. Yumuşakçalar.
2. Artrapodalar.
3. Balıklar.
4. Sürüngenler.
5. Memeliler.
6. Mavi, yeşil, kahverengi, kırmızı su yosunları.

### 1.1. Yumuşakçalar

Altı grupta incelenen en az 45.000 yumuşakça türünün olduğu tahmin edilmektedir (Concon, 1988).

1. Amphineura (chitons).
2. Cephalopoda (mürekkep balığı, ahtapot vb.).
3. Gastropoda (bir çeşit deniz salyangozu).
4. Pelecypoda (çift kapakçıklılar, midye, istridye, deniz tarağı vb.).
5. Scaphapoda (diş ya da fildişi kabuklular).
6. Monoplacophora (kayalara yapışık duran, karından ayaklı bir deniz böceği).

#### 1.1.2. Pelecypoda

Deniz tarağı, istridye, midye ve benzerlerini içine alan bir yumuşakça sınıfıdır. Yaşayan 11.000 türü bulunduğu tahmin edilmektedir. Bu yumuşakçalarla taşınan bir çok toksin türü bilinir. Bu toksinler orijinlerine göre çeşitli gruplara ayrılırlar (Concon, 1988).

## 1.2. Toksikolojik Önemi Olan Kabuklu Su Ürünleri

Kabuklu su ürünleri, genellikle kıyıya yakın sığ sularda yığılmaktadırlar. Dinoflagellata da sıklıkla aynı bölgelerde yaşamaktadır. Derin okyanus sularında sıcaklık genellikle 4 °C'dir ve dinoflagellata oluşumu için çok soğuk olan bu sular elverişli olmamaktadır (Özay, 1992).

Kabuklu su ürünü tüketimi ile ortaya çıkan bu zehirlenme olaylarında en fazla yer alan biyotoksinler FKT'ler olup, çift kabuklu deniz yumuşakçalarından daha ziyade **İstridyeye, kum midyesi, kara kabuklu midye ve yengeç** tüketimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Özellikle zehirli deniz mikroorganizmaları olan *Gonyaulax catenella* ve *G. tamarensis* tarafından oluşturulmaktadır (Özay, 1992).

Zehirli alglerle beslenen yumuşakçalar, toksini vücutlarında biriktirirler. Midyelerde toksinin % 95'i sindirim keseciklerinde veya hepatopankreasta bulunmaktadır (Özay, 1992).

Kodama isimli bir araştırmacı (1982 – 1983 yıllarında yaptığı çalışmalarla) kabuklu bünyesinde dinoflagellata toksininin sadece bir kısmının etkili toksine, bir kısmının da etkisiz toksin kompleksine dönüştürüldüğünü saptamıştır (Schulze, 1985).

Zehirli dinoflagellata ile beslenen midye, ıstridyeye ve deniz tarakları (kabukluya bağlı olarak) değişik zaman dilimlerinde toksin içerirler. Bazıları kısa sürede toksini vücutlarından atar ve sadece gelişme dönemlerinde toksin taşır; bazıları da uzun yıllar toksin taşıyabilirler (Huss, 1994).

Midyeler, kabuklu su ürünü zehirlenmesi için en büyük tehlikeyi oluşturmaktadır. İstridyeye ve deniz tarakları da toksin içerirler. Yengeç ve karides, dinoflagellata ile beslenmedikleri için fazla tehlikeli değildirler. Deniz tarağı ve midyeler, en çok Avrupa ve İngiltere'de tüketilir. Deniz tarağı bir çeşit deniz ıstridyesidir. Midyeler 13'üncü yüzyıldan beri Avrupa'da tüketilmektedir. Tatlı su midyeleri, etlik kümes hayvanları ve çiftlik hayvanlarının yemlerine katılarak da kullanılırlar (Noble, 1990).

Çeşitli toksisite çalışmalarında, deniz tarağı dışkısında yüksek oranda toksin bulunduğu (Kikuchi ve ark., 1992) ve yine bazı çalışmalarda deniz taraklarındaki toksin içeriğinin gonadlarda kaslara oranla daha yüksek olduğu görülmüştür (Fremy ve ark., 1993).

Kabuklu su ürünü, toksini sadece toksin üreten dinoflagellatların varlığında bünyesinde taşır. Bununla birlikte, kabuklulardaki toksin miktarı ile sulardaki flagellatlar arasında da doğru bir orantı vardır (Schulze, VK., 1985).

Kabuklu su ürünleri vasıtasıyla, felç yapan, ishal yapan, amnezik, nörotoksik zehirlenmeler meydana gelir (Egmond ve ark., 1990; Ergon House ve ark., 1994).

Balık dışındaki diğer deniz ürünlerinin üretimi son yıllarda önemli artışlar göstermiştir. Midye, ıstıridye ve deniz tarağı gibi deniz ürünleri, iç tüketimden çok ihracat potansiyelleri nedeniyle büyük önem taşımaktadırlar. Ülkemizde bazı deniz ürünlerinin üretimi ve bölgelere göre dağılımı Çizelge 1.1'de gösterilmiştir (Çelikkale ve ark., 1999).

Çizelge 1.1. Deniz ürünleri üretimi (ton) ve bölgelere göre dağılımı (Çelikkale ve ark., 1999).

Tür	D.K.Deniz	K.Deniz	Marmara	Ege	Akdeniz	Toplam
İstıridye	-	23	593	524	-	1140
Midye	175	1225	1575	420	105	3500
Tarak	-	-	-	23	29	52
Toplam	175	1248	2168	967	134	4692

Dünya üretimi olarak, ıstıridye 1.07 milyon ton, midye 1.18 milyon ton ve tarak 1.78 milyon tondur (Çelikkale ve ark., 1999).

Ülkemizde kültürü yapılan kabuklu deniz canlılarından midyenin üretim miktarı 2.000 ton, karidesin ise 300 tondur. Kabuklu türleri, dünya deniz ürünü üretiminin % 22'(5,5 milyon ton)sini oluştururken, Türkiye'de ise % 5'ini oluşturmaktadır (Çelikkale ve ark., 1999).

Dinoflagellatlar, kabuklu su ürünlerinin en önemli besin kaynağını teşkil ederler. Toksinlerin esas kaynağı dinoflagellatlardır.

### 1.3. Zehirli Dinoflagellatlar

Dinoflagellatlar, deniz fitoplanktonları arasındaki en büyük organizma grubudur. Bunlar algler olarak da bilinirler (Alphanutrition, 2000; Earthview, 2000; Ncr, 2000). Tüm su sistemlerinde bulunan algler, su hayatındaki enerji transferlerinin ilk basamağını oluşturur ve besin zincirinin öncüsüdürler (Ncr, 2000). Dinoflagellatlar, mikroskopik tek hücreli olup yatay ve dikey iki flagellaya sahiptir. Bunlar güneş ışığından yararlanarak kendi besinlerini üretirler ve diğer bazı su ürünlerinde de parazit olarak yaşamlarını sürdürürler (Berkeley, 2000; Calgary, 2000). Bu organizmalar, besinlerini süzerek alan kabuklu su ürünleri için en önemli besin kaynağıdır. Kabuklu su ürünleri organizma ile birlikte toksini alır ve vücutlarında biriktirirler (Alphanutrition, 2000; Ncr, 2000; Pac, 2000). Su ürünleri aracılığı ile canlılar üzerinde sağlık sorunları görülebilmektedir. Bu sebeple, halk sağlığı ve ekonomik zararlar yönünden büyük önem taşımaktadırlar (Borcaklı, 1991; Aran, 1993).

Dinoflagellatlar tarafından üretilen yaklaşık yirmi kadar toksin bilinmektedir. Daha çok *Ptychodiscus brevis*, *Protogonyaulax catenella*, *Protogonyaulax tamarensis*, *Gambierdiscus toxicus* önem taşır (Koray, 1988; Sakamoto ve ark., 1987; Schulze, VK., 1985).

*Ptychodiscus brevis*, önceleri *Gymnodium breve* olarak isimlendirilmiştir. *P. brevis* toksinleri kabuklu canlıya zararsızdır. Tüketildiği takdirde, kabuklu su ürünü zehirlenmesine sebep olurlar. *Protogonyaulax (Alexandrium)* türlerinin ürettiği toksinler daha çok saksitoksindir. Kabukluya zarar vermez. Felç yapan kabuklu su ürünü zehirlenmesine (FKZ) sebep olur (Sakamoto ve ark., 1992).

Diğer zehirli dinoflagellatlar; örneğin *Pyrodinium bahamense* Pasifik'te FKZ'e sebep olur (Schulze, VK., 1985; Sakamoto ve ark., 1992). *Dinofysis fortii*, Japonya'da, *D. acuminata* Hollanda'da ishal yapan kabuklu su ürünü zehirlenmesine sebep olur (Smith, 1992; Alphanutrition, 2000). *D. Fortii* 200 hücre/litre seviyeleri bile kabukluların insan için zehirleyici hale gelmelerine yeterlidir (Alphanutrition, 2000). Yaklaşık 1200 dinoflagellata türünün sadece 20 tanesi insanlarda zehirlenmeye sebep olan toksinleri üretir (Smart, 1995). Çizelge 1.2'de kabuklu zehirlenmeleri ile su planktonu ilişkisi gösterilmiştir.

Dinoflagellatlar özellikle sıcak yaz aylarında bir iki hafta içinde bir milyon kez çoğalabilir ve denizde renk değişikliğine sebep olur. Bu olay, kırmızı renk değişikliği (red-tide) ya da organizmaların toksik çiçeklenmeleri ile oluşan renk değişikliği olarak tanımlanır. Denizdeki renk değişikliği, alglerin cinslerine göre (taşıdıkları farklı pigmentlerden dolayı) kırmızı, pembe, turuncu, sarı, mavi, yeşil, kahverengi ve menekşe rengi olabilir. Ama genelde kırmızı renktedir (Koray, 1988; Berkeley, 2000; Earthview; 2000; Ednet, 2000; Ncr, 2000). Bu algler ışığa doğru flagellaları ile yüzer ve çok sayıda alg tek bir ışık kaynağında toplanır. Bu şekilde de kırmızı renk değişikliği (red-tide) alanları oluşur. Çeşitli çevre koşulları ve besin kaynaklarına göre iki hafta sürebilir (Ncr, 2000).

**Çizelge 1.2.Zehirlenmeler ve etkili organizmalar (Smart, 1995).**

**Felç Yapıcı Kabuklu Zehirlenmesi.**

*Alexandrium (önceden Gonyaulax veya Protogonyaulax) tamarense – excavatum.*

*Alexandrium catenella.*

*Pyrodinium bahamense.*

*Pyrodinium bahamense (varcompressum).*

*Gymnodium catenatum.*

*Cochlodium catenatum.*

**Nörotoksik Kabuklu Zehirlenmesi.**

*Gymnodium breve (önceden Ptychodiscus brevis).*

**İshal Yapıcı Kabuklu Zehirlenmesi.**

*Dinophysis fortii.*

“ *norvegica.*

“ *mitra.*

“ *acuminata.*

“ *acuta.*

“ *rotundata.*

*Prorocentrum sp.*

**Amnezik Kabuklu Zehirlenmesi.**

*Nitzschia pungens f. multiseriis.*

Dinoflagellatların gelişmesinde, özellikle su sıcaklığı kritik faktör olarak rol almakta olup, genellikle asgari 5–8 °C sıcaklık gerekmektedir. Bu olaylar sırasında zehirli dinoflagellata topluluğu arttıkça bunlarla beslenen deniz kabuklularına toksin bulaşmaktadır. Başlangıçta dinoflagellatlar kist halinde ve sıklıkla okyanus tabanında tortu tabakasının üst kısmında gömülmüş olarak

yer almaktadır. Tohum işlevi gören kist elverişli çevre koşulları oluştuğunda patlayarak dinoflagellatlar ortaya çıkmaktadır (Özay, 1992). Hava­ların ani olarak ısınması veya soğuması kistlerin açılması için adeta bir tetik mekanizması rolünü oynar. Ortamdaki serbest hareket edebilen hücreler aktif olarak yaşamlarını sürdürebilmeleri için besleyici tuzlar ve biraz da ışığa ihtiyaçları vardır (Koray, 1988).

Dinoflagellatların büyümesi için 10 °C'nin üzerinde sıcaklıklar gerekli olmasına rağmen soğuk sularda da yaşamlarını sürdürebilirler (Schulze, 1985). Sularda zehirli algerin gelişebilmeleri üzerinde, suyun sıcaklığı, tuzluluğu, pH'sı, güneşe maruz kaldığı süre ve sudaki iz elementlerin varlığı da etkilidir (Skulberg ve ark., 1984; Aran, 1993; Ncr, 2000).

Zehirli dinoflagellatların bazı ortak özellikleri vardır. Hepsi fotosentezle enerji üretirler. Sahil kenarında yaşarlar. Hemolitik, nörotoksik ve mide – bağırsak sistemi üzerinde etki gösterirler, suda veya yağda eriyebilen biyoetkin toksinleri üretirler. Toksinler, hücreler arası iyon taşınmasını ve hücre zarı geçirgenliğini, oluşan hücre zarı depolarizasyonunu veya aksiyon potansiyeli (AP) inhibisyonu ve sinirlerde uyarı iletimini etkilerler. Dinoflagellatlar ılık havada tekrar üreyebilirler. Denizde kırmızı renk değişikliğinin olmadığı durumlarda da zehirlenme olabilir (Noble, 1990).

Bilinen su kaynaklı biyotoksinler, Çizelge 1.3'de gösterilmiştir (Huss, 1994).

Çizelge 1.3.Su kaynaklı biyotoksinler (Huss, 1994).

Toksin	Kaynak	Hayvan/İçerdiği Organ
Tetrodotoksin	Balıkta (ante mortem)	Pufferfish (Tetroodontidae) çoğunlukla yumurtalıklar, karaciğer, bağırsaklar
Ciguatera	Deniz algi	> 400 tropikal/subtropical balık türünde
FKZ	Deniz algi	Kabuklunun besini almasıyla sindirim sistemi bezleri ve gonadlarda
İKZ	Deniz algi	Kabuklunun besini almasıyla
NKZ	Deniz algi	Kabuklunun besini almasıyla
AKZ	Deniz algi	Kabuklunun besini almasıyla (mavi midyelerde)

#### 1.4. Kabuklu Su Ürünü Toksinleri

Dinoflagellatların oluşturduğu biyotoksinler, değişik belirtilerle ortaya çıkan çeşitli zehirlenmelere sebep olmaktadır. Bunlar, suda çözünen felç yapıcı zehirler, yağda çözünen siguatoksin, nörotoksik etkili zehirler, ishal yapıcı zehirler ve domoik asit olarak özetlenebilir (Özay, 1992). Bilinen su kaynaklı biyotoksinler çizelge 1.3'de gösterilmiştir.

