

Analytik mariner Biotoxine

Notwendige Schritte zur Validierung und behördliche Anerkennung von Alternativmethoden zum Maus-Bioassay als Referenzmethode

Positionspapier Nr. 013/2005 des BfR vom 07. April 2005

Inhalt

1. Ziel des Positionspapiers
2. Übersicht zu geltenden Rechtsvorschriften der EU und in Deutschland
3. Übersicht zur Analytik der marinen Biotoxine
 - 3.1 Übersicht zur derzeit aktuellen Analytik, einschließlich Toxingruppen, Höchst-mengenregelung, Referenzmethode, Referenzsubstanzen
 - 3.2 Vergleich Maus-Bioassay und Alternativmethoden (Kurzbeschreibung, methodi-scher Endpunkt, Vorteile, Nachteile)
 - 3.3 Situation in der EU und im internationalen Raum
 - 3.4 Handlungsbedarf zur Validierung und behördlichen Anerkennung von Alternativ-methoden
4. Vorschlag des BfR zur Lösung des Konflikts

1. Ziel des Positionspapiers – Kritik zur Anwendung des Maus-Bioassays als Referenzmethode für die Analyse mariner Biotoxine

Deutschland vertritt die Auffassung, dass geeignete chemisch-physikalische Methoden zum Nachweis mariner Biotoxine zur Verfügung stehen, mit denen der Verbraucherschutz gesichert ist und durch deren Anwendung auf den Tierversuch als Referenzmethode verzichtet werden kann. Es handelt sich dabei um wissenschaftliche, nach international anerkannten Kriterien geprüfte Methoden, die zum Beispiel als Normen des Europäischen Komitees für Normung (CEN) veröffentlicht werden.

In deutschen Untersuchungsämtern werden bereits seit Ende der 80er Jahre keine Tierversuche zum Nachweis mariner Biotoxine, sondern routinemäßig nur noch in vitro Analysemethoden durchgeführt, ohne dass der Verbraucherschutz gefährdet wurde. Somit entspricht diese Position sowohl dem hohen Anspruch des Verbraucherschutzes in Europa als auch den Bestimmungen der europäischen Richtlinie zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere und dem deutschen Tierschutzgesetz.^{1,2}

Diese Haltung Deutschlands wurde von der EU-Kommission anlässlich des Besuches des Lebensmittel- und Veterinärämtes der Europäischen Kommission (FVO) im Februar 2002 erneut kritisiert. Deutschland wurde aufgefordert, die nach EU-Recht vorgeschriebenen biologischen Analysemethoden einzusetzen.³ Deutschland hat in seinem Kommentar zum Bericht des FVO seinen Standpunkt detailliert erläutert.⁴ In seiner Erklärung weist Deutschland ausdrücklich auf den Artikel 7 Absatz (2) der Europäischen Tierschutzrichtlinie hin. Dieser Artikel bestimmt, dass Tierversuche in der Europäischen Union nicht vorgenommen werden dürfen, wenn zur Erreichung des angestrebten Ergebnisses eine wissenschaftlich zufrieden-

¹ Richtlinie des Rates zur Annäherung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedsstaaten zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere vom 24. November 1986 (86/609/WG) (Abl. EG. Nr. L 358 v. 18. Dezember 1986).

² Tierschutzgesetz in der Bekanntmachung der Neufassung vom 25. Mai 1998, BGBl. I S. 1105.

³ Bericht über einen Kontrollbesuch des Lebensmittel- und Veterinärämtes in Deutschland, 18. - 28. Februar 2002, Bewertung der Durchführung der Richtlinie 91/492/EWG des Rates (lebende Muscheln) und Richtlinie 91/493/EWG des Rates (Fischereierzeugnisse). http://europa.eu.int/comm/food/fs/inspections/vi/reports/germany/vi_rep_germ_8588-2002_de.pdf

⁴ Comments of Competent Authority, DG (SANCO)/8588/202, Comments to the Draft Report of the FVO Mission to Germany from 18 to 28 February 2002. http://europa.eu.int/comm/food/fs/inspections/vi/reports/germany/vi_rep_germ_8588-2002cm_de.pdf

stellende, vertretbare und praktikable Alternative zur Verfügung steht, bei der keine Tiere verwendet werden müssen. In der Begründung wird ausgeführt: „Da ... alternative Nachweisverfahren vorhanden und in ausreichendem Maße validiert sind, ist – auch basierend auf den EU-rechtlichen Vorgaben der Entscheidung 2002/225/EG der Kommission vom 15. März 2002 mit Durchführungsbestimmungen zur Richtlinie 91/492/EWG – der Maus-Bioassay nicht erforderlich.“

Zur Vorbereitung des Kontrollbesuches des FVO im Jahr 2004 fand am 19. Mai 2004 im Bundesinstitut für Risikobewertung (Berlin) ein Sachverständigengespräch zu den Aktivitäten der nationalen Referenzlaboratorien für Muscheltoxine sowie für die Kontrolle bakterieller und viraler Muschelkontamination statt. Die Vertreter der Prüflaboratorien der Länder haben erneut auf die Defizite des Maus-Bioassay und die Anwendung von in vitro Analysemethoden zur routinemäßigen Untersuchung von Muscheln und Muschelerzeugnissen auf deren Gehalt an Algentoxinen hingewiesen. In der Diskussion wurde festgestellt, dass trotz des Fehlens zertifizierter Standardsubstanzen für einige Algentoxine die chemisch-physikalischen Messverfahren dem Maus-Bioassay überlegen sind und die besser geeigneten Methoden zur Gewährleistung des sicheren Verbraucherschutz darstellen. Gleichwohl wurde seitens der amtlichen Lebensmittelüberwachung dringender Handlungsbedarf gesehen, für Zweifelsfälle den Maus-Bioassay vorzuhalten, möglichst im nationalen Referenzlabor.

2. Übersicht zu geltenden Rechtsvorschriften der EU und in Deutschland

Im Folgenden werden die für die Diskussion relevanten deutschen und europäischen Rechtsvorschriften kurz erläutert.

Richtlinie des Rates vom 15. Juli 1991 zur Festlegung von Hygienevorschriften für die Erzeugung und Vermarktung lebender Muscheln (91/492/EWG)

Die Richtlinie des Rates zur Festlegung von Hygienevorschriften für die Erzeugung und Vermarktung lebender Muscheln (91/492/EWG) legt fest, dass im Rahmen der Lebensmittelüberwachung bei der Untersuchung auf marine Biotoxine der Gruppen PSP und DSP biologische Analysemethoden, das heißt Maus-Bioassays, anzuwenden sind (Anhang, Kapitel V, Nummer 6 und 7). Nur für PSP sind zusätzlich auch chemische Verfahren sowie andere nach dem Ausschlussverfahren (Artikel 12) anerkannte Methoden vorgesehen. In Streitfällen ist jedoch auch hier der Bioassay als Referenzverfahren heranzuziehen. Die Regelung der Höchstmengen für PSP weiterhin gilt (siehe Tabelle 1).

Verordnung über die hygienischen Anforderungen an Fischereierzeugnisse und lebende Muscheln (Fischhygiene-Verordnung – FischHV) in der Fassung der Bekanntmachung vom 8. Juli 2000 (BGBl. I S. 819) zuletzt geändert durch Artikel 1 der Verordnung vom 2. April 2003 (BGBl. I S. 478)

Deutschland ist bei der Umsetzung der 91/492/EWG in nationales Recht (FischHV) von den Regelungen zum Einsatz und zur Rechtsstellung der biologischen Analysemethoden abgewichen, indem bei der Untersuchung auf Toxine der PSP- und DSP-Gruppen der Bioassay zwar eingesetzt werden darf, aber durch chemisch-physikalische Verfahren ersetzt werden kann (Anlage 3, Kapitel 2).

Entscheidung 2002/225/EG der Kommission vom 15. März 2002 mit Durchführungsbestimmungen zur Richtlinie 91/492/EWG des Rates hinsichtlich der Grenzwerte und der Analysemethoden für bestimmte marine Biotoxine in lebenden Muscheln, Stachelhäutern, Manteltieren und Meeresschnecken. (ABl. EG Nr. L 75/62)

Durch die Entscheidung 2002/225/EG vom 15. März 2002 sind chemisch-physikalische Testmethoden für alle marinen Biotoxine als Alternative zum Tierversuch zugelassen. Dabei wird vorab eine Validierung der Methoden auf der Grundlage eines international anerkannten Protokolls gefordert (Anhang zur Entscheidung, letzter Satz). Eine solche Validierung liegt noch nicht für alle Methoden vor. Diese wird auch wegen der zur Zeit nicht verfügbaren Referenzmaterialien verhindert.

In der Entscheidung 2002/225/EG werden die Höchstmengen für Okadasäure (OA) und Dinophysistoxine (DTX), die bisherigen Toxine der DSP-Gruppe, sowie für Yessotoxine (YTX), Pectenotoxine (PTX) und Azaspirosäuren (AZA) festgesetzt (siehe Tabelle 1). Mit der Entscheidung 2002/225/EG ergibt sich darüber hinaus eine Neuordnung der DSP-Gruppe; sie besteht nun aus all diesen Verbindungen.

Im Artikel 5 der Entscheidung 2002/225/EG wird bekräftigt, dass bei Abweichungen zwischen den Ergebnissen verschiedener Analysemethoden nach wie vor der Maus-Bioassay als Referenzmethode für alle hier geregelten marinen Biotoxine gilt.

Entscheidung 2002/226/EG der Kommission vom 15. März 2002 zur Einführung spezieller Gesundheitskontrollen für die Ernte und die Verarbeitung bestimmter Muscheln, deren Gehalt an ASP (Amnesic Shellfish Poison) den in der Richtlinie 91/492/EWG des Rates (Kapitel V Ziffer 7a des Anhangs) genannten Höchstwert übersteigt. (Abl. EG Nr. L 75/65)

Die Entscheidung 2002/226/EG bestimmt die anzuwendende Verfahrensweise für bestimmte Muscheln, deren Toxingehalt den geregelten Grenzwert von 20 mg Domoinsäure pro kg Muschelgewebe um bis zu 250 mg/kg überschreitet. Die Gehalte an Toxinen der ASP-Gruppe (Domoinsäure) werden unter Anwendung einer HPLC-Methode bestimmt.

Entscheidung des Rates vom 14. Juni 1993 über die Referenzlaboratorien für die Kontrolle mariner Biotoxine (93/383/EWG) (Abl. EG. Nr. L166/31 v. 6.7.1993)

Die Entscheidung 93/383/EWG legt unter anderem fest, dass zur Sicherstellung einer wirksamen Kontrollregelung zur Untersuchung auf marine Biotoxine in jedem Mitgliedsstaat ein nationales Referenzlaboratorium bestimmt wird, das dort die Durchführung der erforderlichen Analysen in den nationalen Laboratorien koordiniert.

Zur Gewährleistung einer gemeinschaftsweiten einheitlichen Regelung der Analysen der marinen Biotoxine, wird ein gemeinschaftliches Referenzlaboratorium bestimmt. Die Entscheidung 93/383/EWG legt darüber hinaus fest, dass neben der Koordination der Anwendung von Analysemethoden auch die Erforschung neuer Analysemethoden und Unterrichtung der nationalen Referenzlaboratorien über diesbezügliche Fortschritte zu seinen Aufgaben gehören.

Verordnung (EG) Nr. 853/2004 (Spezifische Hygienevorschriften) Anhang III Abschnitt VII Kapitel V Nr. 2

Verordnung (EG) Nr. 854/2004 (Überwachung) Anhang II Kapitel II

Von dem Gemeinschaftsgesetzgeber wurden im Jahr 2004 die Verordnungen des so genannten „EU-Hygienepaketes“ verabschiedet, die die bisher in einer Vielzahl von Einzelrichtlinien festgelegten Hygieneregelungen im Lebensmittelbereich zusammenführen und ablösen werden. Die Verordnung (EG) Nr. 853/2004 (Hygiene) bestimmt in Anhang III Abschnitt VII Kapitel V Nr. 2 die Grenzwerte für ASP, PSP und DSP. In Artikel 11 unter Bezug auf Artikel 12 derselben Verordnung ist eine Ermächtigung zur Festlegung anerkannter Analysemethoden für marine Biotoxine enthalten. Die Verordnung (EG) Nr. 854/2004 (Überwachung) Anhang II Kapitel II verpflichtet die Überwachungsbehörden in den Mitgliedsstaaten zur Kon-

trolle lebender Muscheln auf Anwesenheit von marinen Biotoxinen. Das so genannte „EU-Hygienepaket“ tritt ab 1. Januar 2006 in Kraft.

Richtlinie 86/609/EWG des Rates zur Annäherung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedsstaaten zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere vom 24. November 1986 (ABl. EG. Nr. L 358)

Artikel 7 der Richtlinie 86/609/EWG bestimmt, dass ein Tierversuch nicht vorgenommen werden darf, wenn zur Erreichung des angestrebten Ergebnisses eine wissenschaftlich zufriedenstellende, vertretbare und praktikable Alternative zur Verfügung steht, bei der kein Tier verwendet werden muss.

Artikel 23 der Richtlinie verpflichtet die Kommission und Mitgliedsstaaten zur Förderung der Entwicklung und Validierung von Alternativmethoden.

Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 25. Mai 1998 (BGBl. I S. 1105, ber. S. 1818)

Die Bestimmungen des § 7 Abs. 2 des deutschen Tierschutzgesetzes entsprechen inhaltlich dem Artikel 7 der Richtlinie 86/609/EWG.

