

Akdeniz'in yeni toksini: Tetrodotoksin

The new toxin of Mediterranean: Tetrodotoxin

Ali Rıza Köşker^{1*} • Fatih Özoğul¹ • Deniz Ayas² • Mustafa Durmuş¹ • Yılmaz Uçar¹

¹ Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Adana, Türkiye

² Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Mersin, Türkiye

*Corresponding author: alirzakosker@gmail.com

How to cite this paper:

Köşker, A. R., Özoğul, F., Ayas, D., Durmuş, M., Uçar, Y., 2015. The new toxin of Mediterranean: Tetrodotoxin. *Ege J Fish Aqua Sci* 32(1): 15-24. doi: 10.12714/egejfas.2015.32.1.03

Abstract: Mediterranean is exposed to intense impact of new lessepsian migrant species. The effects alien species are observed on native species, marine ecosystems and fisheries. However, the effects of pufferfish belongs family of Tetraodontidae is gaining more importance among alien species. Pufferfish contained one of the strongest marine toxins called tetrodotoxin (TTX), which becomes a threat to public health due to their TTX content. TTX is organic, non-protein structure, colorless and odorless toxin. The toxin is thermally stable and cannot be destroyed by temperature changes. In this review, the chemical structure of the toxin, features, history, biological origin, mechanism of action, poisoning and treatment methods, application fields of TTX, TTX levels of pufferfish species living in the Mediterranean are given.

Keywords: Tetrodotoxin, Pufferfish, Marine Toxins, Symptoms of TTX poisoning

Özet Akdeniz, lesepsiyen göçü ile gelen yeni türlerin yoğun etkilerine maruz kalmaktadır. Yabancı türlerin yerli türler, deniz ekosistemi ve balıkçılık üzerinde etkileri gözlenmekte, ancak yabancı türler arasında yer alan Tetraodontidae familyasından balon balıklarının etkileri bunlarla sınırlı kalmamaktadır. Balon balıkları dünyanın bilinen en güçlü denizel toksini olan tetrodotoksin (TTX) içermektedir. TTX içeriği nedeniyle balon balıkları toplum sağlığı üzerine de tehdit oluşturmaktadır. TTX; protein yapıda olmayan, organik, renksiz, kokusuz ve ısı değişiklikleri ile yapısı bozulmayan termostabil bir toksindir. Bu bağlamda bu derlemede, toksinin kimyasal yapısı, özellikleri, tarihçesi, biyolojik kökeni, etki mekanizması, zehirlenme vakaları ve tedavi yöntemleri, TTX molekülünün kullanım alanları ve Akdeniz'de yaşayan balon balığı türlerinin TTX düzeyleri ile ilgili bilgiler verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Tetrodotoksin, Balon balıkları, Denizel Toksinler, TTX Zehirlenmesi Semptomları

GİRİŞ

Doğal toksinlerle kontamine olmuş besinler ile toksisite ilişkisi yüzyıllardır insanoğlu tarafından neden sonuç ve deneme yanılma ilişkileri kurularak belirlenmiştir (Iverson ve Truelove, 1994). Zehirli balıklar da antik zamanlardan bu yana insanoğlu tarafından deneme yanılma yöntemiyle tanınmış, 20. yy'dan itibaren özellikle zehirli balıkların yaygın olduğu okyanus kıyısı ülkelerde bilimsel araştırmalar yoğun olarak gerçekleştirilmiştir. Ancak toksik balık türlerine okyanus kıyısı ülkeler kadar aşına olmayan Akdeniz, son yıllarda artan yabancı tür göçleri ile toksik olduğu bilinen türlerin de göçüne sahne olmaktadır. Akdeniz'e giren ve yerleşen türler, ekosistemin, yerli türlerin ve balıkçılığın üzerine etkileri olduğu gibi, insan sağlığı üzerine olumsuz etki potansiyeli taşıyan türleri de içermektedir. Bu türlerin tüketiminden kaynaklanan zehirlenme vakaları rapor edilmeye başlamıştır (Eisenman vd., 2008; Bentur vd., 2008; Chamandi vd., 2009; Kheifets vd., 2012).

Akdeniz'e yabancı tür girişleri çoğunlukla Süveyş Kanalı aracılığıyla gerçekleşmektedir. Kızıldeniz'den Akdeniz'e doğru gerçekleşen göç, ilk olarak Por (1964) tarafından; Süveyş

kanalının tamamlanmasında önemli rol oynayan Fransız diplomat Ferdinand Marie Vicomte de Lesseps'e ithafen "Lessepsiyen göçü", bu yol ile göç eden türler ise "Lessepsiyen türler" olarak adlandırılmıştır. Lessepsiyen türlerin bazıları ekonomik değere sahip iken, bazıları da özellikle yerli türler üzerine etkilerinden dolayı zararlı, istilacı türler olarak adlandırılırlar (Galil, 2000; Galil ve Zenetos, 2002; Streftaris ve Zenetos, 2006; Zenetos vd., 2012). Son yıllarda Akdenizde sayıları artan yabancı türlerin, özellikle Doğu Akdeniz üzerine önemli ekolojik ve ekonomik etkileri olmaktadır (Galil ve Zenetos, 2002). Ancak Akdeniz üzerine etkileri sadece ekonomik ve ekolojik alanlarda sınırlı kalmamakta, Akdeniz'de yaşayan balon balıklarının çoğunluğunu içeren (Bilecenoğlu, 2010) Tetraodontidae familyası üyesi balon balıkları gibi, içerdikleri toksinden kaynaklı insan sağlığı üzerine de olumsuz etkileri gözlenebilmektedir.

Yapılan bilimsel araştırmalar balon balıklarının tetrodotoksin (TTX) adı verilen bir nörotoksin içerdiğini göstermiştir (Iverson ve Truelove, 1994). TTX bilinen en güçlü deniz kökenli organik zehirdir (Fernández-Ortega vd., 2010).

Protein yapıda olmamasından dolayı ısı değişimlerine karşı duyarsız olan TTX siyanüre oranla 1200 kat (Nader vd., 2012) morfine oranla 3000 kat (Anonim, 2014) daha etkilidir. Akdeniz'deki TTX içeren canlı türlerinin toksin düzeylerine yönelik çalışmalar kısıtlıdır.

Bu makale; TTX molekülünün kimyasal ve biyolojik özelliklerinin, TTX zehirlenmeleri ve zehirlenme semptomlarının, TTX molekülünün kullanım alanlarını Akdeniz'deki balon balığı türleri ile ilgili toksisite çalışmalarını derlemeyi amaçlamaktadır.

Tetrodotoksin (TTX)

TTX; bilinen en güçlü denizel toksindir (Hwang ve Noguchi, 2001; Fernández-Ortega vd., 2010). Toksin ilk olarak Tetraodontia familyası üyeleri olan balon balıklarında bulunmasından dolayı; Japon bilim insanı Tahara tarafından 1909 yılında bu familyadan türetilmiş bir isim olan "tetrodotoksin" olarak adlandırılmıştır (Miyazawa ve Noguchi, 2001; Hwang ve Noguchi, 2007). Sonraki yıllarda toksin için; tetrodotoksin, spherodin, fugu toksini, puffer toksini gibi adlandırmalar kullanılmışsa da 1964'te toplanan "IV. Chemistry of Natural Products" sempozyumunda toksinin kimyasal formülü C₁₁H₁₇N₃O₈ ve evrensel adlandırılması TTX olarak kabul edilmiştir (Miyazawa ve Noguchi, 2001; Hwang ve Noguchi, 2007).

TTX; protein yapıda olmayan, organik, kristal halde, zayıf bazik, renksiz ve kokusuz bir toksindir (Woodward, 1964). Molekül ağırlığı (MA) 319.2706 ve CAS numarası 4368-28-9'dır. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) adlandırması "Octahydro-12-(hydroxymethyl)-2-imino-5,9:7,10a-dimethano-10aH[1,3]dioxocino [6,5-d]pyrimidine-4,7,10,11,12-pentol" şeklindedir (Yu, 2008).

TTX adlandırılmasının üzerinden yüz yıldan fazla bir süre geçmiş olmasına rağmen hala üzerinde yoğun ve geniş çaplı araştırmaların yapıldığı bir moleküldür (Hanifin, 2010). Geleneksel beslenme alışkanlıkları içerisinde TTX içeren balon balıklarının önemli bir yer tuttuğu Japonya aynı zamanda TTX ile ilgili ilk bilimsel çalışmaların da yapıldığı ülkedir. Hwang ve Noguchi (2007)'nin bildirdiğine göre; Takahashi ve Inoko 1889'da yaptıkları çalışmalarda toksinin kimyasal ve fiziksel özellikleri üzerine yoğunlaşmışlar ve kısmen saflaştırmışlardır. Miyazawa ve Noguchi (2001) tarafından bildirildiğine göre, 1909 yılında Tahara toksini balon balıklarından tam olarak ayırıştırabildiğini iddia etmiş ve TTX ismini kullanmıştır. Ancak, başarılı izolasyon çalışmaları ve toksinin saf kristal olarak elde edilmesi; Tsuda ve Kawamura tarafından *Spheroides rubripes* türü balon balığından 1950 yılında yapılabilmektedir (Goto vd., 1965; Miyazawa ve Noguchi, 2001).

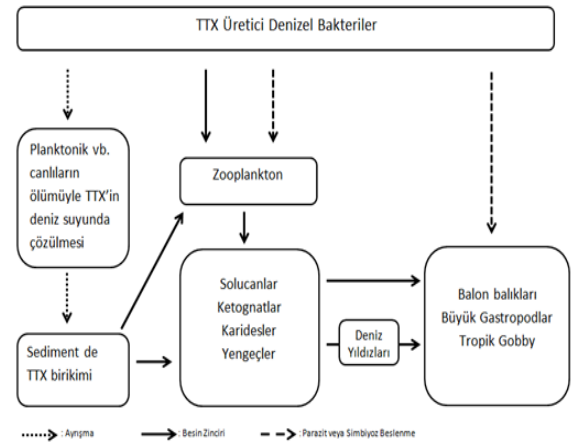
TTX protein yapıda olmamasından dolayı, ısıya dirençli termostabl bir toksindir ve yıkama, ısıtma, dondurma gibi işlemlerle balık etinden uzaklaştırılamamaktadır (Kao, 1972; Noguchi ve Ebesu, 2001; Hwang ve Noguchi, 2007; Chua ve Chew, 2009). Ancak TTX kristalleri 220 °C üzerinde erimeden

koyulaşabilmektedirler (Goto vd., 1965).