Kabuklu yumuşakçaların tüketimi ile ortaya çıkan, deniz dinoflagellatlarınca üretilen toksinlerden dolayı dört sendrom meydana gelir (Citterio ve ark. 1992; Rheinstejn ve Klontz, 1993).

1. Felç yapan kabuklu su ürünü zehirlenmesi (FKZ).
2. Nörotoksik kabuklu su ürünü zehirlenmesi (NKZ).
3. İshal yapan kabuklu su ürünü zehirlenmesi (İKZ).
4. Amnezik kabuklu su ürünü zehirlenmesi (AKZ) veya Domoik asit intoksikasyonu.

Felç yapan kabuklu su ürünü zehirlenmesi ve NKZ'ye sebep olan zehirleri alan her organizma, onlardan etkilenmez. Örneğin, midye, ıstırdıye vb. deniz kabukluları bu zehirleri hepato-pankreaslarında biriktirerek kendilerini korurlar. Zehir, bu yumuşakçalar yardımı ile besin zincirine katılır ve bu canlılar aracılığıyla tüketiciye ulaşır. Ancak, FKZ tipi suda çözünen zehirler, ekzotoksini solungaçları yardımıyla alan balıkları kolayca etkiler. Balıkların yığınlar halinde bayılarak veya uyuşarak karaya vurdukları görülür. Oysa, NKZ tipi endotoksinler suda çözünmediklerinden daha çok doğrudan doğruya yutulma ile etkindirler. Ciguatera hastalığını yapan balıklar genellikle yaz aylarında dip sularından *Gambierdiscus toxicus*'u besinlerine karışmış olarak alırlar. Bu zehirli tek hücreli, balığın sindirim organlarında uzun süre kalabilir. Zehir, çoğunlukla balıkların etlerine nüfuz etmektedir (Koray, 1988).

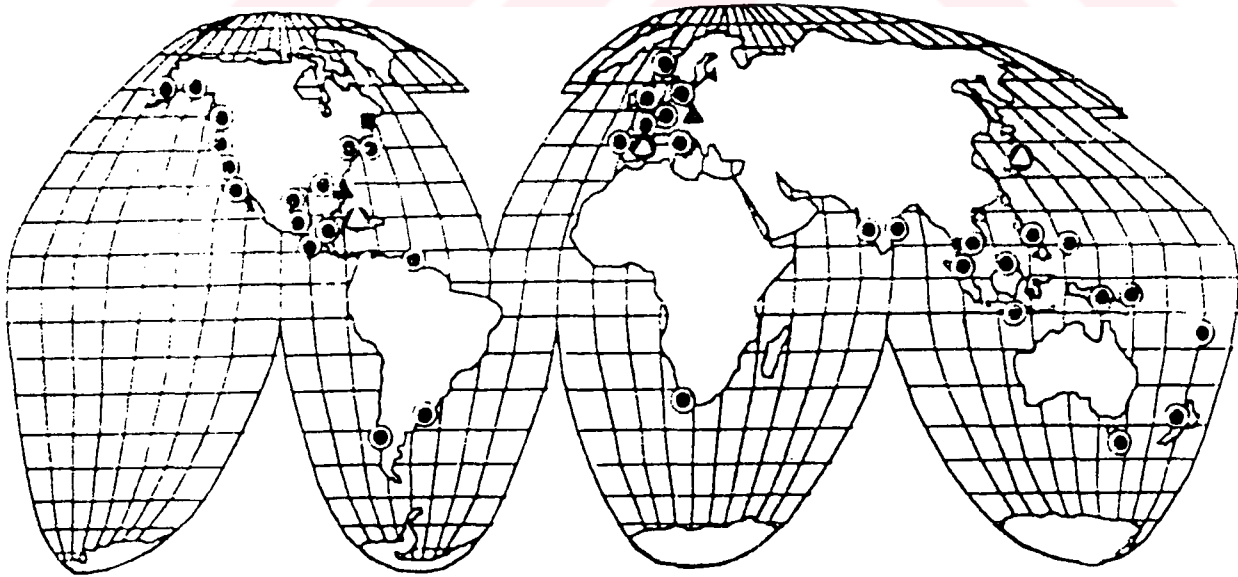
İnsanlarda kabuklu zehirlenmesinin dünya genelindeki rastlantı sıklığını, tam olarak ortaya koyan bir kayıt yoktur. Bilgilerin toplanması hususunda bazı sorunlarla karşılaşmaktadır. Besin zehirlenmelerinin az sayıda meydana gelmesi ve hafif belirtilerle atlatılması ile bu zehirlenmelerin kabuklu ile ilişkilendirme zorluğu nedeniyle tanıyı koymak güçtür.

Teşhisi konulan olaylar, bilimsel literatür kayıtlarına rapor edilmek üzere ülkenin veri bankasına kaydedilir. Daha sonra dünya geneli epidemiyolojik araştırmalar için kaynak teşkil eder. Raporların çoğu, gelişmiş batı ülkelerine aittir. İstatistiklerin toplandığı birçok ülkede, halk sağlığı programları yapılmıştır. Araştırmacılar bu verilere göre genel bir yaklaşımda bulunurlar. Fakat veriler, tüm dünyayı temsil etmez (Smart,1995).

Kabuklu zehirlenmelerinin dünya genelindeki dağılımı Şekil 1.1.'de gösterilmiştir. Salgınlar son 20 yılda, Kuzey Yarım Küre'de kontrol çalışmaları ve halk sağlığı programları sebebiyle azaldığı halde; Dünya genelinde artış olduğu görülmüştür. Çünkü, salgınlar Güney Yarım Küre'de de görülmeye başlamıştır.

Dinoflagellatlar coğrafi yapıya göre farklılık gösterir. Güney Yarım Küre'de, *Pyrodinium* FKZ'ye sebep olur. Kuzey Yarım Küre'de *Alexandrium* FKZ'ye, *Gymnodium* NKZ'ye, *Dinophysis* İKZ'ye sebep olur.

Son yıllarda, Brunei, Singapur, Taylant, Y.Zellanda, Papoa Yeni Gine gibi tropik bölgelerden de salgınlar rapor edilmiştir (Smart, 1995).



● FKZ      ▲ NKZ      ● İKZ      ■ AKZ

Şekil 1.1. Kabuklu zehirlenmelerinin Dünya genelindeki dağılımı (Smart, 1995).

Ele alınan tüm zehirlerin ortak özellikleri kızartma, haşlama ve pişirme işlemlerinin bu zehirleri parçalayamamasıdır. Dolayısıyla pişirilmiş halde bile zehirlidirler (Koray, 1988). Toksinlerin tespiti için çeşitli laboratuvar testlerinden yararlanılmaktadır (Luckas ve ark., 1990; Buurdaspal, 1991; Tanado ve ark., 1991; Ergon House ve ark., 1994).

Kabuklu zehirlenmelerinin klinik özellikleri Çizelge 1.4'de gösterilmiştir. Hiçbir toksin için antidot bilinmemektedir. Atropin ve neostigmin, bazı hastalarda denenmiş, fakat başarılı olmamıştır. FKZ ve domoik asit zehirlenmesi (AKZ) kritik zehirlenmelerdir (Smart,1995).

Çizelge 5. Kabuklu zehirlenmelerinin klinik özellikleri (Smart, 1995).

	FKZ	NKZ	İKZ	AKZ
<b>ZEHİRLENMENİN</b>	1/2–3 saat	Dakikalar–3 saat	1/2–2 saat	1/4–38 saat
<b>BAŞLANGICI</b>	ortalama 1 saat			
<b>İLK BELİRTİLER</b>	Ağız, dudaklar, boğaz ve gırtlakta parestezi, dengesizlik.	Mide bulantısı, karın ağrısı, ishal.	İshal, mide bulantısı, kusma, karın ağrısı,	Mide bulantısı, kusma, karın ağrısı.
<b>KLİNİK SENDROM</b>				
<b>Hafif Zehirlilik</b>	Genel parestezi, kol ve bacaklarda zayıflık, başağrısı ataksi, mide bulantısı, kusma.	Sirkumoral parestezi, gövde kol ve bacakta parestezi, ataksi, inkoordinasyon, vertigo, başağrısı.	Şiddetli ishal, kusma ve su kaybı.	İshal, başağrısı, hafıza kaybı, mutizm.
<b>Şiddetli Zehirlilik</b>	Disfaji, disatri, diplopi, kol, bacaklarda ve bedende felç, solunum yetmezliği	Bradikardi, çarpınmalar, pupillanın genişlemesi, felç görülmez.	Yaşlı hastalarda gücü kesen şok. Uzun vadede mide kanseri riski vardır.	Hemiparezis, oftalmopleji, koma, nöbetler, hipotansiyon, aritmi.
<b>HASTALIĞIN SÜRESİ</b>	2–5 gün	2–3 gün	3 gün	24 saat–12 hafta sonunda sürekli hafıza kaybı
<b>ÖLÜM ORANI</b>	% 44'e kadar (ortalama % 5.9)			% 4

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan halk sağlığı programları ve kontrol çalışmaları sayesinde kabuklu zehirlenmelerinde belirgin bir azalma görülmüştür (Smart, 1995).

#### 1.4.1. Felç Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksinleri

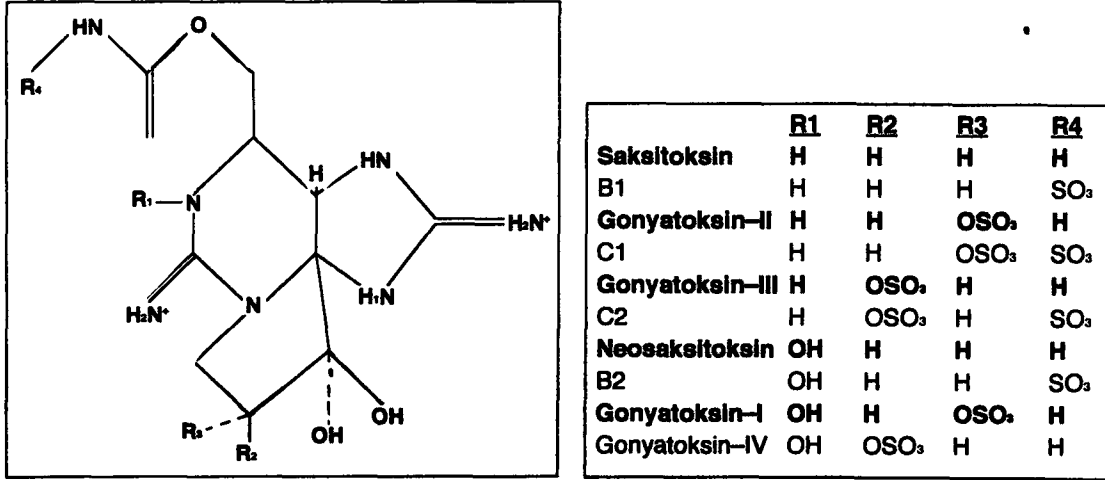
Kabuklu su ürünleri, bu toksinleri üreten mikroorganizmaları taşımak suretiyle zehirlenmeye sebep olurlar (Citterio ve ark., 1992). Toksinler suda çözünebilir ve soğuğa dayanıklı bir yapıya sahiptir (Ng ve ark., 1992).

Farklı laboratuvar analizleri ile FKT'in zehirlilikleri saptanmıştır. Çeşitli hayvanlar üzerinde zehirlilikleri  $ÖD_{50}$  olarak verilen FKT'in kimyasal analizi sonucu saksitoksin olduğu tespit edilmiştir (Özay, 1992).

Felç yapan kabuklu su ürünü toksinleri kûrar benzeri etki yapan azot bileşikleri olup, dokuz farklı tipi izole edilmiştir. Esasen *Protogonyaulax* türlerinin karakteristik ikincil atıklarıdır. Bu nedenle saksitoksin, gonyatoksin 1, gonyatoksin 2, gonyatoksin 3, gonyatoksin 4 (Koray, 1988; Asakawa ve ark. 1993), gonyatoksin 5, gonyatoksin 6, gonyatoksin 7, neosaksitoksin adları ile anılırlar. Çoğunlukla birbirleriyle karışmış olarak bulunurlar. En zehirli olanları saksitoksin ve gonyatoksin 3'dür (Koray, 1988).

*Protogonyaulax*, [(*Alexandrium catenella* (Sakamoto ve ark., 1992)] *Gonyaulax* ve *Pyrodinium* gibi çeşitli dinoflagellatlar tarafından üretilen altı (Sousa ve Bragama, 1991; Kelly ve Hallegraff, 1992) değişik FKT tanımlanmıştır. Bunlar; Saksitoksin (Hungerford ve Wekell, 1992; Kelly ve Hallegraff, 1992; Sakamoto ve ark., 1992; Smith, 1992), neosaksitoksin (Schulze, 1985; Smith, 1992) gonyatoksin 1, gonyatoksin 2, gonyatoksin 3 ve gonyatoksin 4'tür (Schulze, 1985; Lassus ve ark., 1992; Smith, 1992). *Atergatis filoridus* türlerinde tetrodotoksinde başka küçük miktarlarda saksitoksin, neosaksitoksin ve gonyatoksin içerir (Noguchi ve ark., 1984).

Yapısı bilinen tüm FKT'ler, saksitoksinin perhidropürin halkasına sahiptir (Schulze, 1985; Concon, 1988). Neosaksitoksin; 1- hidrosaksitoksin, gonyatoksin 1 ve gonyatoksin 4; 1  $\alpha$  - ve 11  $\beta$  - neosaksitoksin sülfat, gonyatoksin 2 ve gonyatoksin 3 ise 11  $\alpha$  - saksitoksin sülfat ve 11  $\beta$  - saksitoksin sülfat



Şekil 2. Felç yapıcı kabuklu su ürünü toksinleri (Sullivan ve Iwacka, 1983; Sullivan ve ark., 1983).