3. Übersicht zur Analytik der marinen Biotoxine

3.1 Übersicht zur derzeit aktuellen Analytik, einschließlich Toxingruppen, Höchstmengenregelung, Referenzmethode, Referenzsubstanzen

In der Tabelle 1 werden den Toxingruppen ASP, DSP, Yessotoxine, Pectenotoxine, Azaspirosäuren und PSP die geltenden Höchstmengenregelungen, die vorgeschriebenen Referenzmethoden, die Verfügbarkeit von analytischen Methoden und Referenzsubstanzen zugeordnet.

Für die **ASP-Gruppe** gilt in der EU und in Deutschland die gleiche Höchstmengenregelung. Die HPLC-Methode wird angewandt und sichert eine quantitative Analytik in vitro. Referenzsubstanzen für Domoinsäuren sind verfügbar.

Dagegen schreibt die europäische Richtlinie, orientiert an dem für die **Bestimmung von Okadasäure und Dinophysistoxine** unempfindlicheren Maus-Bioassay, im Vergleich zur deutschen Fischhygiene-Verordnung einen deutlich höheren Grenzwert von 800 µg/kg Hepatopankreas vor. Mit dem Maus-Bioassay ist keine quantitative Analytik möglich. Der Tod der Tiere ist der methodische Endpunkt (siehe Tabelle 2). Der Maus-Bioassay ist die europäische „Referenzmethode“. Aus Verbraucherschutzgründen wurde in Deutschland ein Grenzwert von 400 µg/kg Hepatopankreas für Toxine der DSP-Gruppe aufgenommen. Dieser Wert ist mit dem HPLC-Verfahren leicht zu überwachen und sichert eine quantitative Analytik. Für die DSP-Gruppe sind Referenzsubstanzen verfügbar. Der Maus-Bioassay wird daher in Deutschland nicht angewendet.

Für die Toxingruppen **Yessotoxine, Pectenotoxine und Azaspirosäuren** gilt die Höchstmengenregelung entsprechend der Entscheidung 2002/225/EG. Diese Toxine sind nur in mehrfachen Maus-Bioassays ausreichend genau zu differenzieren, da zum Beispiel Yessotoxin eine deutlich niedrigere orale Toxizität als die anderen Verbindungen aufweist, im Maus-Bioassay aber gleich empfindlich anspricht. Für alle aufgeführten Toxine existieren bereits qualitative in vitro Nachweisverfahren. Sobald Referenzsubstanzen zur Verfügung stehen würden, könnten die analytischen Methoden quantitative Ergebnisse liefern.

Für den Nachweis von Verbindungen der **PSP-Gruppe** schreiben sowohl die europäische Richtlinie als auch die deutsche Fischhygiene-Verordnung identische Höchstmengen vor. Der Maus-Bioassay stellt eine semiquantitative Analytik dar. In Deutschland werden die als toxikologisch relevanten Leitsubstanzen anzusehenden Vertreter der PSP-Toxingruppe mittels in vitro Analyseverfahren (HPLC) quantitativ bestimmt. Referenzsubstanzen dieser Verbindungen sind kommerziell verfügbar.

3.2 Vergleich Maus-Bioassay und Alternativmethoden (Kurzbeschreibung, methodischer Endpunkt, Vorteile, Nachteile)

In der Tabelle 2 werden die derzeit verfügbaren bzw. in der Literatur beschriebenen Methoden zusammenfassend dargestellt. Es handelt sich dabei um Maus-Bioassay-Verfahren, chromatographische Methoden, Enzym-Immunoassays, Protein-Phosphatase-Inhibitionsassay, Ligand-Rezeptor-Bindungstests und Zellkulturtests.

In der Kurzbeschreibung wird der methodische Endpunkt der Verfahren benannt. In der Gegenüberstellung der Vor- und Nachteile wird auch der gegenwärtige Entwicklungsstand deutlich. Zur jeweiligen Methode wird in einem Literaturverzeichnis auf relevante ausgewählte Publikationen hingewiesen (siehe Anhang).

Die Anwendung des **Maus-Bioassay-Verfahrens** als Referenzmethode zum Nachweis mariner Biotoxine wird sowohl wissenschaftlich als auch tierschutzrechtlich sehr kritisch beurteilt. Der tierschutzrechtliche Konflikt wurde bereits unter Punkt 1 (Ziel des Positionspapiers) ausführlich dargestellt. Der Test ist mit erheblichem Leiden der Tiere verbunden. Der Tod der Tiere ist der methodische Endpunkt. In der wissenschaftlichen Literatur wird der Maus-Bioassay als nicht validierbar bewertet. Es gibt eine große Streuung zwischen den Laboratorien. Geschlecht, Gewicht und Stamm der Mäuse beeinflussen die Untersuchungsergebnisse. So kritisiert zum Beispiel McNabb et al. (2004) anlässlich der 5. International Conference on Molluscan Shellfish Safety (June 2004, Ireland) die geringe Sensitivität (zu viele falsch negative Ergebnisse) und die geringe Spezifität (zu viele falsch positive Ergebnisse) des Maus-Bioassays im Vergleich zu chromatographischen Methoden (LC/MS).

Bereits 1985 berichteten Yasumoto et al. über den **chromatographischen Nachweis** von Tetrodotoxin (Toxin in Kugelfischen) mit der HPLC. In der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG wird 1989 ein fluorimetrisches Verfahren zur Bestimmung des Gehaltes an PSP-Algentoxinen in Muscheltieren und Muschelerzeugnissen veröffentlicht. Holland et al. berichteten 2002 über das neue Überwachungsprogramm für marine Biotoxine in Neuseeland, das auf der Anwendung der LC-MS Methode basiert. Voraussetzung für das Überwachungsprogramm ist die bereits abgeschlossene Validierung der in vitro Methoden für ASP mit einer Höchstmengenregelung von 20 mg/kg und für DSP mit einer Höchstmengenregelung von 20 µg/100g. Holland et al. (2002) heben hervor, dass die Anwendung der LC/MS-Methode auch für die PSP-Toxine gegenwärtig in Neuseeland geprüft wird. Auch im NRL für die Kontrolle mariner Biotoxine im BfR wird daran gearbeitet.

Unabhängig von den internationalen Entwicklungen und Fortschritten bei der Validierung chromatographischer Verfahren sind für die behördliche Anerkennung von in vitro Methoden in Europa die Aktivitäten des CEN von besonderer Bedeutung. Im Oktober 2004 wurde die Norm DIN EN 14524 „Lebensmittel – Bestimmung von Okadasäure in Muscheln – HPLC-Verfahren“ herausgegeben. Die europäischen Normen EN 14176:2003 zur Bestimmung von Domoinsäure in Muscheln mit dem HPLC-Verfahren und EN 14526:2004 zur Bestimmung

von Saxitoxin in Muscheln mit dem HPLC-Verfahren wurden vom CEN verabschiedet und ihre Veröffentlichung angekündigt.⁵

In der wissenschaftlichen Literatur werden darüber hinaus die Entwicklungen von **Enzym-Immunoassays, Protein-Phosphatase-Inhibitions-Assay, Ligand-Rezeptor-Bindungstests und Zellkulturtests** beschrieben. Für diese Methoden liegen noch keine Standardprotokolle vor, das heißt, die Entwicklung der Methoden ist noch nicht abgeschlossen. Enzym-Immunoassays bieten zum Beispiel einen schnellen Nachweis mit hohem Probendurchsatz. Die weitere Förderung dieser Methoden sollte aus wissenschaftlichem Anspruch und entsprechend dem Artikel 23 der Tierschutzrichtlinie 86/609/EWG unterstützt werden.

3.3 Situation in der EU und im internationalen Raum

In der Tabelle 3 sind die derzeit in verschiedenen Staaten zum Nachweis mariner Biotoxine angewandten Verfahren zur amtlichen Kontrolle mariner Biotoxine in Muscheln und Schalentieren dargestellt⁶. Selbstverständlich muss diese Tabelle fortlaufend ergänzt und aktualisiert werden.

Diese Übersicht zeigt, dass die Analytik für **ASP-Toxine** international grundsätzlich nur noch in vitro auf der Grundlage chromatographischer Verfahren durchgeführt wird.

Für die Analyse von **DSP-Toxinen**, wie **Okadasäure und Dinophysistoxine, Yessotoxine, Pectenotoxine, Azaspirosäuren** sowie für **PSP-Toxine**, ist die Situation im Ländervergleich sehr heterogen.

Neuseeland und Deutschland sind Länder, in denen für die DSP-Toxine ausschließlich chromatographische Verfahren angewandt werden. Dagegen wird für diese Toxine in Belgien, Frankreich, Spanien und im Vereinigten Königreich ausschließlich der Maus-Bioassay angewandt. Allerdings muss darauf aufmerksam gemacht werden, dass das Vereinigte Königreich anlässlich des FVO-Inspektionsbesuches 2002 gerügt wurde, da die amtliche Methode nicht exakt verwendet wurde.⁷ Das Vereinigte Königreich führt den Maus-Bioassay mit einer reduzierten Anzahl von Tieren durch. Darüber haben Dennison et al. (2002) anlässlich des 4. Weltkongresses für Alternativmethoden berichtet.⁸ In Irland und Norwegen werden Paralleltestungen mit dem Maus-Bioassay und chromatographischen Methoden durchgeführt. Die österreichischen Untersuchungslaboratorien wenden das HPLC-Verfahren an und führen den Maus-Bioassay nur dann durch, wenn im HPLC positive Ergebnisse angezeigt werden. Die Niederlande wenden sowohl den Ratten-Bioassay als auch chromatographische Verfahren an. In Italien wird der Maus-Bioassay durchgeführt; sind aber Referenzsubstanzen für Okadasäure und Dinophysistoxine, Yessotoxine und PSP-Toxine vorhanden, dann wird das HPLC-Verfahren angewendet. Portugal wendet zur Bestimmung von OA und DTXs den ELISA als Screening- und LC/MS als Bestimmungsmethode an. Indikatorspecies aus besonderen Erntegebieten werden mit dem Maus-Bioassay getestet. PTX wird mit LC/MS untersucht und auf Yessotoxin wird mit dem Maus-Bioassay geprüft, wenn die Zelldichte von *Proceratium reticulatum* im Wasser 1000/Liter übersteigt. In Schweden werden die DSP- und

⁵ CEN/TC 275-Published Standards. <http://www.cenorm.be>

⁶ Minutes of VI Meeting of EU-NRLs on Marine Biotoxins, 21-22. November 2003, Vigo/Spain.

⁷ Bericht über einen Kontrollbesuch des Lebensmittel- und Veterinärdepartaments im Vereinigten Königreich, 08. – 17. Juli 2002, Bewertung der Durchführung der Richtlinie 91/492/EWG des Rates (lebende Muscheln) und Richtlinie 91/493/EWG des Rates (Fischereierzeugnisse). http://europa.eu.int/comm/food/fs/inspections/vi/reports/united_kingdom/vi_sum_unik_8614-2002_de.pdf

⁸ Dennison, N., Zuur, G., Petrie, J., Turriff, J., Kinnear, S., and Bourke D.: Pilot Investigation of the Use of General Anesthesia to Refine the Statutory Mouse Bioassay for Paralytic Shellfish Poison. Abstract, Proceedings, Fourth World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, August 11-15 (2002) New Orleans, USA.

PSP-Gruppe mit der HPLC untersucht, während die schwedischen Proben von norwegischen Laboratorien mit dem Maus-Bioassay getestet werden. Dänemark testet auf DSP-Gehalte mit dem Maus-Bioassay und sichert Befunde mit LC/MS/MS. Auf PSP wird ebenfalls mit dem Maus-Bioassay untersucht. Qualitativ wird mit LC/MS/MS auf Vorhandensein von PTX, YTX und AZAs geprüft. In Finnland ist der Einsatz von Tierversuchen zum Nachweis von DSP verboten. Griechenland bestimmt OA, DTX-1, DTX-2, ASP und PSP mittels HPLC-Methoden. Eine andere Quelle berichtet jedoch auch über den Einsatz des Maus-Bioassay für den Nachweis von DSP, AZAs und PSP.

Grundsätzlich stellt das FVO in seinem Jahresbericht 2002 fest, dass die Kontrolle und Analyse der marinen Biotoxine in den Mitgliedsländern nicht korrekt, das heißt nicht entsprechend der rechtlichen Vorgaben (siehe Punkt 2) durchgeführt wird.⁹

In der einschlägigen internationalen Fachliteratur wird, wie bereits unter Punkt 3.2 erwähnt, über Erkenntnisse zur Zuverlässigkeit von in vitro Bestimmungsmethoden berichtet, die alternativ zum Tierversuch eingesetzt werden können. Neben biochemischen Nachweisverfahren erlangen zunehmend Analysemethoden an Bedeutung, die sowohl eine empfindliche Detektion der marinen Biotoxine erlauben als auch zusätzlich eine hohe Spezifität für die gesuchten Stoffe aufweisen. Als wichtigste Perspektive ist hier der Einsatz der Massenspektrometrie in Kopplung mit Flüssigkeits-Chromatographie zu nennen (LC/MS; LC/MS/MS). Es sind bereits zahlreiche Methodenentwürfe publiziert, die einen sofortigen Ersatz des Maus-Bioassays ermöglichen würden. Die in der Entscheidung 2002/225/EG im Anhang geforderte Validierung solcher Ersatzmethoden unter Verwendung von Referenzmaterial für **alle** aufgeführten Einzelverbindungen macht jedoch den Ersatz des Maus-Bioassays als Routine- oder Referenzmethode für Jahre unmöglich. Und dies, obwohl der Maus-Bioassay niemals vergleichbaren Prüfungskriterien unterzogen wurde.