Tetrodotoksinin Kökeni

TTX'in kendine has bir kimyasal yapısı vardır. Yapılan çalışmalarla TTX molekülü ile ilgili birçok husus aydınlatılmış olmasına rağmen TTX molekülünün hücrel üretimi, biosentez mekanizması ve taksonomik dağılım mekanizması hala tam olarak aydınlatılmamıştır (Hanifin 2010; Chau vd., 2011). Hayvanlar toksinleri metabolik olarak sentezleyebildikleri gibi, mikroorganizmalar, bitkiler ve başka hayvanlar tarafından üretilen toksinleri de içerebilirler (Mebs, 2001). Bu doğrultuda balon balıklarındaki TTX'in olası kökeni üretim mekanizmaları; endojen olarak metabolik üretim, eksojen olarak besin zinciri ile vücuda alınması; belirli organlarda yaşayan simbiyotik bakteriler tarafından üretilmesi, ya da bu üçünün birlikte etkisi olabilir (Mosher ve Fuhrman, 1984)

Birçok araştırmacı toksinin bakteriler tarafından üretildiği ve besin zinciri aracılığıyla balon balıklarına ulaştığı ve balon balıklarının vücutlarında biriktirildiği (Şekil 1) görüşünü savunmaktadır (Yasumoto vd., 1986; Do vd., 1990; Matsumura, 1996; Lee vd., 2000; Matsumura, 2001; Miyazawa ve Noguchi, 2001; Hwang ve Noguchi, 2007; Noguchi ve Arakawa, 2008; Abbott vd., 2009; Matsumoto vd., 2008; Narahashi, 2001).



Şekil 1: Denizel türlerde TTX birikim mekanizması (Hwang ve Noguchi, 2007)

Figure 1: Mechanism of TTX accumulation in marine animals (Hwang ve Noguchi, 2007)

Yaygın olarak kabul gören bir diğer görüş ise TTX molekülünün TTX içeren canlıların vücutlarında yaşayan simbiyotik bakterilerce üretiliğidir (Chau vd., 2011; Simidu vd., 1987; Thuesen ve Kogure, 1989; Lee vd., 2000; Campell vd., 2009; Wu vd., 2005; Yotsu vd., 1987).

TTX molekülünün kökeni hakkında ileri sürülen simbiyotik bakteriler tarafından üretiliyor olması hipotezi; birbiryle taksonomik yakınlığı olmayan türlerde de TTX bulunması ve farklı canlılardan izole edilen TTX moleküllerinin tek tip olmaması gibi olgular hipotezi metabolik açıdan desteklemektedir (Miyazawa ve Noguchi, 2001). Ancak balon

balıkları, TTX içeren diğer canlıların bulunmadığı ortamlarda, TTX içermeyen yemlerle yetiştirildiklerinde toksik olmaması (Noguchi vd., 2011) simbiyotik bakteriler hipotezinin doğrulanması önünde bir engeldir. Özellikle Japonya, Çin ve Tayland gibi Uzakdoğu ülkelerinde yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan kültür balon balıklarının toksik olmadıklarını ya da TTX içeriklerinin tespit edilebilir düzeylerin altında olduğunu rapor eden çalışmalar bulunmaktadır (Noguchi vd., 2006a; Ji vd., 2011; Kono vd., 2008)

Kono vd. (2008) yaptıkları çalışmada balon balıklarının TTX molekülünü besin zinciri ile vücutlarına aldıklarını ve karaciğerde birikim sağlandığını bildirmişlerdir. Çalışmada kültürü yapılan non-toksik *Fugu niphobles* türü juvenil bireylere 30 gün boyunca; non-toksik diyetin yanı sıra doğal ortamda yaşayan ve toksik olan *Fugu poecilonotus* türü balon balıklarının karaciğeri verilmiştir. Sonraki 210 gün boyunca sadece non-toksik diet verilerek TTX düzeyleri takip edilmiştir. Verilen toksinin %70'nin vücutta tutulduğu tespit edilmiştir.

Kültür ortamında yetiştirilen balon balıkları ile yapılmış toksin araştırmaları toksin biyolojik aktarımla balığın vücuduna ulaştığı ve biriktirildiği hipotezini önemli ölçüde desteklemektedir.

Tetrodotoksin İçeren Diğer Canlılar

TTX ilk olarak balon balığı türlerinden izole edilmesinden dolayı sadece balon balığı türlerine özgü bir toksin olduğu düşünülmüştür. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarla balon balıkları dışındaki denizel türler ve bazı karasal türlerin de TTX içerdiği tespit edilmiştir. Yapılmış olan bilimsel araştırmalarla; bazı kurbağa ve semender türleri (Mebs vd., 2010), ketognatlar (Thuesen ve Kogure, 1989), arthropodlar, nematodlar, derisidikenliler, yumuşakçalarda (Hwang ve Noguchi, 2007; Silva vd., 2012), bazı yengeç türlerinde (Tsai vd., 2006) TTX bulunduğu tespit edilmiş; ayrıca bu canlıların mikroorganizma floralarında yaşayan bakterilerde (Mosher ve Fuhrman, 1984; Yasumoto vd., 1986; Kogure vd., 1988; Lin vd., 1998; Miyazawa ve Noguchi, 2001; Yotsu-Yamashita,

2001; Chen ve Chou, 2002; Noguchi vd., 2006b; Mebs vd., 2010; Hanifin 2010) ve TTX içeren hayvanların yaşadıkları sucul ekosistemlerin sedimanından izole edilen bakterilerde de (Do vd., 1990; Do vd., 1991; Do vd., 1993) TTX tespit edilmiştir. Yapılan bu araştırmalar toksinin sadece balon balıklarına özgü olmadığını, birçok farklı denizel tür, karasal kurbağa ve semender türlerinde bulunabildiğini göstermiştir.

Tetrodotoksin Zehirlenmeleri Semptomları ve Tedavi

Bilinen en güçlü denizel toksin olan TTX (Fernández-Ortega vd., 2010), kendine has kimyasal yapısıyla sinir hücrelerinin hücre zarlarından sodyum iyonu geçişini bloke ederek nöronlar arasında impuls iletimini engellemektedir (Kao, 1972; Nakamuro ve Yasumoto., 1985).

İnsan genomunda dokuz farklı fonksiyonel voltaj kapılı Na kanalı kodlanmaktadır. Dokuz kanaldan üç tanesi TTX'e karşı dirençlidir ancak ağırlıklı olarak sinir sistemi ve iskelet kaslarında bulunan Na kanalları TTX'in nanomolar konsantrasyonlarına karşı hassastırlar (Zimmer, 2010). TTX molekülünün etki mekanizması sıklıkla iskelet kasları üzerinde gözlenmektedir. İnsanlar için minimum öldürücü TTX doz (MLD50– Minimum Lethal Dosage) yaklaşık olarak 10.000 MU yani yaklaşık 2 mg düzeyindedir (Hwang ve Noguchi, 2007).

Hwang ve Noguchi (2007)'nin bildirdiğine göre TTX zehirlenme semptomlarını ilk olarak kategorize edenler Japon bilim insanları; Fukuda ve Tani (1945)'dir. TTX zehirlenmesi teşhisi klinik semptomlara ve balon balığı tüketiminin geleneksel olduğu ülkelerdeki deneyimlere dayanmaktadır. Vücuda alınan toksin miktarına bağlı olmakla birlikte, semptomlar genellikle 10-45 dk içerisinde görülmeye başlamaktadır. Ancak bazı vaka raporlarında bu sürenin 3-6 saat aralığına uzayabildiği belirtilmiştir (Noguchi ve Ebesu., 2001). TTX zehirlenmesi semptomları (Tablo 1) Fukuda ve Tani (1941) tarafından yapılmış çalışmaya göre dört aşamada ortaya çıkmaktadır (Noguchi ve Ebesu, 2001).

Tablo 1. TTX zehirlenme semptomları (Hwang ve Noguchi, 2007)

Table 1. Symptoms of TTX poisoning (Hwang ve Noguchi, 2007)

AŞAMA	KARAKTERİSTİK SEMPTOMLAR
I.	Dudak, dil ve yutakta uyuşma, tat algılama bozukluğu, baş ağrısı, baş dönmesi, terleme, gözbebeği daralması gibi nörolojik semptomlar. Tükrük salgısı artışı, bulantı, ishal, karın ağrısı, kusma ve bazen kan kusma şeklinde sindirim sistemi semptomları.
II.	Uyuşmanın yayılması, kollar-bacaklar ve parmaklarda felç, gözbebeği genişlemesi, refleks bozuklukları.
III.	Konuşma ve yutma bozukluğu, kas koordinasyon bozukluğu, baş dönmesi, denge kaybı, kranial sinir felci, kas titremeleri gibi nörolojik ve hipotansiyon ya da nadiren hipertansiyon, kan damarlarının genişliğini ayarlayan (vasomotor) sinirlerde blokaj (sinirsel iletimin kesilmesi), kalp aritmileri, solunum sistemi anormallikleri (Soluk alamama, nefes darlığı vs.) gibi akciğer-kalp(solunum) sistemi semptomları. Deride dökülmeler, kabarmalar gibi dermatolojik semptomlar.
IV.	Şuur kaybı, zihinsel yeti kaybı, aşırı hipotansiyon, kasılma nöbetleri, spinal refleks ve tendon kayıpları gibi semptomlar gözlenir.

