

Einar Dahl, Tore Aune\*, Karl Tangen\*\*, Tonje Castberg, Eli Gustad, Lars Naustvoll, John Aasen\*, Lai Nguyen\* og Johanne Arff\*\*

**De siste årene har vi fått betydelig mer kunnskap om, og erfaringer med, giftige planktonalger i norske farvann. Det skyldes ikke minst et strategisk instituttprogram (SIP), finansiert av Norges forskningsråd, med tittelen ”Marine algal toxins, ecology, analysis and toxicology”. Dette startet i 2000 og avsluttes i 2004, og her oppsummeres viktige resultater fram til nå.**

I programmet samarbeider Norges veterinærhøgskole, Veterinærinstituttet og Havforskningsinstituttet om 1) utvikling av analysemetoder for algegifter, deriblant immunologiske metoder (ELISA-metoder) for enklere påvisning av gifter, 2) isolering og identifisering av nye algegifter, 3) studier av forekomst og økologi til giftige alger, inkludert variabilitet i giftighet, og 4) toksikologiske og patologiske studier av relevante algegifter. Også gjennom den løpende overvåkingen av algegifter i skjell langs kysten, i regi av Statens næringsmiddeltilsyn (SNT) (fra 2004 Mattilsynet), får vi stadig ny kunnskap om gifalger. Mattilsynet baserer seg nå på bruk av kjemiske metoder for påvisning av algegifter. Figur 7.7.1 viser en samlet oversikt over SNTs kostholdsråd for 2003. Norske institusjoners egen overvåking og forskning på algegifter, og kontakt med utenlandske forskningsmiljøer, er også viktig for å bygge opp mer kunnskap om gifalger.

#### Ny kunnskap de siste årene

Denne korte gjennomgangen av ny kunnskap omfatter både nytt om de ”klassiske” problemene og informasjon om nye giftproblemer. Algegifter er kjemisk sett en svært uensartet gruppe. De siste årene har man delvis gått over fra å analysere algegifter ved hjelp av musetester til å bruke kjemiske analyser. Dette har resultert i at vi har fått mye ny kunnskap om algegifter. Disse kjemiske testene involverer i hovedsak bruk av høytrykks-væskekromatografi (HPLC), ofte i kombinasjon med massespektrometri (LC-MS) og immunologiske metoder (ELISA-metoder). Vi gjennomgår her ulike grupper av algegifter, gamle kjente og nye, og fokuserer på den nye kunnskapen vi har fått i løpet av de siste årene.

#### Lammende (paralyserende) gifter (PSP-gifter)

De siste års systematiske overvåking har bekreftet at alger med lammende gifter forekommer langs hele kysten, fra

svenskegrensen til grensen mot Russland. Forgiftningsfare ved konsum av skjell kan ikke utelukkes noen tid på året. I 2003 var den imidlertid størst i april–juni i Sør-Norge og i mai–august i Nord-Norge (Figur 7.7.1), et mønster vi også har sett andre år. Arter av slekten *Alexandrium* er de viktigste potensielle kildene til PSP-gift i skjell, men disse kan ha varierende grad av giftighet. Arten *A. ostenfeldii* synes å være mindre giftig enn artene *A. tamarense* og *A. minutum*. Også innen en og samme art synes giftighetsgraden å variere, og det er mulig at vi i Norge kan ha en nord-sør gradient i giftighet av *Alexandrium*, med mest giftighet per celle i nord. I mai 2003 akkumulerte skjellene langs kysten av Skagerrak relativt mye PSP-toksiner, selv om bare få *Alexandrium*-celler ble registrert i sjøen. Fra andre land er det kjent at bakterier kan være kilde til PSP-toksiner i skjell, og dette er noe som bør undersøkes nærmere også for norske forhold.

Problemene med paralytiske gifter i skjell kan variere mye fra sted til sted og også mellom år på samme lokalitet. De siste årene sett under ett har imidlertid ikke problemene med PSP-gifter vært spesielt store. Bruk av kjemiske metoder har avdekket at det klassiske saxitoksinet er vanligste PSP-gift i norske skjell, men flere andre av de mer enn 20 forskjellige lammende giftene som er kjent finnes også i mindre mengder.