Eine auf Beschluss der Vertreter der europäischen NRLs eingesetzte EU-Arbeitsgruppe ist im Juli 2004 erstmals zusammengetreten und hat sich zur Aufgabe gemacht, eine für den Nachweis von Toxinen der DSP-Gruppe geeignete Methode auszuwählen und, auch ohne Verfügbarkeit aller Standards, zu validieren. In Neuseeland hat man diesen Schritt bereits erfolgreich abgeschlossen¹⁰, wie aus Tabelle 3 ersichtlich ist.

3.4 Handlungsbedarf zur Validierung und behördlichen Anerkennung von Alternativmethoden

Die Erläuterungen zur aktuellen Analytik und zum Vergleich Maus-Bioassay mit in vitro Analysemethoden weisen auf einen dringenden Handlungsbedarf bei der rechtlichen Anerkennung von chromatographischen Methoden zum Nachweis mariner Biotoxine der DSP- und PSP-Toxingruppen und der Bereitstellung von Referenzsubstanzen für die Europäischen Referenzlaboratorien hin.

Dabei sollten internationale Entwicklungen berücksichtigt werden. Zu den wichtigen Ergebnissen der International Conference on Molluscan Shellfish Safety (Irland, Juni 2004) gehört die Diskussion zur bevorstehenden Deregulierung von Toxinklassen. Neuere Untersuchungen zur Toxizität der Giftgruppen „Yessotoxine, YTX“ sowie „Pectenotoxine, PTX“ haben gezeigt, dass nach oraler Applikation bei vergleichbaren Dosierungen bei den Versuchstie-

⁹ Food and Veterinary Office: Annual Report 2002, pp 21 – 22.
http://europa.eu.int/comm/food/fvo/annualreports/final_2002_en.pdf

¹⁰ Holland, P.T., McNabb, P., Selwood, A., Page, T., Bell, K., Mackenzie, L.: Marine biotoxin monitoring of New Zealand shellfish - a new management programme based on LC-MS. Proc. 2nd Int. Conference on Harmful Algae Management and Mitigation, Nov. 2001, Qingdao, China. S. Hall and YL. Zou eds., In press 2002.

ren eine erheblich niedrigere Giftwirkung, wenn überhaupt, auftrat. Die intraperitoneale Verabreichung hatte zu einer starken Überschätzung des toxischen Potentials geführt. Es ist zu erwarten, dass künftig der Nachweis aller Einzel-Standards nicht unbedingt erforderlich sein wird. Auf der Sitzung der EU-LC/MS-Arbeitsgruppe am 6. Juli 2004 in Vigo (Spanien) wurde diese Möglichkeit zur Lösung des Validierungsproblems für chemisch-physikalische Methoden ausführlich erörtert.

Neben der Anerkennung validierter in vitro Methoden (HPLC) sollte die Förderung der Validierung anderer in vitro Verfahren verstärkt werden, da die Nutzung weiterer methodischer Endpunkte zum Toxinnachweis eine zusätzliche Absicherung der Diagnostik bedeutet. So würden zum Beispiel die Zellkulturtests einen biologischen Nachweis über die Zytotoxizität der Toxine ermöglichen.

In Tabelle 4 wird der Handlungsbedarf zur Validierung und Anerkennung chemisch-physikalischer Analysemethoden für die Analytik der einzelnen Toxingruppen zusammenfassend dargestellt. Für die **DSP- und PSP Toxingruppe** wird aufgrund der aktuellen Publikationen die Entwicklung und Validierung der in vitro Methoden als abgeschlossen bewertet. Die rechtliche Anerkennung dieser validierten in vitro Methoden wird als nächster Schritt empfohlen.

Der Einsatz des Maus-Bioassays als Referenzmethode für marine Biotoxine wird aufgrund der wissenschaftlichen Literatur als nicht mehr geeignet eingeschätzt. Yasumoto et al. haben den Maus-Bioassay 1971 publiziert.¹¹ Zum damaligen Zeitpunkt war dieser Test die Methode der Wahl und wissenschaftlich von hohem Wert. Inzwischen sind umfangreiche kritische Untersuchungen zur Zuverlässigkeit und Genauigkeit der Methode durchgeführt und publiziert worden. Es wurde festgestellt, dass der Maus-Bioassay nicht validierbar und zu unempfindlich für DSP-Toxine ist. Er sichert den Verbraucherschutz aufgrund falsch negativer Ergebnisse nicht ausreichend. Zum Monitoring von Muscheltoxingehalten in Fanggewässern ist der Maus-Bioassay gänzlich ungeeignet. Parallel zur Anwendung des Maus-Bioassay wurden in den zurückliegenden 30 Jahren zuverlässige chemisch-physikalische Methoden entwickelt, geprüft und angewandt.

4. Vorschlag des BfR zur Lösung des Konflikts

Auf der Grundlage der Kritik zur Anwendung des Maus-Bioassays als Referenzmethode für die Analyse mariner Biotoxine und insbesondere der internationalen Literatur und zur unmittelbaren Vorbereitung des Kontrollbesuches des FVO im November 2004 schlägt das BfR dem BMVEL vor, folgende Initiativen der Kommission zu unterbreiten:

1. Änderung der entsprechenden rechtlichen Regelung, die es ermöglicht, dass zu untersuchende Proben zunächst mit den vorhandenen chemisch-physikalischen Methoden auf eine Kontamination mit marinen Biotoxinen untersucht werden. Zeigt sich dabei ein positives qualitatives Ergebnis und ist eine weitere Abklärung im Interesse des Verbraucherschutzes (gerichtliche Verwertbarkeit der Testergebnisse usw.) notwendig, mit chemisch-physikalischen Methoden aber nicht möglich, wird der Maus-Bioassay als Referenzmethode im Sinne von Art. 5 der Entscheidung 2002/225/EG angewandt.
Das BfR stimmt der Verwendung von Tierversuchen in begründeten Ausnahmefällen im Interesse des Verbraucherschutzes zu und regt an, ein Labor für die Untersuchungen auszuwählen.

¹¹ Yasumoto, T., Hashimoto, Y., Bagnis, R., Randall, JE., Banner AH.: Toxicity of the surgeonfishes. Bull Jap Soc Sci Fish 37, 724-734 (1971).

2. Bereitstellung finanzieller Hilfen im Sinne von Art. 23 Abs. 1 der Richtlinie 86/609/EWG zur Sicherstellung der Validierung und rechtlichen Anerkennung von chemisch-physikalischen Methoden, insbesondere zur dafür notwendigen Bereitstellung von Toxinstandards und Referenzmaterial.
3. Die EU-Kommission sollte aufgefordert werden, ihre juristischen Dienste einzuschalten, da im vorliegenden Fall die gemeinschaftlich geschützten Rechtsgüter Verbraucherschutz und Tierschutz konkurrieren und bei der erforderlichen Abwägung gemeinschaftsrechtliche Aspekte klärungsbedürftig erscheinen.
4. Die EU-Kommission sollte prüfen, ob aus wissenschaftlicher Sicht der Maus-Bioassay den Status einer Referenzmethode haben kann, insbesondere in Anlehnung an die in der Entscheidung der Kommission vom 12. August 2002 zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates betreffend die Durchführung von Analysemethoden und die Auswertung von Ergebnissen (2002/657/EC) (Abl. EG. Nr. L 221).¹² Das BfR ist der Auffassung, dass der Maus-Bioassay sich grundsätzlich nicht als Referenzmethode eignet.

¹² Entscheidung der Kommission vom 12. August 2002 zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates betreffend die Durchführung von Analysemethoden und die Auswertung von Ergebnissen (2002/657/EG) (Abl. EG. Nr. L 221).

Tabelle 1: Übersicht zur aktuellen Analytik der marinen Biotoxine, Stand September 2004

Toxingruppen	Höchstmengenregelung		Referenzmethode		Chemisch-physikalische Analysemethoden		validierbar für die Erfassung von Leitsubstanzen		verfügbare Referenzsubstanzen
	EU 91/492/EWG Richtlinie 2002/225/E G Entscheidung 2002/226/E G Entscheidung 853/2004 Verordnung	D Fisch- Hygiene Verordnung FH-VO	EU	quantitative Analytik		quantitative Analytik*	Maus-Bioassay	Analytische Methoden	
ASP-Gruppe (Amnesic Shellfish Poison) Domoinsäure und Isomere	20 mg/kg Muschelgewebe	20 mg/kg Muschelgewebe	HPLC	ja	HPLC LC/MS	ja ja	nein	HPLC - ja LC/MS - ja	Domoinsäure
DSP-Gruppe (Diarrhetic Shellfish Poisoning) Okadasäure (OA) Dinophysistoxine (DTX)	800 µg/kg Hepatopankreas entspricht 160 µg/kg Muschelhomogenisat	400 µg/kg Hepatopankreas; entspricht 80 µg/kg Muschelgewebe	Maus-Bioassay	nein	HPLC LC/MS LC/MS/MS	ja ja ja	nein	HPLC – ja LC/MS – ja LC/MS/MS – ja	Okadasäure DTX1
Yessotoxine (YTX) 45 OH YTX, Homo YTX, 45 Homo OH YTX	1 mg/kg Muschelgewebe		Maus-Bioassay	nein	HPLC LC/MS LC/MS/MS	ja* ja* ja*	nein	HPLC – ja* LC/MS – ja* LC/MS/MS – ja*	nein
Pectenotoxine (PTX) PTX-1, PTX-2	160 µg/kg Muschelgewebe		Maus-Bioassay	nein	HPLC/FD LC/MS	ja* ja*	nein	HPLC/FD – ja* LC/MS – ja*	nein
Azaspisrosäuren (AZA) AZA-1, AZA-2, AZA-3	160 µg/kg Muschelgewebe		Maus-Bioassay	nein	LC/MS LC/MS/MS	ja* ja*	nein	LC/MS – ja* LC/MS/MS – ja*	nein
PSP (Paralytic Shellfish Poison) STX, NEO-STX und andere	800 µg/kg Muschelgewebe	800 µg/kg Muschelgewebe	Maus-Bioassay	semi-quantitativ	HPLC/FD	ja	nein	ja	STX, NEO-STX und andere Verbindungen

quantitative Analytik* = bei Verfügbarkeit von zertifiziertem Standardmaterial; z.Zt. qualitative Verfahren

Tabelle 2: Übersicht zu den Nachweismethoden für marine Biotoxine, Stand September 2004

Nachweismethoden	Kurzbeschreibung - methodischer Endpunkt-	Vorteile	Nachteile
<p>Maus-Bioassay-Verfahren Literaturverzeichnis (1)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Es werden 3 Mäuse verwendet. • Der Tod zweier von drei Mäusen binnen 24 Stunden (5 Stunden) nach der Verabreichung eines Muschelgewebe-Extraktes gilt als positiver Nachweis. • Der Tod der Mäuse ist der methodische Endpunkt. 	<ul style="list-style-type: none"> • Es handelt sich um ein biologischen Testsystem, mit dem das Vorhandensein von unbekanntem Toxinen direkt nachgewiesen werden kann. 	<ul style="list-style-type: none"> • Der Test mit erheblichen Leiden der Tiere verbunden. Der Tod der Tiere ist der methodische Endpunkt. • Konflikt mit Tierschutzrichtlinie • Nachweisgrenze liegt bei 800 µg/kg Muschelhepatopankreas für DSP; unempfindlich • Der Test ist nicht validierbar. Es gibt eine große Streuung zwischen den Laboratorien. Geschlecht, Gewicht und Stamm der Mäuse beeinflussen das Untersuchungsergebnis.
<p>Analytische Methoden</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie (HPLC) mit fluorimetrischer und UV-Detektion (HPLC/FLD; HPLC/DAD) • Flüssigkeits-Chromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) • Flüssigkeits-Chromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) • Kapillar-Elektrophorese <p>Literaturverzeichnis (2)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Nachweis mit analytischen Mess-Instrumenten. • Auftrennung nach physikochemischen Moleküleigenschaften und Vergleich mit Referenzstandards. 	<ul style="list-style-type: none"> • Schnelle und genaue Identifikation und Quantifizierung von Toxinen ist möglich; zum Nachweis aller marinen Toxine geeignet. • Empfindlicher als Maus-Bioassay • Hohe Selektivität; für Monitoring zu Präventivmaßnahmen geeignet • LC-MS ist validiert nach internationalen Standards, Holland et al. (2002). • HPLC-Methoden sind validiert (CEN; §35-LMBG; AOAC) • In der 2002/225/EC sind HPLC/FD und LC-MS bereits als Alternativen zum Maus-Assay erwähnt. 	<ul style="list-style-type: none"> • Nicht für alle Toxine gibt es Referenzmaterialien. • Nicht strukturverwandte, unbekannte Toxine werden in der Regel nicht angezeigt

Nachweismethoden	Kurzbeschreibung - methodischer Endpunkt-	Vorteile	Nachteile
Enzym-Immunoassays Literaturverzeichnis (3)	<ul style="list-style-type: none"> • Immunologischer Nachweis durch Bindung an spezifische Antikörper. • Methodischer Endpunkt ist die Messung der Menge gebundener Antikörper. 	<ul style="list-style-type: none"> • Schneller Nachweis mit hohem Probendurchsatz möglich. • Empfindlicher als Maus-Bioassay. • In der 2002/225/EC bereits als Alternative zum Maus-Bioassay erwähnt. 	<ul style="list-style-type: none"> • Für jede Toxinklasse wird ein anderer spezifischer Test benötigt. • Kreuzreaktionen mit Toxinen der gleichen Klasse sind möglich. • Es liegt noch kein internationalvalidiertes Standardprotokoll (SOP) vor.
Protein-Phosphatase-Inhibitionsassay Literaturverzeichnis (4)	<ul style="list-style-type: none"> • Biochemischer Nachweis. • Methodischer Endpunkt ist die Hemmung spezifischer Enzyme (Protein-Phosphatase 1 und 2a) durch DSP-Toxine. 	<ul style="list-style-type: none"> • Schneller Nachweis mit hohem Probendurchsatz möglich. • Gute Vergleichbarkeit mit chromatographischen Methoden und Maus-Bioassay. • Empfindlicher als Maus-Bioassay; empfindlicher als ELISA. • In der 2002/225/EC bereits als Alternative zum Maus-Bioassay erwähnt. 	<ul style="list-style-type: none"> • Nur zum Nachweis von DSP-Toxinen geeignet. • Es liegt noch kein international validiertes Standardprotokoll (SOP) vor.
Ligand-Rezeptor-Bindungstests Literaturverzeichnis (5)	<ul style="list-style-type: none"> • Biochemischer Nachweis. • Methodischer Endpunkt ist die Verdrängung von radioaktiv markiertem Toxin-Standard von der spezifischen Rezeptor-Bindungsstelle an Zellmembranen. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sehr spezifisch; zum Nachweis aller marinen Toxine geeignet. • Routine-Nachweis mit größerem Probendurchsatz möglich. • Empfindlicher als Maus-Bioassay • Gute Vergleichbarkeit mit chromatographischen Methoden und Maus-Bioassay. 	<ul style="list-style-type: none"> • Für jede Toxinart wird ein anderer spezifischer Test benötigt. • Es liegt noch kein international validiertes Standardprotokoll (SOP) vor.