İlk aşama; dilde ve dudaklarda uyuşma, konuşma bozuklukları genelde zehirlenmenin ilk belirtileridir. Bunu tat alamama, baş dönmesi, baş ağrısı, terleme, gözbebeği daralması takip eder. Bu semptomlara tükürük salgısı artışı, bulantı kusma, kanlı kusma, ishal, karın ağrısı gibi sindirim sistemi rahatsızlıkları her zaman olmasa da eşlik eder. İkinci aşamada; felç tüm vücuda yayılmaya başlar. El, ayak ve bacaklarda felç görülür. Üçüncü aşamada; felç daha da artar ve yutaktaki felç yutmayı engeller. Kas koordinasyon bozukluğu, aşırı halsizlik, konuşamama, aşırı baş dönmesi, denge kaybı, kas titremesi ve kafatasında sinir felci gibi kas ve sinir sistemi semptomlarını kardiyovasküler semptomlar takip eder. Damarların genişliğini düzenleyen vasomotor sinirlerin felci, hipotansiyon, nadiren hipertansiyonla sonuçlanabilir. Kardiyak aritmi, kalp atışının yavaşlaması, taşikardi, kalp kulakçıklarının normal çalışmaması, morarma, nefes darlığı semptomları da görülebilmektedir. Ayrıca deride kızarma, pul pul dökülmeler ya da kabarma gibi dermatolojik semptomlar da TTX zehirlenmelerinde görülebilmektedir. Son aşamada solunum yetmezliği, aşırı hipotansiyon ve refleks kayıpları gözlenir. Bazı hastalarda bilinç kaybı olabilir ancak çoğu hastada koma halinde dahi olsa ölüm anına kadar bilinç açık kalmaktadır (Noguchi ve Ebesu., 2001).

Ölüm genelde 6 ila 24 saat içerisinde gerçekleşmektedir (Noguchi ve Ebesu., 2001). Hasta eğer 24 saat içerisinde solunum yetmezliğinden ölmezse herhangi bir kalıntı olmaksızın iyileşmektedir (Noguchi ve Ebesu., 2001; Hwang ve Noguchi, 2007).

TTX zehirlenmelerinde bilinen bir antidot ya da antitoksin olmaması ve tedavi prosedürü olmadığı için zehirlenme vakaları genellikle ölümlü sonuçlanmaktadır (Hwang ve Noguchi, 2007). Hiçbir panzehiri olmayan TTX tüketiminden kaynaklı zehirlenmelerde, hastaya tek yapılabilecek destekleyici tedavidir (Narahashi., 2001; Noguchi ve Ebesu. 2001; How, 2003; Chamandi vd, 2009; Kheifets vd., 2012).

Sağlık personelinin balon balığı (TTX) zehirlenmelerinin klinik bulguları ve komplikasyonları ile ilgili yeterli bilgiye sahip olmaları, tedaviyi doğru yönetebilmeleri için oldukça önemlidir. (Ahasan vd., 2004) TTX zehirlenmelerinde erken tanı ve destekleyici tedavi ile olumlu sonuçlar alınabilmektedir (Haque vd., 2008).

Tetrodotoksin Zehirlenmesi Vakaları

TTX içeren balon balıklarının tüketilmesinden kaynaklanan TTX zehirlenme kayıtları çok eski tarihlere dayanmaktadır. Japonya'daki en eski balon balığı zehirlenme kaydı MS 200 yılına tarihlenmektedir, Çin'de ise yaklaşık 2000 yıl öncesinde balon balığı tüketiminden kaynaklı zehirlenme vakalarının olduğu kayıtlarda mevcuttur (Miyazawa ve Noguchi, 2001). Fransız arkeolog Claude Gaillard 1923 yılında, antik Mısır mezarlarında bir tür balon balığı olan *Tetraodon lineatus* türünü betimleyen hiyeroglifler bulduklarını rapor etmiştir (Halstead, 1958).

Balon balığı zehirlenmesi Japonya'da oldukça yaygın bir durumdur. Japon devletinin resmi makamlarına göre 1954-1963 yılları arasında Japonya'da 1153 kişinin balon balığından kaynaklanan zehirlenmeler sonucu hayatını kaybettiği belirtilmektedir. Japon hükümetinin uyguladığı "balon balığının satışı ve hazırlanması-tüketilmesi" ilgili yasal kontrol ile ölüm vakaları 1967-1976 yılları arasında 372 kişiye düşmüştür (Tsunenari vd., 1980). Japonya'da toplumun geneline en lezzetli deniz ürünü olarak kabul edilen balon balıkları, bu ülkede sadece lisanslı şefler tarafından hazırlanabilmekte ve yine sadece lisanslı restoranlarda satılabilmektedir. Lisanslı Fugu restoranlarda ölüm vakası neredeyse görülmeyen bir durumdur (Narahashi, 2001). Bu ülkede gerçekleşen zehirlenme genelde lisanslı fugu restoranlar'da değil, genellikle evlerde pişirilerek tüketilen balon balıklarından kaynaklanmaktadır (Noguchi ve Ebesu., 2001). Japon mutfağında balon balıklarının geleneksel konumundan dolayı, güvenli tüketimi sağlamak amacıyla toksik olan ve toksik olmayan türlerin tespitine yönelik bilimsel çalışmaların artması, ayrıca kültür yetiştiriciliğinin yaygınlaşması ile paralel yürütülen bilinçlendirme çalışmaları ile Japonya'da ölüm oranları düşmüştür (Hwang ve Noguchi, 2007).

Japonya dışında, Çin, Malezya, Singapur, Bangladeş, Tayland, Avustralya, Yeni Zelanda, Meksika, Brezilya, Güney Afrika, gibi ülkelerden bildirilmiş balon balığı tüketiminden kaynaklı TTX zehirlenmeleri mevcuttur (Popkiss vd., 1979; Chew vd., 1983; Laobhrapatr vd., 1990; Field, 1998; Nuñez-Vazquez vd., 2000; Isbister vd., 2002; How, 2003; Hwang ve Noguchi, 2007; Chowdhury vd., 2007; Chua ve Chew, 2009). Balon balıklarının en lezzetli deniz ürünleri arasında görüldüğü Mısır'da, özellikle Süveyş körfezinde, Süveyş şehrinde tüm yasaklamalara rağmen balon balığı tüketilmekte ve bir çok zehirlenme olayına neden olmaktadır (El-Sayed vd., 2003).

Son yıllarda denizel toksin içeren deniz canlılarının arttığı Akdeniz'de *Lagocephalus sceleratus* tüketiminden kaynaklı TTX zehirlenme vakaları görülmesi, devletlerin önleyici yasaklar getirmesine neden olmuştur. Avrupa Birliği Tetraodontidae ve Diodontidae familyalarında yer alan balon balıklarının satışını yasaklamıştır (EC,2004a, EC,2004b). Benzer şekilde Türkiye Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından *Lagocephalus sceleratus* ve *Lagocephalus spadiceus* türlerinin karaya çıkarılması ve satılmasını yasaklanmıştır (Anonim,2012).

Tetrodotoksin Düzeyi Analiz Yöntemleri

İnsan sağlığı üzerine etkileri ve ölümlü zehirlenme vakalarının sıklığı nedeniyle besinlerde ve insan vücudundaki TTX düzeylerinin tespiti amacıyla çok sayıda bilimsel tespit yöntemleri geliştirilmiştir. TTX analizi için kullanılan en eski ve en yaygın yöntem Japon hükümetinin resmi analiz yöntemi de olan Mouse Bioassay/fare biyodeneği (Kawabata1978) metodudur (Noguchi ve Arakawa, 2008). Fare biyodeneğinde TTX içerdiği düşünülen doku örneğinin

ekstrakte edilerek 20g ağırlığındaki 4 haftalık erkek farelere intra-peritoneal olarak enjekte edildikten sonra farelerin 30 dk içerisinde ölmesini sağlayan toksin miktarı 1 Mouse Unit (MU) olarak adlandırılır (Kawabata 1978). 1 MU yaklaşık olarak 0,22µg'dır (Yasumoto ve Michishita, 1985, Nuñez-Vazquez vd., 2000).

Fare biyo deneyleri çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Toksin ekstraktının elde edildiği canlıda TTX varlığının yanı sıra ölümcül etkisinin olup olmadığını belirlemede de yaygın olarak kullanılan bir metottur, ancak fare biyo deneyleri canlı hayvanlar üzerinde yapılması nedeniyle son yıllarda tepkiler almaktadır (Campora ve Hakoma, 2010). Ayrıca fare biyo deneyleri, yapısal ve toksik etkiler açısından benzerlikler gösteren saksitoksin (STX) ve TTX moleküllerinin ayırımı yapmakta yetersiz kalmaktadır (Landsberg vd., 2006; Campas vd., 2007; Yakes vd., 2010). Dünya genelinde çok sayıda araştırmada kullanılmış olan bu yöntem basit ve hızlı olmasına rağmen nicel ölçüm açısından ve tekrarlanabilirlik açısından yetersiz kalmaktadır (Yu vd., 2010).

Toksin içeren besinlerden korunabilmek için hızlı, hassas ve spesifik tanı metotları gerekmektedir (Yakes vd., 2010). Zehirlenme vakalarının ve ölümlerin sıklığı, hızlı ve güvenilir tespit yöntemleri arayışlarına yönelmiştir. Bu amaç doğrultusunda son yıllarda HPLC (High-Performance Liquid Chromatography), LC/MS (Liquid Chromatography Tandem-Mass Spectrometry), GC/MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) ve H-NMR (Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy) gibi enstrümental cihazlar/analitik yöntemler, enzimlere bağlı bağışıklık deneyi (ELISA) gibi immünolojik yöntemler, enzim inhibasyonuna dayalı yöntemler ve biosensörler kullanılmaktadır (Campas vd., 2007).

TTX düzeyinin tespitinde son yıllarda en yaygın kullanılan yöntem TTX ve TTX analoglarının düzeylerinin tespitini sağlayan LC/MS ve LC/MS/MS cihazları ile yapılan araştırmalardır (Kono vd., 2008; Campell vd., 2009; Chulanetra vd., 2011; Chen vd., 2011; Silva vd., 2012; Rodriguez ve diğ., 2012). Bir başka enstrümental analiz yöntemi olarak GC/MS metotlarıyla TTX üretebilen bakteri türlerinde toksin düzeyleri araştırılmıştır (Do vd., 1991; Do vd., 1993). Ancak, LC/MS pahalı ve komplike ekipmanlar gerektiren, GC/MS ise uzun süreç gerektiren metotlardır. Bu nedenle HPLC metotları (HPLC, HPLC/UV, HPLC/FLD) nispeten hızlı ve basit olması nedeniyle yaygın olarak tercih edilen bir diğer yöntemdir. Balon balığı zehirlenmelerini, hastanın kan ve idrar örneklerinde kolay olarak HPLC ile tespit edebilmek için ticari amaçla hazır katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşları geliştirilmiştir (Yu vd., 2010). Bu nedenle TTX analizlerinde HPLC cihazlarının kullanımı günümüzde yaygın tercih edilen yöntemler arasındadır (Yasumoto ve Michishita, 1985; Yasumoto vd., 1986; Do vd., 1991; Do vd., 1993; Hanifin vd., 2002; Simon vd., 2009).