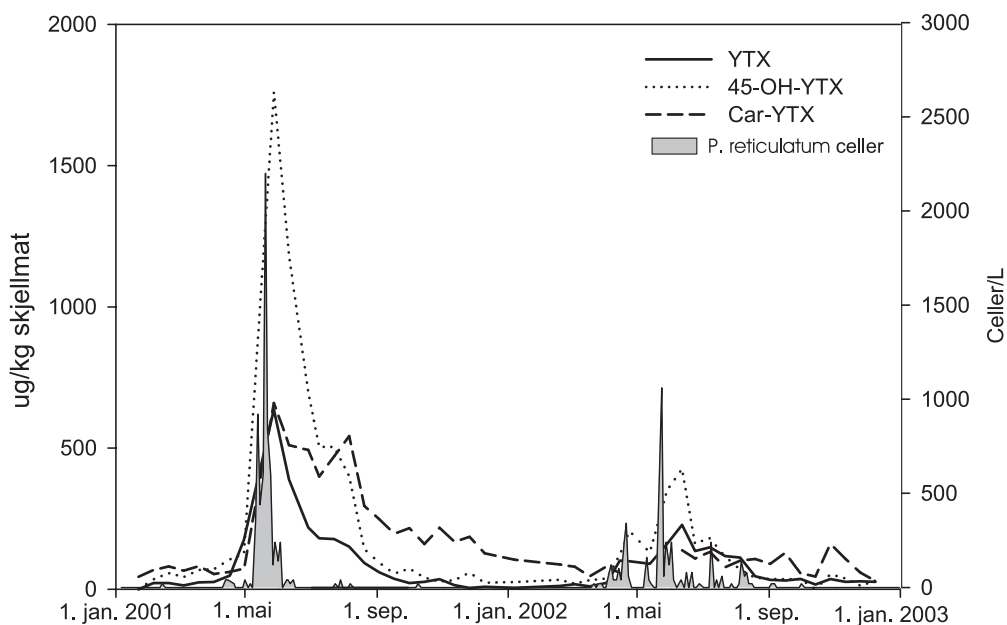
#### Diarégivende gifter (DSP-gifter)

Inntil for få år siden ble yessotoksiner og pectenotoksiner inkludert i de diarégivende giftene fordi de blir fanget opp med den samme musetesten. Nå regner vi bare okadasyre med dens derivater til de diarégivende giftene. Dinoflagellaten *Dinophysis acuta* er en sannsynlig kilde til DSP-gifter i skjell, og faregrensen for denne algen er blitt skjerpet. Problemet med diarégifter i skjell fører til de fleste høsteforbud av skjell gjennom året (Figur 7.7.1). I løpet av de siste fem årene er betydelige mengder *Dinophysis* og også diarégifter i skjell påvist helt nord i Finnmark. Det kan derved synes som om problemet med *Dinophysis* og DSP-gifter har bredt seg nordover, men fortsatt er skjell fra Skagerrak og de indre deler av fjorder på Vestlandet hyppigst og mest giftige. DSP-gifter kan transporteres i næringskjeden, slik at organismer som beiter på blåskjell kan oppkonsentrere disse giftene. Dette var tilfellet sommeren 2002, da taskekrabbe langs kysten av Skagerrak oppkonsentrerte diarégifter i slike

\* Norges veterinærhøgskole, Institutt for mattrygghet og infeksjonsbiologi

\*\* OCEANOR





**Figur 7.7.2**

Sammenhengen mellom forekomst av *Protoceratium reticulatum* (celler  $l^{-1}$ ) i sjøen og ulike yessotoksiner (YTX, 45-OH-YTX, Car-YTX) i blåskjell ( $\mu\text{g kg}^{-1}$  skjellmat). Data fra Flødevigen i 2001 og 2002.