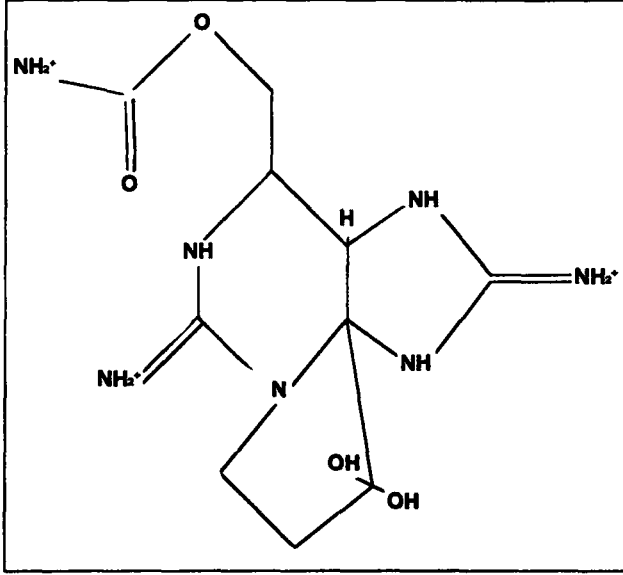
olarak tanımlanmıştır (Schulze, 1985; Concon, 1988). En büyük bileşik gonyatoksin 1'dir (Asakawa ve ark., 1993). Yapısı bilinen felç yapan kabuklu su ürünü toksinlerinin yapıları Şekil 1.2'de gösterilmektedir.

Felç yapan kabuklu su ürünü toksinleri sinir ve kas hücrelerinde sodyum kanallarını bloke ederek organizmayı etkiler (Koray, 1988; Smart, 1995). En etkili olanı gonyatoksin 3'dür (Smart, 1995). Bu zehirlerin öldürücü dozları türe ve canlının ağırlığına göre değişir. Ağızdan alındığında 5–10 µg/kg kobay, damar içi olarak alındığında 3–4 µg/kg kobay miktarındadır (Koray, 1988).

#### 1.4.1.1. Saksitoksin

**Özellikleri ve Bulunuşu :** Formülü C<sub>10</sub> H<sub>15</sub> N<sub>7</sub> O<sub>3</sub> – 2HC'(Wu ve ark., 1985; Sakamoto, Y. ve ark., 1987)dir. Yapısı Şekil 1.3'de gösterilmektedir.

Saksitoksinler *Protogonyaulax*, *Gonyaulax* ve *Pyrodinium* türü dinoflagellatlar tarafından üretilir (Noble, 1990; Sousa ve Bragana, 1991). Midye, istridye ve deniz tarağı gibi su ürünleri bünyelerinde taşır (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Noble, 1990). *Saksidomus giganteus* (bir çeşit Alaska istridyesi)'dan dolayı bu ismi almıştır (Sakamoto, Y. ve ark., 1987).



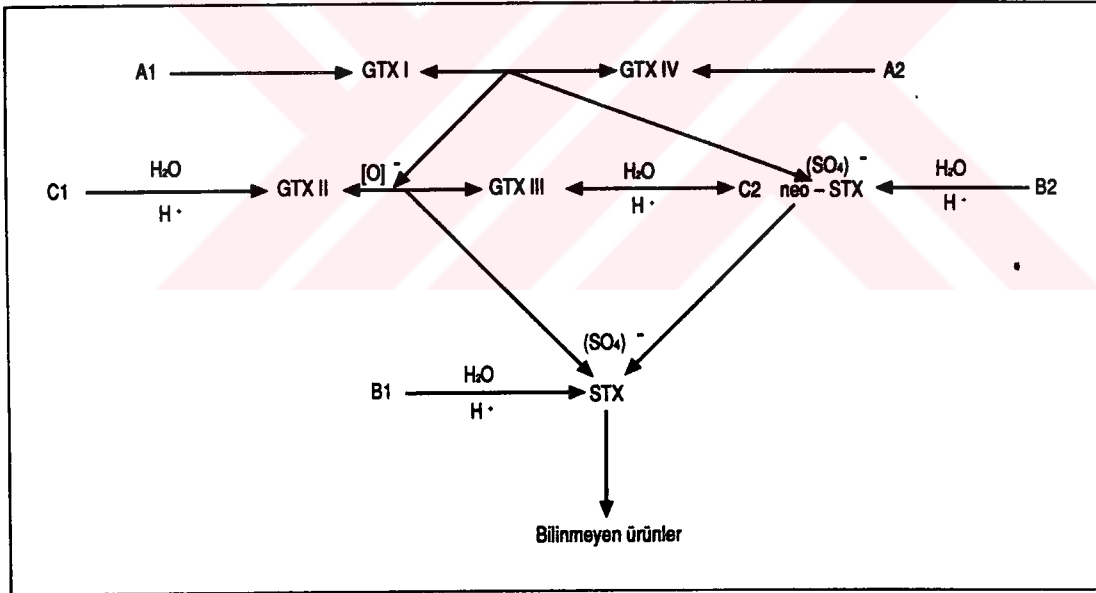
Şekil 1.3 Saksitoksinin kimyasal yapısı (Schulze, V.K., 1985).

Bu toksinler, ısıya dayanıklı, suda eriyebilen, bazik ortamda dayanıksız, asit ortamda dayanıklıdır. Pişirme, haşlama ve buhara karşı dayanıklıdır. Tetradotoksin gibi guanidium bileşiğidir (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989) ve tetrahidropürin yapısı içerir (Noble, 1990; Sousa ve Bragança, 1991). Kürara oranla daha iyi emilir ve elli kez daha iyi sindirilir (Rodrigue ve ark., 1990).

**FKT–Protoksinlerin Toksinlere Dönüşümü :** *Protogonyaulax* türlerinin B1, B2, C1 ve C2 olarak dört ön madde ürettiği tespit edilmiştir. Bunlar, düşük zehirliliğe sahiptir. Özellikle yüksek sıcaklıklarda; B1 saksitoksine, B2 neosaksitoksine, C1 gonyatoksin 2'ye ve C2 gonyatoksin 3'e dönüşür (Şekil 1.4). Bu dönüşüm ısıtma ile 25 dakikada ya da 100 °C'de daha kısa sürede ve oda sıcaklığında daha uzun zamanda olmaktadır. Bu dönüşümü sağlayan faktörlerin belirli bazı bağların hidrolizi ile ilgili olduğu saptanmıştır. Bu dönüşümler, yukardaki dört maddenin zehirliliklerini sırasıyla 10, 6, 20 ve 5 kat artırır. Gonyatoksin 1 ve gonyatoksin 4'ün kendiliğinden varsayılan protoksinleri A1 ve A2'dir. Dönüşümleri sağlayan biyotransformasyon işleminin dinoflagellatalarda olduğu sanılmaktadır. Protoksinlerin yapısının saptanması gerekir (Concon, 1988).

**Etki Şekli ve Etkileri :** Saksitoksin son derece güçlü bir nörotoksindir (Smith ve Kitts, 1993). Saksitoksinin sistematik etkisi, çevresel sinir sistemi ve

iskelet kasında uyarı iletimini engeller Saksitoksin sinir ve kas hücre zarlarında sodyum kanallarını bloke ederek sodyum geçişini (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989; Rodrigue ve ark., 1990; Özay, 1992; Smith ve Kitts, 1993) ve çevresel sinir iletimini engeller (Schulze, VK., 1985; Noble, 1990; Smith ve Kitts, 1993), merkezi ve çevresel sinir sistemi ile solunum felcine (Saldate ve ark., 1991; Tanado ve ark., 1991) solunum güçlüğü, yüz felci (Wu ve ark., 1985) ve kan basıncının düşmesine sebep olur (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Noble, 1990), damar düz kaslarına doğrudan etkilidir, vazomotor sinirlerde uyarılmayı önler. Bu toksinlerin etkileri tetrodotoksinden daha kısadır (Sakamoto, Y. ve ark., 1987), sinir ve kas aksiyon potansiyel artışını engeller (Eastaugh ve Shepherd, 1989). Saksitoksinin kan basıncı üzerine etkisi doza bağlı olarak değişir. Öldürücü dozun altında veya düşük dozda (örneğin 1.5–2.0 pg/kg'dan az) kan basıncı ilk önce düşer, yeniden yükselir, sonra muntazaman ve yavaşça yeniden düşer. Yüksek dozlarda kan basıncı daha hızlı düşer. Bu etki FKT'lerin damar düz kaslarını doğrudan etkilemesi ve vazomotor sinirlerin blokajı ile açıklanabilir (Concon, 1988).



Şekil 1.4. FKT protoksinlerin toksinlere dönüşümü (Concon, 1988).

**Zehirliliği :** Renksiz, kokusuz, suda çözünen ve ısıya dayanıklı bir sinir zehiridir. İnsanlardaki öldürücü dozu 0.3–1 mg kadardır (Ellenhorn ve Barceloux, 1988; Eastaugh ve Shepherd, 1989; Pirinççi, 1995). Su ürünlerinin yenilebilir et kısmı için belirlenen en düşük saksitoksin miktarı 80 µg/100 g'dır (Aran, 1993; PAC, 2000). Konserve için avlananlarda en düşük saksitoksin miktarı

80-160 µg/100 g'dır. Konserveler satıştan önce test edilir (PAC, 2000). Avrupa Birliği'nin 91/492/EEC sayılı direktifleri ile Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Su Ürünleri Yönetmeliği'nde FKT oranının (yumuşakçanın tümü veya tüketim için ayrılmış parçalarında) biyolojik analiz metoduna veya bilinen diğer bir metoda göre 100 g'da 80 µg'i geçmemesi gerektiği ve sonuçlardaki anlaşmazlık durumunda da referans metodun, biyolojik metod olduğu belirtilmektedir (Anon 2, 1996). Sıçanlarda ölüm oranı % 8 – 9'dur (Eastaugh ve Shepherd, 1989). FKT'lerin nisbî zehirlilikleri Çizelge 1.5'de gösterilmiştir.

Felç yapan kabuklu su ürünü toksinlerine duyarlılık bakımından türler arasında farklılık vardır. Memeliler içerisinde en duyarlı olanı insandır. Yaş, cinsiyet, vücut büyüklüğü, metal iyonlarının varlığı zehirliliği etkileyebilir. Artırılmış toksin, artırılmış toksinden daha zehirlidir. Sodyum iyonu zehirliliği azaltırken, Ca <sup>+2</sup>, Ba <sup>+2</sup>, Sr <sup>+2</sup>, Mg <sup>+2</sup>, Ni <sup>+2</sup>, Co <sup>+2</sup>, Fe <sup>+2</sup>, Fe <sup>+3</sup> iyonları zehirliliği artırır. Zehirlilik birimi olarak "fare ünite" (FÜ) kullanılır; 1 FÜ= 0.18 pg saksitoksin dihidrokloriddir ve yirmi g'lık bir fareyi 10–20 dk içerisinde öldüren toksin miktarıdır. Saksitoksin ve gonyatoksin 3 en zehirli FKT'dir (Concon, 1988). Bu zehirler, felç yapıcı kabuklu su ürünü zehirlenmesine sebep olur ( Noble, 1990; Hungerford ve Wekell, 1992; Kelly ve Hallegraff, 1992).

Çizelge 1.5. FKT'lerin nisbî zehirlilikleri (Smart, 1995).

Toksin	Speşifik Zehirlilik	
	(Fare Ünite/mg)	Nisbî Zehirlilik
Saksitoksin	5494 + / - 339	100
Neosaksitoksin	2393 + / - 101	43
Gonyatoksin – I	3976 + / - 312	72
Gonyatoksin – II	2003 + / - 211	36
Gonyatoksin – III	5641 + / - 346	103
Gonyatoksin – IV	1637 + / - 92	30

#### 1.4.1.2. Felç Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi

Bu zehirlenme, toksin üreten alglerle beslenen kabuklu su ürünlerinin tüketimi ile meydana gelir (WHO, 1984; Rodrigue ve ark., 1990; Rheinstejn ve Klontz, 1993). Daha çok Mayıs – Kasım ayları arasında görülür (Sakamoto ve ark., 1992). FKZ salgınları, Amerika ve Kanada'nın Pasifik Kıyıları'nda soğuk aylarda (Kasım–Ocak) gözlenmemiştir. Olayların çoğu, Mayıs–Ekim ayları

arasında görülmüştür (Smart, 1995). Salgınların dünyadaki dağılımı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.

Midye, ıstiridye ve deniz taraklarının yenilip sindirilmesi ile ortaya çıkan saksitoksin ve türevleri etkilidir. Kaptan George Vancouver, 1793 yılında FKZ'ye tanımlamıştır (Sakamoto, Y. ve ark., 1987). Tıp literatürüne geçen ilk olay 1903 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde meydana gelmiştir. Literatür kayıtlarında, 1927 yılında meydana gelen çok şiddetli salgınlar bulunmaktadır (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989). Amerika'da 1985 yılına kadar 1.000'den fazla olay kaydedilmiştir (Eastaugh ve Shepherd, 1989). FKZ salgınları bütün dünyada yaygındır (Rheinstein ve Klontz, 1993). FKZ salgınlarının 1968 – 1991 yılları arasındaki kayıtları Çizelge 1.6'de gösterilmiştir.

Filipinler'de 1984 yılı Kasım ayında zehirlenen 49 yaşındaki bir kişiyle ilgili olarak hastane kayıtlarında ağır bradikardi (30 kez / dk), hızlı ve yüzeysel solunum, eller ve ağız etrafında siyanoz ve böbrek yetmezliğinden dolayı ızdırap çektiğini bildiren kayıtlara rastlanmıştır (Alcala ve ark., 1988).

Bu zehirlenme kabuklu su ürünleri ile meydana gelen besin zehirlenmelerinin en şiddetlilerinden birisidir. Bu zehirlenmede genel belirtiler çoğunlukla ayak uçları ve parmaklarda uyuşma, hissizlik, kol ve bacakların güçsüzlüğü (Rheinstein ve Klontz, 1993) şeklinde devam ederek solunum felci ve ölümle sonuçlanabilir (Kelly ve Hallegraff, 1992).

**Yayıma alanı ve süresi :** Bu tip salgınlar genelde midye ve ıstiridye zehirlenmesi şeklinde görülür (Saldade ve ark., 1991). Dünya üzerinde, 1.600'e yakın FKZ olayının meydana geldiği tahmin edilmektedir. Etkilenenler 9 ay–86 yaş arasında (ortalama 12 – 16 yaş grubu)dir. Zehirlenme, 13 – 17 yaş arasındakilerde daha çok görülmesine karşın ölüm oranı % 1'dir (Çizelge 1.7).

Çizelge 1.6. FKZ salgınları; 2334 olguda 137 ölü : % 5.9 (Smart, 1995).