Enstrümental yöntemlerin dışında enzimlere bağlı bağışıklık deneyi (ELISA) gibi immünolojik teknikleri

kullanarak TTX düzeyini araştıran çalışmalar mevcuttur (Watabe vd., 1989; Jianwei vd., 1997; Katikou vd., 2009; Zhou vd., 2007). Bağışıklık sistemine dayalı ve altın nano partikül prob kullanılarak 10 dk içerisinde TTX ölçümü yapılabilen yeni bir analiz yöntemi de geliştirilmiştir (Zhou vd., 2010). Son yıllarda geliştirilen TTX tespit metotlarında öncelikli amaç toksinin olabildiğince hızlı tespit edilebilmesidir.

Tetrodotoksinin Kullanım Alanları

Balıklarda bulunan biyotoksinler balığın yaşadığı ekosisteme ve diğer canlılara etkilerinin yanı sıra, farmakolojik öneme sahiptirler ve ilaç olarak kullanılabilirler (Kumar ve Kurcheti, 2013). Balon balıklarının Japonlar tarafından lezzetli bir yiyecek olarak kabul edilmesi ve geleneksel beslenme alışkanlıklarında önemli bir yeri olmasından dolayı Japonya'da Balon balıkları ve TTX ile ilgili çok uzun yıllardır bilimsel araştırmalar yapılmaktadır. 1960'ların başında sodyum kanalı engelleyici özelliği keşfedildiğinden bu güne TTX birçok laboratuvarında fizyolojik ve nörolojik çalışmalarda oldukça yaygın bir şekilde kanal engelleyici olarak kullanılmaktadır (Narahashi., 2008; Saoudi vd., 2010). TTX molekülünün sinir hücrelerindeki Na kanallarını bloke edici özelliği keşfedildikten sonra çalışmalar daha çok TTX'in hücre ve moleküler mekanizmalarına kaymıştır (Narahashi., 2001; Noguchi ve Arakawa, 2008).

Son yıllarda araştırmalar TTX molekülünün insan sağlığı üzerine üç farklı etkisi üzerine yoğunlaşmış durumdadır. TTX'in ileri düzey hastalarda ağrı kesici etkisi olduğu, anti-tümör etki gösterdiği ve uyuşturucu bağımlılığı tedavisinde diğer opioidlere alternatif bağımlılık yapmayan etki mekanizması üzerinde çalışılan özelliklerdir (Schwartz vd., 1998; Hagen vd., 2008; Yu, 2008; Saoudi vd., 2010; Bragadeeswaran vd., 2010).

TTX molekülünün Japonya'da 20. yy başlarında klinik kullanımı romatizma tedavilerinde uygulanmıştır (Noguchi ve Arakawa, 2008). Çin Halk Cumhuriyeti'nde terminal kanser hastalarında ağrı kesici olarak medikal kullanımı mevcuttur (Saoudi vd., 2010). TTX'in sinirsel iletim üzerine olası engelleyici etkisi nedeniyle özellikle anestezi alanında yeni ilaçlar için olası bir kaynak durumundadır (Schwartz vd., 1998). Hagen vd., (2008) tarafından yapılan çalışmada TTX'in aneljezik etkisinden yararlanarak orta ve ileri düzey kanserli hastalarda ağrıları azaltmak için kullanılmış, kanserli hastalarda ağrıları azalttığını tespit etmişlerdir. Tavşanlar üzerine yaptıkları çalışmalarda TTX kullanarak korneada uzun süreli lokal anestezi etkisi oluşturmayı başarmışlardır. Biyolojik önemi ve nörofizyolojik etkisi hususunda hala çok sayıda çalışma yapılan TTX, gelecekte önemli bir anestezi ilaç olarak kullanılabilir (Hwang ve Noguchi, 2007).

Bragadeeswaran vd., (2010) Hindistan'ın güneydoğu kıyılarından yakalanan *Arothron hispidus* türü balon balıklarından izole edilen TTX üretici 3 bakteri türü (*Bacillus* sp., *Kytococcus sedentarius* ve *Cellulomonas fimi*) filtre edilip özütleri elde edildikten sonra lösemili farelere intraperitoneal olarak enjekte edilmiş ve uygulama sonucunda kas hücre

dizisi ve lösemi hücre dizisi üzerinde büyümeyi inhibe edici etkileri gözlenmiştir. TTX kanserli hücre sayısını azaltmıştır. Balon balıklarından izole edilen TTX üretici bakteriler anti-tümör bileşiklerin geliştirilmesi için kullanılabilir (Bragadeeswaran vd., 2010). Benzer şekilde (Fouda, 2005) Kızıldeniz'de yaşayan maskeli balon balığından (*Arothron diadematus*) derisinden elde edilen TTX kanserli farelere uygulanmış, sonuçta yaşam süresinde %46 artış ve tümör hücrelerinin sayısında azalma gözlenmiştir.

TTX molekülünün insan sağlığı üzerindeki etkilerini araştıran bazı çalışmalarda, olumlu etkilerin yanı sıra olumsuz etkilerde gözlenmiştir. Fouda (2005); TTX'in hücreler üzerine sitotoksik etkisinin, periton sıvısında azalmaya neden olduğu ve karaciğer biyokimyasal faaliyetlerini olumsuz etkilediğini bildirmiştir. Gershon (1967); domuz, tavşan ve farelerde TTX'in düz kaslar ve ilaçlar üzerine etkilerini in vitro olarak incelemiş ve TTX varlığında nöronlarda impuls oluşumu ve aksiyon potansiyelinin engellendiği ve sinir sisteminin TTX tarafından engellenmesi nedeniyle vücuda alınan birçok ilaçtan olası cevapların alınmadığını tespit etmiştir.

Tüm bu bilimsel çalışmalar uluslararası ilaç firmalarının TTX içerikli ilaçlar üzerine çalışmalara yönelmiştir. Kanadalı bir nörobiyolojik araştırma şirketi WEX Pharmaceuticals Inc. ve ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından ortak yürütülen çalışmada ileri düzey kanser hastalarının kemoterapi kaynaklı ağrıları azaltan, anestetik fonksiyonu olan bazı TTX içeren ilaçlar geliştirmeye yönelik çalışmaların 2016 yılında tamamlanması öngörülmektedir (Anonim, 2014). Ayrıca uyuşturucu bağımlılığı tedavisinde TTX kullanımına yönelik çalışmalarda yapan firma toksinin morfin benzeri bir etkiye sahip olduğunu, hatta diğer opioidlerde ki yan etkilerin görülmediğini, bağımlılık etkisi yapmadığını, aynı miktardaki morfinden 3000 kat daha etkili olduğunu belirtmektedir (Anonim, 2014).

TTX'in ilaç sanayinde artan önemi, TTX elde etme yöntemlerini öne çıkarmıştır. TTX üç yolla elde edilebilir (Yu, 2008). Bu yöntemlerin ilki balon balıklarından izolasyondur. Balon balıklarından TTX ekstraksiyonu ile ilgili alınmış çok sayıda patentler mevcuttur. Ancak az miktarda TTX izolasyonu için çok miktarda ovaryum kullanma zorunluluğu ve toksinin mevsimsel dalgalanması bu yöntemleri maliyetli hale getirmektedir (Yu, 2008). Çok miktarda balık kullanılması balon balıkların yerli türleri arasında olduğu ekosistemlere zarar verebilir. Balon balıklarından izolasyonun yanı sıra diğer yöntemler ise, bakteriyel biyosentez ve kimyasal sentez yöntemleridir. Ancak mikrobiyal biyosentez, hem az miktarlarda yapılabilen, hem de üretim mekanizması hala tam olarak aydınlatılmamış bir yöntemdir. TTX molekülünün kimyasal sentezine yönelik çalışmalar ise uzun zamandır üzerinde çalışılan bir alan olmakla beraber ilk olarak 1972 yılında Kishi tarafından sentetik TTX molekülü üretim metodu geliştirildiği bildirilmiştir (Nishikawa ve Isobe, 2013). Ancak TTX molekülünün kimyasal sentezi henüz üretim aşamasına getirilememiş, bu alanda çalışmalar sürdürülmektedir.

Akdeniz'de yaşayan balon balığı türlerinin toksisiteleri

Akdeniz'de Tetraodontidae familyasına ait 9 tür, Diodontidae familyasından 2 tür balon balığı yaşamaktadır (Tablo 2). Tetraodontidae familyasına ait türler; *Lagocephalus sceleratus* (Akyol vd., 2005); *Lagocephalus spadiceus* (Mavruk ve Avşar, 2008); *Lagocephalus suezensis* (Golani vd., 2010); *Lagocephalus lagocephalus* (Golani vd., 2002); *Torquigener flavimaculosus* (Corsini-Foka vd., 2006); *Sphoeroides pachygaster* (Mater ve Bilecenoğlu, 1999) ve *Tylerius spinosissimus* (Corsini vd., 2005), *Sphoeroides marmoratus* (Vacchi vd., 2007), *Sphoeroides spengleri* (Reina-Hervas vd., 2004) ve Diodontidae familyasına ait türler *Chilomycterus reticulatus* (Follesa vd., 2009) ile *Cyclichthys spilostylus* (Golani, 2010) türleridir.

Tablo 2. Akdeniz'de yaşayan balon balığı türleri.