*Relationship between occurrence of *Protoceratium reticulatum* (cells  $l^{-1}$ ) in the sea and yessotoxins (YTX, 45-OH-YTX, Car-YTX) in mussel meat ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). Data from southern coast of Norway, Flødevigen Bay, 2001 and 2002.*

mengder at noen personer ble syke etter krabbekonsum. Episoden førte til at SNT i 2003 igangsatte en overvåkning av algegifter i krabbe. Imidlertid ble det da bare funnet spormengder av DSP-gifter i krabber, og det var ingen risiko for forgiftninger ved krabbekonsum i 2003. Fra 2000 av har kjemiske metoder vært brukt av Veterinærhøgskolen for påvisning av diarégivende gifter i overvåknings- og rådgivningssammenheng.

### Yessotoksiner (YTX-gifter)

Vi vet nå at dinoflagellaten *Protoceratium reticulatum* er en viktig kildeorganisme til disse giftene (Figur 7.7.2), og det pågår en kartlegging av hvorvidt andre arter også kan produsere denne giften. Norsk forskning har vært banebrytende for kunnskap om giftigheten av YTX-gifter, og bidratt sterkt til å utvikle pålitelige kjemiske påvisningsmetoder. Man kjenner ikke til forgiftninger av mennesker av YTX-gifter, men i dyreforsøk har de i høye doser skadet hjertemuskelen. Ny kunnskap har ført til at faregrensen for disse giftene er hevet betraktelig. For tiden analyseres alle skjellpartier for salg både med kjemisk metode og musetest, og den nye grenseverdien overskrides meget sjelden. Det har ført til at YTX-gifter, som for bare få år siden gav positive utslag på musetester for DSP-gifter og derved ofte bidro til høsteforbud, i dag knapt er årsak til høsteforbud av skjell i Norge.

### Pectenotoksiner (PTX-gifter)

Kunnskapen om PTX-gifter er relativt begrenset, men samtidig synes også problemet med slike gifter i skjell å ha lite omfang her i landet. I Norge hadde vi en episode med PTX-gifter i skjell i Trøndelag vinteren 2002. En samtidig og forholdsvis stor forekomst av dinoflagellaten *Dinophysis acuta* i området indikerte at den kunne være kildeorganismen. Senere har bruk av kjemiske analysemetoder for PTX-gifter bekreftet at *D. acuta* kan inneholde disse. Nye forskningsdata, som ble framlagt under en konferanse i New Zealand i november 2003, indikerer at både PTX- og YTX-gifter er lite potente overfor mennesker. I dyreforsøk er det vist at PTX-gifter gir skade på leveren i høye doser.

### Gifter som kan gi hukommelsestap (ASP-gifter)

De siste årene har ASP-gifter nesten årvisst ført til perioder med høsteforbud av kamskjell i Skottland. Den viktigste ASP-giften ble tidlig identifisert som en aminosyre, domoinsyre. Det er særlig arter innen kiselalgeslekten *Pseudo-nitzschia*, som er vanlig langs vår kyst, som kan inneholde ASP-gifter. For fem år siden ble musetesten for PSP-gifter også brukt for å identifisere ASP-gifter i skjell, ved å forlenge observasjonstiden. Imidlertid var følsomheten så lav at man kun observerte eventuelle ASP-gifter fra ca. to ganger grenseverdien for menneskelig konsum. En analytisk metode for ASP-giftene er nå heldigvis utviklet og internasjonalt

