



## FRONT OFFICE VOEDSEL- EN PRODUCTVEILIGHEID

### Beoordeling tetrodotoxines in schelpdieren

---

Risicobeoordeling aangevraagd door:	NVWA-BuRO
Risicobeoordeling opgesteld door:	RIVM en RIKILT
Datum aanvraag:	13-10-2015
Datum risicobeoordeling:	02-11-2015 (definitieve versie, herzien)
Projectnummer:	V/090130

---

#### Onderwerp

Door het RIKILT zijn tetrodotoxines<sup>1</sup> (TTX en epi-TTX) aangetoond in schelpdieren in de Nederlandse productiegebieden. Het is bekend dat tetrodotoxine (TTX) zeer toxisch is en onder andere in kogelvis kan voorkomen in gehalten die letaal kunnen zijn voor de consument. Dat dit toxine nu ook in Nederland in schaal- en schelpdieren kan worden aangetroffen is nieuw.

#### Vraagstelling

Aangezien tetrodotoxines zijn aangetroffen in schelpdieren in de Nederlandse productiegebieden wil de NVWA weten wat de gevonden waarden betekenen in het kader van risico's voor de volksgezondheid.

NVWA-BuRO verzoekt het Front Office om een zo spoedig mogelijke beantwoording van de volgende vragen:

1. Bij welke inname van TTX kunnen negatieve volksgezondheidseffecten niet worden uitgesloten (in inname per kg lichaamsgewicht)?
2. Moet daarbij bijzondere aandacht zijn voor risicogroepen (leeftijd, gezondheid of anderszins)?
3. Wat is op basis van bovenstaande het maximaal toelaatbare gehalte TTX in mosselvlees en het maximaal toelaatbare gehalte in oestervlees dat uit voorzorg gehanteerd zou moeten worden?

---

<sup>1</sup> Tetrodotoxines is de verzamelnaam voor een groep toxines die bestaat uit tetrodotoxine (=TTX) en derivaten (o.a. 4-epi-TTX, 6-epi-TTX, 11-oxo-TTX en tetrodonic acid). In deze beoordeling wordt de groep aangeduid met de term "tetrodotoxines". Als specifiek van een van de genoemde componenten sprake is wordt de afgekorte naam gebruikt.



## Conclusies

- 1) Op basis van de beperkte beschikbare gegevens is het niet mogelijk om een acute reference dose (ARfD) voor TTX af te leiden. Een inname van 4 µg/kg lg wordt in de literatuur genoemd als minimale dosering waarbij toxische effecten op kunnen treden. Omdat we deze dosering nog niet hebben kunnen verifiëren, en deze zeer dicht bij de letale doseringen (20-80 µg/kg lg) ligt, is het op dit moment niet mogelijk om deze waarde te gebruiken voor het afleiden van een ARfD.
- 2) Personen met zenuwaandoeningen en/of nieraandoeningen zijn mogelijk extra gevoelig voor de toxische effecten van TTX. Er zijn geen aanwijzingen dat er specifieke risicogroepen zijn voor de toxische effecten van TTX op basis van leeftijd en/of geslacht.
- 3) Aangezien het niet mogelijk is om een goed onderbouwde ARfD af te leiden is het ook niet mogelijk om een goed onderbouwd maximaal toelaatbaar gehalte in mossel-/oestervlees af te leiden. Op basis van een indicatieve benadering zou uitgaande van de gerapporteerde minimale dosering van 4 µg/kg lichaamsgewicht waarbij acute effecten op kunnen treden, met in achtneming van een veiligheidsfactor van ten minste 30 en op basis van een lichaamsgewicht van 60 kg en een portiegrootte van 400 gram schelpdier vlees een maximaal gehalte van ten hoogste ca. 20 µg/kg schelpdier vlees kunnen worden geschat. Gezien de zeer beperkte beschikbare informatie kunnen effecten bij deze en lagere concentraties op dit moment echter niet worden uitgesloten.

## Inleiding

Tetrodotoxines zijn neurotoxische mariene biotoxines die voornamelijk met vissen, en dan met name kogelvissen, worden geassocieerd. Het organisme verantwoordelijk voor de productie van tetrodotoxines is nog niet bekend. Het vermoeden is dat er een symbiose is tussen een bacterie en een organisme, wat bijvoorbeeld een alg of vis kan zijn. Het voorkomen van tetrodotoxines was tot voorkort bekend voor tropische en subtropische oceanen en zeeën. Echter, in Engeland is in de periode 2013-2014 TTX aangetroffen in mosselen en oesters die in Europa zijn gekweekt en geoogst. De hoogste concentratie TTX die werd gevonden was 137 µg/kg (Turner *et al.*, 2015).