Table 2. Pufferfish species in the Mediterranean

Famila	Tür	Referans
Diodontidae	<i>Chilomycterus reticulatus</i> (Linnaeus, 1758)	Spotfin burrfish Follesa vd., 2009
	<i>Cyclichthys spilostylus</i> (Leis & Randall, 1982)	Spotbase burrfish Golani, 2010
Tetraodontidae	<i>Lagocephalus spadiceus</i> (Richardson, 1845)	Half-smooth golden pufferfish Sanzo, 1930 (Mavruk ve Avşar, 2008)
	<i>Lagocephalus sceleratus</i> (Gmelin, 1789)	Silver-cheeked toadfish Akyol vd., 2005
	<i>Lagocephalus suezensis</i> (Clark ve Gohar, 1953)	Mouneimne, 1977 (Golani, 2010)
	<i>Lagocephalus lagocephalus</i> (Linnaeus, 1758)	Oceanic puffer Golani vd., 2002
	<i>Torquigener flavimaculosus</i> (Hardy ve Randall, 1983)	Dwarf Blaasop Golani, 1987 (Corsini-Foka vd., 2006)
	<i>Sphoeroides pachygaster</i> (Müller ve Troschel, 1848)	Blunthead puffer Mater ve Bilecenoğlu, 1999
	<i>Tylerius spinosissimus</i> (Regan, 1908),	Spiny blaasop Corsini vd., 2005
	<i>Sphoeroides marmoratus</i> (Lowe, 1838),	Guinean puffer Vacchi vd., 2007
<i>Sphoeroides spengleri</i> (Bloch, 1785)	Bandtail puffer Reina-Hervas vd., 2004	

Akdeniz'de yaşayan diğer balon balığı türlerinin TTX düzeyleri ile ilgili bilimsel araştırmalar, birey büyüklüğü açısından pazarda kendilerine daha kolay yer bulabilecek *L. sceleratus*, *L. spadiceus* ve *L. lagocephalus* türleri üzerine yoğunlaşmış durumdadır.

Balon balıklarının toksisitesi ile ilgili toksin araştırmaları Akdeniz'de kısıtlı düzeydedir, sadece *L. sceleratus* türü balon balıklarının toksisitesi araştırılmıştır. *L. sceleratus* türü balon balıklarında özellikle gonad ve karaciğerdeki TTX içeriğinin fazla olduğu ve bu türün toksik bir balık türü olarak kabul edilmesi gerektiği bildirilmiştir (Rodriguez vd., 2008, Katikou vd., 2009, Rodriguez vd., 2012; Köşker, 2014).

L. sceleratus türü balon balıklarının toksik olduğu ancak toksisite düzeyinin yaşam alanı, mevsimsel farklılıklar, eşey ve balığın araştırılan dokusuna göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir (El-Sayed vd., 2003; Sabrah vd., 2006; Hwang ve Noguchi, 2007; Noguchi ve Arakawa, 2008; Simon vd., 2009; Katikou vd., 2009; Monaliza vd., 2011; Rodriguez vd., 2012; Köşker, 2014; Azman vd., 2014).

L. spadiceus türü balon balıklarının TTX düzeyi özellikle Brillantes vd.,(2003)'e göre tüketiminin yoğun olduğu Tayland ve Malezya gibi ülkelerde araştırılmıştır. Kungsuwan (1994) ve Brillantes vd. (2003) Tayland kıyılarında yakalanan *L. spadiceus* türünün toksik olmadığını, Chulanetra vd. (2011) ise gonadlarda, sindirim sistemi ve kas dokuda TTX tespit edilemediğini, ancak karaciğerde fare deneylerine göre 4 MU/g TTX tespit edildiğini bildirmişlerdir. Monaliza vd. (2011) Malezya Sabah Denizi'nde yakaladıkları *L. spadiceus* türü balon balıklarının kas, karaciğer ve derisinde yaptıkları analizlerde TTX düzeyini <2 MU/g olarak ölçmüşler ve balığın toksik olmadığını belirtmişlerdir. Eisenman vd., (2008), İsrail'de *L. sceleratus* tüketiminden kaynaklı zehirlenme vakaları olmasına rağmen *L. spadiceus* türünden kaynaklı zehirlenme vakası olmadığını bildirmiştir.

L. lagocephalus türün yaygın dağılım gösterdiği Tunus kıyılarında yakalanan bireylerde toksisite araştırılmış ve balığın etinin tüketiminin toksisite açısından oldukça tehlikeli olduğu bildirilmiştir (Saoudi vd., 2008; Saoudi vd., 2011).

SONUÇ VE ÖNERİLER

TTX karmaşık yapısı ve toksisite gücü nedeniyle en bilinen doğal deniz ürünlerden birisidir (Nishikawa ve Isobe, 2013). Bu nedenle TTX içeren denizel türlerin Akdeniz'e

girişlerindeki artış gıda güvenliği ve insan sağlığı açısından üzerinde dikkatle durulması gereken bir durumdur. TTX içeren organizmaların Akdeniz'deki varlığı kaygı verici düzeylere gelmiştir. Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde balon balıklarının karaya çıkarılması ve satılmasına ilgili devlet kurumlarınca yasaklamalar getirilmiş olmasına rağmen balon balıkları bir dönem özellikle Doğu Akdeniz ülkelerindeki balık tezgâhlarında kendine yer bulabilmiş ve zehirlenme vakaları ile karşılaşmıştır. Balon balığı tüketiminden kaynaklı TTX zehirlenmelerine yönelik kamuoyunun bilinçlendirilmesi ve bu bağlamda sağlık çalışanlarının TTX zehirlenme semptomları ve uygulanabilecek tedavi yöntemleri hususunda eğitimlerinin, atılması gereken öncelikli adımlar olduğu düşünülmektedir.

Akdeniz'de oldukça önemli bir yayılım gösteren balon balıklarının büyüklük, beslenme, eşeysel olgunluk, ve mevsimsel farklılıkların TTX düzeyine ve TTX analogları düzeylerine etkileri araştırılmalıdır. Daha önceleri bilinmeyen toksinlerin keşifleri ve bilinen toksinlerin özelliklerine dair bilimsel araştırmalar yapılmasına rağmen toksikolojik veri eksikliği hükümetlerce gerekli sınırlamaların getirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle TTX ve olası diğer denizel toksinlerin araştırılması gerek insan sağlığı, gerekse de TTX'in ekosistemdeki durumunu anlamak açısından önem arz etmektedir. Balon balıklarında TTX düzeylerinin çok düşük seviyelerde bile tespit edilebilmesi nedeniyle HPLC, LC/MS/MS, GC/MS gibi analitik cihazlarla ölçülmesi Akdeniz'de güvenilir bir toksikolojik data oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

Mevcut durumda ekonomik balık türleri, yerel balıkçılık ve kamu sağlığı açısından önemli riskler barındıran balon balıkların TTX düzeyleri ile ilgili daha fazla araştırma yapılmasının bu balıkların ekonomiye kazandırılmasında faydalı olabileceği düşünülmektedir. Akdeniz'de yaşayan *L. sceleratus* popülasyonlarında TTX düzeylerinin okyanus ekosistemlerinde yaşayan popülasyonlara göre daha düşük bulunması durumunda, yakalanacak balıkların Türkiye'de olanaklı olmasada, balon balıklarının tüketildiği ülkelere ihraç edilmesinin önü açılmış olacaktır. TTX düzeylerinin daha yüksek tespit edilmesi durumunda ise, balon balıklarından TTX izolasyonu üzerine çalışmalar yoğunlaştırılarak, ticari açıdan TTX ihracı sağlanabilecektir. Bu bağlamda TTX araştırmalarının daha fazla yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Abbott, J. P., Flewelling, L. J., Landsberg, J. H., 2009. Saxitoxin monitoring in three species of Florida puffer fish. *Harmful Algae*, 8(2):343-348. doi: 10.1016/j.hal.2008.07.005

Ahasan, H. A., Mamun, A. A., Karim, S. R., Bakar, M. A., Gazi, E. A., Bala, C. S., 2004. Paralytic Complications Of Puffer Fish (Tetrodotoxin) Poisoning. *Singapore Medical Journal*, 45(2):73.

Akyol, O., Ünal, V., Ceyhan, T., Bilecenoğlu, M., 2005. First Confirmed Record Of *Lagocephalus Sceleratus* (Gmelin, 1789) In The Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology*, 66(4):1183-1186. doi: 10.1111/j.0022-1112.2005.00667.x

Anonim, 2012. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü 3/1 Numaralı Ticari Amaçlı Su Ürünleri Avcılığını Düzenleyen Tebliği (Tebliğ)