Yıl	Ülke	Olgu Sayısı	Ölüm Sayısı	Ölüm %	Kabuklu Cinsi	Dinoflagelata	Toksin
1968	Birleşik Krallık	78	0	0.0	Midye-Deniz tarağı	<i>Alexandrium tamarense</i>	? Saksitoksin
1970-72	Şili	Bilinmiyor	5		Midyeler	<i>Mesodinium Rubrum, Dinophysis sp.</i>	Bilinmiyor
1972	Papua Yeni Gine	25	3	13.0	Deniz tarağı	<i>Pyrodinium Bahamense</i>	Saksitoksin
1976	Palau	Bildirilmemiş			Dikenli ıstırdye	<i>Alexandrium sp. Pyrodinium bahamense</i>	Saksitoksin
1976	Brunel	14	0	0.0	Balık; Uskumru	<i>Pyrodinium bahamense</i>	? Saksitoksin
1976	Sabah	201	7 (çocuk)	3.5	Tarak, midye	<i>Pyrodinium bahamense</i>	
1976	Fransa	17	0	0.0	Midye	<i>Alexandrium tamarense</i>	Gonyatoksinler
1976	İsviçre	23	0	0.0	Midye	<i>Alexandrium tamarense</i>	Gonyatoksinler
1976	Almanya	19	0	0.0	Midye	<i>Alexandrium tamarense</i>	Saksitoksin
1976	İtalya	38	0	0.0	Midye	<i>Alexandrium tamarense</i>	
1977	Venezuela	171	10 (8 çocuk)	5.8	Midye	<i>Alexandrium tamarense,</i> <i>Cochlodinium catenatum.</i>	? Saksitoksinler
1979	Güney Afrika	17	0	0.0	Midye	<i>Alexandrium catenella</i>	Saksitoksinler
1927-80	Kaliforniya	508	32	6.3	Midye, ıstırdye, deniz tarağı	<i>Alexandrium catenella</i>	Saksitoksinler
1981	Hindistan	82	3	3.7	Bildirilmemiş	Rapor edilmedi.	
1983	Filipinler	250	21	8.4	Çoğunlukla balık (var. compressum)	<i>Pyrodinium bahamense</i>	? Saksitoksinler

Çizelge 1.6. Devamı

Yıl	Ülke	Olgu Sayısı	Ölüm Sayısı	Ölüm %	Kabuklu Cinsi	Dinoflagelata	Toksin 1981
1983	Hindistan	7	1	14.0	? Bildirilmemiş	Rapor edilmemiş	
1983	Endonezya	195	4	2.0	Balık	? <i>Pyrodinium sp.</i>	
1983-84	Sabah	25	11 (çocuk)	44.0	Kabuklu	Şüpheli ? <i>P. Bahamense</i>	
1984	Solomon Adaları	Bildirilmemiş			Kabuklu		
1984	Norveç	17	2	11.8	Midyeye	<i>Alexandrium sp., Proocentrum sp.</i>	Saksitoksin
1986	Singapur	10	2	20.0	Midyeye	Tanımlanamadı	
1980-86	Tazmanya, (Avustralya)	4	0	0.0	Kabuklu türevleri	<i>Gymnodium catenatum</i>	Saksitoksin
1987	Guatemala	187	26	13.9	Istridyeye	<i>Pyrodinium bahamense</i>	Saksitoksin
1981-87	Tayland	74	2	2.7	Midyeye, Yengeçler	<i>Alexandrium sp.</i>	Tanımlanamadı.
1988	Kanada	53	0	0.0	Midyeye	İfade edilmemiş.	
1989	El Salvador	106	3	2.8	Istridyeye	İfade edilmemiş.	Saksitoksinler
1989	Meksika	99	4	4.0	Istridyeye	İfade edilmemiş.	
1989	Guatemala	7	0	0.0	Istridyeye	İfade edilmemiş.	
1976-89	Alaska (USA)	94	0	0.0	Deniz tarağı ( <i>Saxidomus Giganteus</i> )	İfade edilmemiş.	? Saksitoksin
1990	Alaska (USA)	19	5.3		Midyeye, Deniz tarağı	İfade edilmemiş.	Saksitoksin

Çizelge 1.7. FKZ olgusunda yaşa duyarlılık ve ölüm oranı (Rodrigue ve ark., 1990).

Yaş	Olay Sayısı	Ölüm Olayı	Toplam Popülasyon	İnsidens (%0)	Ölüm Oranı
<6	16	8	1553	10.3	50
7-9	19	6	582	32.6	32
10-12	12	1	565	21.2	0
13-17	27	0	810	33.3	8
≤18	61	5	3381	18.0	
Bilinmeyen	10	1	-		
<b>Toplam</b>	<b>145</b>	<b>21</b>	<b>6891</b>		

**Klinik Belirtiler :** İlk belirtiler, toksinin alınmasından birkaç dakika (genelde 30 dk) sonra başlar (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989; Noble, 1990; Aran, 1993). Belirtiler, öncelikle sinir sisteminde lokalize olur (Eastaugh ve Shepherd, 1989; Aran, 1993). Bunlar; kulakta çınlama, dudaklarda diş etlerinde, dil, yüz ve parmak uçlarında yanma, uyuşma ve hissizlik (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989; Rodrigue ve ark., 1990; Aran, 1993), baş dönmesi, uyku hali, sendeleme, boğazda ve deride kuruma, konuşma ve anlama güçlüğü ve felçle seyreder (Aran, 1993). Tipik bir FKZ olgusu ilk belirtilerin görülmesinden itibaren 72 saat devam eder (en az 6 saat en çok 168 saat) (Koray, 1988).

Zehirlenme, yeme ve yutma güçlüğü ve görme bozukluğu ile seyreder (Noble, 1990), daha sonra, uyuşmalar boyun, eller ve ayaklara yayılır. Bunu kas felci izler. Kötü olgularda ataksi, vertigo, kranial sinir disfonksiyonu, tutarsız konuşma, ses kaybı görülür (Eastaugh ve Shepherd, 1989). Kas zayıflığı, baş dönmesi, yüzü koyun yatma, başağrısı, hafıza kaybı, yorgunluk, salya, hızlı nabız, şiddetli susama, idrar yapamama, az idrar yapabilme kas ağrısı, geçici körlük gibi diğer belirtilerle de karşılaşılabilir (Concon, 1988; Rodrigue ve ark., 1990). Mide bulantısı, kusma, ishal, karın ağrısı gibi mide-bağırsak sistemi belirtileri pek yaygın değildir (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989). Solunum güçlüğü ve motor felç oluşabilir. Kalp – damar sistemine ait belirtiler ile birlikte, dişlerde hasar meydana geldiği de bildirilmiştir (Sakamoto, Y. ve ark., 1987).

Çeşitli gözlemlerde, doz-etki ilişkisi ile karşılaşılır. Hafif parestezi ve diğer belirtiler 15.000 MU (2,7 mg saksitoksin), ciddi solunum felci 20.000 MU (3,6 mg), ölüm 20.000 – 40.000 MU (3,6–7,2 mg) arasında olduğu gözlenmiştir (Sakamoto, Y. ve ark., 1987).

**Zehirlenmenin seyri :** Hastalar sakin ve subklinik olarak genelde bir hafta içinde iyileşebilirler. Şiddetli olgularda, solunum felcinden dolayı ölüm görülebilir (Sakamoto. Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989; Rodrigue ve ark., 1990). On iki saat sonunda yaşamını sürdüren, ya da 24 saat sonunda iyi olanlar iyileşebilirler (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989; Noble, 1990). Zehirlenmede iyileşme oranı % 87.7–97'dir (Renz ve Terplon, 1987). Sinirsel belirtiler 24–72 saat içerisinde azalabilir (Rodrigue ve ark., 1990). Hasta, kas zayıflığına günlerce dayanabilir (Eastaugh ve Shepherd, 1989; Rheinstejn ve Klontz, 1993). Prognoz genel olarak iyidir (Eastaugh ve Shepherd, 1989).

**Tanı :** Anamnez bilgileri ve klinik belirtiler esas alınır. Fakat, sadece belirtilere bakarak tanıyı koymak ve diğer zehirlenmelerden ayırmak oldukça zordur, özel bir dikkat gerektirir (Koray, 1988; Eastaugh ve Shepherd, 1989).

**Sağaltım :** Toksin için herhangi bir antidot bilinmemektedir (Eastaugh ve Shepherd, 1989; Aran, 1993). Destekleyici, belirtilere yönelik sağaltım uygulanabilir (Eastaugh ve Shepherd, 1989; Noble, 1990). Tanı hemen konulabilirse mide ağrısından önce kusma esnasında, mide yıkaması yapılır. (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989; Noble, 1990). Yine kontamine besin ishal yapıcı ve kusturucularla uzaklaştırılabilir (Noble, 1990). Damar içi yolla sodyum–bikarbonat uygulaması yararlıdır (Eastaugh ve Shepherd, 1989). Suni solunum, felç durumunda faydalıdır (Koray, 1988; Aran, 1993). Saksitoksin ve türevleri antikolinergik etki gösterebileceğinden atropin uygulaması belirtileri kötüleştirebilir (Sakamoto, Y. ve ark., 1987). Bu tip zehirlenme olgularının tamamen kontrol altına alınması ve önlenmesi mümkün değildir (Aran, 1993).

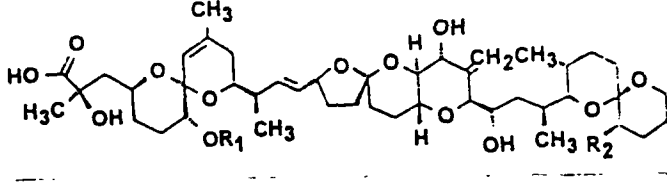
**Korunma :** Yemeğe sodyum–bikarbonat katılması ve 20–30 dakika ısıtılması tavsiye edilir. Bu metod toksinin % 85'ini yok edebilir. Fakat zehirlilikteki düşüşe rağmen midyeler zehirlenmeye yol açabilecek miktarda toksin taşıyabilir (Concon, 1988). Su ürünlerinin avlandıkları bölgelerden alınan örneklerin toksin yönünden araştırılması yararlıdır (Aran, 1993).

### 1.4.2. İshal Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksinleri

Brevetoksinler ve saksitoksinlerden farklı olarak yağda çözünen toksinlerdir. Bu toksinler, Japonya ve Avrupa'da görülen mide-bağırsak kanalı belirtileri ile karakterize salgınların incelenmesiyle izole edilmiştir (Huss, 1994; Smart 1995). Son yıllarda Yeni Zellanda'da meydana geldiği ve potansiyel risk oluşturduğu keşfedilmiştir. Toksinler etkilerini serin ve threonin fosfatazların etkilerini engellemek suretiyle gösterirler (Cawthron, 2000).

İshal yapıcı toksinler, *Dinophysis* türü dinoflagellatalardan orijin alırlar (Schulze, V.K., 1985). İKZ'ye sebep olan dinoflagellatalar, *Dinophysis* ve *Aurocentrum* türleridir. Bu dinoflagellatalar dünyada yaygındır. Dolayısıyla, bu hastalık dünyanın diğer bölgelerinde de oluşabilir (Huss, 1994). Bunlar, dinofisistoksin-1, dinofisistoksin-3, pektenotoksin-1 ve okadaik asittir (Kelly ve Hallegraff, 1992; Marr ve ark., 1992; Rao ve ark., 1993; Hamano ve ark., 1996). Okadaik asit ve türevlerinin yapıları Şekil 1.5'de gösterilmiştir. Toksinlerin hepsi, mide bağırsak kanalı belirtileriyle karakterize ishal yapıcı kabuklu su ürünü zehirlenmesine sebep olurlar (Hamano ve ark., 1996). Kabuklu su ürünlerinde belirlenen en düşük DTX miktarı 0-60 µg/100 g'dır (Huss, 1994). Avrupa Birliği'nin 91/492/EEC sayılı direktifleri ve Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Su Ürünleri Yönetmeliği'nde de İKZ oranı ile ilgili (yumuşakçanın tümü ve yenilebilir kısımlarında) biyolojik analiz yöntemleriyle analizinde, pozitif reaksiyon vermemesi gerektiği belirtilmektedir (Anon 2, 1996).

Bakteriyel enterotoksinlerin tespiti için kullanılan metodlar, ishal yapıcı kabuklu toksinlerinin tespiti için de kullanılmaktadır. Ham İKT'ler üzerinde 1978 - 1982 yıllarında Osaka'da meydana gelen zehirlenmelerde rol oynayan deniz tarağından asetonla ekstraksiyon yapılarak izole edilen dinofisistoksin-1, dinofisistoksin-3, pektenotoksin-1 ve okadaik asit gibi toksinlerle süt emen fare ve tavşanlarda çeşitli çalışmalar yapılmış, ince bağırsakların incelenmesinde epitel hasarı ve lamina propria'da ödem görülmüştür. Bu etkiler için, dinofisistoksin-1, dinofisistoksin-3 ve okadaik asit pozitif sonuç verirken, pektenotoksin-1 negatif sonuç vermiştir (Hamano ve ark., 1996).



Toksin	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Okadaik asit	H	H
Dinofisistoksin-1	H	CH <sub>3</sub>
Dinofisistoksin-2	Acyl	CH <sub>3</sub>

Şekil 1.5 Okadaik asit ve türevleri (Smart, 1995; Sullivan ve ark., 1983).

#### 1.4.2.1. İshal Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi

1960'lı yıllarda Hollanda'da ve sonra Japonya'da bu zehirlenmelere rastlanmıştır. Japon bilim adamları kontamine kabuklu su ürünlerinden dinofisistoksin adıyla bir toksin elde etmişlerdir (Schulze, V.K., 1985). Çeşitli yayınlarda bu toksin okadaik asit ismiyle de tanımlanmıştır (Kelly ve Hallegraff, 1992).

Belirtiler, 30 dk ile birkaç saat içinde görülmeye başlar (Schulze, V.K., 1985) ve üç gün sonunda biter (Cawthron, 2000). İshalle seyreden mide-bağırsak belirtileriyle belirgindir (Kelly ve Hallegraff, 1992; Rheinstein ve Klontz, 1993). Kusma, karın ağrısı ve baş ağrısı görülür (Schulze, V.K., 1985; Rheinstein ve Klontz, 1993). Ölüme pek rastlanmamıştır (Rheinstein ve Klontz, 1993). Üç-dört gün içinde iyileşme görülür (Huss, 1994).

#### 1.4.3. Nörotoksik Kabuklu Su ürünü Toksinleri

*Ptychodiscus brevis*, birkaç *Prorocentrum* türü ve *Gambierdiscus* tarafından sentezlenirler. Toksinler brevetoksin A, brevetoksin B, brevetoksin C, T4-6, T4-7, T17, T34 şeklinde isimlendirilebilir (Koray, 1988; Kitts ve ark. 1992). Ağır hemolitik ve nörotoksik etkiye sahip bileşiklerdir. Brevetoksin-B en büyük bileşiktir. Moleküler formülasyonu C<sub>50</sub> H<sub>70</sub> O<sub>14</sub>'tür (Sakamoto, Y. ve ark. 1987). Hücre içinde sürekli dönüşüm halinde olan bu zehirler, dış ortamda haftalarca bozulmadan kalabilirler. Sodyum akışını artırmak suretiyle etkilerini gösterirler (Koray, 1988). Depolarize edicidirler. Yağda eriyebilirler ve NKZ'ye sebep olurlar. Parestezi, ısıya duyarlılık, sıcak ve soğuğu tersine çevirme, mide bulantı-

sı, kusma, ishal ve ataksiye sebep olurlar (Noble, 1990).