Naar aanleiding van deze bevindingen in Engeland heeft het RIKILT binnen het WOT-programma een survey uitgevoerd om te kijken naar de mogelijke aanwezigheid van tetrodotoxines in schelpdieren in de Nederlandse productiegebieden. Momenteel zijn er 152 schelpdiermonsters die in een eerder stadium aangeleverd zijn voor het sanitair schelpdier programma geanalyseerd op de aanwezigheid van tetrodotoxines. Volgens de documentatie aangeleverd bij deze monsters zijn deze afkomstig uit diverse productiegebieden zoals Oosterschelde (n=55), Veerse meer (n=8), Grevelingenmeer (n=8), Waddenzee (n=67), Noordzee (n=7), boven de Waddeneilanden (n=3) en voor de deltawerken (n=4). Alleen in de Oosterschelde zijn gehalten aangetroffen boven de "limit of detection" (LOD) van 3 µg TTX/kg. Van de 55 monsters afkomstig uit de Oosterschelde betreft het 12 oestermonsters en 43 mosselmonsters. De oestermonsters zijn allemaal van percelen van de Yerseke-bank. In totaal is er in 15 monsters TTX waargenomen boven de LOD en bij 11 monsters is er sprake van een concentratie boven de "limit of quantification" (LOQ). De LOQ van de gebruikte onderzoeksmethode bedroeg 10 µg/kg. Bij de reguliere sanitaire monitoring wordt een gevalideerde en geaccrediteerde methode voor paralytische schelpdiertoxines gebruikt en aan deze methode zijn nu tetrodotoxines toegevoegd. De LOQ voor TTX in deze methode is 25 µg/kg. Alleen bij gehalten boven de LOQ kan de identiteit en het gehalte betrouwbaar worden vastgesteld. De maximumconcentratie die aangetroffen is bedraagt 124,1 µg/kg in oesters van perceel Yerseke bank in de Oosterschelde.

Vergelijkbaar met de andere mariene biotoxines is TTX hittestabiel en kan dus niet geïnactiveerd worden door verhitting tijdens het bereiden (koken, frituren) (Islam *et al.*, 2011).

#### Bestaande wet- en regelgeving

In Europa is er geen wet- en regelgeving voor maximale concentraties TTX. EU verordening 853/2004 stelt in sectie VIII, hoofdstuk V het volgende:

1. Visserijproducten afkomstig van giftige vis van de volgende families mogen niet in de handel worden gebracht: *Tetraodontidae*, *Molidae*, *Diodontidae* en *Canthigasteridae*.
2. Visserijproducten die biotoxines, zoals ciguatoxine of spierverlammende toxines bevatten, mogen niet in de handel worden gebracht. Visserijproducten op basis van tweekleppige weekdieren, stekelhuidigen, manteldieren en mariene buikpotigen mogen wel in de handel worden gebracht, indien zij geproduceerd zijn overeenkomstig sectie VII en voldoen aan de in hoofdstuk V, punt 2, van die sectie vastgestelde normen.

In bovenstaande normen is TTX niet specifiek opgenomen.

In Japan zou een limiet voor TTX van 2000 µg/kg gelden (Silva *et al.*, 2015; Bane *et al.*, 2014).

#### **Toxicologie**

TTX is niet beoordeeld door EFSA of JECFA. De toxicologische database voor TTX is beperkt en omvat vooral acute toxiciteitsgegevens uit dierstudies en casestudies bij mensen. Het gaat hierbij met name om vergiftigingsgevallen met kogelvis, waarbij niet gerapporteerd wordt hoe hoog de blootstelling aan TTX geweest is.

TTX veroorzaakt spierverlamming door het blokkeren van natriumkanalen in spieren en zenuwen. De symptomen omvatten tintelend gevoel in de mond, misselijkheid, braken, diarree, duizeligheid, hoofdpijn, buikpijn, gevoelloosheid, spierzwakte, verstoorde coördinatie en spraak, spierverlamming, ademhalingsproblemen, verlaagde bloeddruk, verlaagde hartslag en bewusteloosheid. Blootstelling kan uiteindelijk tot de dood leiden. Symptomen zijn meestal waarneembaar binnen een half uur tot enkele uren na de blootstelling. Er is geen antitoxine beschikbaar (Islam *et al.*, 2011; Bane *et al.*, 2014).