- No:2012/65);<http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=9.5.16536&MevzuatIlsiki=0&sourceXmlSearch=3/1> (25.09.2014)
- Anonim, 2014. WEX Pharmaceuticals Inc.: <http://www.wextech.ca/products.asp?m=1> (10.11.2014)
- Azman, A. M. N., Samsur, M., Othman, M., 2014. Distribution Of Tetrodotoxin Among Tissues of Pufferfish from Sabah and Sarawak Waters. *Sains Malaysiana*, 43(7):1003-1011.
- Bentur, Y., Ashkar, J., Lurie, Y., Levy, Y., Azzam, Z. S., Litmanovich, M., Eisenman, A., 2008. Lessepsian Migration And Tetrodotoxin Poisoning Due To *Lagocephalus sceleratus* In The Eastern Mediterranean. *Toxicon*, 52(8): 964-968. doi: [10.1016/j.toxicon.2008.10.001](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.10.001)
- Bilecenoglu, M., 2010. Alien Marine Fishes Of Turkey - An Updated Review. In: Golani D, Appelbaum-Golani B (eds) Fish Invasions of the Mediterranean Sea: Change and Renewal. Pensoft Publishers, Sofia-Moscow, p.189-217
- Bragadeeswaran, S., Therasa, D., Prabhu, K., Kathiresan, K., 2010. Biomedical And Pharmacological Potential of Tetrodotoxin-Producing Bacteria Isolated From Marine Pufferfish *Arothron hispidus* (Muller, 1841). *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 16(3): 421-431. doi: [10.1590/S1678-91992010000300008](https://doi.org/10.1590/S1678-91992010000300008)
- Brillantes, S., Samosorn, W., Faknoi, S., Oshima, Y., 2003. Toxicity of Puffers Landed and Marketed in Thailand. *Fisheries Science*, 69(6): 1224-1230. doi: [10.1111/j.0919-9268.2003.00749.x](https://doi.org/10.1111/j.0919-9268.2003.00749.x)
- Campas, M., Prieto-Simón, B., Marty, J. L., 2007. Biosensors to Detect Marine Toxins: Assessing Seafood Safety. *Talanta*, 72(3): 884-895. doi: [10.1016/j.talanta.2006.12.036](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.12.036)
- Campbell, S., Harada, R. M., Defelice, S. V., Bienfang, P. K., Li, Q. X., 2009. Bacterial Production of Tetrodotoxin in The Pufferfish *Arothron hispidus*. *Natural Product Research*, 23(17):1630-1640. doi: [10.1080/14786410903003780](https://doi.org/10.1080/14786410903003780)
- Campora, C.E., Hakoma Y., 2010, Chapter 19 :Marine Toxins, Nollet, L. M., Toldrá, F. (Eds.), Safety analysis of foods of animal origin, CRC Press, USA, p:577-602.
- Chamandi, S. C., Kallab, K., Mattar, H., Nader, E., 2009. Human Poisoning After Ingestion Of Puffer Fish Caught From Mediterranean Sea. *Middle East Journal of Anesthesiology*, 20(2):285-288.
- Chau, R., Kalaitzis, J. A., Neilan, B. A., 2011. On the origins and biosynthesis of tetrodotoxin. *Aquatic Toxicology*, 104(1), 61-72. doi: [10.1016/j.aquatox.2011.04.001](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.04.001)
- Chen, C. Y., Chou, H. N., 2002. A Modified High-Performance Liquid Chromatography Method for Analysis of PSP Toxins in Dinoflagellate, *Alexandrium minutum*, and Shellfish From Taiwan. *Food Research International*, 35(8): 715-720. doi: [10.1016/S0963-9969\(02\)00066-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00066-2)
- Chen, X. W., Liu, H. X., Jin, Y. B., Li, S. F., Bi, X., Chung, S., Jiang, Y. Y., 2011. Separation, identification and quantification of tetrodotoxin and its analogs by LC-MS without calibration of individual analogs. *Toxicon*, 57(6), 938-943. doi: [10.1016/j.toxicon.2011.03.011](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.03.011)
- Chew, S. K., Goh, C. H., Wang, K. W., Mah, P. K., Tan, B. Y., 1983. Puffer Fish (Tetrodotoxin) Poisoning: Clinical Report and Role of Anti-Cholinesterase Drugs in Therapy. *Singapore Medical Journal*, 24(3): 168-171.
- Chowdhury, F. R., Ha, N. A., Al Mamun, A., Khaliduzzaman, S. M., 2007. Tetrodotoxin Poisoning: A Clinical Analysis, Role of Neostigmine and Short-Term Outcome of 53 Cases. *Singapore Medical Journal*, 48(9): 830-833.
- Chua, H. H., Chew, L. P., 2009. Puffer fish poisoning: a family affair. *Medical Journal of Malaysia*, 64(2):181-182
- Chulanetra, M., Sookrung, N., Srimanote, P., Indrawattana, N., Thanongsaksrikul, J., Sakolvaree, Y., Chaicumpa, W., 2011. Toxic Marine Puffer Fish In Thailand Seas And Tetrodotoxin They Contained. *Toxins*, 3(10):1249-1262. doi: [10.3390/toxins3101249](https://doi.org/10.3390/toxins3101249)
- Corsini, M., Margies, P., Kondilatos, G., Economidis, P. E., 2005. Lessepsian Migration Of Fishes To The Aegean Sea: First Record of *Tylerius spinosissimus* (Tetraodontidae) From The Mediterranean And Six More Fish Recorded From Rhodes. *Cybium*, 29: 347-354.
- Corsini-Foka, M., Margies, P., Kondilatos, G., Economidis, P. S., 2006. *Torquigener flavimaculosus* Hardy and Randall, 1983 (Pisces: Tetraodontidae) of Rhodes Island Marine Area: a New Alien Fish in the Hellenic Waters.Mediterranean. *Marine Science*, 7(2): 73-76. doi: [10.12681/mms.172](https://doi.org/10.12681/mms.172)
- Do, H. K., Kogure, K., Simidu, U., 1990. Identification Of Deep-Sea-Sediment Bacteria Which Produce Tetrodotoxin. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(4): 1162-1163.
- Do, H. K., Kogure, K., Imada, C., Noguchi, T., Ohwada, K., Simidu, U., 1991. Tetrodotoxin production of actinomycetes isolated from marine sediment. *Journal of Applied Microbiology*, 70(6), 464-468.
- Do, H. K., Hamasaki, K., Ohwada, K., Simidu, U., Noguchi, T., Shida, Y., Kogure, K., 1993. Presence of Tetrodotoxin And Tetrodotoxin-Producing Bacteria in Freshwater Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(11): 3934-3937.
- EC, 2004a. Regulation (EC) No. 853/2004 Of The European Parliament And Of The Council of 29 April 2004 Laying Down Specific Hygiene Rules For Food Of Animal Origin. *Official Journal of the European Union L* 139 of 30 April 2004, L226, Brussels, pp. 68
- EC, 2004b. Regulation 854/2004/EC, 25/06/2004. Regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 Laying Down Specific Rules for the Organisation of Official Controls on Products of Animal Origin Intended for Human Consumption, *Official Journal of the European Union L* 139 of 30 April 2004, L226, Brussels, pp. 123.
- Eisenman, A., Rusetski, V., Sharivker, D., Yona, Z., Golani, D., 2008. An Odd Pilgrim In The Holy Land. *The American Journal of Emergency Medicine*, 26(3): 383.e3–383.e6. doi: [10.1016/j.ajem.2007.05.035](https://doi.org/10.1016/j.ajem.2007.05.035)
- El-Sayed, M., Yacout, G. A., El-Samra, M., Ali, A., Kotb, S. M., 2003. Toxicity Of The Red Sea Pufferfish *Pleuranacanthus sceleratus* "El-Karad". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56(3): 367. doi: [10.1016/S0147-6513\(02\)00142-2](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00142-2)
- Fernández-Ortega, J. F., Santos, J. M., Herrera-Gutiérrez, M. E., Fernández-Sánchez, V., Loureo, P. R., Rancaño, A. A., Téllez-Andrade, A., 2010. Seafood Intoxication by Tetrodotoxin: First Case in Europe. *The Journal of Emergency Medicine*, 39(5): 612-617. doi: [10.1016/j.jemermed.2008.09.024](https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2008.09.024)
- Field, J., 1998. Puffer Fish Poisoning. *Journal Of Accident Emergency Medicine*, 15(5): 334-336. doi: [10.1136/emj.15.5.334](https://doi.org/10.1136/emj.15.5.334)
- Follesa, M. C., Mulas, A., Porcu, C., Cau, A. (2009). First record of *Chilomycterus reticulatus* (Osteichthyes: Diodontidae) in the Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology*, 74(7), 1677-1681. doi: [10.1111/j.1095-8649.2009.02229.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02229.x)
- Fouda, F. M. (2005). Anti-tumor activity of tetrodotoxin extracted from the Masked Puffer fish *Arothron diadematus*. *Egyptian Journal of Biology*, 7(1), 1-13.
- Galil, B. S., 2000. A Sea Under Siege–Alien Species In The Mediterranean. *Biological Invasions*, 2(2): 177-186. doi: [10.1023/A:1010057010476](https://doi.org/10.1023/A:1010057010476)
- Galil, B. Zenetos, A., 2002. A Sea Change — Exotics in The Eastern Mediterranean Sea. In *Invasive Aquatic Species in Europe. Distribution, Impacts and Management*, E. Leppakoski et al. (eds). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.325–336.
- Gershon, M. D., 1967. Effects of tetrodotoxin on innervated smooth muscle preparations. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 29(3), 259-279.
- Golani, D., 2010. Colonization of The Mediterranean By Red Sea Fishes Via The Suez Canal-Lessepsian Migration. *Fish Invasions of the Mediterranean Sea: Change and Renewal*. Pensoft Publishers, Sofia-Moscow, 145-188.
- Golani, D., Orsini-Relini, L., Massutj, E. & Quignard, J.-P., 2002. CIESM atlas of exotic species in the Mediterranean. Vol. 1. Fishes (ed. F. Briand). Monaco: CIESM Publishers.