Nachweismethoden	Kurzbeschreibung - methodischer Endpunkt-	Vorteile	Nachteile
Zellkulturtests Literaturverzeichnis (6)	<ul style="list-style-type: none"> • Zellbiologischer Nachweis der Zytotoxizität der Toxine. • Methodischer Endpunkt ist das Wachstum von Zellkulturen, z.B. Maus-Neuroblastoma-Zelllinien, Messung durch Vitalfärbung oder biochemisch (MTT-Test). 	<ul style="list-style-type: none"> • Sehr spezifisch; zum Nachweis vieler mariner Toxine geeignet. • Empfindlicher als Maus-Bioassay. • Schneller Nachweis mit hohem Probendurchsatz möglich. 	<ul style="list-style-type: none"> • Für PSP- und DSP-Toxine werden verschiedene Tests benötigt. • Nur die Gesamtoxizität wird gemessen ohne genaue Identifikation der Toxine. • Es liegt noch kein international validiertes Standardprotokoll (SOP) vor.

Tabelle 3

In Mitgliedstaaten der EU und in Übersee angewandte Verfahren zur amtlichen Kontrolle mariner Biotoxine in Muscheln und Schalentieren							
	Marine Biotoxine	OA + DTX Okadasäure und Dinophysistoxine	AZA Azaspirosäuren	PTX Pectenotoxine	YTX Yessotoxine	PSP Lähmungen hervorrufende Algentoxine	ASP Amnesie hervorrufende Algentoxine
Staat							
Belgien		MBA	MBA	MBA	MBA	MBA	HPLC
Dänemark		MBA ver LC/MS/MS	qual LC/MS/MS	qual LC/MS/MS	qual LC/MS/MS	MBA	HPLC
Deutschland		HPLC-FLD LC/MS; LC/MS/MS	qual LC/MS/MS	qual LC/MS/MS	qual LC/MS/MS	HPLC-FLD*	HPLC
Finnland		MBA zum Test auf DSP verboten in Finnland				k.A.	HPLC
Frankreich		MBA	MBA	MBA	MBA	MBA	HPLC
Griechenland		MBA HPLC-FLD	MBA k.A.	k.A.	k.A.	MBA HPLC-FLD	HPLC
Irland		MBA + LC/MS	MBA + LC/MS LC/MS	MBA + LC/MS	MBA + LC/MS	MBA	HPLC
Italien		MBA z.T. HPLC	MBA	MBA	MBA z.T. HPLC	MBA z.T. HPLC	HPLC
Luxemburg		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Niederlande		RBA LC/MS; HPLC-FLD	RBA	k.A.	k.A.	HPLC-FLD HPLC-FLD*	HPLC
Österreich		HPLC-FLD MBA	HPLC MBA	HPLC MBA	HPLC MBA	HPLC-FLD MBA	HPLC
Portugal	Drittländer-Importe	ELISA; LC/MS MBA MBA	LC/MS	LC/MS	MBA**	HPLC-FLD MBA	HPLC HPLC
Schweden		HPLC MBA (NOR)	HPLC MBA (NOR)	HPLC MBA (NOR)	HPLC MBA (NOR)	HPLC MBA (NOR)	k.A.
Spanien		MBA	MBA	MBA	MBA	MBA	HPLC
Vereinigtes Königreich		MBA	MBA	MBA	MBA	MBA	HPLC
Norwegen		MBA + LC/MS	LC/MS	LC/MS	MBA + LC/MS	HPLC-FLD	HPLC
Neuseeland		LC/MS	LC/MS	LC/MS	LC/MS	MBA	HPLC

k.A.: z.Zt. keine Angaben

*: im Notfall MBA

 **: nur wenn *Proceratium reticulatum* > 1000 Zellen/L

ver: Bestätigungsanalyse

(NOR): durchgeführt in Norwegen

z.T.: HPLC, wenn Referenzstandards vorhanden sind

MBA: Maus-Bioassay

RBA: Ratten-Bioassay

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

FLD: Fluorescence Detection

LC/MS: Liquid Chromatography/Mass Spectrometry;

LC/MS/MS: Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry

MBA + LC/MS: Vergleichsmessungen

Tabelle 4: Handlungsbedarf zur Validierung und behördlichen Anerkennung chemisch-physikalischer Analysemethoden für die Analytik der einzelnen Toxingruppen

- Entwicklung, Validierung
- behördliche Anerkennung

Toxingruppen	Handlungsbedarf zur Validierung und Anerkennung chemisch-physikalischer Analysemethoden für die Analytik der einzelnen Toxingruppen	
	Entwicklung, Validierung	behördliche Anerkennung
ASP-Gruppe (Amnesic Shellfish Poison) Domoinsäure und Isomere	Entwicklung und Validierung ist bereits erfolgt	HPLC-Methode ist in der EU bereits anerkannt (2002/226/EG)
DSP-Gruppe (Diarrhetic Shellfish Poisoning) Okadasäure (OA), Dinophysistoxine (DTX)	Entwicklung und Validierung ist bereits erfolgt <ul style="list-style-type: none"> • siehe DIN EN 14524-2004 „Lebensmittel – Bestimmung von Okadasäure in Muscheln – HPLC-Verfahren mit Reinigung durch Festphasenextraktion, Derivatisierung und fluorimetrischer Bestimmung, Deutsche Fassung EN 14524:2004 (Ausgabedatum: Oktober 2004) • siehe Holland et. al. (2002) 	behördliche Anerkennung von Alternativmethoden in der EU vorbehaltlich des Nachweises von vorgegebenen Analoga, siehe 2002/225/EWG in New Zealand für LC-MS
Yessotoxine (YTX)		behördliche Anerkennung von Alternativmethoden in der EU vorbehaltlich des Nachweises von vorgegebenen Analoga, siehe 2002/225/EWG
Pectenotoxine (PTX)		behördliche Anerkennung von Alternativmethoden in der EU vorbehaltlich des Nachweises von vorgegebenen Analoga, siehe 2002/225/EWG
Azaspirosäuren (AZA)		behördliche Anerkennung von Alternativmethoden in der EU vorbehaltlich des Nachweises von vorgegebenen Analoga, siehe 2002/225/EWG
PSP (Paralytic Shellfish Poison)	Entwicklung und Validierung ist bereits erfolgt <ul style="list-style-type: none"> • siehe EN 14524-2004 „Foodstuffs – Determination of saxitoxin in mussels - HPLC method using pre-column derivatization with peroxide or periodate oxidation 	behördliche Anerkennung der EU steht aus Ankündigung dazu im April 2004, siehe Protokoll ECVAM 6.4.2004

Maus-Bioassay – Literaturverzeichnis (1)

Delaunay, N., Pichon, V., Caer Le J.-P., Hennion, M.-C.: Immunoaffinity extraction as a new approach for an improved liquid chromatography-mass spectrometric or fluorimetric determination of okadaic acid in shellfish and algae. *Analytica Chimica Acta* 407: 173-186 (2000)

Helrich KC (Ed.)

Paralytic shellfish poison: biological method - final action.

AOAC official methods of analysis , 2 , 881-882, 1990

Jørgensen, K. and _Jensen, L.B.: Distribution of diarrhetic shellfish poisoning toxins in consignments of blue mussel. *Food Additives and Contaminants* 21 '(4):341-347 (2004)

Lawrence, J.F., Chadha, R.K., Ratnayake, W.M., Truelove, J.F.: An Incident of Elevated Levels of Unsaturated free Fatty Acids in Mussels from Nova Scotia and their toxic effect in Mice After Intraperitoneal injection. *Natural Toxins* 2:318-321 (1994)

Lee, J.S., Yanagi, T., Kenma, R., Yasumoto, T.: Fluorometric Determination of Diarrhetic Shellfish Toxins by High-Performance Liquid Chromatography. *Agric. Biol. Chem.* 51(3):877-881 (1987)

LeDoux, M. and Hall, S.: Proficiency testing of Eight French Laboratories in Using the AOAC Mouse Bioassay for Paralytic Shellfish Poisoning: Interlaboratory Collaborative Study. *Journal of the A.O.A.C.* 83(2):305-310 (2000)

McCulloch, A.W., Body, R.K., de Freitas, A.S., Foxall, R.A., Jamieson, W.D., Laycock, M.V., Quilliam, M.A., Wright, J.L., Boyko, V.J., McLaren, J.W.: Zinc from Oyster Tissue as Causative Factor in Mouse Deaths in Official Bioassay for Paralytic Shellfish Poison. *Journal of the A.O.A.C* 72(2):384-386 (1989)

McFarren E.F.: Report on Collaborative Studies of the Bioassay for Paralytic Shellfish Poison. *Journal of the A.O.A.C.* 42 (2): 263-271 (1959)

McNabb, P., Holland, P., Ginkel van, R., Selwoog, A.: Using Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS) to manage Shellfish Harvesting and protect Public Health. 5th International Conference on Molluscan Shellfish Safety, 14th – 18th June 2004, National University of Ireland, Galway

Mountfort, D. O., Kennedy, G., Garthwait, I., Quilliam, M., Truman, P., Hannah, D. J.: Evaluation of the fluorometric protein phosphatase inhibition assay in the determination of okadaic acid in mussels. *Toxicon* 37:909-922 (1999)

Nagashima Y., Noguchi T., Kawabata T., Hashimoto K.: Dose-Death Time Curves of Paralytic Shellfish Poisons in ddY Strain Mice. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57(4): 699-704 (1991)

Park, D.L., Adams WN, Graham SL, Jackson RC.: Variability of Mouse Bioassay for Determination of paralytic Shellfish Poisoning. *Journal of the A.O.A.C.* 69(3): 547-550 (1986)

Prakash A., Medcof J.C., Tennant A.D.: Paralytic shellfish poisoning in eastern Canada. *Bulletin* 177, Fisheries Research Board of Canada (1971)

Puech, L., Dragacci, S., Gleizes, E., Fremy JM.: Use of immunoaffinity columns for clean-up of diarrhetic toxins (okadaic acid and dinophysistoxin) extracts from shellfish prior to their analysis by HPLC/fluorimetry.

Food Additives and Contaminants 16 (6): 239-251 (1999)

Ramstad, H., Larsen, St., Aune, T.: The repeatability of two HPLC methods and the PP2A assay in the quantification of diarrhetic toxins in blue mussels (*Mytilus edulis*). *Toxicon* 39:515-522 (2001)

Roberts TA (Ed.); Baird-Parker AC (Ed.); Tompkin RB (Ed.)

Seafood toxins of microbiological origin. In: *Microorganisms in foods - 5. Microbiological specifications of food pathogens.*

Blackie academic & professional, London, Weinheim, New York , 265-279, 1996

Stabell, O.B., Yndestad, M., Heidenreich, B.: Paralytic shellfish toxins seems absent in extracts of diarrhetic shellfish toxins. *Environ. Toxicol. Chem.* 10: 331-334 (1991)

Stabell O.B., Steffenak I., Aune T.: An Evaluation of the Mouse Bioassay applied to Extracts of Diarrhoetic Shellfish Toxins. *Food & Chemical Toxicology* 30: 139-144 (1992)

Suzuki, T., Yoshizawa, R., Kawamura, T., Yamasaki, M.: Interference of Free Fatty Acids from the Hepatopancreas of Mussels with the Mouse Bioassay for Shellfish Toxins. *Lipids* 31(6):641-645 (1996)

Takagi, T. et al.: Toxic Effect of Free Unsaturated Fatty Acids in the Mouse Bioassay of Diarrhetic Shellfish Toxin by Intraperitoneal Injection. *Bulletin Japan. Soc. Of Sci. Fisheries* 50(8):1413-1418 (1984)

Toti, L., Croci, L., De Medici, D., Gizzarelli, S., Di Pasquale, M., Orfice, L. and Stazi, A.: Evaluation of Yasumoto test for the determination of DSP toxin in shellfish. *Proceedings of Symposium on Marine Biotoxins: 107-110, Paris (1991)*

Chromatographische Methoden - Literaturverzeichnis (2)

Baden DG; Adams DJ

Brevetoxins: chemistry, mechanism of action and methods of detection.