Bu gruptaki toksinlerin temsilcisi **brevetoksinlerdir**.

#### 1.4.3.1. Brevetoksinler

**Özellikleri ve Bulunuşu :** *Ptychodiscus brevis* tarafından sentezlenir (Koray, 1988; Kitts ve ark., 1992). Protein olmayan yapıda, yağda eriyebilen, ısıya (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989; Noble, 1990; Smith, 1992) ve aside dayanıklı, bazik ortamda dayanıksızdır (Sakamoto, Y. ve ark., 1987). Toksin, asetonda çözünür. Etil-asetat ve etanolde daha az çözünür. Suda çok az çözünür, 265 – 270 °C'de ayrışır. Kesin bir erime noktası yoktur (Concon, 1988).

**Etki Şekli ve Etkileri :** Adrenerjik sinir uçlarında sodyum kanallarını uyarır. Postgangliyonik parasempatik sinir uçlarından asetilkolin salınmasıyla düz kaslar boyunca kasılmaya (Sakamoto, Y. ve ark., 1987; Eastaugh ve Shepherd, 1989), sinir ucundan norepinefrin ve diğer bazı transmitter maddelerin salınımına sebep olur (Wu ve ark., 1985; Sakamoto, Y. ve ark., 1987).

Özellikle T17 toksin ile tetrodotoksin ve T17 toksin ile lokal anestezikler arasında antagonizma görülür. Tetrodotoksin sodyum kanalı blokörüdür. Antagonizma tetrodotoksin tarafında görülür. Lokal anestezikler ve tetrodotoksin, sodyum kanalının separe bölgelerinde rol oynar. Prokain T17 ile arasında yarışmalı antagonizma vardır (Huang ve ark., 1984; Wu ve ark., 1985).

**Zehirliliği :** Ağır hemolitik ve nörotoksik etki gösterir (Sakamoto, Y. ve ark., 1987) ve nörotoksik kabuklu su ürünü zehirlenmesine sebep olur (Noble, 1990; Hungerford ve Wekell, 1992).

#### 1.4.4. Amnezik Kabuklu Su Ürünü Zehirlenmesi

Bu zehirlenme ile ilgili salgınlar, Kanada'da 1987 yılında Kasım – Aralık aylarında görülmüştür (Llewelyn ve Endean, 1988; Shumway, 1990; Aran, 1993; Rheinstejn ve Klontz, 1993). Zehirlenmeye sebep olan organizma, *Nitzschia punges* isimli bir diatomdur. Diatomların gelişimini etkileyen faktörler dinofla-

gellatalara göre farklılık arz eder. Bu sebeple, salgınlar Kasım–Aralık aylarında görülmüştür (Smart, 1995).

Hafıza kaybına (amneziye) sebep olan bu zehirlenme, yeni tanımlanan bir zehirlenmedir. Zehirlenmeye, *Nitzchia pungens* türü diatom tarafından üretilen bir aminoasit olan domoik asit sebep olur (Huss, 1994). Glutamik asit ile bazı yapısal benzerlikler gösterir. Toksin nörotransmitter uyarıcı etki yapar (Smart, 1995). Bu zehirlenmelere, domoik asit intoksikasyonu da denilmektedir (Doyle ve Steinhard, 1993).

### 1.5. Diğer Biyotoksinler

- a) Tetrodotoksin (Daigo ve ark., 1988; Huss, 1994; Pirinçci, 1995).
- b) Ciguatoksin (Noble, 1990; Smith, 1992; Doyle ve Steinhard, 1993).
- c) Venerupin (Concon, 1988).
- d) Kallistin (Concon, 1988).
- e) Tetramin (Concon, 1988).
- f) Mureksin (Concon, 1988).
- g) Yengeç zehiri (Ng ve ark., 1992; Chia ve ark., 1993; Lau ve ark., 1993).

### 1.6. Biyotoksinlerin Sebep Olduğu Zehirlenmelerin Kontrolü

Deniz biyotoksinlerinin kontrolü zordur. Hastalıkların, tamamen önlenmesi mümkün değildir. Toksinlerin tümü, protein olmayan ve genellikle dayanıklı bir yapıya sahiptir. Pişirme, dumanlama, tütüleme, kurutma ve tuzlama (salamura) gibi uygulamalardan etkilenmezler. Gıdaya bakarak zehirli olup olmadığı bilinemez (Huss, 1994).

En önemli kontrol yöntemi, kabuklu yataklarından örnekler alınarak toksin analizi yapmaktır. Fare biyolojik metod genelde kullanılan bir yöntemdir. Eğer yüksek miktarda toksin çıkarsa avlama durdurulur [Toksin miktarı tespiti için de yüksek basınçlı sıvı kromatografi (YBSK) kullanılabilir] (Huss, 1994).

Üretim bölgelerinde, zehirleyici fitoplankton türleri elimine edilerek kontrol edilebilir. Fakat, fitoplanktonların zehirli olup olmadıklarını önceden tesbit ede-

bilen güvenilir bir yol olmadığından partiküler fitoplankton büyüdüğünde zehirleyici türlerin gelişmesini tamamen engelleyecek bir yol yoktur (Huss, 1994).

**Çizelge 1.8. Biyotoksinlerin izlenmesi (Huss, 1994, içinde; WHO, 1989).**

<b>Toksin</b>	<b>Tolerans</b>	<b>Analiz Metodu</b>
FKZ	80 µg/100 g	Fare biyolojik metod, YBSK
İKZ	0–60 µg/100 g	Fare biyolojik metod, YBSK
NKZ	100 g'da riskli düzeyi belirlenmedi.	Fare biyolojik metod
AKZ	20 ppm domoik asit	YBSK
Ciguatera	Kontrolü zordur.	Güvenilir bir metod yok.

Etkili bir izleme için, güvenilir bir örnekleme planı ve ciddi bir şekilde toksin tespitinin yapılması gerekir (Huss, 1994).

Toksin tespiti için çeşitli kimyasal metodlar vardır ve geliştirilebilir. Örnekleme planında kabukluların zehirliliği ihmal edilebilir bir düzeyden öldürücü düzeye bir haftadan daha kısa sürede çıkabileceği göz önünde tutulmalıdır. Midyeler için bu süre 24 saatten bile kısa olabilir. Zehirlilik seviyesi hayvanın yaşadığı coğrafi konuma, su akıntısına ve denizdeki renk değişikliği olaylarına (red-tide) göre değişiklik gösterir (Huss, 1994).

İzleme programındaki toksinlerin analiz metodları ve tolerans düzeyleri Çizelge 1.8'de gösterilmiştir.

Araştırma, her yıl binlerce tonu aşan miktarda yurt dışına ihraç edilen ve ülkemizde de bol miktarda tüketilen midye ve ıstıdyelerde saksitoksin ve dinofisitoksinlerin bulunup bulunmadığını, varsa insan sağlığı açısından risk oluşturacak düzeylerde olup olmadığını, hangi denizlerde ve hangi mevsimlerde rastlanıldığını ortaya koymak amacıyla gerçekleştirildi.

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Gereç

Materyal olarak, Ege ve Marmara Denizi'nden avlanan midye ve ıstridyeler kullanıldı. Midye ve ıstridye örnekleri, Ege Denizi'nin İzmir, Balıkesir (Ayvalık), Çanakkale sahilleri ile Marmara Denizi'nin Çanakkale, Balıkesir (Bandırma) ve İstanbul sahillerinden toplandı. Örnekler, ilkbahar (Mayıs ayında), yaz (Temmuz ayında) ve sonbahar (Kasım ayında) mevsimlerinde ikişer defa olmak üzere her noktadan toplam altı kez örnek toplandı. Kış mevsiminde, ülkemizde midye ve ıstridye avlanmadığı için örnek toplanamadı.

#### 2.1.1. Analiz Gereci

Analizler, altı ayrı yöreden Mayıs, Temmuz ve Kasım aylarında ikişer defa olmak üzere, her grup örnekte en az 50 adet midye ve 50 adet ıstridye bulunacak şekilde altı kez toplanan (toplam en az 1800 adet midye ve 1800 adet ıstridye) örnekler üzerinde gerçekleştirildi. Toplanan midye ve ıstridye örnekleri mevsimlere göre aşağıdaki gibi numaralandırıldı.

**Örnek 1;** ilkbahar mevsimi (Mayıs ayı) birinci dönem.

**Örnek 2;** ilkbahar mevsimi (Mayıs ayı) ikinci dönem.

**Örnek 3;** Yaz mevsimi (Temmuz ayı) birinci dönem.

**Örnek 4;** Yaz mevsimi (Temmuz ayı) ikinci dönem.

**Örnek 5;** Sonbahar mevsimi (Kasım ayı) birinci dönem.

**Örnek 6;** Sonbahar mevsimi (Kasım ayı) ikinci dönem.

### 2.1.2. Hayvan Gereci

Toplanan her grup örnek en az 50 adet midye ve 50 adet istridyeden oluşmaktadır. Her grup örnek üzerinde saksitoksin ve dinofisistoksin tespiti için iki ayrı süzüntü işlemi gerçekleştirildi. Altı yöreden, altı kez toplanan 36 grup midye örneği ve 36 grup istridye örneği üzerinde 72 kez saksitoksin tespiti için ve 72 kez de dinofisistoksin tespiti için olmak üzere toplam 144 süzüntü işlemi gerçekleştirildi. Her süzüntüden üç adet test faresine periton içi enjeksiyon yapıldı. Toplam 432 adet ingiliz ırkı fare üzerinde analizler gerçekleştirildi.

### 2.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. 0.1 N HCl (Merck. Art No. 1.00314.2500) : 0,83 ml HCl asit alınıp üzerine 99,17 ml su ilave edilerek 0.1 N HCl hazırlandı.
2. 5 N HCl (Merck. Art No. 1.00314.2500) : 41.5 ml HCl asit alınıp, 58.5 ml su ilave edilerek 5 N HCl hazırlandı.
3. 0.1 N NaOH (Merck. Art No. 6462.1000) : 100 ml su üzerine 0,4 g NaOH ilave edilerek 0.1 N NaOH hazırlandı.
4. Aseton (Merck. Art No. 1.00013.2500).
5. Etil Eter (Merck. Art No. 1.00926.5000).
6. % 1'lik Tween 60 (Merck. Art No. S.24678.824): (1 ml Tween 60 alınıp üzerine deiyonize su ile 100 ml'ye tamamlandı).
7. Distile Su

### 2.1.4. Kullanılan Laboratuvar Gereçleri

1. Santrifüj (Heraus, SEPATECH, Labofuge 200, Made In Germany).
2. Evaporatör (ROTAVAPOR R 110, BÜCHI, MADE IN SWITZERLANT).
3. Parçalayıcı (VIRTIS, RESEARCH EQUIPMENT, GARDINER, NEVYORK 12525).
4. Terazî (Sartorius, Max 200 g, 1106).
5. Çeşitli boyda beherler.
6. Çeşitli boyda cam balonlar.
7. Ayırma hunileri.

8. Santrifüj tüpleri.
9. Dereceli kab
10. pH metre
11. 1 ml'lik insulin enjektörler.
12. Süzgeç kağıdı (Whatman No: 4).
13. Pipetler.

## 2.2. Metod

Fare biyolojik metod, kabuklu su ürünlerinde FKT ve İKT analizlerinde en çok kullanılan, en geçerli olan ve tüm dünyada referans kabul edilen bir metottur (WHO, 1984; Luckas ve ark., 1990; Tanado ve ark., 1991; Huss, 1994; Anon 2, 1996; Quilliam, 2000; Cawthron, 2000; PAC, 2000; Alphanutrition, 2000)

Fare biyolojik metod, kabuklu su ürünlerinden elde edilen süzüntülerin fareye periton içi enjeksiyonu ve enjeksiyon sonrası oluşan ölüm hızının tanımlanmasından oluşur (WHO, 1984; Quilliam, 2000). Bu metotta farelerin ağırlığı, süzüntünün pH değeri ve tuz konsantrasyonu gibi koşullar standardize edilmelidir (WHO, 1984; Alphanutrition, 2000).

Felç yapan kabuklu su ürünü toksinlerinin fare biyolojik metotla analizlerinde sonuçlar 100 g kabuklu su ürünü etinde  $\mu\text{g}$  STX olarak hesap edilir ve STX tespiti için elde edilen süzüntünün farelere enjeksiyonundan sonra 1 saat süreyle fare ölümlerinin gözlenmesi ile değerlendirilir (Anon 2, 1996; PAC, 2000). Süzüntü işlemi genellikle 0.1 N HCl ile gerçekleştirilir ve pH değeri tercihen 2,5-3'e ayarlanır. pH ayarlaması için HCl asit kullanılır. Örnek 5 dk kaynatılır, sonra soğutulur ve tekrar pH ayarlaması yapılır (Anon 2, 1996; Quilliam, 2000).

İshal yapan kabuklu su ürünü toksinlerinin fare biyolojik metotla analizlerinde sonuçlar İKT tespiti için elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonundan sonra 24 saat süreyle fare ölümlerinin gözlenmesi ile değerlendirilir (WHO, 1984; Anon 2, 1996). Farelere yapılan enjeksiyon sonrası, hayatta kalma süresi süzüntüde bulunan asit yoğunluğuna bağlı olarak dalgalanmalar göstermektedir. Süzüntüdeki asit yoğunluğunun yüksek olması yanlış pozitif sonuçların ortaya çıkmasına sebep olur (Alphanutrition, 2000).

### 2.2.1. Felç Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksini (Saksitoksin) Tespiti

**Midye ve Istridyeye örneklerinin hazırlanışı:** Midye ve ıstridyeye örnekleri, su ile iyice yıkanıp, kabukları açılarak, dokusuna fazla zarar vermeden içleri çıkarıldı. 150 g kadar et kısmı ayıklandı ve parçalayıcıda parçalandı.