Indien intoxicatie met TTX optreedt, is de prognose goed indien de patiënt op tijd (als de patiënt nog bij bewustzijn is en nog geen of milde ademhalingsproblemen optreden) behandeld wordt en indien de patiënt de eerste 24 uur overleeft. Behandeling is vooral gericht op symptoombestrijding, waaronder beademing in geval van ademhalingsproblemen. In een vroeg stadium kan men actieve kool toedienen of de maag leegpompen om opname van TTX in de maag te remmen. De symptomen verdwijnen meestal 1-5 dagen na blootstelling. Er zijn geen lange termijn effecten bekend in mensen die een acute vergiftiging met TTX hebben overleefd (Zimmer, 2010; Bane *et al.*, 2014).

Voor TTX worden orale LD<sub>50</sub> waarden van 332 – 532 µg/kg lichaamsgewicht gerapporteerd in muizen (Hazardous Substances Database [HSDB], Sakai *et al.*, 1961 en Xu *et al.*, 2003). Tevens wordt een orale LD<sub>100</sub> waarde van 600 µg/kg lichaamsgewicht gerapporteerd in muizen (Xu *et al.*, 2005). Op basis van de orale LD<sub>50</sub> van TTX in muizen (334 µg/kg lichaamsgewicht) rapporteert de HSDB dat een dosis van 10 µg/kg lichaamsgewicht serieuze toxische effecten zal geven in mensen. Een onderbouwing voor deze extrapolatie wordt echter niet gegeven.

In de HSDB wordt voor de mens als gerapporteerde letale dosis 1-4 mg per persoon aangegeven (Klaassen, 2001, zoals geciteerd in HSDB).

Diverse bronnen vermelden een minimale humane letale dosis van 2 mg per persoon en een minimale dosis waarbij effecten ontstaan van 0,2 mg per persoon voor een persoon van 50 kg (ofwel 4 µg/kg lichaamsgewicht) (HSDB, FAO, 2004, Vlamis *et al.*, 2015, Noguchi *et al.*, 2008). Deze bronnen geven echter geen van allen een onderbouwing voor deze getallen, maar verwijzen ieder naar andere publicaties. Er worden dus geen beschrijvingen van de key studies en de daarin waargenomen effecten gegeven en een link naar de doseringen beschreven.

De toxiciteit van TTX bij mensen is bekend uit case reports. Voor Europa is slechts één recente casus beschreven, in Spanje (Fernández-Ortega *et al.*, 2010; Fernández-Figares *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2008). Het ging om een man die een paar minuten na het eten van ongeveer 5 gram van de spijsverteringsklier van een zeeslak (*Charonia lampas*; een slak die enige decimeters groot kan worden) last kreeg van onder andere gevoelloosheid in de armen, buikpijn, misselijkheid en braken. De man werd opgenomen in het ziekenhuis; tot 52 uur na inname van de zeeslak beademd en 72 uur na opname ontslagen van de intensive care. In urine en bloed van de patiënt werd TTX aangetroffen. De spijsverteringsklier van de slak bleek een gehalte van ongeveer 300 mg TTX/kg te bevatten, resulterend in een dosis van ongeveer 1,5 mg TTX (ongeveer 20-25 µg/kg lg) Deze TTX dosering valt in de range van letale doseringen van 1 – 4 mg TTX zoals gerapporteerd door andere (secundaire) bronnen.

Over de toxiciteit van TTX bij herhaalde blootstelling is zeer weinig bekend. Wel zijn er aanwijzingen dat herhaalde blootstelling kan leiden tot leverschade en nierschade (Munday, 2014). Er zijn diverse genotoxiciteitsstudies in vitro en in vivo uitgevoerd met TTX en deze studies waren allemaal negatief (Guzmán *et al.*, 2007).