Food science and technology , 103 , 505-532, 2000

Bouaicha N; Ammar M; Hennion MC; Sandra P

A new method for determination of maitotoxin by capillary zone electrophoresis with ultraviolet detection.

Toxicon , 35(6) , 955-962, 1997

Bouaicha N; Hennion MC; Sandra P

Determination of okadaic acid by micellar electrokinetic chromatography with ultraviolet detection.

Toxicon , 35(2) , 273-281, 1997

Boyer GL; Goddard GD

High performance liquid chromatography coupled with post.column electrochemical oxidation for the detection of PSP toxins.

Natural toxins , 7(6) , 353-359, 1999

Bundesgesundheitsamt (Ed.)

Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung des Gehaltes an Algentoxinen in Muscheltieren und Muscheltiererzeugnissen - Fluorimetrisches Verfahren. In: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach Paragraph 35 LMBG. 1989

Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung des Gehaltes an Okadasäure (DSP-Toxin) in Muscheltieren und Muscheltiererzeugnissen; Hochdruckflüssigkeitschromatographische Bestimmung (Referenzverfahren). In: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35-LMBG. L12.03/04-2. 2002

Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung des Gehaltes an Domoinsäure (ASP-Toxin) in Muscheltieren und Muscheltiererzeugnissen mittels RP-HPLC. In: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35-LMBG. L12.03/04-3. 2002

Draisci R; Lucentini L; Mascioni A

Pectenotoxins and yessotoxins: chemistry, toxicology, pharmacology and analysis.

Food science and technology , 103 , 289-324, 2000

Draisci R; Giannetti L; Lucentini L; Ferretti E; Palleschi L; Marchiafava C

Direct identification of yessotoxin in shellfish by liquid chromatography coupled with mass spectrometry and tandem mass spectrometry.

Rapid communications in mass spectrometry , 12(9) , 1291-1296, 1998

Egmond HP van; Top HJ van den; Paulsch WE; Goenaga X; Vieytes MR

Paralytic shellfish poison reference materials: an intercomparison of methods for the determination of saxitoxin.

Food additives and contaminants , 11(1) , 39-56, 1994

Egmond HP van; Mourino A; Burdaspal PA; Boenke A; Alvito P; Arevalo F; Botana-Lopez LM; Bustos J; Dietrich R; Donald M; Soler JMF; Martinez AG; Hald B; Helle N; Hummert C; Ledoux M; Legarda T; Luckas B; Mese go A; Paulsch WE; Rodriguez-Vieytes M; Salgado C; Stockemer J; Usleber E; Top HJ van den; Walther L; Winkler F

Development of reference materials for paralytic shellfish poisoning toxins.
Journal of AOAC International , 84(5) , 1668-1676, 2001

Flynn K; Flynn KJ

An automated HPLC method for the rapid analysis of paralytic shellfish toxins from dinoflagellates and bacteria using precolumn oxidation at low-temperature.
Journal of experimental marine biology and ecology , 197(1) , 145-157, 1996

Goto H; Igarashi T; Yamamoto M; Yasuda M; Sekiguchi R; Watai M; Tanno K; Yasumoto T
Quantitative determination of marine toxins associated with diarrhetic shellfish poisoning by liquid chromatography coupled with mass spectrometry.
Journal of chromatography / A , 907(1-2) , 181-189, 2001

Hadley S; Braun S; Wekell M

Confirmation of domoic acid as an N-formyl-O-methyl derivate in shellfish tissues by gas chromatography/mass spectrometry. In: Shahidi F, Jones Y, Kitts D (Eds.): Seafood saf, Process, Biotechnol. 25-32, 1997

Hannah DJ; Till DG; Truman P

Phycotoxins - a review of chemical and biological methods of analysis. In: M Miraglia, HP VanEgmond, C Brera, J Gilbert (Eds.): Mycotoxins and phycotoxins - developments in chemistry, toxicology and food safety. 425-439, 1998

Hess P; Gallacher S; Bates LA; Brown N; Quilliam MA

Determination and confirmation of the amnesic shellfish poisoning toxin, domoic acid, in shellfish from Scotland by liquid chromatography and mass spectrometry.
Journal of AOAC International , 84(5) , 1657-1667, 2001

Holland PT; McNabb P; Selwood A; Page T; Bell K; Mackenzie L

Marine biotoxin monitoring of New Zealand shellfish – a new management programme based on LC-MS.
Proc. 2nd Int. Conference on Harmful Algae Management and Mitigation, Nov. 2001, Qingdao, China. S. Hall and YL. Zou eds. , In press 2002

Hummert C; Reichelt M; Luckas B

New strategy for the determination of microcystins and diarrhetic shellfish poisoning (DSP) toxins, two potent phosphatases 1 and 2A inhibitors and tumor promoters.
Fresenius journal of analytical chemistry , 366(5) , 508-513, 2000

Hummert C; Reichelt M; Luckas B

Automatic HPLC-UV determination of domoic acid in mussels and algae.
Chromatographia , 45 , 284-288, 1997

Ito S; Tsukada K

Matrix effect and correction by standard addition in quantitative liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of diarrhetic shellfish poisoning toxins.
Journal of chromatography/A , 943(1) , 39-46, 2002

James KJ; Bishop AG; Carmody EP; Kelly SS
Detection methods for okadaic acid and analogues.
Food science and technology , 103 , 217-238, 2000

James KJ; Gillman M; Lehane M; Gago-Martinez A
New fluorimetric method of liquid chromatography for the determination of the neurotoxin domoic acid in seafood and marine phytoplankton.
Journal of chromatography / A , 871(1-2) , 1-6, 2000

Kurono S; Hattori H; Suzuki O; Yamada T; Seno H
Sensitive analysis of tetrodotoxin in human plasma by solid-phase extractions and gas chromatography/mass spectrometry.
Analytical letters , 34(14) , 2439-2446, 2001

Lawrence JF; Menard C; Cleroux C
Evaluation of prechromatographic oxidation for liquid chromatographic determination of paralytic shellfish poisons in shellfish.
Journal of AOAC International , 78(2) , 514-520, 1995

Lawrence JF; Wong B; Menard C
Determination of decarbamoyl saxitoxin and its analogues in shellfish by prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection.
Journal of AOAC International , 79(5) , 1111-1115, 1996

Lawrence JF; Scott PM
HPLC methods for the determination of mycotoxins and phycotoxins.
Techniques and instrumentation in analytical chemistry , 21 , 413-456, 2000

Lawrence JF; Niedzwiadek B
Quantitative determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish by using prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection.
Journal of AOAC International , 84(4) , 1099-1108, 2001

Lawrence JF; Charbonneau CF; Menard C
Liquid chromatographic determination of domoic acid in mussels, using AOAC paralytic shellfish poison extraction procedure: collaborative study.
Journal of AOAC , 74(1) , 68-72, 1991

Lawrence JF, Niedzwiadek B, Menard C
Quantitative determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish using prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection: Interlaboratory study
J. of AOAC Intern., 87 (1), 83 ff, 2004

Laycock MV; Thibault P; Ayer SW; Walter JA
Isolation and purification procedures for the preparation of paralytic shellfish poisoning toxin standards.
Natural toxins , 2(4) , 175-183, 1994

Lee JS; Yanagi T; Kenma R; Yasumoto T
Fluorometric determination of diarrhetic shellfish toxins by high-performance liquid chromatography.
Agricultural and biological chemistry , 51 , 877-881, 1987

Lewis RJ
Immunological, biochemical and chemical features of ciguatoxins - implications for the detection of ciguateric fish.
Memoirs of the Queensland Museum , 34(3) , 541-548, 1994

Lewis RJ; Jones A; Vernoux JP
HPLC/tandem electrospray mass spectrometry for the determination of sub-ppb levels of Pacific and Caribbean ciguatoxins in crude extracts of fish.
Analytical chemistry , 71(1) , 247-250, 1999

Lewis RJ; Jones A
Characterization of ciguatoxins and ciguatoxin congeners present in ciguateric fish by gradient reverse-phase high-performance liquid chromatography/mass spectrometry.
Toxicon , 35(2) , 159-168, 1997

Llewellyn LE; Doyle J; Jellett J; Barrett R; Alison C; Quilliam M
Measurement of paralytic shellfish toxins in molluscan extracts: comparison of the microtitre plate saxiphilin and sodium channel radioreceptor assays with mouse bioassay, HPLC analysis and a commercially available cell culture assay.
Food additives and contaminants , 18(11) , 970-980, 2001

Locke SJ; Thibault P
Improvement in detection limits for the determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish tissues using capillary electrophoresis/electrospray mass-spectrometry and discontinuous buffer systems.
Analytical chemistry , 66(20) , 3436-3446, 1994

Luckas B
Phycotoxins in the marine environment: control of marine organisms for contamination with algal toxins.
International journal of environment and pollution , 13 , 148-172, 2000

Mirocha CJ; Cheong W; Mirza U; Kim YB
Analysis of saxitoxin in urine by continuous-flow fast-atom bombardment mass spectrometry.
Rapid communications in mass spectrometry , 6(2) , 128-134, 1992

Oshima Y
Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins.
Journal of AOAC International , 78(2) , 528-532, 1995

Park DL
Evolution of methods for assessing ciguatera toxins in fish.
Reviews of environmental contamination and toxicology , 136 , 1-20, 1994

Pineiro N; Vaquero E; Leao JM; Gago-Martinez A; Rodriguez Vazquez JA
Optimization of conditions for the liquid chromatographic-electrospray ionization-mass spectrometric analysis of amnesic shellfish poisoning toxins.
Chromatographia , 53 , S231-S235, 2001

Pleasance S; Thibault P; Kelly J
Comparison of liquid-junction and coaxial interfaces for capillary electrophoresis-mass spectrometry with application to compounds of concern to the aquaculture industry.
Journal of chromatography , 591 , 325-339, 1992

Pleasance S; Ayer SW; Laycock MV; Thibault P
Ion-spray mass spectrometry of marine toxins. III. Analysis of paralytic shellfish poisoning toxins by flow-injection analysis, liquid chromatography/mass spectrometry and capillary electrophoresis/mass spectrometry.
Rapid communications in mass spectrometry , 6(1) , 14-24, 1992

Quilliam MA
Committee on natural toxins - phycotoxins.
Journal of AOAC International , 82(3) , 773-781, 1999

Quilliam MA
Committee on natural toxins and food allergens - phycotoxins.
Journal of AOAC International , 84(1) , 194-201, 2001

Quilliam MA
Analysis of diarrhetic shellfish poisoning toxins in shellfish tissue by liquid chromatography with fluorometric and mass spectrometric detection.
Journal of AOAC International , 78(2) , 555-570, 1995

Quilliam MA; Thomson BA; Scott GJ; Siu KWM
Ion-spray mass spectrometry of marine neurotoxins.
Rapid communications in mass spectrometry , 3(5) , 145-150, 1989

Ramstad H; Larsen S; Aune T
Repeatability and validity of a fluorimetric HPLC method in the quantification of yessotoxin in blue mussels (*Mytilus edulis*) related to the mouse bioassay.
Toxicon , 39(9) , 1393-1397, 2001

Roberts TA (Ed.); Baird-Parker AC (Ed.); Tompkin RB (Ed.)
Seafood toxins of microbiological origin. In: *Microorganisms in foods - 5. Microbiological specifications of food pathogens*. Blackie academic & professional, London, Weinheim, New York, 265-279, 1996

Ru QH; Luo GA
Internal standard quantitative method of tetrodotoxin by capillary electrophoresis.
Analytical letters , 33(14) , 3013-3023, 2000

Salter JE; Timpler RJ; Hennigan LJ; Sefton L; Reece H
Seafood toxins: Comparison evaluation of liquid chromatographic and bioassay methods of analysis for determination of paralytic shellfish poisons in shellfish tissues.
Journal of AOAC International , 72(4) , 670-673, 1989

Sciacchitano CJ; Mopper B

Analysis of paralytic shellfish toxin (Saxitoxin) in mollusks by capillary zone electrophoresis. *Journal of liquid chromatography* , 16(9-10) , 2081-2088, 1993

Shea D

Analysis of brevetoxins by micellar electrokinetic capillary chromatography and laser-induced fluorescence detection.

Electrophoresis , 18(2) , 277-283, 1997

Shoji Y; Yotsu-Yamashita M; Miyazawa T; Yasumoto T

Electrospray ionization mass spectrometry of tetrodotoxin and its analogs: liquid chromatography/mass spectrometry, tandem mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry.

Analytical biochemistry , 290(1) , 10-17, 2001

Sullivan JJ; Wekell MM

The application of high performance liquid chromatography in a paralytic shellfish poisoning monitoring program. In: Kramer DE, Liston J (Eds.): *Seafood quality determination - Proceedings of an international symposium coordinated by the University of Alaska*, 10-14 november, 1986. Elsevier, Amsterdam , 15 , 357-371, 1987

Thibault P; Pleasance S; Laycock V

Analysis of paralytic shellfish poisons by capillary electrophoresis.

Journal of chromatography , 542 , 483-501, 1991

Top HJ van den; Boenke A; Burdaspal PA; Bustos J; Egmond HP van; Legarda T; Mesego A; Mourino A; Paulsch WE; Salgado C

The development of reference materials for paralytic shellfish poisoning toxins in lyophilized mussel. I: Interlaboratory studies of methods of analysis.