#### Süzüntü İşlemi:

- 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. pH ayarlaması için 5 N HCl ve 0.1 N NaOH kullanıldı.
- Karışım daha sonra ısıtılarak kaynamaya başladıktan sonra hafif ateşte 5 dk kaynatıldı.
- Karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu.
- Soğutulmuş karışımın pH'sı tekrar 2,5'a ayarlandı. pH ayarlaması için yine 5 N HCl ve 0.1 NaOH kullanıldı.
- Daha sonra karışım, dereceli kaba aktarılarak distile su ile 200 ml'ye tamamlanarak karıştırıldı.
- Santrifüj tüplerine bir miktar alındı ve 3.000 devirde 5 dk santrifüj edildi.
- Üstteki sıvı kısım farelere enjekte edilmek üzere kullanıldı.

**Test farelerine uygulama:** 18–21 g ağırlığındaki 3 adet test faresine periton içi yolla 1'er ml enjekte edildi. Bir saat süreyle test fareleri gözlemlendi.

**Sonuçları değerlendirme:** 1 saat içinde her üç fareden, hiçbirinin ölmesi veya birinin ölmesi durumunda negatif (midye/ıstridyede insan tüketiminde sakıncalı miktarda saksitoksin bulunmadığı), iki veya üç farenin ölmesi durumunda pozitif (midye/ıstridyede, insan tüketiminde sakıncalı miktarda saksitoksin bulunduğu) olarak değerlendirildi.

### 2.2.2. İshal Yapıcı Kabuklu Su Ürünü Toksini (Dinoflisisitoksin) Tespiti:

**Midye ve Istridyeye örneklerinin hazırlanışı:** Midye ve ıstridyeye örnekleri, su ile iyice yıkanıp, kabukları açılarak, iç kısımları çıkarıldı. İç kısımlarından 20–25 g bir cam balona tartıldı. Örnek bir parçalayıcıda parçalandı. Sonra 20 g tartıldı.

**Süzüntü İşlemi:**

- 100 ml aseton ilave edilerek, karıştırıcı vasıtasıyla 5 dakika karıştırıldı.
- 500 ml'lik bir balon içerisine üstteki sıvı kısmı süzgeç kağıdı yardımıyla süzülerek alındı.
- Bu işlem 3 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 bir ayırma hunisinde 50 ml etil eter ile süzüntü işlemi gerçekleştirildi.
- Eter ile su fazının süzüntü işlemi iki kez tekrar edildi.
- Eter süzüntüleri bir balon içinde toplandı.
- Evaporatorda buharlaştırıldı.
- Son kalıntıya 4 ml % 1'lik Tween 60 ilave edilerek, % 1'lik Tween 60 içinde çözdürüldü.

**Test farelerine uygulama:** Bu süzüntü, 18–21 g ağırlığındaki 3 adet test faresine Pİ yolla 1'er ml enjekte edildi. Fareler, 24 saat gözlem altında tutuldu.

**Sonuçları değerlendirme:** 24 saat içinde, farelerden 1, 2 veya 3'ünün de ölmesi durumunda pozitif, hiç ölüm görülmemesi durumunda ise negatif olarak değerlendirildi.

### 3. BULGULAR

Ege Denizi, İzmir kıyılarından Temmuz ayında toplanan iki grup midye örneğinden saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntülerden farelere enjeksiyon sonucunda her bir gruptan birer fare ölümünün görülmesi ve Mayıs ve Kasım aylarında toplanan örneklerden elde edilen süzüntülerden farelere enjeksiyon sonucunda hiçbir fare ölümünün görülmemesi nedeniyle sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir (Temmuz ayında toplanan örneklerde düşük miktarlarda saksitoksin bulunabileceği tespit edilmiştir) (Çizelge 3.1).

Balıkesir kıyılarından, Mayıs ayında ikinci defa toplanan midye örneğinden saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntünün farelere enjeksiyonu sonucunda bir fare ölümünün görülmesi ve toplanan diğer örneklerden elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu ile hiçbir fare ölümünün görülmemesi sonucun yine negatif olduğu anlaşılmıştır (Bu durum, Mayıs ayında ikinci kez toplanan midye örneklerinde düşük miktarlarda saksitoksin bulunabileceğini göstermiştir) (Çizelge 3.1).

Çanakkale kıyılarından toplanan midye örneklerinin analizinde hiçbir fare ölümü görülmemiş ve sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.1).

Dinofisistoksin tespiti için toplanan midye örnekleri ile yapılan analizlerin sonucunda hiçbir fare ölümü görülmemiş ve dinofisistoksin varlığı yönünden sonuçlar negatif olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Ege Denizi'nden toplanan midye örneklerindeki STX ve DTX bulguları.

Örnek No	Saksitoksin Varlığı		Dinofisistoksin Varlığı	
	Ölen Fare/Uygulanan Fare	Sonuç	Ölen Fare/Uygulanan Fare	Sonuç
<b>İZMİR</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	1/3	"	0/3	"
4	1/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"
<b>BALIKESİR (Ayvalık)</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	1/3	"	0/3	"
3	0/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"
<b>ÇANAKKALE</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	0/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"

Marmara Denizi, Balıkesir kıyılarından Temmuz ayında ilk toplanan midye örneklerinin analizinde farelere enjeksiyon sonucunda bir fare ölümü görüldüğü, toplanan diğer midye örneklerinin analizinde farelere enjeksiyon sonucunda hiçbir fare ölümü görülmediğinden sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir (Temmuz ayında ilk toplanan midye örneklerinde düşük miktarlarda saksitoksin bulunabileceği anlaşılmıştır) (Çizelge 3.2).

Çanakkale ve İstanbul kıyılarından toplanan midye örneklerinden saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntülerden farelere enjeksiyon sonucunda hiçbir fare ölümü görülmemiş ve sonuç saksitoksin varlığı yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.2).

İstanbul, Balıkesir ve Çanakkale kıyılarından toplanan midye örneklerinden dinofisistoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu ile hiçbir fare ölümü görülmemiş ve sonuç dinofisistoksin varlığı yönünden negatif olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Marmara Denizi'nden toplanan midye örneklerindeki STX ve DTX bulguları.

Örnek No	Saksitoksin Varlığı		Dinofisitoksin Varlığı	
	Ölen Fare/Uygulanan Fare	Sonuç	Ölen Fare/Uygulanan Fare	Sonuç
<b>ÇANAKKALE</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	0/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"
<b>BALIKESİR (Bandırma)</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	1/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"
<b>İSTANBUL</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	0/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"

Ege Denizi, İzmir kıyılarından Mayıs ayında toplanan ikinci grup istiridye örneklerinden saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntünün farelere enjeksiyonu ile bir fare ölümü görüldüğü ve diğer istiridye örneklerinden saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu ile hiçbir fare ölümü görülmediğinden sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Mayıs ayında toplanan ikinci grup istiridye örneklerinde düşük miktarlarda saksitoksin bulunabileceği ortaya konulmuştur) (Çizelge 3.3).

Balıkesir kıyılarından Temmuz ayında toplanan birinci grup istiridye örneklerinin analizinde saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntünün farelere enjeksiyonu ile bir fare ölümü görülmüş, toplanan diğer istiridye örneklerinden saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntülerden farelere enjeksiyon sonucunda hiçbir fare ölümü görülmemiş ve sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir. (Temmuz ayında toplanan birinci grup örnekte düşük miktarda saksitoksin bulunabileceği ortaya çıkmıştır) (Çizelge 3.3).

Çanakkale kıyılarından toplanan istiridye örneklerinin tümünden saksi-

toksin tespiti için elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu sonucunda hiçbir fare ölümü görülmemiş ve saksitoksin varlığı yönünden negatif sonuçlar ortaya çıkmıştır (Çizelge 3.3).

İzmir, Balıkesir ve Çanakkale kıyılarından toplanan istiridye örneklerinin tümünden dinofisistoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin farelere uygulanması ile hiçbir fare ölümü görülmemiş ve sonuçlar dinofisistoksin varlığı yönünden negatif olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Ege Denizi'nden toplanan İstiridye örneklerindeki STX ve DTX bulguları.

Örnek No	Saksitoksin Varlığı		Dinofisistoksin Varlığı	
	Ölen Fare/Uygulanan Fare	Sonuç	Ölen Fare/Uygulanan Fare	Sonuç
<b>İZMİR</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	1/3	"	0/3	"
3	0/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"
<b>BALIKESİR (Ayvalık)</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	1/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"
<b>ÇANAKKALE</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	0/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"

Marmara Denizi, Balıkesir kıyılarından Temmuz ayında toplanan birinci grup istiridye örneklerinden elde edilen süzüntünün farelere enjeksiyonu ile bir fare ölümü görülmüş, toplanan diğer istiridye örneklerine ait süzüntülerin farelere uygulanması ile hiçbir fare ölümü görülmemiş olup sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Temmuz ayında toplanan birinci grup örnekteki istiridyelerde düşük miktarlarda saksitoksin bulunabileceği ortaya konulmuştur) (Çizelge 3.4).

İstanbul ve Çanakkale kıyılarından toplanan istiridye örneklerinden saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu sonucunda hiçbir fare ölümü görülmemiş ve sonuçlar saksitoksin varlığı yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.4).

Marmara Denizi kıyılarından toplanan istiridye örneklerinden dinofisistoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin farelere uygulanması sonucunda hiçbir fare ölümü görülmemiş ve dinofisistoksin varlığı yönünden negatif sonuçlar ortaya çıkmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4 : Marmara Denizi'nden toplanan istiridye örneklerindeki STX ve DTX bulguları.

Örnek No	Saksitoksin Varlığı		Dinofisistoksin Varlığı	
	Ölen Fare/Uygulanan Fare	Sonuç	Ölen Fare/Uygulanan Fare	Sonuç
<b>ÇANAKKALE</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	0/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"
<b>BALIKESİR (Bandırma)</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	1/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"
<b>İSTANBUL</b>				
1	0/3	Negatif	0/3	Negatif
2	0/3	"	0/3	"
3	0/3	"	0/3	"
4	0/3	"	0/3	"
5	0/3	"	0/3	"
6	0/3	"	0/3	"

Ege ve Marmara Denizleri'nden Mayıs, Temmuz ve Kasım aylarında toplanan 36 grup midye örneğinden saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu sonucunda (dört grupta birer fare olmak üzere) dört farenin öldüğü, 36 grup istiridye örneğinden saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu sonucunda (üç grupta birer fare olmak üzere) üç farenin öldüğü ve yine aynı örneklerden dinofisistoksin tespi-

ti için elde edilen süzüntülerin farelere enjeksiyonu ile hiçbir farenin ölmediği görülmüştür. Sonuçlar dinofisistoksin ve saksitoksin varlığı yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.5).

**Çizelge 3.5. Midye ve Istridye örneklerinde Türkiye geneli STX ve DTX bulguları.**

	Örnekleme	Süzüntü	Saksitoksin Varlığı	Dinofisistoksin Varlığı
	Dönemi	Sayısı	Ölen Fare/Süzüntü Uygulanan Fare	Ölen Fare/Süzüntü Uygulanan Fare
M İ D Y E	1	6	0/18	0/18
	2	6	1/18	0/18
	3	6	2/18	0/18
	4	6	1/18	0/18
	5	6	0/18	0/18
	6	6	0/18	0/18
<b>TOPLAM</b>		<b>36</b>	<b>4/108</b>	<b>0/108</b>
I S T R İ D Y E	1	6	0/18	0/18
	2	6	1/18	0/18
	3	6	2/18	0/18
	4	6	0/18	0/18
	5	6	0/18	0/18
	6	6	0/18	0/18
<b>TOPLAM</b>		<b>36</b>	<b>3/108</b>	<b>0/108</b>
<b>G.TOPLAM</b>		<b>72</b>	<b>7/216</b>	<b>0/216</b>

Ege ve Marmara Denizleri'nden, ilkbahar mevsiminde toplanan 24 grup midye ve ıstridye örneği ile saksitoksin tespiti için yapılan analizlerin sonucunda (iki grupta birer fare olmak üzere) iki farenin öldüğü, yaz mevsiminde toplanan 24 grup midye ve ıstridye örneği ile yapılan analizlerin sonucunda (beş grupta birer fare olmak üzere) beş farenin öldüğü ve sonbahar mevsiminde toplanan örneklerle yapılan analizlerin sonucunda ise hiçbir farenin ölmediği görülmüş ve yine dinofisistoksin tespiti için yapılan analizlerin sonucunda hiçbir fare ölümü görülmemiştir. Yapılan analizlerin tamamında negatif sonuçlar ortaya çıkmıştır (Çizelge 3.6).

**Çizelge 3.6. Midye ve Istridye örneklerinde Türkiye Genel Mevsimlere göre STX ve DTX bulguları.**

	Mevsim	Örnek Sayısı	Saksetoksin Varlığı	Dinoflelostoksin Varlığı
			Ölen Fare/Süzüntü Uygulanan Fare	Ölen Fare/Süzüntü Uygulanan Fare
M İ D Y E	İlkbahar	12	1/36	0/36
	Yaz	12	3/36	0/36
	Sonbahar	12	0/36	0/36
İ S T İ R İ D Y E	İlkbahar	12	1/36	0/36
	Yaz	12	2/36	0/36
	Sonbahar	12	0/36	0/36
T O P L A M	İlkbahar	24	2/72	0/72
	Yaz	24	5/72	0/72
	Sonbahar	24	0/72	0/72

#### 4. TARTIŞMA

Kabuklu su ürünü zehirlenmesi tüm dünyanın bir problemidir. Proteinli besin maddesi ihtiyacının artması ile su ürünlerine yönelimin artması sebebiyle bu zehirlenmelere maruz kalma riski dünya genelinde vardır. Ciddi planlama, düzenli olarak kabuklu su ürünlerinde zehir düzeylerinin izlenmesi ve geniş halk sağlığı programları ile bu tür zehirlenmelerin önüne geçilebilir (Smart, 1995).

Dinofisitoksinler, Japonya ve Avrupa'da görülen mide bağırsak kanalı belirtileri ile belirgin salgınların incelenmesiyle izole edilmiştir (Huss, 1994; Smart, 1995). Ham İKT'ler üzerinde 1978 – 1982 yıllarında Osaka'da meydana gelen zehirlenmelerde rol oynayan deniz tarağından asetonla ekstraksiyon yapılarak izole edilen dinofisitoksin 1, dinofisitoksin 3, pektenetoksin 1 ve okadaik asit gibi toksinlerle süt emen fare ve tavşanlarda çeşitli çalışmalar yapılmış, ince bağırsaklar incelenmiş ve epitel hasarı ve lamina propria'da ödem olduğu görülmüştür (Hamano ve ark., 1996).