Samenvattend kan worden gesteld dat er zeer beperkte gegevens beschikbaar zijn, en dat de beschikbare gegevens niet kunnen worden geverifieerd in de korte tijd die beschikbaar was voor deze beoordeling omdat de geraadpleegde bronnen erg veel gebruik maken van kruisverwijzingen. Als ondergrens voor acute toxiciteit wordt 4 µg/kg lg genoemd, terwijl 10 µg/kg lichaamsgewicht genoemd wordt als dosis waarbij ernstige effecten op kunnen treden, en 1 – 4 mg (20 – 80 µg/kg lg voor een persoon van 50 kg) als letale dosis. Deze doseringen liggen zeer dicht bij elkaar. Vanwege de geringe verschillen tussen deze gerapporteerde 'minimale effectdoseringen' en letale doseringen en omdat deze doseringen niet geverifieerd konden worden, is het op dit moment niet mogelijk om met enige betrouwbaarheid een Acute Reference Dose voor TTX af te leiden.

### **Blootstelling**

Vanwege de acute toxische effecten van TTX is de inname van een grote portie mosselen door een consument relevanter voor het berekenen van de blootstelling dan een inname op basis van de gemiddelde portiegrootte.

Uit de Voedselconsumptiepeilingen (VCP's) in Nederland uit 1997/1998 (VCP-3; Kistemaker, 1998) en 2007-2010 (VCP-basis; Van Rossum *et al.*, 2011) is (zeer) beperkte informatie over consumptie van oesters en mosselen beschikbaar. In zowel VCP-3 als VCP-basis is slechts één keer consumptie van oesters gerapporteerd (respectievelijk 30 en 11 g). In VCP-3 is op 49 navraagdagen de consumptie van mosselen gerapporteerd, en in VCP-basis 11 keer. Hieruit komt een grote spreiding in portiegroottes naar voren (range: 1-480 g; de P95 in de VCP-3 is 456 g, de P95 in de VCP-basis is 178 g). In de VCP 2007-

2010 zijn voor slechts twee kinderen waarnemingen beschikbaar over de hoeveelheid mosselvlees, die zij aten. De hoogste van de twee waarnemingen (6,5 g mosselvlees/kg lg) komt voor een kind van 20 kg overeen met een consumptie van 130 gram.

Om liefhebbers ('high consumers') te beschermen tegen de acute effecten van mariene biotoxinen heeft het EFSA CONTAM Panel 400 gram vlees van schaal- en schelpdieren geïdentificeerd als een geschikte schatting van een grote portie die in Europa geconsumeerd wordt. Deze schatting wordt gebruikt in de risicobeoordelingen van EFSA voor andere mariene biotoxinen (EFSA, 2010). Vooral nog is een portiegrootte van 400 gram mosselen (als vlees) voor een liefhebber uit Nederland niet ongebruikelijk en in de huidige beoordeling zal hier vanuit gegaan worden.

Opgemerkt moet worden dat EFSA deze schatting gebruikt voor volwassenen en in de opinies over marine biotoxinen geen uitspraken doet over een schatting van de consumptie, die gebruikt zou moeten worden voor de risicobeoordeling voor kinderen

## **Beantwoording vragen NVWA**

*Bij welke inname van TTX kunnen negatieve volksgezondheid effecten niet worden uitgesloten (in inname per kg lichaamsgewicht)?*

Als ondergrens voor acute effecten wordt 4 µg/kg lg genoemd, terwijl 10 µg/kg lg genoemd wordt als dosis waarbij ernstige effecten op kunnen treden, en 1 – 4 mg (20 – 80 µg/kg lg voor een persoon van 50 kg) als letale dosis. Bij een inname van 4 µg/kg lichaamsgewicht kunnen acute toxische effecten van TTX dus niet worden uitgesloten. Vanwege de geringe verschillen tussen deze gerapporteerde 'minimale effectdosering' en letale doseringen, en omdat deze doseringen niet geverifieerd konden worden doordat de achterliggende gegevens in de korte tijd die beschikbaar was voor de beoordeling niet achterhaald konden worden, is het op dit moment niet mogelijk om met enige betrouwbaarheid een Acute Reference Dose (ARfD) voor TTX af te leiden.

*Moet daarbij bijzondere aandacht zijn voor risicogroepen (leeftijd, gezondheid of anderszins)?*

In de literatuur zijn geen aanwijzingen gevonden voor risicogroepen op basis van leeftijd of geslacht. Wel zijn er aanwijzingen gevonden dat de effecten van TTX-intoxicatie ernstiger zijn bij mensen met zenuwaandoeningen en/of nieraandoeningen (Bane *et al.*, 2014).