Food additives and contaminants , 17(6) , 419-433, 2000

Vale P; Sampayo MA

Determination of paralytic shellfish toxins in Portuguese shellfish by automated precolumn oxidation.

Toxicon , 39(4) , 561-571, 2001

Yasumoto T; Fukui M; Sasaki K; Sugiyama K

Determinations of marine toxins in foods.

Journal of AOAC International , 78(2) , 574-582, 1995

Yasumoto T; Michishita T

Fluorometric determination of tetrodotoxin by high-performance liquid chromatography.

Agricultural and biological chemistry , 49 , 3077-3089, 1985

Zhao JY; Thibault P; Quilliam MA

Analysis of domoic acid and isomers in seafood by capillary electrophoresis.

Electrophoresis , 18(2) , 268-276, 1997

Immunaassays - Literaturverzeichnis (3)

- Baden DG; Adams DJ
Brevetoxins: chemistry, mechanism of action and methods of detection.
Food science and technology , 103 , 505-532, 2000
- Baden DG; Melinek R; Sechet V; Trainer VL; Schultz DR; Rein KS; Tomas CR; Delgado J; Hale L
Modified immunoassays for polyether toxins: implications of biological matrixes, metabolic states and epitope recognition.
Journal of AOAC International , 78 , 499-508, 1995
- Branaa P; Naar J; Chinain M; Pauillac S
Preparation and characterization of domoic acid-protein conjugates using small amount of toxin in a reversed micellar medium: application in a competitive enzyme-linked immunosorbent assay.
Bioconjugate chemistry , 10(6) , 1137-1142, 1999
- Carmody EP; James KJ; Kelly S
Diarrhetic shellfish poisoning: evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay methods for determination of dinophysistoxin-2.
Journal of AOAC International , 78 , 1403-1408, 1995
- Chin JD; Quilliam MA; Fremy JM; Mohapatra SK; Sikorski HM
Screening for okadaic acid by immunoassay.
Journal of AOAC International , 78 , 508-513, 1995
- Chu FS; Huang X; Hall S
Production and characterization of antibodies against neosaxitoxin.
Journal of AOAC International , 75(N2) , 341-345, 1992
- Chu FS; Hsu KH; Huang X; Barrett R; Allison C
Screening of paralytic shellfish poisoning toxins in naturally occurring samples with three different direct competitive enzyme-linked immunosorbent assays.
Journal of agricultural and food chemistry , 44(12) , 4043-4047, 1996
- Delaunay N; Pichon V; Le Caer JP; Hennion MC
Immunoaffinity extraction as a new approach for an improved liquid chromatography-mass spectrometric or fluorimetric determination of okadaic acid in shellfish and algae.
Analytica chimica acta , 407(1-2) , 173-186, 2000
- Dietrich R; Burk C; Usleber E; Maertlbauer E; Laycock MV
Immunoaffinity chromatography as a tool for the analysis of paralytic shellfish poisoning toxins. In: M Miraglia, HP VanEgmond, C Brerera, J Gilbert (Eds.): Mycotoxins and phycotoxins - developments in chemistry, toxicology and food safety. 463-468, 1998
- Dill K; Lin M; Poteras C; Fraser C; Hafeman DG; Owicki JC
Antibody-antigen binding constants determined in solution-phase with the threshold membrane-capture system: binding constants for anti-fluorescein, anti-saxitoxin and anti-ricin antibodies.
Analytical biochemistry , 217(1) , 128-138, 1994

Draisci R; Croci L; Giannetti L; Cozzi L; Lucentini L; Medici D de; Stacchini A
Comparison of mouse bioassay, HPLC and enzyme immunoassay methods for determining diarrhetic shellfish poisoning toxins in mussels.
Toxicon , 32(11) , 1379-1384, 1994

Egmond HP van; Mourino A; Burdaspal PA; Boenke A; Alvito P; Arevalo F; Botana-Lopez LM; Bustos J; Dietrich R; Donald M; Soler JMF; Martinez AG; Hald B; Helle N; Hummert C; Ledoux M; Legarda T; Luckas B; Mese go A; Paulsch WE; Rodriguez-Vieytes M; Salgado C; Stockemer J; Usleber E; Top HJ van den; Walther L; Winkler F
Development of reference materials for paralytic shellfish poisoning toxins.
Journal of AOAC International , 84(5) , 1668-1676, 2001

Garthwaite I
Keeping shellfish safe to eat: a brief review of shellfish toxins and methods for their detection.
Trends in food science & technology , 11(7) , 235-444, 2000

Garthwaite I; Ross KM; Poli M; Towers NR
Comparison of immunoassay, cellular and classical mouse bioassay methods for detection of neurotoxic shellfish toxins.
ACS (American Chemical Society) Symposium Series , 621 , 404-412, 1996

Garthwaite I; Ross KM; Miles CO; Hansen RP; Foster D; Wilkins AL; Towers NR
Polyclonal antibodies to domoic acid and their use in immunoassays for domoic acid in sea water and shellfish.
Natural toxins , 6(3-4) , 93-104, 1998

Garthwaite I; Ross KM; Miles CO; Briggs LR; Towers NR; Busby P
Integrated enzyme-linked immunosorbent assay screening system for amnesic, neurotoxic, diarrhetic and paralytic shellfish poisoning toxins found in New Zealand.
Journal of AOAC International , 84(5) , 1643-1648, 2001

Hannah DJ; Till DG; Truman P
Phycotoxins - a review of chemical and biological methods of analysis. In: M Miraglia, HP VanEgmond, C Brera, J Gilbert (Eds.): Mycotoxins and phycotoxins - developments in chemistry, toxicology and food safety. 425-439, 1998

Harada KI; Kondo F; Lawton L
Laboratory analysis of cyanotoxins.
Toxic cyanobacteria water , 369-405, 1999

Hokama Y; Honda SAA; Asahina AY; Fong JML; Matsumoto CM; Gallacher TS
Cross-reactivity of ciguatoxin, okadaic acid and polyethers with monoclonal antibodies.
Food and agricultural immunology , 1(1) , 29-36, 1989

Hokama Y
Simplified solid-phase immunobead assay for detection of ciguatoxin and related polyethers.
Journal of clinical laboratory analysis , 4(3) , 213-217, 1990

Hokama Y
Immunological studies using monoclonal antibodies for detection of low dalton marine toxins.
Food additives and contaminants , 10(1) , 83-95, 1993

Hokama Y

Recent methods for detection of seafood toxins: recent immunological methods for ciguatoxin and related polyethers.

Food additives and contaminants , 10(1) , 71-82, 1993

Hokama Y; Nishimura K; Takenaka W; Ebesu JS

Simplified solid-phase membrane immunobead assay (MIA) with monoclonal anti-ciguatoxin antibody (MAb-CTX) for detection of ciguatoxin and related polyether toxins.

Journal of natural toxins , 7(1) , 1-21, 1998

Huang X; Hsu KH; Chu FS

Direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay for saxitoxin and neosaxitoxin.

Journal of agricultural and food chemistry , 44(4) , 1029-1035, 1996

James KJ; Bishop AG; Carmody EP; Kelly SS

Detection methods for okadaic acid and analogues.

Food science and technology , 103 , 217-238, 2000

Kasuga F; Kudo HY; Machii K

Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit for paralytic shellfish poisoning toxins.

Journal of Food Hygienic Society of Japan , 37(6) , 407-410, 1996

Kawatsu K; Hamano Y; Yoda T; Terano Y; Shibata T

Rapid and highly sensitive enzyme immunoassay for quantitative determination of tetrodotoxin.

Japanese journal of medical science and biology , 50(3) , 133-150, 1997

Kawatsu K; Hamano Y; Yoda T; Terano Y; Shibata T

Erratum: Rapid and highly sensitive enzyme immunoassay for quantitative determination of tetrodotoxin.

Japanese journal of medical science and biology , 50(4-5) , 208, 1997

Kawatsu K; Shibata T; Hamano Y

Application of immunoaffinity chromatography for detection of tetrodotoxin from urine samples of poisoned patients.

Toxicon , 37(2) , 325-333, 1999

Kawatsu K; Hamano Y; Noguchi T

Production and characterization of a monoclonal antibody against domoic acid and its application to enzyme immunoassay.

Toxicon , 37(11) , 1579-1589, 1999

Kawatsu K; Hamano Y; Noguchi T

Determination of domoic acid in Japanese mussels by enzyme immunoassay.

Journal of AOAC International , 83(6) , 1384-1386, 2000

Kitts DD; Smith DS; Owen T

An enzyme-linked immunosorbent assay to detect the presence of paralytic shellfish poison using an induced crab protein marker.

Food and agricultural immunology , 3(2) , 49-56, 1991

Kitts DD; Smith DS

A serological method for the analysis of domoic acid in shellfish extracts and biological fluids.
In: F Shahidi, Y Jones, DD Kitts (Eds.): *Seafood Saf, Process, Biotechnol.* 17-23, 1997

Kreuzer M; O'Sullivan C; Guilbaut G

Development of an ultrasensitive immunoassay for rapid measurement of okadaic acid and its isomers.

Analytical chemistry , 71(19) , 4198-4202, 1999

Levin RE

Paralytic shellfish toxins: their origin, characteristics and methods of detection. A review.

Journal of food biochemistry , 15(6) , 405-417, 1991

Lewis RJ

Immunological, biochemical and chemical features of ciguatoxins - implications for the detection of ciguateric fish.

Memoirs of the Queensland Museum , 34(3) , 541-548, 1994

Luckas B

Phycotoxins in the marine environment: control of marine organisms for contamination with algal toxins.

International journal of environment and pollution , 13 , 148-172, 2000

Marquette CA; Coulet PR; Blum LJ

Semi-automated membrane based chemiluminescent immunosensor for flow injection analysis of okadaic acid in mussels.

Analytica chimica acta , 398(2-3) , 173-182, 1999

Newsome H; Truelove J; Hierlihy L; Collins PG

Determination of domoic acid in serum and urine by immunochemical analysis.

Bulletin of environmental contamination and toxicology , 47(3) , 329-334, 1991

Nunez PE; Scoging AC

Comparison of a protein phosphatase inhibition assay, HPLC assay and enzyme-linked immunosorbent assay with the mouse bioassay for the detection of diarrhetic shellfish poisoning toxins in European shellfish.

International journal of food microbiology , 36(1) , 39-48, 1997

Puech L; Dragacci S; Gleizes E; Fremy JM

Use of immunoaffinity columns for clean-up of diarrhetic toxins (okadaic acid and dinophysistoxins) extracts from shellfish prior to their analysis by HPLC / fluorimetry.

Food additives and contaminants , 16(6) , 239-251, 1999

Quilliam MA

Committee on natural toxins - phycotoxins.

Journal of AOAC International , 82(3) , 773-781, 1999

Quilliam MA

Committee on natural toxins and food allergens - phycotoxins.

Journal of AOAC International , 84(1) , 194-201, 2001

Renz V; Terplan G

Ein enzymimmunologischer Nachweis von Saxitoxin.
Archiv fuer Lebensmittelhygiene , 39(2) , 25-56, 1988

Shaw G; Smith M

Algal analysis - organisms and toxins. In: Handbook of water analysis. 102 , 143-167, 2000

Smith DS; Kitts DD

Development of a monoclonal-based enzyme-linked immunoassay for saxitoxin-induced protein.

Toxicon , 32(3) , 317-323, 1994

Smith DS; Kitts DD

A competitive enzyme-linked immunoassay for domoic acid determination in human body fluids.

Food and chemical toxicology , 32(12) , 1147-1154, 1994

Top HJ van den; Boenke A; Burdaspal PA; Bustos J; Egmond HP van; Legarda T; Mesego A; Mourino A; Paulsch WE; Salgado C

The development of reference materials for paralytic shellfish poisoning toxins in lyophilized mussel. I: Interlaboratory studies of methods of analysis.

Food additives and contaminants , 17(6) , 419-433, 2000

Uda T; Itoh Y; Nishimura M; Usagawa T; Murata M; Yasumoto T

Enzyme immunoassay using monoclonal antibody specific for diarrhetic shellfish poisons. In: S Natori, K Hashimoto, Y ueno (Eds.): Mycotoxins and phycotoxins. 335-342, 1989

Usagawa T; Nishimura M; Itoh Y; Uda T; Yasumoto T

Preparation of monoclonal antibodies against okadaic acid prepared from the sponge, Halichondria okadaei.

Toxicon , 27 , 1323-1330, 1989

Usleber E; Schneider E; Terplan G

Direct enzyme immunoassay in microtitration plate and test strip format for the detection of saxitoxin in shellfish.

Letters in applied microbiology , 13 , 275-277, 1991

Usleber E; Schneider E; Terplan G; Laycock MV

Two formats of enzyme immunoassay for the detection of saxitoxin and other paralytic shellfish poisoning toxins.

Food additives and contaminants , 12(3) , 405-413, 1995

Usleber E; Donald M; Maertlbauer E

Comparison of enzyme immunoassay and mouse bioassay for determining paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish.

Food additives and contaminants , 14(2) , 193-198, 1997

Usleber E; Dietrich R; Buerk C; Schneider E; Maertlbauer E

Immunoassay methods for paralytic shellfish poisoning toxins.

Journal of AOAC International , 84(5) , 1649-1656, 2001

Vale P; Sampayo MA

Comparison between HPLC and a commercial immunoassay kit for detection of okadaic acid and esters in Portuguese bivalves.

Toxicon , 37(11) , 1565-1577, 1999

Yang GC; Imagire SJ; Yasaei P; Ragelis EP; Park DL; Page SW; Carlson RE; Guire PE
Radioimmunoassay of paralytic shellfish toxins in clams and mussels.