Toksin tespiti için çeşitli kimyasal metodlar geliştirilebilir. Örnekleme planında kabukluların zehirliliği ihmal edilebilir bir düzeyden öldürücü bir düzeye bir haftadan daha kısa sürede çıkabileceği göz önünde tutulmalıdır. Midyeler için bu süre 24 saatten bile kısa olabilir. Zehirlilik seviyesi hayvanın yaşadığı coğrafi konuma, su akıntısına ve denizde renk değişikliği olaylarına göre değişiklik gösterir. İzleme programındaki toksinlerin analiz metodları ve tolerans düzeyleri çizelge 9'da gösterilmiştir (Huss, 1994).

Ege ve Marmara Denizi kıyılarında, literatür kayıtlarında belirtildiği gibi dünyanın çeşitli bölgelerinde meydana gelen red-tide olayı pek fazla görülmemektedir. Sadece, İzmir Körfezi'nde *Protogonyaulax tamarensis*'in sebep olduğu varsayılan (Koray, 1988), denizde az da olsa renk değişikliği meydana gelmektedir. Fakat, herhangi bir FKZ ve İKZ olgusu bildirilmemiştir.

Ege Denizi kıyılarından toplanan 18 grup midye örneğinden soksitoksin

tespiti için elde edilen süzüntülerin (her bir grupta üç fare olmak üzere) toplam 54 fareye enjeksiyonu sonucunda Mayıs ve Temmuz aylarına ait iki grupta birer fare ölümü görülmüş ve saksitoksin varlığı yönünden sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir. Fakat, Mayıs ve Temmuz ayına ait örneklerde düşük miktarda saksitoksin bulunabileceği kanaatine varılmıştır. Aynı örneklerden dinofisistoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin (her bir grupta üç fare olmak üzere) toplam 54 fareye enjeksiyonu sonucunda hiç bir fare ölümü görülmemiş ve sonuçlar tamamen negatif olarak değerlendirilmiştir.

Marmara Denizi kıyılarından toplanan 18 grup midye örneğinden; saksitoksin tespiti için elde edilen 18 grup süzüntünün (her grupta üç fare olmak üzere) toplam 54 fareye enjeksiyon sonucunda sadece Temmuz ayına ait bir grupta bir fare ölümü görülmüş ve saksitoksin varlığı yönünden sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Temmuz ayına ait bir grup örnekte düşük miktarda saksitoksin bulunabileceği kanaatine varılmıştır). Yine aynı örneklerden dinofisistoksin tespiti için elde edilen süzüntüler her grupta üç fare bulunan toplam 54 fareye enjeksiyonu sonucunda hiç bir fare ölümü görülmemiş ve sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir.

Ege Denizi kıyılarından toplanan 18 grup istiridye örneğinden; saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin (her grupta üç fare olmak üzere) toplam 54 fareye enjeksiyonu sonucunda Mayıs ve Temmuz aylarına ait iki grupta birer fare ölümü görülmüş ve saksitoksin varlığı yönünden sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Mayıs ve Temmuz aylarına ait örneklerde düşük miktarlarda STX bulunabileceği tespit edilmiştir). Aynı örneklerden DTX tespiti için elde edilen süzüntülerin (her grupta üç fare olmak üzere) toplam 54 fareye enjeksiyonu sonucunda hiç bir fare ölümü görülmemiş ve sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir.

Marmara Denizi kıyılarından toplanan istiridye örneklerinden; Saksitoksin tespiti için elde edilen süzüntülerin (her grupta üç fare olmak üzere) toplam 54 fareye enjeksiyonu sonucunda Temmuz ayına ait bir grupta bir fare ölümü görülmüş ve saksitoksin varlığı yönünden sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiş (Temmuz ayına ait bir grup örnekte düşük miktarda saksitoksin bulunabileceği tespit edilmiştir).

Ege ve Marmara kıyılarından toplanan 36 grup midye örneğinden STX tespiti için elde edilen süzüntülerin (her grupta üç fare olmak üzere) toplam 108 fareye enjeksiyonu sonucunda Mayıs ayına ait bir ve Temmuz ayına ait üç grupta birer fare ölümü görülmüştür. Yine 36 grup istiridye örneğinden STX tespiti için elde edilen süzüntülerin (her grupta üç fare olmak üzere) 108 fareye enjeksiyonu sonucunda Mayıs ayına ait bir ve Temmuz aylarına ait iki grupta birer fare ölümü görülmüştür. Saksitoksin varlığı yönünden sonuçlar negatif olarak değerlendirilmesine rağmen Mayıs ve Temmuz ayınlarına ait midye ve istiridye örneklerinde düşük miktarlarda STX bulunabileceği anlaşılmıştır. Aynı örneklerden DTX tespiti için yapılan analizlerde (her grupta üç fare olmak üzere) toplam 108 fareye enjeksiyon sonucunda hiç bir fare ölümü görülmemiş ve sonuçlar DTX varlığı yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir.

Saksitoksin tespiti için ilkbahar mevsiminde farklı yörelerden toplanan 12 grup midye, 12 grup istiridye örneğinden elde edilen süzüntülerin (her bir grupta üç fare olmak üzere) toplam 72 fareye enjeksiyon sonucunda birer fare ölümü görülmüştür. Yaz mevsiminde, yine aynı yörelerden toplanan 12 grup midye ve 12 grup istiridye örneğinden elde edilen süzüntülerin (her bir gruptan üç fare olmak üzere) toplam 72 fareye enjeksiyon sonucunda üç grup midye ve iki grup istiridye örneğinin analizinde birer fare ölümü görülmüştür. Sonbahar mevsiminde aynı yörelerden toplanan 12 grup midye ve 12 grup istiridye örneğinin analizinde hiç bir fare ölümü görülmemiştir. Tüm sonuçlar STX varlığı yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir (Birer fare ölümü görülmüş gruplarda düşük miktarda STX bulunabileceği kanaatine varılmıştır).

Dinofisitoksin tespiti için ilkbahar, Yaz ve Sonbahar mevsimlerinde toplanan 36 grup midye ve 36 grup istiridye örneğinden elde edilen süzüntülerin (her bir grupta üç fare olmak üzere) toplam 216 fareye enjeksiyonu sonucunda hiç bir ölüm görülmemiş ve sonuçlar ve sonuçlar DTX varlığı yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir.

Yapılan araştırma genel olarak değerlendirildiğinde, sonuçlar STX varlığı yönünden mevsimsel ve bölgesel olarak farklılıklar göstermektedir. Bölgesel olarak İzmir ve Balıkesir kıyıları ve mevsimsel olarak da ilkbahar ve Yaz mevsimi dikkat çekmektedir.

Elde edilen bulgular incelendiğinde, midye ve ıstırdyelerdeki STX ve DTX miktarlarının insan sağlığı açısından bir risk oluşturacak düzeyde olmadığı görülmektedir. Ancak, bu toksinlerin ülkemizde avlanan midye ve ıstırdyelerde düşük miktarlarda STX bulunabileceği de gözardı edilmemelidir.

Yapılan araştırma sonucunda konu ile ilgili olarak toplum sağlığı yönünden etkin izleme programlarının yapılmasının faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

Bulgular bölgeler açısından farklılık arz etmektedir. Özellikle, Ege Denizi'ndeki (İzmir körfezi'nde) rneklerden elde edilen süzüntülerin uygulandığı bazı farelerde ölümlerin görülmesi ve bunların ilkbahar ve yaz mevsimlerine rastlaması dikkat çekmektedir. Bu durum, literatür bilgileri ile de paralellik göstermekte olup, bu tip zehirlenmelerin daha çok Mayıs ve Eylül ayları arasında ve denizde kırmızı renk değişikliği olayının meydana geldiği denizlerde görüldüğü bildirilmektedir (Koray, 1988; Noble, 1990; Sakamoto ve ark., 1992; Smart, 1995).

## 5. SONUÇ

Tüm bulgular değerlendirildiğinde Marmara ve Ege Denizi'nden temin edilen midye ve istiridye örneklerinin hiçbirinde DTX bulunmadığı; yalnız aynı bölgelerden sağlanan aynı örneklerde yapılan analizler sonucunda bir kısmında STX'e rastlandığı, fakat STX yönünden elde edilen düzeylerin de insan sağlığı bakımından her hangi bir risk oluşturmayacak miktarlarda olduğu sonucuna varıldı.

Saksitoksin rastlanan örneklerin bölgesel ve mevsimsel olarak farklılık gösterdiği; özellikle İzmir Körfezi ve Balıkesir'den ilkbahar sonu ve yaz mevsiminde alınan örneklerde bulunduğu görüldü.

Midye ve istiridyeler değişik zaman dilimlerinde farklı miktarlarda toksin içerirler. Bazıları sadece gelişme dönemlerinde toksin taşır ve bunu kısa süre içerisinde vücutlarından atarlar; bazıları ise toksini uzun yıllar taşıyabilirler.

Özellikle sahillerimizden temin edilen balık ve kabuklu su ürünleri tüketimi aşamasında meydana gelebilecek olan zehirlenmelerinin iyi takip ve kontrol edilebilmesi için; öncelikli olarak renk değişikliği meydana gelen sahiller tespit edilmeli, bu bölgelerden % 100'lük kesin bir sonuç ortaya koyabilmek için de ciddi, güvenli ve düzenli (en az 10 günlük aralıklarla) bir şekilde örnekleme planı ile toksinlerin analizleri yapılarak izlenmesi gerektiği kanaatine varıldı.

## ÖZET

### **Ege ve Marmara Denizi'nden Ticari Amaçlı Avlanan Kabuklu Su Ürünlerinde Saksitoksin ve Dinofisistoksin Varlığının Araştırılması**

Araştırma, Ege ve Marmara Denizi'nden ticari amaçlı olarak avlanan midye ve ıstırdyelerde saksitoksin ve dinofisistoksinlerin bulunup - bulunmadığını, varsa insan sağlığı açısından risk oluşturacak düzeylerde olup olmadığını, hangi bölgelerde ve hangi mevsimlerde rastlanıldığını ortaya koymak amacıyla yapıldı.

Araştırma, Ege Denizi'nden İzmir, Balıkesir (Ayvalık), Çanakkale sahilleri ile Marmara Denizi'nden Çanakkale, Balıkesir (Bandırma) ve İstanbul sahillerinden toplanan midye ve ıstırdyeler üzerinde gerçekleştirildi. Analizler, mayıs, temmuz ve kasım aylarında ikişer defa olmak üzere en az ellişer adet örnek toplanarak toplam 1.800 adet midye ve 1.800 adet ıstırdye üzerinde yapıldı. Her bir ellişer adetlik örnekte bir analiz yapılacak şekilde midye örneklerinde 72 ve ıstırdye örneklerinde de 72 olmak üzere 144 süzüntü işlemi sonucunda elde edilen her bir süzüntüden üçer fareye olmak üzere toplam 432 adet fareye enjeksiyon yapıldı.

Yöntem olarak tüm dünyada kabul edilmiş olan "fare biyolojik metod" kullanıldı. Örnekler, saksitoksin tespiti için HCl ve dinofisistoksin tespiti için aseton ve eter ile ekstraksiyon yapılarak elde edilen süzüntüler farelere periton için yolla enjekte edildi.

Analiz sonuçlarına göre DTX'e hiç rastlanmadığı, STX'e ise İzmir ve Balıkesir'de ilkbahar sonu ve yaz aylarında rastlandığı, ama bulunan düzeylerinin ise insan sağlığı açısından herhangi bir risk oluşturacak miktarlarda olmadığı görüldü.

Sonuç olarak ülkemizde midye ve ıstırdyelerde saksitoksin ve dinofisistoksin varlığı önemli bir risk olarak karşımıza çıkmamaktadır. Fakat, şüpheli bölgelerde ciddi izleme programlarının yapılması insan sağlığı açısından faydalı olacaktır.

**Anahtar Sözcükler :** Dinofisistoksin, fare biyolojik metod, ıstırdye, midye, saksitoksin.

## **SUMMARY**

### **The Detection of The Presence of Saxitoxin and Dinophysistoxin in Commercially Caught Shellfish from Aegian and Marmara Seas**

The aim of this research was to find out whether there were saxitoxin and dinophysistoxin in mussels and oysters that were commercially caught from Aegian and Marmara Seas, and in case of presence to evaluate whether these toxins were hazardous for human health, and to determine the regions and seasons these toxins were abundant.

The research was carried on mussels and oysters which were collected from the Aegian coast of İzmir, Balıkesir (Ayvalık) and Çanakkale and Marmara coast of Çanakkale, Balıkesir and İstanbul. The analysis were carried on 1800 mussels and 1800 oysters which were collected twice as at least fifty samples on May, July and November. By making one analyse from each of the fifty samples, extracts were obtained from 72 oyster samples and 72 mussel samples which made up 144 processed extraction materials. Each extract was given to 3 mice so totally 432 mice were injected.

As a method, world wide accepted mouse biological method was used. Extracts which were obtained by using acetone and ether to detect dinophysistoxin and HCl to detect saxitoxin were injected peritonally to the mice.

The data from the analysis results showed that dinophysistoxin did not present but saxitoxin was found in İzmir and Balıkesir during summer and the end of the spring months but the present amount did not pose a risk for human health.

As a result, the presence of saxitoxin and dinophysistoxin do not pose a health risk in Turkey. But creating a serious monitoring program in suspicious regions will be useful for human health.