- Goto, T., Kishi, Y., Takahashi, S., ve Hirata, Y., 1965. Tetrodotoxin. *Tetrahedron*, 21(8), 2059-2088. doi: [10.1016/S0040-4020\(01\)98344-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)98344-9)
- Halstead, B. W., 1958. Poisonous fishes. *Public Health Reports*, 73(4): 302.
- Hanifin, C. T., 2010. The chemical and evolutionary ecology of tetrodotoxin (TTX) toxicity in terrestrial vertebrates. *Marine Drugs*, 8(3):577-593. doi: [10.3390/md8030577](https://doi.org/10.3390/md8030577)
- Haque, M. A., Islam, Q. T., Razzak, M. A., Faiz, M. A., Bari, M. I., 2008. Neurological manifestations of puffer fish poisoning and its outcome: Study of 83 cases. *TAJ: Journal of Teachers Association*, 21(2), 121-125. doi: [10.3329/taj.v21i2.3790](https://doi.org/10.3329/taj.v21i2.3790)
- How, C. K., 2003. Tetrodotoxin Poisoning. *The American Journal of Emergency Medicine*, 21(1):51-54. doi: [10.1053/ajem.2003.50008](https://doi.org/10.1053/ajem.2003.50008)
- Hwang, D. F., Noguchi, T., 2007. Tetrodotoxin Poisoning. *Advances in Food and Nutrition Research*, 52:141-236. doi: [10.1016/S1043-4526\(06\)52004-2](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(06)52004-2)
- Isbister, G. K., Son, J., Wang, F., Maclean, C. J., Lin, C. S., Ujma, J., Kiernan, M. C., 2002. Puffer Fish Poisoning: A Potentially Life-Threatening Condition. *Medical Journal Of Australia*, 177(11/12): 650-653.
- Iverson, F., Truelove, J., 1994. Toxicology and Seafood Toxins: Domoic Acid. *Natural Toxins*, 2(5): 334-339. doi: [10.1002/nt.2620020514](https://doi.org/10.1002/nt.2620020514)
- Ji, Y., Liu, Y., Gong, Q. L., Zhou, L., Wang, Z. P., 2011. Toxicity of Cultured Puffer Fish and Seasonal Variations in China. *Aquaculture Research*, 42(8): 1186-1195. doi: [10.1111/j.1365-2109.2010.02707.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02707.x)
- Jianwei, W., Xueyun, L., Rong, J., Di, Z., 1997. A Monoclonal Antibody Based Indirect Competitive Inhibition Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detecting Tetrodotoxin in Puffer Fish. *Journal of Hygiene Research*, 26(2): 106-109.
- Kao, C. Y., 1972. Pharmacology of Tetrodotoxin and Saxitoxin. In *Federation Proceedings*, 31(3): 1117-1123.
- Katikou, P., Georgantelis, D., Sinouris, N., Petsi, A., Fotaras, T., 2009. First Report on Toxicity Assessment of The Lessepsian Migrant Pufferfish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) From European Waters (Aegean Sea, Greece). *Toxicon*, 54(1): 50-55. doi: [10.1016/j.toxicon.2009.03.012](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.03.012)
- Kawabata, T., 1978. Tetrodotoxin. In: *Veterinary Sanitation Division, Environmental Health Bureau, Ministry of Health and Welfare (Ed.)*, Food Hygiene Examination Manual (Shokuhin Eisei Kensa Shishin) II. Japan Food Hygiene Association, Tokyo, pp. 223-241.
- Kheifets, J., Rozhavsky, B., Girsh Solomonovich, Z., Marianna, R., Soroksky, A., 2012. Severe Tetrodotoxin Poisoning After Consumption of *Lagocephalus sceleratus* (Pufferfish, Fugu) Fished in Mediterranean Sea, Treated with Cholinesterase Inhibitor. *Case Reports in Critical Care*, vol. 2012, Article ID 782507, 3 pages. doi: [10.1155/2012/782507](https://doi.org/10.1155/2012/782507)
- Kogure, K., Do, H. K., Thuesen, E. V., Nanba, K., Ohwada, K., Simidu, U., 1988. Accumulation of Tetrodotoxin in Marine Sediment. *Marine Ecology Progress Series*. 45(3): 303-305.
- Kono, M., Matsui, T., Furukawa, K., Takase, T., Yamamori, K., Kaneda, H., Yotsu-Yamashita, M., 2008. Examination of Transformation Among Tetrodotoxin and its Analogs in The Living Cultured Juvenile Puffer Fish, *Kusafugu*, Fugu niphobles by Intramuscular Administration. *Toxicon*, 52(6): 714-720. doi: [10.1016/j.toxicon.2008.08.002](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.08.002)
- Köşker, A. R., 2014. Mersin Körfezinden Yakalanan Balon Balığı'nın (*Lagocephalus sceleratus*) Mevsime Ve Cinsiyete Bağlı Olarak Besin Kompozisyonu Ve Tetrodotoksin (TTX) Düzeylerindeki Değişimlerin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, 90s, Adana
- Kumar, Y., Kurcheti, P. P., 2013. Effect of Liver Biotoxins of Certain Marine Fishes on Mouse Cell Culture. *Journal of Marine Science: Research & Development*, 3(117): 2. doi: [10.4172/2155-9910.1000117](https://doi.org/10.4172/2155-9910.1000117)
- Kungsuwan, A., 1994. Survey on poisonous pufferfish in Andaman Sea. In *Proceeding of the Seminar on Fisheries 1993 Department of Fisheries, Bangkok (Thailand)*, 15-17 Sep 1993.
- Landsberg, J. H., Hall, S., Johannessen, J. N., White, K. D., Conrad, S. M., Abbott, J. P., Steidinger, K. A., 2006. Saxitoxin puffer fish poisoning in the United States, with the first report of *Pyrodinium bahamense* as the putative toxin source. *Environmental Health Perspectives*, 114(10), 1502. doi: [10.1289/ehp.8998](https://doi.org/10.1289/ehp.8998)
- Laobhripatr, S., Limpakarnjanarat, K., Sangwonloy, O., Sudhasaneya, S., Anuchatvorakul, B., Leelasitorn, S., Saitanu, K., 1990. Food Poisoning Due To Consumption of The Freshwater Puffer *Tetraodon fangi* in Thailand. *Toxicon*, 28(11): 1372-1375. doi: [10.1016/0041-0101\(90\)90105-G](https://doi.org/10.1016/0041-0101(90)90105-G)
- Lee, M. J., Jeong, D. Y., Kim, W. S., Kim, H. D., Kim, C. H., Park, W. W., Kim, D. S., 2000. A Tetrodotoxin-Producing *Vibrio* Strain, Lm-1, from The Puffer Fish *Fugu vermicularis radiatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4):1698-1701. doi: [10.1128/AEM.66.4.1698-1701.2000](https://doi.org/10.1128/AEM.66.4.1698-1701.2000)
- Lin, S. J., Tsai, Y. H., Lin, H. P., Hwang, D. F., 1998. Paralytic Toxins in Taiwanese Starfish *Astropecten Scoparius*. *Toxicon*, 36(5): 799-803. doi: [10.1016/S0041-0101\(97\)00161-X](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(97)00161-X)
- Mater, S., Bilecenoğlu, M., 1999. Türkiye deniz balıkları. In: *Genel Zoocoğrafya ve Türkiye Zoocoğrafyası*, A. Demirsoy (Ed), Meteksan Matbaası, Ankara. p. 790- 808
- Matsumoto, T., Nagashima, Y., Kusuhabara, H., Ishizaki, S., Shimakura, K., Shiomi, K., 2008. Pharmacokinetics of tetrodotoxin in puffer fish *Takifugu rubripes* by a single administration technique. *Toxicon*, 51(6): 1051. doi: [10.1016/j.toxicon.2008.01.007](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.01.007)
- Matsumura, K., 1996. Tetrodotoxin Concentrations in Cultured Puffer Fish, *Fugu rubripes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1): 1-2. doi: [10.1021/jf950576l](https://doi.org/10.1021/jf950576l)
- Matsumura, K., 2001. No Ability to Produce Tetrodotoxin in Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(5):2393-2394. doi: [10.1128/AEM.8.3.2393-2394.2001](https://doi.org/10.1128/AEM.8.3.2393-2394.2001)
- Mavruk, S., Avsar, D., 2008. Non-native fishes in the Mediterranean from the Red Sea, by way of the Suez Canal. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 18(3), 251-262.
- Mebs, D., 2001. Toxicity in animals. Trends in evolution? *Toxicon*, 39(1), 87-96. doi: [10.1016/S0041-0101\(00\)00155-0](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(00)00155-0)
- Mebs, D., Arakawa, O., Yotsu-Yamashita, M., 2010. Tissue Distribution of Tetrodotoxin in The Red-Spotted Newt *Notophthalmus viridescens*. *Toxicon*, 55(7): 1353-1357. doi: [10.1016/j.toxicon.2010.02.009](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.02.009)
- Miyazawa, K., Noguchi, T., 2001. Distribution And Origin of Tetrodotoxin. *Toxin Reviews*, 20(1): 11-33. doi: [10.1081/txr-100103081](https://doi.org/10.1081/txr-100103081)
- Monaliza, M.D., Samsur, M., 2011. Toxicity and Toxin Properties Study of Puffer Fish Collected from Sabah Waters. *Health and the Environment Journal*, 2(1): 14-17.
- Mosher, H. S., Fuhrman, F. A., 1984. Occurrence And Origin of Tetrodotoxin. *Seafood Toxins* (Ragelis EP, ed.), American Chemical Society, Washington, DC, 333-344.
- Nader, M.R.; Indary, S.; Boustany, L.E., 2012. The Puffer Fish *Lagocephalus Sceleratus* (Gmelin, 1789) in the Eastern Mediterranean. *EastMed Technical Documents 2012*, GCP/INT/041/EC-GRE-ITA; FAO: Rome, Italy.
- Nakamura, M., Yasumoto, T., 1985. Tetrodotoxin Derivatives in Puffer Fish. *Toxicon*, 23(2): 271-276. doi: [10.1016/0041-0101\(85\)90149-7](https://doi.org/10.1016/0041-0101(85)90149-7)
- Narahashi, T. (2008). Tetrodotoxin—A brief history—. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences*, 84(5), 147. doi: [10.2183/pjab.84.147](https://doi.org/10.2183/pjab.84.147)
- Narahashi, T., 2001. Pharmacology of Tetrodotoxin. *Toxin Reviews*, 20(1): 67-84. doi: [10.1081/txr-100102537](https://doi.org/10.1081/txr-100102537)
- Nishikawa, T., Isobe, M., 2013. Synthesis of tetrodotoxin, a classic but still fascinating natural product. *The Chemical Record*, 13(3), 286-302. doi: [10.1002/ctr.201200025](https://doi.org/10.1002/ctr.201200025)
- Noguchi, T., Arakawa, O., Takatani, T., 2006a. Toxicity of Pufferfish *Takifugu rubripes* Cultured in Netcages at Sea or Aquaria on Land. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 1(1):153-157. doi: [10.1016/j.cbd.2005.11.003](https://doi.org/10.1016/j.cbd.2005.11.003)