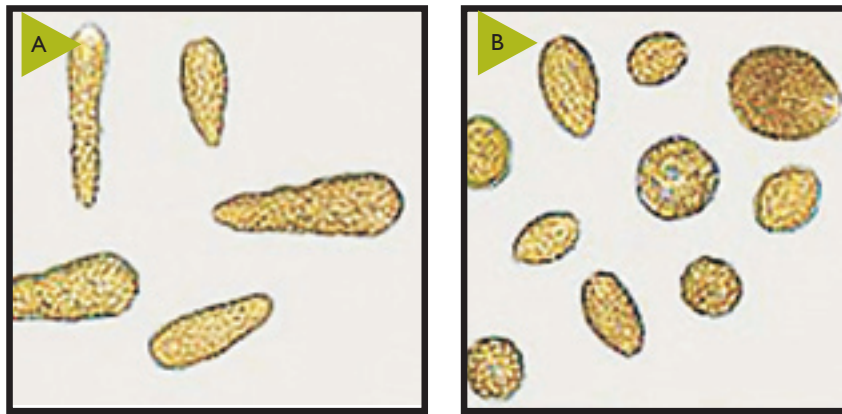


Foto: Lars-Johan Naustvoll

**Figur 7.7.3**

Ulike former av *Chattonella* aff. *verruculosa* i kultur. A. Typiske avlange celler under optimale betingelser, B. Runde og ovale former under sub-optimale betingelser.  
*Chattonella* aff. *verruculosa* in culture. A. Common elongated cells growing under optimum conditions, B. Round and oval cell morphology under sub-optimum conditions.

godkjent. Ved Norges veterinærhøgskole har ASP-gifter i både blåskjell og kamskjell langs kysten vært overvåket med denne metoden fra 2001. Dette har avdekket at giften finnes både i kamskjell og blåskjell langs vår kyst, men bare ved et par anledninger har nivået vært så høyt at man har gått ut med kostholdsråd. Det siste tilfellet var ved Molde i juni 2003, da blåskjell fikk et relativt høyt innhold av ASP-gifter under en oppblomstring av *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* (Figur 7.7.1). Disse episodene har vært lokale og kortvarige, men indikerer at vi har en potensiell forgiftningsfare fra ASP-gifter ved konsum av skjell også langs vår kyst.

### Azaspiracider (AZA-gifter)

Forgiftning med AZA-gifter etter konsum av skjell ble første gang registrert på vestkysten av Irland tidlig på 1990-tallet. Symptomene ligner dem en får av diarégivende gifter (DSP-gifter), men symptomene kan vare lenger, og i dyreforsøk har de i høye doser gitt en rekke skadeeffekter på andre organer. Det tok noen år før man identifiserte giftstoffene. Fortsatt er det vanskelig å få tak i standardmateriale slik at pålitelige kjemisk analyser (LC-MS analyser) kan utføres. Kolleger fra Irland har tidligere hjulpet oss å se etter AZA-gifter i norske skjell, og små mengder er blitt påvist. Fra 2002 har vi hatt egen overvåkning av AZA-gifter i skjell, og i 2003 påviste vi for første gang verdier over faregrenser for forgiftninger (Figur 7.7.1). Det skjedde både helt i syd og i nord, og førte til høsteforbud for enkelte skjelldyrkere. Om dette er et problem som vil tilta, kan bare tiden vise. I Irland har AZA-gifter i skjellene vært et nokså stort problem enkelte år. Giften kommer gjerne sent på året, og kan bli værende i skjellene gjennom mye av vinteren. Ulike arter av dinoflagellatslekten *Protoperdinium* har vært pekt på som kildeorganismer, men foreløpig er dokumentasjonen sparsom.

### Spirolider

Spirolider er en relativt ny algegiftgruppe som først ble påvist i Canada midt på 1990-tallet. De er assosiert med oppblomstring

av algen *Alexandrium ostenfeldii*. Gifter fra denne gruppen er i Norge blitt påvist i skjell og alger fra indre del av Sognefjorden i 2002/2003. *A. ostenfeldii* er relativt vanlig på kysten og i fjordene, men store oppblomstringer er ikke kjent. I Norge er det påvist spirolider i skjell ved ganske små konsentrasjoner av *A. ostenfeldii*. Det er foreløpig ikke nok datagrunnlag for fastsettelse av faregrenser, og det er indikasjoner på at algen bare er giftig i en spesiell morfotype eller et spesielt cellestadium. Man kjenner ikke den eventuelle helserisikoen av spirolider overfor mennesker. Det er et nært samarbeid med kolleger i Canada for å bedre kunnskapen om spirolider.