*Wat is op basis van bovenstaande het maximaal toelaatbare gehalte TTX in mosselvlees en het maximaal toelaatbare gehalte in oestervlees dat uit voorzorg gehanteerd zou moeten worden?*

Aangezien het niet mogelijk is om een goed onderbouwde ARfD af te leiden is het ook niet mogelijk om een goed onderbouwd maximaal toelaatbaar gehalte in mossel-/oestervlees af te leiden.

De volgende indicatieve benadering zou gevolgd kunnen worden:

1. Indien de 4 µg/kg lg beschouwd zou kunnen worden als de lowest-observed-adverse-effect-level (LOAEL) voor TTX in de mens is er minimaal een veiligheidsfactor van 30 nodig om deze LOAEL te extrapoleren naar een uitgangsdosis voor de afleiding van een maximaal toelaatbaar gehalte. Deze veiligheidsfactor van 30 bestaat uit een factor 3 voor extrapolatie van een LOAEL naar een no-observed-adverse-effect-level

(NOAEL) en een factor 10 voor mogelijke verschillen in gevoeligheid tussen mensen (intraspecies verschillen). Hiermee zou die uitgangsdosis op ten hoogste 0,13 µg/kg Ig uitkomen.

Dit getal is echter hoogst speculatief omdat de daadwerkelijk benodigde veiligheidsfactor hangt af van de betrouwbaarheid van de LOAEL van 4 µg/kg Ig en de aard en ernst van de effecten die bij deze dosering zijn waargenomen. Deze randvoorwaarden hebben we echter op dit moment (nog) niet kunnen verifiëren.

2. Als de onder 1) afgeleide uitgangsdosis van 0,13 µg/kg Ig wordt toegepast, dan kan voor een persoon van 60 kg die 400 g mossel- en/of oestervlees eet worden berekend dat het TTX-gehalte in mossel- en oestervlees maximaal 19,5 µg/kg schelpdier-vlees mag bedragen om de TTX-blootstelling lager dan of gelijk aan 0,13 µg/kg Ig te houden.
3. Voor kinderen die grote porties schelp- en schaaldieren eten kunnen effecten bij lagere concentraties niet worden uitgesloten. Een kind van 20 kg mag maximaal 130 g mossel- en/of oestervlees eten met het onder 2) aangegeven gehalte van maximaal 19,5 µg/kg Ig om de TTX-blootstelling beneden of gelijk aan 0,13 µg/kg Ig te houden.
4. Gezien de zeer beperkte beschikbare informatie kunnen effecten bij deze (ca. 20 µg/kg schelpdier-vlees) en bij lagere concentraties op dit moment echter niet worden uitgesloten.

#### *Aanvullende opmerkingen*

Binnen de beperkte tijd die voor deze beoordeling beschikbaar was, bleek het niet mogelijk om gedetailleerde en verifieerbare informatie over de toxiciteit van TTX boven water te krijgen, zo die er al is. Indien gewenst kan een uitgebreider literatuuronderzoek uitgevoerd worden. De geraadpleegde literatuur maakt erg veel gebruik van kruisverwijzingen, waardoor het zoeken naar zulke informatie tijdrovend zal zijn. Het is tevens niet zeker dat dit op termijn voldoende gegevens op zal leveren, die de afleiding van referentiewaarden wél mogelijk maken.

#### **Referenties**

- Bane V, Lehane M, Dikshit M, O’Riordan A, Furey A (2014). Tetrodotoxin: chemistry, toxicity, source, distribution and detection. *Toxins*; 6, 693-755.
- EFSA (2010) Statement on further elaboration of the consumption figure of 400 g shellfish meat on the basis of new consumption data. The European Food Safety Authority Journal 1706: 1-20. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1706.htm>
- FAO (2004) Assessment and management of seafood safety and quality, section 5.1.5 Aquatic biotoxins. FAO fisheries technical paper. Beschikbaar via: <http://www.fao.org/docrep/006/y4743e/y4743e0d.htm>
- Fernández-Fígares M, Fernández V, Postigo MJ, Feron P (2013). Acute paralysis after seafood ingestion. *Clinical Neurophysiology*; 43, 299-302.
- Fernández-Ortega JF, Moreles-de los Santos JM, Herrera-Gutiérrez ME, Fernández-Sánchez V, Rodríguez Loureo P, Rancaño AA, Téllez-Andrade A (2010). Seafood intoxication by tetrodotoxin: First case in Europe. *Journal of Emergency Medicine*; 39, 612-617.
- Guzman A, Fernández de Henestrosa AR, Marín AP, Ho A, Borrot JI, Carasa I, Pritchard L (2007). Evaluation of the genotoxic potential of the natural neurotoxin tetrodotoxin (TTX) in a battery of *in vitro* and *in vivo* genotoxicity assays. *Mutat. Res.*, 634, 14–24.
- HSDB: Tetrodotoxin, CASRN: 4368-28-9. Geraadpleegd op 13 oktober 2015 via: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~UlK8fR:3>