Bulletin of environmental contamination and toxicology , 39 , 264-271, 1987

Yasumoto T; Fukui M; Sasaki K; Sugiyama K

Determinations of marine toxins in foods.

Journal of AOAC International , 78(2) , 574-582, 1995

Protein-Phosphat-Inhibitionsassay Literaturverzeichnis (4)

Boland M; Smillie M; Chen D; Holmes C

A unified bioscreen for the detection of diarrhetic shellfish toxins and microcystins in marine and freshwater environments.

Toxicol , 31 , 1393-1405, 1993

Cohen P; Foulkes JG; Holmes CFB; Nimmo G; Tonks NK

Protein phosphatase inhibitor-1 and inhibitor-2 from rabbit skeletal muscle.

Methods in Enzymology , 159 , 427-437, 1988

Garthwaite I

Keeping shellfish safe to eat: a brief review of shellfish toxins and methods for their detection.

Trends in food science & technology , 11(7) , 235-444, 2000

Gupta V; Ogawa A; Du X; Houk K; Armstrong RW

A model for binding of structurally diverse natural product inhibitors of protein phosphatases PP1 and PP2A.

Journal of medicinal chemistry , 40(20) , 3199-3206, 1997

Hannah DJ; Till DG; Truman P

Phycotoxins - a review of chemical and biological methods of analysis. In: M Miraglia, HP VanEgmond, C Brera, J Gilbert (Eds.): Mycotoxins and phycotoxins - developments in chemistry, toxicology and food safety. 425-439, 1998

Holmes CBF

Liquid chromatography-linked protein phosphatase bioassay, a highly sensitive marine bioscreen for okadaic acid and related diarrhetic shellfish toxins.

Toxicol , 29 , 469-477, 1991

Honkanen RE; Mowdy DE; Dickey RW

Detection of DSP-toxins, okadaic acid and dinophysin toxin-1 in shellfish by serine/threonine protein phosphatase assay.

Journal of AOAC International , 79 , 1336-1343, 1996

Isobe M; Sugiyama Y; Ito T; Ohtani I; Toya Y; Nishigohri Y; Takai A

New analysis method for protein phosphatase type 2a inhibitors using the firefly bioluminescence system.

Bioscience, biotechnology and biochemistry , 59(12) , 2235-2238, 1995

James KJ; Bishop AG; Carmody EP; Kelly SS

Detection methods for okadaic acid and analogues.

Food science and technology , 103 , 217-238, 2000

Konoki K; Sugiyama N; Murata M; Tachibana K

Direct observation of binding between biotinylated okadaic acids and protein phosphatase 2A monitored by surface plasmon resonance.

Tetrahedron letters , 40(5) , 887-890, 1999

Laidley CW; Cohen E; Casida JE

Protein phosphatase in neuroblastoma cells: (3H)cantharidin binding site in relation to cytotoxicity.

Journal of pharmacology and experimental therapeutics , 280(3) , 1152-1158, 1997

Laycock MV; Ayer SW; Bilodeau M; Gagne JP; Hsiao S; Jellett JF

Detection and quantification of toxic algae and toxins.

Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences , 1893 , 81-90, 1992

Leira F; Vieites JM; Vieytes MR; Botana LM

Characterization of 9H-(1,3-dichlor-9,9-dimethylacridin-2-ona-7yl)-phosphate (DDAO) as substrate of PP-2A in a fluorimetric microplate assay for diarrhetic shellfish toxins (DSP).

Toxicon , 38 , 1833-1844, 2000

Luu HA; Chen DZ; Magoon J; Worms J; Smith J; Holmes CF

Quantification of diarrhetic shellfish toxins and identification of novel protein phosphatase inhibitors in marine phytoplankton and mussels.

Toxicon , 31 , 75-83, 1993

Mountfort DO; Kennedy G; Garthwaite I; Quilliam M; Truman P; Hannah DJ

Evaluation of the fluorometric protein phosphatase inhibition assay in the determination of okadaic acid in mussels.

Toxicon , 37(6) , 909-922, 1999

Mountfort DO; Suzuki T; Truman P

Protein phosphatase inhibition assay adapted for determination of total DSP in contaminated mussels.

Toxicon , 39(2-3) , 383-390, 2000

Nunez PE; Scoging AC

Comparison of a protein phosphatase inhibition assay, HPLC assay and enzyme-linked immunosorbent assay with the mouse bioassay for the detection of diarrhetic shellfish poisoning toxins in European shellfish.

International journal of food microbiology , 36(1) , 39-48, 1997

Perry NB; Ellis G; Blunt JW; Haysteadt TAJ; Lake RJ; Munro MHG

Okadaic acid in New Zealand sponges: detection by cytotoxicity, protein phosphatase inhibition and immunoassay techniques.

Natural product letters , 11(4) , 305-312, 1998

Pouchus YF; Dauvergne S; Morel D; Mondeguer F; Marcaillou-Lebaut C; Amzil Z; Verbist JF

Combined use of analytical high-performance liquid chromatography and cell morphology transformation assay to detect new protein phosphatase inhibitors of okadaic acid type.

Toxicon , 36(2) , 383-389, 1998

Quilliam MA

Committee on natural toxins - phycotoxins.

Journal of AOAC International , 82(3) , 773-781, 1999

Quilliam MA

Committee on natural toxins and food allergens - phycotoxins.
Journal of AOAC International , 84(1) , 194-201, 2001

Quilliam MA

Committee on natural toxins. Phycotoxins.
Journal of AOAC International , 83 , 449-454, 2000

Quilliam MA

Analysis of diarrhetic shellfish poisoning toxins in shellfish tissue by liquid chromatography with fluorometric and mass spectrometric detection.
Journal of AOAC International , 78(2) , 555-570, 1995

Ramstad H; Hovgaard P; Yasumoto T; Larsen S; Aune T

Monthly variations in diarrhetic toxins and yessotoxin in shellfish from coast to the inner part of the Sognefjord, Norway.
Toxicon , 39(7) , 1035-1043, 2001

Roberts TA (Ed.); Baird-Parker AC (Ed.); Tompkin RB (Ed.)

Seafood toxins of microbiological origin. In: Microorganisms in foods - 5. Microbiological specifications of food pathogens. Blackie academic & professional, London, Weinheim, New York, 265-279, 1996

Shaw G; Smith M

Algal analysis - organisms and toxins. In: Handbook of water analysis. 102 , 143-167, 2000

Shimizu Y; Kinoshita M; Ooi F

Highly sensitive, non radioactive assays for protein phosphatase 1 and protein phosphatase 2a. In: Proceedings of the VIIIth International Conference on Harmful Algae, 25-29 July, Vigo, Spain. 183, 1997

Simon JF; Vernoux JP

Highly sensitive assay of okadaic acid using protein phosphatase and para-nitrophenyl phosphate.
Natural toxins , 2 , 293-301, 1994

Tagmouti-Talha F; Moutaouakkil A; Taib N; Mikou A; Talbi M; Fellat-Zerrouk K;
Blaghen M

Detection of paralytic and diarrhetic shellfish toxins in Moroccan cockles (*Acanthocardia tuberculata*).
Bulletin of environmental contamination and toxicology , 65(6) , 707-716, 2000

Takai A; Mieskes G

Inhibitory effect of okadaic acid on the p-nitrophenyl phosphate phosphatase activity of protein phosphatases.
Biochemical journal , 275 , 233-239, 1991

Tubaro A; Florio C; Luxich E; Della Loggia R; Yasumoto T

A protein phosphatase 2A inhibition assay for a fast and sensitive assessment of okadaic acid contamination in mussels.
Toxicon , 34 , 743-752, 1996

Vieytes MR; Fontal OI; Leira F; Sousa JBMV de; Botana LM
A fluorescent microplate assay for diarrheic shellfish toxins.
Analytical biochemistry , 248 , 258-264, 1997

Yasumoto T; Fukui M; Sasaki K; Sugiyama K
Determinations of marine toxins in foods.
Journal of AOAC International , 78(2) , 574-582, 1995

Ligand-Rezeptor-Bindungstests - Literaturverzeichnis (5)

Baden DG; Adams DJ

Brevetoxins: chemistry, mechanism of action and methods of detection.
Food science and technology , 103 , 505-532, 2000

Baden DG; Sechet VM; rein KS; Edwards RA

Methods for detecting brevetoxins in seawater, in biological matrices and on excitable membranes.
Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique , 85(5 pt 2) , 516-518, 1992

Catterall WA

The voltage sensitive sodium channel: a receptor for multiple neurotoxins. In: Anderson DM (Ed.): Toxic dinoflagellates. Elsevier, New York , 329-342, 1985

Curtis KM; Trainer VL; Shumway SE

Paralytic shellfish toxins in geoduck clams (*Panope abrupta*): variability, anatomical distribution and comparison of two toxin detection methods.
Journal of shellfish research , 19(1) , 199-205, 2000

Davio SR; Fontelo PA

A competitive displacement assay to detect saxitoxin and tetrodotoxin.
Analytical biochemistry , 141 , 199-204, 1984

Dechraoui MY; Naar J; Pauillac S; Legrand AM

Ciguatoxins and brevetoxins, neurotoxic polyether compounds active on sodium channels.
Toxicon , 37(1) , 125-143, 1999

Dolah FM van; Finley EL; Haynes BL; Doucette GJ; Moeller PD; Ramsdell JS

Development of rapid and sensitive high throughput pharmacological assays for marine phyco toxins.
Natural toxins , 2(4) , 189-196, 1994

Doucette GJ; Logan MM; Ramsdell JS; Dolah FM van

Development and preliminary validation of a microtiter plate-based receptor binding assay for paralytic shellfish poisoning toxins.
Toxicon , 35(3) , 625-636, 1997

Egmond HP van; Mourino A; Burdaspal PA; Boenke A; Alvito P; Arevalo F; Botana-Lopez LM; Bustos J; Dietrich R; Donald M; Soler JMF; Martinez AG; Hald B; Helle N; Hummert C; Ledoux M; Legarda T; Luckas B; Mese go A; Paulsch WE; Rodriguez-Vieytes M; Salgado C; Stockemer J; Usleber E; Top HJ van den; Walther L; Winkler F

Development of reference materials for paralytic shellfish poisoning toxins.
Journal of AOAC International , 84(5) , 1668-1676, 2001

Garthwaite I

Keeping shellfish safe to eat: a brief review of shellfish toxins and methods for their detection.
Trends in food science & technology , 11(7) , 235-444, 2000

Gupta V; Ogawa A; Du X; Houk K; Armstrong RW
A model for binding of structurally diverse natural product inhibitors of protein phosphatases PP1 and PP2A.

Journal of medicinal chemistry , 40(20) , 3199-3206, 1997

Gusovsky F; Daly JW

Maitotoxin: a unique pharmacological tool for research on calcium-dependent mechanisms.
Biochemical pharmacology , 39 , 1633-1639, 1990

Hall S; Strichartz G; Moczydlowski E; Ravindran A; Reichardt PB

The saxitoxins - sources, chemistry, and pharmacology.

ACS (American Chemical Society) symposium series , 418 , 29-65, 1990

Hannah DJ; Till DG; Truman P

Phycotoxins - a review of chemical and biological methods of analysis. In: M Miraglia, HP VanEgmond, C Brera, J Gilbert (Eds.): Mycotoxins and phycotoxins - developments in chemistry, toxicology and food safety. 425-439, 1998

Konoki K; Sugiyama N; Murata M; Tachibana K

Direct observation of binding between biotinylated okadaic acids and protein phosphatase 2A monitored by surface plasmon resonance.

Tetrahedron letters , 40(5) , 887-890, 1999

Laidley CW; Cohen E; Casida JE

Protein phosphatase in neuroblastoma cells: (3H)cantharidin binding site in relation to cytotoxicity.

Journal of pharmacology and experimental therapeutics , 280(3) , 1152-1158, 1997

Laycock MV; Ayer SW; Bilodeau M; Gagne JP; Hsiao S; Jellett JF

Detection and quantification of toxic algae and toxins.

Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences , 1893 , 81-90, 1992

Lefebvre KA; Powell CL; Busman M; Doucette GJ; Moeller PD; Silver JB; Miller PE; Hughes MP; Singaram S; Silver MW; Tjeerdema RS

Detection of domoic acid in northern anchovy and California sea lions associated with an unusual mortality event.

Natural toxins , 7(3) , 85-92, 1999

Llewellyn LE; Doyle J; Jellett J; Barrett R; Alison C; Quilliam M

Measurement of paralytic shellfish toxins in molluscan extracts: comparison of the microtitre plate saxiphilin and sodium channel radioreceptor assays with mouse bioassay, HPLC analysis and a commercially available cell culture assay.

Food additives and contaminants , 18(11) , 970-980, 2001

Llewellyn LE; Doyle J

Microtitre plate assay for paralytic shellfish toxins using saxiphilin: gauging the effects of shellfish extract matrices, salts and pH upon assay performance.

Toxicon , 39(2-3) , 217-224, 2000

Naseem SM; Creasia DA

Comparative binding and toxicity of saxitoxin and saxitoxinol in mice and in cultured cells.

Biochemistry and molecular biology international , 41(2) , 377-388, 1997

Negri A; Llewellyn L

Comparative analyses by HPLC and the sodium channel and saxiphilin 3H-saxitoxin receptor assays for paralytic shellfish toxins in crustaceans and molluscs from tropical North West Australia.

Toxicol , 36(2) , 283-298, 1998

Parsons ML; Scholin CA; Doucette GJ; Fryxell GA; Dortch Q; Soniat TM

Pseudo-nitzschia in Louisiana coastal waters: molecular probe field trials.