### Fiskegifter (ichthyotoksiner)

De fem siste årene har problemene med store algeoppblomstringer som dreper fisk vært relativt små langs vår kyst. De klassiske problemalgene og -slektene *Karenia mikimotoi* (tidligere navn *Gyrodinium aureolum*), *Chrysochromulina* og *Prymnesium* har ikke dannet store oppblomstringer. Unntakene er noen episoder av fiskedød i Nord-Norge, som kan ha vært forårsaket av mer lokale og kortvarige forekomster av *Chrysochromulina leadbeateri*.

Derimot har vi hatt oppblomstringer av *Chattonella*, som er en forholdsvis ny problemalge i norske farvann. *Chattonella* har etablert seg i Skagerrak og Kattgat, hvor den blir observert i perioden fra januar til mai hvert år i varierende tetthet. I Skagerrakregionen har det vært tre større oppblomstringer, i 1998, 2000 og 2001. Analyser av disse tre oppblomstringsforløpene er blitt gjort gjennom EU-prosjektet HABILE, der Havforskningsinstituttet samarbeider med forskningsmiljø i Danmark og Sverige. Et annet samarbeidsprosjekt, organisert av Havforskningsinstituttet, er finansiert av Norges forskningsråd og har fått fram kunnskap om artens biologi og systematiske tilhørighet. Resultatene av avanserte taksonomiske studier, utført av kolleger ved Universitetet i Oslo, viser at *Chattonella* aff. *verruculosa*, som opptrådte i 2001, skiller seg så klart fra *Chattonella*-slekten at

den ikke hører hjemme der, men bør gis en annen plassering i det taksonomiske system. Hvorvidt andre *Chattonella*-arter også bør flyttes, er uvisst. *Chattonella* aff. *verruculosa* er en typisk kystart med vid toleranse for ulike saltholdigheter, men med optimal vekst i saltholdigheter fra 20 til 33. Arten er tilpasset kaldt vann, og vokser best ved temperaturer mellom 5 og 10 °C. Det har vist seg at utseendet til arten varierer mye. Avlange, store celler dominerer ved optimale betingelser, og runde og ovale ved sub-optimale betingelser (Figur 7.7.3). Resultater fra undersøkelser av sedimentprøver i etterkant av oppblomstringen i 2001 tyder på at arten har hvilestadier i sedimentet. Disse hvilestadiene kan være utgangspunkt for nye oppblomstringer. De videre undersøkelsene vil ta for seg betydningen av næringssalter, beiting, hvilestadier og livssyklusen for vekst og overlevning av *Chattonella* aff. *verruculosa*.

### Summary

During the last years chemical methods, such as HPLC, LC-MS and ELISA, have been introduced for analyses of algal toxins in Norway, both for regular and scientific purposes. This has brought new knowledge about toxic algae and algal toxins in shellfish in Norwegian coastal waters. PSP-toxins

may occur in mussels all along the coast, with saxitoxin as the main component. The relationship between presence of the source algae, *Alexandrium* spp., and the mussel toxicity is generally poor. *Dinophysis acuta* is the most potent source for DSP-toxins in mussels, and in 2002 such toxins were also detected in brown meat in crabs above quarantine levels. Yessotoxins are common in Norwegian mussels, but very seldom above quarantine levels. The dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* has been identified as an important source for yessotoxins in Norwegian mussels. Pectenotoxins were found in mussels from mid-Norway in 2002, and *Dinophysis acuta* was identified as the most likely source. The ASP-toxin domoic acid was for the first time recorded at quarantine level in blue mussels in mid-Norway in June 2003. In 2003 azaspiracids were found in mussels for the first time in Norway. Spirolides, toxins relatively recently described from Canada, have also been found in Norway, but the problem is so far considered to be small. A likely source-algae is *Alexandrium ostenfeldii*, which occurs along the coast although seldom numerous. The most common ichthyotoxic algae in Norwegian waters in recent years is *Chattonella* aff. *verruculosa*, which is an euryhalin coldwater species.