**Key Words:** Dinophysistoxin, mouse biological method, oyster, mussel, saxitoxin.

## KAYNAKLAR

- ALCALA, A.C., ALCALA, L.C., GARTH, J.S., YASAMURA, D. and YASAMOTO, T. (1988). Human fatality due to ingestion of the crab *Demania reynaudii* that contained palytoxin-like toxin. *Toxicon*. **26**:105–107.
- ALPHANUTRITION (2000). Shellfish Poisoning. [http://www.alphanutrition.com/food quality/shellfish % 20 toxins.html](http://www.alphanutrition.com/food%20quality/shellfish%20toxins.html). Erişim tarihi: 06.03.2000.
- ANON–1 (1996). Tarım Bakanlığı, Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü, Su Ürünleri Daire Başkanlığı ile görüşme.
- ANON–2 (1996). Su Ürünleri Kalite Kontrol El Kitabı. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı. 1 Nolu Merkez İkmal Müdürlüğü, ANKARA .
- ANON–3 (1999). Tarım Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü ile görüşme.
- ANON–4 (1999). Report of a Joint FAO / NACA / WHO Study Group. Food Safety Issues Associated with Products from Aquaculture. WHO Technical Report Series 883. p. 18 – 19.
- ARAN, N. (1993). Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Toksinler. *Gıda Sanayii*. **7** : 31–46.
- ASAKAWA, M., MIYAZAMAWA, K. and NOGUCHI, T. (1993). Studies on paralytic shellfish poison (PSP) oxification of bivalves, in association with appearance of *Alexandrium tamarenis*, in Hiroshima bay, Hiroshima prefecture. *J.Food Hyg. Soc. Japan*. **34** : 50 – 54.
- BERKELEY (2000). Introduction to the Dinoflagellata.<http://www.ucmp.berkeley.edu/protista/dinoflagellata.html>. Erişim tarihi: 06.03.2000
- BERRENGUER, J.A., GONZALEZ, L., JIMENEZ, I. and LEGARDA, T.M. (1993). The effect of commercial processing on the paralytic shellfish poison (PSP) content of naturally – contaminated *Acantocardia tuberculatum*. *L.Food Additives Contam.* **10** : 217 – 230
- BORCAKLI, M. (1991). Denizlerde kırmızı renk (Red–Tide) oluşumunun nedenleri ve ortamdaki etkileri. Türkiye’de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri Sempozyumu. Bildiriler. **1** : 392 – 412. Boğaziçi Üniversitesi, Çevre Bilimleri Enstitüsü, İSTANBUL.
- BUURDASPAL, P.A., LEGARDE, T.M. and BERRENGUER, J. (1991). Application of a flourometric method to routine analysis of paralysing toxins (PSP) in bivalve molluscs. *Alimentaria*. **220** : 91 – 97.
- CALGARY, U (2000). What are dinoflagellates? [http://www.geo.ucalgaryca/~macrae/polynology/dinoflagellates /dinoflagellates.html](http://www.geo.ucalgary.ca/~macrae/polynology/dinoflagellates/dinoflagellates.html). Erişim tarihi: 06.03.2000
- CAWTHON ORG. (2000). A new assay for Diarrhetic Shellfish Poison.[http://www. Cawthion.org.nz/what biosecurity diarrhetic shellfish.htm](http://www.Cawthion.org.nz/what%20biosecurity%20diarrhetic%20shellfish.htm). Erişim tarihi: 06.03.2000
- CHIA, DGB., LAU, C.O., NG, P.K.L., TAN, C.H., LAU – CHING ONG and TAN – CHEE – HONG (1993). Localization of toxins in the poisonous mosaic crab, *Lophozozymus pictor*. *Toxicon*. **31** : 901 – 904.
- CITTERIO, B., MANZANO, M., MAIFRENI, M. and COMI G. (1992). Natural fish and shellfish poisons. *Ann. Microbiol. Enzimol.* **42** : 203 – 216.
- CONCON, J.M. (1988). Toxicology of Marine Foods. Food Toxicology. Marcel Dekker, INC. pp. 511–542.
- ÇELİKKALE, MS., DÜZGÜNEŞ, E., OKUMUŞ, İ. (1999). Türkiye Su Ürünleri Sektörü : Potansiyeli, Mevcut Durumu, Sorunları ve Çözüm Önerileri, İstanbul Ticaret Odası Yayın No: 1992 – 2. p. : 61 – 149.
- DAIGO, K., NOGUCHI, T., NIWA A., KAWAI, N. and HASHIMOTO, K. (1988). Resistance of nerves from certain toxic crabs to paralytic shellfish poison and tetrodotoxin. *Toxicon*. **26** : 485 – 490.

- DOYLE, M.E. and STEINHARD, C.E. (1993). Sea food toxins. *Food Safety*. pp. 362 – 370. Food Research Institute. Department of Food Microbiology and Toxicology. University of Wisconsin – Madison.
- EARTHVIEW (2000). What are Red Tides? <http://www.earthview.sdsu.edu/trees/nearshore/Bloom/bloom.html>. Erişim tarihi: 06.03.2000
- EASTAUGH, J. and SHEPHERD, S. (1989). Infectious and toxic syndromes from fish and shellfish consumption. *Arch. Intern. Med.* **149** : 1735 – 1740.
- EDNET (2000). Red Tide. <http://www.Ednet.ns.ca/educ/museum/poison/poison/redtide.htm>. Erişim tarihi: 06.03.2000
- EGMOND, HP-VAN, SPEIJERS, G.J.A. and WOUTERS, RBM. (1990). Naturally occurring toxicants in foodstuffs. 3. Phycotoxins. *Food – Laboratory-News*. **22** : 41 – 49.
- ERGON HOUSE, C/O NOBEL HOUSE and SQUARE, S. (1994). Naturally occurring toxicants in food. *Food – Surveillance Paper*. **42** : 57.
- ELLENHORN, MJ. and BARCELOUX, DG. (1988). *Medical Toxicology*. Elsevier Science Publishers Company Inc. USA.
- FREMY, J.M., LEDOUX, M., BILODEAU, M., MAJOR, M., MURAIL, I. and JAMET, J. (1993). Variation in contamination of scallops by paralytic phycotoxins imported from Asia. *Sci. des Aliments*. **13** : 4, 751 – 759.
- HAMANO, Y., KINOSHITA, Y. and YASUMOTO, T. (1996). Studies on diarrhetic shellfish toxins. Enteropathogenicity of diarrhetic shellfish toxins in intestinal models. *J. Food. Hyg. Soc. Japan*. **27** : 375 – 379.
- HUANG, J.M.G., Wu, CH. and BADEN, D.G. (1984). Depolarizing action of a red – tide dinoflagellate brevetoxin on axonal membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **229** : 615 – 621.
- HUNGERFORD, J.M. and WEKELL, M.M. (1992). Analytical methods for marine toxins. *Food Poisoning*. **7** : 415 – 473.
- HUSS, HH. (1994). Biotoxins. Assurance of seafood quality. *FAO Fisheries Technical Paper*. 334.
- KELLY, G.J. and HALLEGRAFF, G.M. (1992). Dinoflagellate toxins in Australian shellfish. *Toxins and targets*. **1** – 9.
- KIKUCHI, S., OSHIMA, T., OSHIMA, Y., TAKEUCHI, T., NAKAMURA T. and TATEWAKI, M. (1992). Decrease of shellfish toxins during the cultivation of toxic scallops in filtered and sterilized seawater. *J. Food., Hyg. Soc. Japan*. **33** : 223 – 230.
- KITTS, D.D., SMITH, D.S., BEITLER, M.K. and LISTON, J. (1992). Presence of paralytic shellfish poisoning toxins and soluble proteins in toxic butter clams *Saxidomus giganteus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **182** : 511 – 517.
- KORAY, T. (1988). Az bilinen doğal bir afet : Kırmızı renkli deniz ve neden olduğu zehirlenmeler. *Bilim ve Teknik Dergisi*. Ankara. Aralık 1988 sayısı. 9 – 14.
- KOTSONIS, FN., BURDOCK, A.G. and FLAMM, G. (1996). *Food Toxicology in Casaret & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons/Edited by KLASSEN, CD.* p. 909-945. Mc Graw-Hill Companies. Printed in the USA.
- LASSUS, P., BARDOUIL, M., LEDOUX, M., MURAIL, I. and BOHEC, M. (1992). Paralytic phycotoxin uptake by scallops (*pecten maximus*). *Aquatic - Liv. - Res.* **5** : 319 – 324.
- LAU, C.O., KHOO, H.E., YUEN, R., WAN, M. and TAN, C.H. (1993). Isolation of a novel fluorescent toxin from the coral reef crab, *Lophozozymus pictor*. *Toxicon*. **31** : 1341 – 1345.
- LLEWELYN, L.E. and ENDEAN, R. (1988 a). Toxicity and paralytic shellfish toxin profiles of the xhantid crabs, *Lophozozymus pictor* and *Zosimus aeneus*, collected from some Australian coral reefs. *Toxicon*. **27** : 596 – 600.

- LLEWELYN, L.E. and ENDEAN, R. (1988 b). Toxins extracted from Australian specimens of the crab, *Eriphia sebana* (Xantidae). *Toxicon*. **27** : 579 – 586.
- LUCKAS, B., THIELERT, G. and PETERS, K. (1990). The problem of the selective estimation of PSP – toxins in mussels. *Zeitschrift-fur-Lebensmittel-untersuchung-und-forschung*. **190** : 491 – 495.
- MARR, J.C., HU, T., PLEASANCE, S., QUILLAM, M.A. and WRIHGT, J.L.C. (1992). Detection of new 7-O-acyl derivatives of diarrhetic shellfish poisoning toxins by liquid chromatography–mass spectrometry. *Toxicon*. **30** : 1621 – 1630.
- NCR (2000). Red Tides. <http://www.ncr.dfo.ca/communic/ss-marin/redtide/redtide.htm>. Erişim tarihi: 06.03.2000
- NG, PKL. CHIA, DGB., KOH EGL. and TAN, LWH. (1992). Poisonous Malaysian crabs. *Nature-Malaysiana*. **17** : 4 – 9.
- NOBLE, RC. (1990). Death on the half – shell : The health hazards of eating shellfish. *Perspect. Biol. Med.* **33** : 3.
- NOGUCHI, T., UZU, A., DAIGO, K., SHIDA, Y. and HASIMOTO, K.A. (1984). Tetrodotoxin–like substance as a minor toxin in the Xantid crab *Atergatis floridus*. *Toxicon*. **22** : 425 – 432.
- O'SHEA, T.J. and GREACI, J. R. (1999). Toxicology in Marine Mammals. In *Zoo & Wild Animal Medicine: Current Therapy*/Edited by FOWLER, ME., MILLER, R. E.-4th ed. p.472-477. WB Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.
- ÖZAY, G. (1992). Bazı deniz kabuklularında saksitoksin (paralytic shellfish poison) kontaminasyonu ve insan sağlığı açısından taşıdığı riskler. *Gıda Sanayii*. **6** : 16 – 24.
- PAC (2000). Paralytic Shellfish Poison. <http://www.pac.dfo.mpo.gc.ca/ops/fm/shellfish/Biotoxins/PSP.htm>. Erişim tarihi: 06.03.2000
- PİRİNÇCİ, İ. (1995). Deniz ürünlerinde bulunan toksinler. İçinde : *Veteriner Klinik Toksikoloji*, Editör : Kaya, S. 352 – 353. Medisan Yayınları, ANKARA 1995.
- QUILLIAM, M.A. (2000). AOAC mouse bioassay for PSP toxins. <http://www.maritimes.dfo.ca/science/mesd/he/lists/phyco toxins-o/msg 00541.html>. Erişim tarihi: 06.03.2000
- RAO, DVS., PAN, Y., ZITKO, V., BUGDEN, G. and MACKEIGAN, K. (1993). Diarrhetic shellfish poisoning (DSP) associated with a subsurface bloom of *Dinophysis norvegica* in Bedford Basin, Eastern Canada. *Marine – Ecology, Progress – Series*. **97** : 117 – 126.
- RENZ, V. and TERPLON, G. (1987). Detection of saxitoxin by means of ELISA. *Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene*. October 1987 : 97 – 100.
- RHEINSTEIN, P.H. and KLONTZ, K.L. (1993). Shellfish – Borne illnesses. *American Family Physician*. **47** : 1837 – 1840.
- RODRIGUE, D.C., ETZEL, R.A., HALL, S., PORRAS, E.D., VELASQUENZ, D.H., TAUXE, R.V., KILBOURNE, E.M. and BLAKE, P.A. (1990). Lethal paralytic shellfish poisoning in Guatemala. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* **42** : 267 – 271.
- RUSSEL, F.E. (1996). Toxic Effects of Animal Toxins. in *Casaret & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons*/Edited by KLASSEN, CD. p. 800-836. Mc Graw-Hill Companies. Printed in the USA.
- SAKAMOTO, S., OGATA, T., SATO, S., KODAMA, M. and TAKEUCHI, T. (1992). Causative organism of paralytic Shellfish toxins other than toxic dinoflagellates. *Marine-Ecology*. **89** : 229 – 235.
- SAKAMOTO, Y., LOKEY, R. and KRZANOVSKI, J. (1987). Shellfish and fish poisoning related to the toxic dinoflagellates. *South. Med. J.* **80** : 860 – 870.
- SALDATE – CASTANEDA, O., VASQUEZ – CASTELLANOS, J.L., GALVAN, J., SANCHEZ– ANGUIANO, A., and NAZAR, A. (1991). Poisoning from paralytic shellfish toxins in Oaxaca, Mexico. *Salud Publica-de-Mexico*. **33** : 240 – 247.

- SCHULZE, K. (1985). Shellfish poisoning caused by algal toxins. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **98** : 383 – 387.
- SCHULZE, V.K. (1985). Musshelvergiftungen durch algetoxice. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **98** : 383 – 387.
- SHUMWAY, E.S. (1990). A review of the effects of algal blooms on shellfish and aquaculture. *J. Med. Aquacul. Soc.* **21** : 85 – 104.
- SKULBERG, O.M. et al. (1984). Toxic blue. Green Algal Blooms in Europe. A growing problem. *Ambio*. pp. 244 – 247.
- SMART, D. (1995). Clinical Toxicology of Shellfish Poisoning. In *Clinical Toxicology of Animal Venoms and Poisons* / Editor : Meier, J. and White, J. pp. : 33 – 53. CRC Press, Inc. New York, London, Tokyo.
- SMITH, D.S. and KITTS. D.D., (1993). Development of a monoclonal – based enzyme – linked immunoassay for saxitoxin – induced protein. *Toxicon.* **32** : 3, 317 – 322.
- SMITH, J.I. (1992). Symptoms and treatment of common seafood poisoning. *Food poisoning.* 401 – 414.
- SOUSA, JVB. and BRAGANA, MBG. (1991). Neurotoxins in bivalve molluscs and their transformation products. *Alimentaria.* **222** : 29 – 41.
- SULLIVAN, J.J. and IWAOKA, T.W. (1983). High Pressure liquid chromatographic determination of toxins associated with paralytic shellfish poisoning. *Seafood Toxins. J. Ass. Anal. Chem.* **66** : 297 – 301.
- SULLIVAN, J.J., SIMON, M.G. and IWAOKA, T.W. (1983). Comparison of HPLC and mouse bioassay methods for determining PSP toxins in shellfish. *J. Food Science,* **48** : 1312 – 1314.
- TANADO, K., YASUDA, K., USHIYAMA, H. and NISHIMA, T. (1991). 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.
- WHO. 1984. Aquatic (Marine and Fresh water) Biotoxins. Environmental Health Criteria 37. World Health Organization. Geneva.
- WU, CH., HUANG, JMC., VOGEL, S.M., ATCHISON, V.D. and NARAHASHI, T. (1984). Actions of *Ptychodiscus brevis* toxins on nerve and muscle membranes. *Toxicon.* **23** : 481 – 487.