- Islam WT, Razzak MA, Islam MA, Bari, MI, Basher A, Chowdhury FR, Sayeduzzaman ABM, Ahasan HAMN, Faiz MA, Arakawa O, Yotsu-Yamashita M, Kuch U, Mebs D (2011) Puffer fish poisoning in Bangladesh, clinical and toxicological results from large outbreaks in 2008. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*; 105, 74-80.
- Kistemaker C, Bouman M and Hulshof KFM (1998) DNFCS (Dutch National Food Consumption Survey), Consumption of separate products by Dutch population groups - Dutch National Food Consumption Survey 1997-1998 (in Dutch), TNO-Nutrition and Food Research Institute, TNO report V98.812, Zeist, The Netherlands.
- Klaassen, C.D. (ed) (2001). Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. 6<sup>th</sup> ed. New York, NY: McGraw-Hill, 2001., p. 1079. *Zoals geciteerd door HSDB*.
- Munday, R (2014) Toxicology of Seafood Toxins: A Critical Review. Chapter 7 in Seafood and Freshwater toxins, pharmacology, physiology and detection, edited by Botana LM, third edition.
- Noguchi T, Ebesu JSM (2001) Puffer poisoning: Epidemiology and treatment. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 20, 1–10. *Zoals geciteerd door Vlamis et al., 2015*.
- Noguchi T, Arakawa O (2008) Tetrodotoxin – Distribution and Accumulation in Aquatic Organisms, and Cases of Human Intoxication. *Mar. Drugs* 6, 220-242.
- Rodriguez P, Alfonso A, Vale C, Alfonso S, Vale P, Tellez A, Botana LM (2008). First toxicity report of tetrodotoxin and 5,6,11-trideoxyTTX in the trumpet shell *Charonia lampas lampas* in Europe. *Analytical chemistry*; 80, 5622-5629.
- Sakai, F., Sato, A., and Uraguchi, K., 1961. Über die Atemlähmung durch Tetrodotoxin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, 240, 313–321.
- Silva M, Pratheepa VK, Botana LM, Vasconcelos V (2015) Emergent toxins in North Atlantic temperate waters: a challenge for monitoring programs and legislation. *Toxins* 7, 859-885
- Turner AD, Powell A, Schofield A, Lees DN, Baker-Austin C (2015) Detection of the pufferfish toxin tetrodotoxin in European bivalves, England, 2013 to 2014. *Euro Surveillance* 2015; 20 (2):pii=21009
- Van Rossum CTM, Fransen HP, Verkaik-Kloosterman J, Buurma-Rethans EJM, Ocké MC (2011) Dutch National Food Consumption Survey 2007-2010. Diet of children and adults aged 7 to 69 years. RIVM Report 350050006/2011
- Vlamis A, Katikou P, Rodrigues I, Rey V, Papazachariou AAA, Zacharaki T, Botana AM Botana LM (2015) First detection of tetrodotoxin in Greek shellfish by UPLC-MS/MS potentially linked to the presence of the dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. *Toxins* 7, 1779-1807.
- Xu Q, Kai H, Lisha G, Zhang H (2003). Toxicity of tetrodotoxin towards mice and rabbits. *J. Hyg. Res. (China)*, 32, 371–374.
- Xu, QH, Zhao XN, Wei CH, Rong KT (2005) Immunologic protection of anti-tetrodotoxin vaccines against lethal activities of oral tetrodotoxin challenge in mice. *Int. Immunopharmacol.*, 5, 1213–1224.
- Zimmer T. Effects of Tetrodotoxin on the mammalian cardiovascular system. *Marine Drugs* 2010; 8, 741-762.