Journal of phycology , 34(Suppl 3) , 45, 1998

Powell CL; Doucette GJ

A receptor binding assay for paralytic shellfish poisoning toxins: recent advances and applications.

Natural toxins , 7(6) , 393-400, 1999

Quilliam MA

Seafood toxins.

Journal of AOAC International , 78(1) , 144-148, 1995

Quilliam MA

Committee on natural toxins - phycotoxins.

Journal of AOAC International , 82(3) , 773-781, 1999

Quilliam MA

Committee on natural toxins. Phycotoxins.

Journal of AOAC International , 83 , 449-454, 2000

Shaw G; Smith M

Algal analysis - organisms and toxins. In: Handbook of water analysis. 102 , 143-167, 2000

Top HJ van den; Boenke A; Burdaspal PA; Bustos J; Egmond HP van; Legarda T; Mesego A; Mourino A; Paulsch WE; Salgado C

The development of reference materials for paralytic shellfish poisoning toxins in lyophilized mussel. I: Interlaboratory studies of methods of analysis.

Food additives and contaminants , 17(6) , 419-433, 2000

Trainer VL; Baden DG; Catterall WA

Detection of marine toxins using reconstituted sodium channels.

Journal of AOAC International , 78(2) , 570-573, 1995

Whitney PL; Baden DG

Complex association and dissociation kinetics of brevetoxin binding to voltage-sensitive rat brain sodium channels.

Natural toxins , 4 , 261-270, 1996

Whitney PL; Delgado JA; Baden DG

Complex behavior of marine animal tissue extracts in the competitive binding assay of brevetoxins with rat brain synaptosomes.

Natural toxins , 5(5) , 193-200, 1997

Yasumoto T; Fukui M; Sasaki K; Sugiyama K
Determinations of marine toxins in foods.
Journal of AOAC International , 78(2) , 574-582, 1995

Zellkulturtests - Literaturverzeichnis (6)

Baden DG; Adams DJ

Brevetoxins: chemistry, mechanism of action and methods of detection.

Food science and technology , 103 , 505-532, 2000

Beani L; Bianchi C; Guerrini F; Marani L; Pistocchi R; Tomasini MC; Ceredi A; Milandri A; Poletti R; Boni L

High sensitivity bioassay of paralytic (PSP) and amnesic (ASP) algal toxins based on the fluorimetric detection of Ca²⁺ (i) in rat cortical primary cultures.

Toxicol , 38(9) , 1283-1297, 2000

Catterall WA

The voltage sensitive sodium channel: a receptor for multiple neurotoxins. In: Anderson DM (Ed.): Toxic dinoflagellates.

Elsevier, New York , 329-342, 1985

Croci L; Cozzi L; Stacchini A; Medici D de; Toti L

A rapid tissue culture assay for the detection of okadaic acid and related compounds in mussels.

Toxicol , 35(2) , 223-230, 1997

Croci L; Stacchini A; Cozzi L; Ciccaglioni G; Mazzei F; Botre F; Toti L

Evaluation of rapid methods for the determination of okadaic acid in mussels.

Journal of applied microbiology , 90(1) , 73-77, 2001

Dechraoui MY; Naar J; Pauillac S; Legrand AM

Ciguatoxins and brevetoxins, neurotoxic polyether compounds active on sodium channels.

Toxicol , 37(1) , 125-143, 1999

Dickey R; Jester E; Granade R; Mowdy D; Moncreiff C; Rebarchik D; Robl M; Musser S; Poli M

Monitoring brevetoxins during a *Gymnodinium breve* red tide: comparison of sodium channel specific cytotoxicity assay and mouse bioassay for determination of neurotoxic shellfish toxins in shellfish extracts.

Natural toxins , 7(4) , 157-165, 1999

Diogene G; Fessard V; Ammar M; Dubreuil A; Puisieux-Dao S

Evaluation of cytotoxic responses to maitotoxin extract and okadaic acid. In: P Lassus, G Arzul, P Gentien, C Marcallou (Ed.): Harmful marine algal blooms. 285-289, 1995

Draisci R; Lucentini L; Giannetti L; Boria P; Stamatii A; Nardelli F; Zampaglioni F; Zucco F

Cytotoxic activity of new diarrhoeic shellfish toxins isolated from Italian mussels. In: M Miraglia, HP van Egmond, C Brera, J Gilbert (Eds.): Mycotoxins and phycotoxins - developments in chemistry, toxicology and food safety. 591-600, 1998

Egmond HP van; Mourino A; Burdaspal PA; Boenke A; Alvito P; Arevalo F; Botana-Lopez LM; Bustos J; Dietrich R; Donald M; Soler JMF; Martinez AG; Hald B; Helle N; Hummert C; Ledoux M; Legarda T; Luckas B; Mese go A; Paulsch WE; Rodriguez-Vieytes M; Salgado C; Stockemer J; Usleber E; Top HJ van den; Walther L; Winkler F

Development of reference materials for paralytic shellfish poisoning toxins.
Journal of AOAC International , 84(5) , 1668-1676, 2001

Fairey ER; Ramsdell JS

Reporter gene assays for algal-derived toxins.
Natural toxins , 7/6 , 415-421, 1999

Fairey ER; Dechraoui MYB; Sheets MF; Ramsdell JS

Modification of the cell based assay for brevetoxins using human cardiac voltage dependent sodium channels expressed in HEK-293 cells.
Biosensors and bioelectronics , 16(7-8) , 579-586, 2001

Fladmark KE; Serres MH; Larsen NL; Yasumoto T; Aune T; Doskeland SO

Sensitive detection of apoptogenic toxins in suspension cultures of rat and salmon hepatocytes.
Toxicol , 36 , 1101-1114, 1998

Flanagan AF; Callanan KR; Donlon J; Palmer R; Forde A; Kane M

A cytotoxicity assay for the detection and differentiation of two families of shellfish toxins.
Toxicol , 39(7) , 1021-1027, 2001

Gallacher S; Birkbeck TH

A tissue culture assay for direct detection of sodium channel blocking toxins in bacterial culture supernates.
FEMS microbiology letters , 92 , 101-108, 1992

Gallacher S; Flynn KJ; Franco JM; Brueggemann EE; Hines HB

Evidence for production of paralytic shellfish toxins by bacteria associated with Alexandrium spp. (Dinophyta) in culture.
Applied and environmental microbiology , 63(1) , 239-245, 1997

Garthwaite I

Keeping shellfish safe to eat: a brief review of shellfish toxins and methods for their detection.
Trends in food science & technology , 11(7) , 235-444, 2000

Garthwaite I; Ross KM; Poli M; Towers NR

Comparison of immunoassay, cellular and classical mouse bioassay methods for detection of neurotoxic shellfish toxins.
ACS (American Chemical Society) Symposium Series , 621 , 404-412, 1996

Hall S; Strichartz G; Moczydlowski E; Ravindran A; Reichardt PB

The saxitoxins - sources, chemistry, and pharmacology.
ACS (American Chemical Society) symposium series , 418 , 29-65, 1990

Hamasaki K; Kogure K; Ohwada K

A biological method for the quantitative measurement of tetrodotoxin (TTX): tissue culture bioassay in combination with a water-soluble tetrazolium salt.

Toxicol , 34(4) , 490-495, 1996

Hannah DJ; Till DG; Truman P

Phycotoxins - a review of chemical and biological methods of analysis. In: M Miraglia, HP VanEgmond, C Brera, J Gilbert (Eds.): Mycotoxins and phycotoxins - developments in chemistry, toxicology and food safety. 425-439, 1998

Harada KI; Kondo F; Lawton L

Laboratory analysis of cyanotoxins.

Toxic cyanobacteria water , 369-405, 1999

Helrich KC (Ed.)

Paralytic shellfish poison: biological method - final action.

AOAC official methods of analysis , 2 , 881-882, 1990

James KJ; Bishop AG; Carmody EP; Kelly SS

Detection methods for okadaic acid and analogues.

Food science and technology , 103 , 217-238, 2000

Jellett JF; Stewart JE; Laycock MV

Toxicological evaluation of saxitoxin, neosaxitoxin, gonyautoxin II, gonyautoxin II plus III and decarbamoylsaxitoxin with the mouse neuroblastoma cell bioassay.

Toxicology in vitro , 9(1) , 57-65, 1995

Jellett JF; Marks LJ; Stewart JE; Dorey ML; Watson-Wright W; Lawrence JF

Paralytic shellfish poison (saxitoxin family) bioassays: automated endpoint determination and standardization of the in vitro tissue culture bioassay and comparison with the standard mouse bioassay.

Toxicol , 30(10) , 1143-1156, 1992

Jellett JF; Doucette LI; Belland ER

The MIST shipable cell bioassay kits for PSP: an alternative to the mouse bioassay.

Journal of shellfish research , 17(5) , 1653-1655, 1998

Kasuga F

Cell bioassay - a trial to develop new assay system for paralytic shellfish poisoning toxins (PSPs) and ciguatoxins, and comparison with other newly developed assays for PSPs.

Maikotokokishin (Tokyo) , 48 , 19-23, 1999

Kogure K; Tamplin ML; Simidu U; Colwell RR

A tissue culture assay for tetrodotoxin, saxitoxin and related toxins.

Toxicol , 26(2) , 191-197, 1988

Laycock MV; Ayer SW; Bilodeau M; Gagne JP; Hsiao S; Jellett JF

Detection and quantification of toxic algae and toxins.

Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences , 1893 , 81-90, 1992

- Llewellyn LE; Doyle J; Jellett J; Barrett R; Alison C; Quilliam M
Measurement of paralytic shellfish toxins in molluscan extracts: comparison of the microtitre plate saxiphilin and sodium channel radioreceptor assays with mouse bioassay, HPLC analysis and a commercially available cell culture assay.
Food additives and contaminants , 18(11) , 970-980, 2001
- Louzao MC; Vieytes MR; Baptista de Sousa JM; Leira F; Botana LM
A fluorimetric method based on changes in membrane potential for screening paralytic shellfish toxins in mussels.
Analytical biochemistry , 289 , 246-250, 2001
- Manger RI; Leja LS; Lee SY; Hungerford JM; Wekell MM
Cell bioassay for the detection of ciguatoxins, brevetoxins and saxitoxins. International workshop on ciguatera management, Bribie Island, Queensland, Australia, April 12-16, 1993.
Memoirs of the Queensland Museum , 34(3) , 571-575, 1994
- Manger RL; Leja LS; Lee SY; Hungerford JM; Wekell MM
Tetrazolium-based cell bioassay for neurotoxins active on voltage-sensitive sodium channels: semiautomated assay for saxitoxins, brevetoxins and ciguatoxins.
Analytical biochemistry , 214(1) , 190-194, 1993
- Manger RL; Leja LS; Lee SY; Hungerford JM; Wekell MM
Cell bioassay of neurotoxins. Patent: US 5858687A, 12 January, 1999, cont. in part of US 5420011. 1999
- Manger RL; Leja LS; Lee SY; Hungerford JM; Hokama Y; Dickey RW; Granade HR; Lewis R; Yasumoto T; Wekell MM
Detection of sodium channel toxins: directed cytotoxicity assays of purified ciguatoxins, brevetoxins, saxitoxins and seafood extracts.
Journal of AOAC International , 78(2) , 521-527, 1995
- Oteri G; Stamatii A; Zampaglioni F; Zucco F
Evaluation of the use of two human cell lines for okadaic acid and DTX-1 determination by cytotoxicity assays and damage characterization.
Natural toxins , 6(5) , 197-209, 1998
- Pompon A; Chungue E; Chazelet I; Bagnis R
Ciguatera: a rapid, simple and reliable method for detecting ciguatoxin.
Bulletin of the World Health Organization , 62(4) , 639-645, 1984
- Quilliam MA
Committee on natural toxins - phycotoxins.
Journal of AOAC International , 82(3) , 773-781, 1999
- Quilliam MA
Committee on natural toxins and food allergens - phycotoxins.
Journal of AOAC International , 84(1) , 194-201, 2001
- Shaw G; Smith M
Algal analysis - organisms and toxins. In: Handbook of water analysis. 102 , 143-167, 2000

Shimojo RY; Iwaoka WT

A rapid hemolysis assay for the detection of sodium channel-specific marine toxins.
Toxicology , 154(1-3) , 1-7, 2000

Tan LT; Okino T; Gerwick WH

Hermitamides A and B, toxic malyngamide-type natural products from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*.
Journal of natural products , 63 , 952-955, 2000

Top HJ van den; Boenke A; Burdaspal PA; Bustos J; Egmond HP van; Legarda T; Mesego A; Mourino A; Paulsch WE; Salgado C

The development of reference materials for paralytic shellfish poisoning toxins in lyophilized mussel. I: Interlaboratory studies of methods of analysis.
Food additives and contaminants , 17(6) , 419-433, 2000

Truman P; Lake RJ

Comparison of mouse bioassay and sodium channel cytotoxicity assay for detecting paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish extracts.
Journal of AOAC International , 79(5) , 1130-1133, 1996

Tubaro A; Florio C; Luxich E; Vertura R; Della Loggia R; Yasumoto T

Suitability of the MTT-based cytotoxicity assay to detect okadaic acid contamination of mussels.
Toxicon , 34 , 965-974, 1996

Velez P; Sierralta J; Alcayaga C; Fonseca M; Loyola H; Johns DC; Tomaselli GF; Marban E; Suarez-Isla BA

A functional assay for paralytic shellfish toxins that uses recombinant sodium channels.
Toxicon , 39(7) , 929-935, 2001