- Noguchi, T., Arakawa, O., Takatani, T., 2006b. TTX Accumulation in Pufferfish. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: *Genomics and Proteomics*, 1(1): 145-152. doi: [10.1016/j.cbd.2005.10.006](https://doi.org/10.1016/j.cbd.2005.10.006)
- Noguchi, T., Arakawa, O., 2008. Tetrodotoxin–Distribution and Accumulation in Aquatic Organisms, and Cases of Human Intoxication. *Marine Drugs*, 6(2): 220-242. doi: [10.3390/md20080011](https://doi.org/10.3390/md20080011)
- Noguchi, T., Ebesu, J. S., 2001. Puffer Poisoning: Epidemiology and Treatment. *Toxin Reviews*, 20(1): 1-10. doi: [10.1081/TXR-100103080](https://doi.org/10.1081/TXR-100103080)
- Noguchi, T.; Onuki, K.; Arakawa, O., 2011. Tetrodotoxin poisoning due to pufferfish and gastropods, and their intoxication mechanism. *ISRN Toxicology*, v. 2011: 1–10. doi: [10.5402/2011/276939](https://doi.org/10.5402/2011/276939)
- Núñez-Vázquez, E. J., Yotsu-Yamashita, M., Sierra-Beltrán, A. P., Yasumoto, T., Ochoa, J. L., 2000. Toxicities and Distribution of Tetrodotoxin in The Tissues of Puffer Fish Found in The Coast of The Baja California Peninsula, Mexico. *Toxicon*, 38(5): 729-734. doi: [10.1016/S0041-0101\(99\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(99)00189-0)
- Popkiss, M. E., Horstman, D. A., Harpur, D., 1979. Paralytic Shellfish Poisoning. A report of 17 cases in Cape Town. *South African Medical Journal= Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*, 55(25): 1017.
- Por, F. D., 1964. A study of the Levantine and Pontic Harpacticoida (Crustacea, Copepoda). *Zoologische Verhandelingen*, 64(1): 1-128.
- Reina-Hervás, J. A., Raso, J. E., Manjon-Cabeza, M. E., 2004. First record of Spherooides spengleri (Osteichthyes: Tetraodontidae) in the Mediterranean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 84(05):1089-1090. doi: [10.1017/S0025315404010495h](https://doi.org/10.1017/S0025315404010495h)
- Rodriguez, P., Alfonso, A., Otero, P., Katikou, P., Georgantelis, D., Botana, L. M., 2012. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Method to Detect Tetrodotoxin and its Analogues in The Puffer Fish Lagocephalus scleratus (Gmelin, 1789) from European Waters. *Food Chemistry*, 132(2): 1103-1111. doi: [10.1016/j.foodchem.2011.11.081](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.081)
- Rodriguez, P., Alfonso, A., Vale, C., Alfonso, C., Vale, P., Tellez, A., Botana, L. M., 2008. First toxicity report of tetrodotoxin and 5, 6, 11-trideoxyTTX in the trumpet shell Charonia lampas lampas in Europe. *Analytical Chemistry*, 80(14), 5622-5629. doi: [10.1021/ac800769e](https://doi.org/10.1021/ac800769e)
- Sabrah, M.M., El-Ganainy, A.A., Zaky, M.A., 2006. Biology and Toxicity of the puffer fish Lagocephalus scleratus (Gmelin, 1789) from The Gulf of Suez. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 32: 283-297.
- Saoudi, M., Abdelmouleh, A., Kammoun, W., Ellouze, F., Jamoussi, K., El Feki, A., 2008. Toxicity Assessment of The Puffer Fish Lagocephalus lagocephalus from The Tunisian coast. *Comptes Rendus Biologies*, 331(8): 611-616. doi: [10.1016/j.crv.2008.05.005](https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.05.005)
- Saoudi, M., Abdelmouleh, A., El Feki, A., 2010. Tetrodotoxin: A Potent Marine Toxin. *Toxin Reviews* (formerly Journal of Toxicology), 29(2): 60-70. doi: [10.3109/15569543.2010.487631](https://doi.org/10.3109/15569543.2010.487631)
- Saoudi, M., Messarah, M., Boumendjel, A., Abdelmouleh, A., Kammoun, W., Jamoussi, K., El Feki, A., 2011. Extracted Tetrodotoxin from Puffer Fish Lagocephalus lagocephalus Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity to Wistar rats. *African Journal of Biotechnology*, 10(41): 8140-8145.
- Schwartz, D. M., Fields, H. L., Duncan, K. G., Duncan, J. L., Jones, M. R., 1998. Experimental study of tetrodotoxin, a long-acting topical anesthetic. *American Journal of Ophthalmology*, 125(4), 481-487. doi: [10.1016/S0002-9394\(99\)80188-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(99)80188-3)
- Silva, M., Azevedo, J., Rodriguez, P., Alfonso, A., Botana, L. M., Vasconcelos, V., 2012. New Gastropod Vectors and Tetrodotoxin Potential Expansion in Temperate Waters of The Atlantic Ocean. *Marine Drugs*, 10(4):712-726. doi: [10.3390/md10040712](https://doi.org/10.3390/md10040712)
- Simidu, U., Noguchi, T., Hwang, D. F., Shida, Y., Hashimoto, K., 1987. Marine Bacteria Which Produce Tetrodotoxin. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(7): 1714-1715.
- Simon, K. D., Mazlan, A. G., Usup, G., 2009. Toxicity of puffer fishes (Lagocephalus wheeleri Abe, Tabeta and Kitahama, 1984 and Lagocephalus scleratus Gmelin, 1789) from the East Coast Waters of Peninsular Malaysia. *Journal of Biological Sciences*, 9(5): 482-487. doi: [10.3923/jbs.2009.482.487](https://doi.org/10.3923/jbs.2009.482.487)
- Streffaris, N., Zenetos, A., 2006. Alien marine species in the Mediterranean—the 100 'Worst Invasives' and Their Impact. *Mediterranean Marine Science*, 7(1): 87-118. doi: [10.12681/mms.180](https://doi.org/10.12681/mms.180)
- Thuesen, E. V., Kogure, K., 1989. Bacterial Production of Tetrodotoxin in Four Species of Chaetognatha. *The Biological Bulletin*, 176(2): 191-194.
- Tsai, Y. H., Ho, P. H., Hwang, C. C., Hwang, P. A., Cheng, C. A., Hwang, D. F., 2006. Tetrodotoxin in several species of Xanthid crabs in southern Taiwan. *Food Chemistry*, 95(2), 205-212. doi: [10.1016/j.foodchem.2004.12.032](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.032)
- Tsunenari, S., Uchimura, Y., Kanda, M., 1980. Puffer Poisoning in Japan—A Case Report. *Journal of Forensic Sciences*, 25(1): 240-245.
- Vacchi, M., Bussotti, S., Miglietta, A. M., Guidetti, P., 2007. Presence of the Guinean puffer Spherooides marmoratus (Lowe, 1838) in the Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology*, 71(4): 1215-1219. doi: [10.1111/j.1095-8649.2007.01578.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01578.x)
- Watabe, S., Sato, Y., Nakaya, M., Hashimoto, K., Enomoto, A., Kaminogawa, S., Yamauchi, K. (1989). Monoclonal antibody raised against tetrodonic acid, a derivative of tetrodotoxin. *Toxicon*, 27(2), 265-268. doi: [10.1016/0041-0101\(89\)90140-2](https://doi.org/10.1016/0041-0101(89)90140-2)
- Woodward, R. B., 1964. The Structure of Tetrodotoxin. *Pure and Applied Chemistry*, 9(1):49-74
- Wu, Z., Yang, Y., Xie, L., Xia, G., Hu, J., Wang, S., Zhang, R., 2005. Toxicity and Distribution of Tetrodotoxin-Producing Bacteria in Puffer Fish Fugu rubripes Collected from The Bohai Sea of China. *Toxicon*, 46(4): 471-476. doi: [10.1016/j.toxicon.2005.06.002](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.06.002)
- Yakes, B. J., Etheridge, S. M., Mulvaney, S. P., Tamanaha, C. R. (2010). Fluidic force discrimination assays: A new technology for tetrodotoxin detection. *Marine Drugs*, 8(3), 565-576. doi: [10.3390/md8030565](https://doi.org/10.3390/md8030565)
- Yasumoto, T., Nagai, H., Yasumura, D., Michishita, T., Endo, A., Yotsu, M., Kotaki, Y., 1986. Interspecies Distribution and Possible Origin of Tetrodotoxin. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 479(1): 44-51. doi: [10.1111/j.1749-6632.1986.tb15560.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1986.tb15560.x)
- Yasumoto, T., Michishita, T., 1985. Fluorometric Determination Of Tetrodotoxin By High Performance Liquid Chromatography. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49(10):3077-3080. doi: [10.1080/00021369.1985.10867225](https://doi.org/10.1080/00021369.1985.10867225)
- Yotsu, M., Yamazaki, T., Meguro, Y., Endo, A., Murata, M., Naoki, H., Yasumoto, T., 1987. Production of tetrodotoxin and its derivatives by Pseudomonas sp. isolated from the skin of a pufferfish. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxicology*, 25(2): 225. doi: [10.1016/0041-0101\(87\)90245-5](https://doi.org/10.1016/0041-0101(87)90245-5)
- Yotsu-Yamashita, M., 2001. Chemistry of Puffer Fish Toxin. *Journal of toxicology. Toxin Reviews*, 20(1): 51-66. doi: [10.1081/TXR-100102536](https://doi.org/10.1081/TXR-100102536)
- Yu, C. H., 2008. Detection and Biosynthesis of Puffer Fish Toxin From Bacterial Culture for Novel Medical Application. PhD Thesis, The Hong Kong Polytechnic University, PRC
- Yu, C. H., Yu, C. F., Tam, S., Hoi-Fu Yu, P., 2010. Rapid screening of tetrodotoxin in urine and plasma of patients with puffer fish poisoning by HPLC with creatinine correction. *Food Additives and Contaminants*, 27(1), 89-96. doi: [10.1080/02652030903207250](https://doi.org/10.1080/02652030903207250)
- Zenetos, A., Gofas, S., Morri, C., Rosso, A., Violanti, D., Raso, J. G., Verlaque, M., 2012. Alien Species In The Mediterranean Sea by 2012. A contribution to the Application of European Union's Marine Strategy Framework Directive (MSFD). Part 2. Introduction trends and pathways. *Mediterranean Marine Science*, 13(2):328-352. doi: [10.12681/mms.327](https://doi.org/10.12681/mms.327)
- Zhou, Y., Li, Y. S., Pan, F. G., Liu, Z. S., Wang, Z., 2007. The development and optimization of ELISA for the determination of tetrodotoxin. *Journal of Medical Colleges of PLA*, 22(6), 347-351. doi: [10.1016/S1000-1948\(08\)60016-7](https://doi.org/10.1016/S1000-1948(08)60016-7)
- Zimmer, T., 2010. Effects Of Tetrodotoxin on The Mammalian Cardiovascular System. *Marine Drugs*, 8(3):741-762. doi: [10.3390/md8030741](https://doi.org/10.3390/md8030741)