



# Undersökningstyp

(Manual för undersökning)

## Ren, insamling av vävnadsprov för miljöprovbankning

Version 1:2, 2017-11-16

Programområde: Fjäll  
Handledning för miljöövervakning

## Innehåll

Bakgrund och syfte med undersökningstypen .....	3
Samordning .....	3
Strategi .....	3
Yttäckande övervakning .....	3
Tidsserieövervakning .....	4
Statistiska aspekter .....	4
Mätprogram .....	5
Variabler .....	5
Frekvens och tidpunkter .....	5
Observations/provtagningsmetodik .....	5
Tillvaratagande av prov .....	5
Fältprotokoll .....	5
Kvalitetssäkring .....	5
Databehandling, datavärd .....	6
Rapportering, utvärdering .....	6
Tids- och kostnadsuppskattning .....	6
Författare och övriga kontaktpersoner .....	6
Referenser .....	6
Uppdateringar, versionshantering .....	7
Bilaga 1. Observation/provtagningsmetodik .....	8
Insamlingsområden .....	8
Insamlingstillfälle .....	8
Insamlade prover .....	8
Insamlingsteknik .....	8
Transport .....	8
Registrering i Miljöprovbanken på NRM .....	8
Preparering .....	9
Bilaga 2. Tillvaratagande av prov .....	9
Bilaga 3. Åldersbestämning av ren med hjälp av renens tänder .....	9
Bilaga 4. Fältprotokoll .....	9
Protokoll från slakteriet .....	9

## Bakgrund och syfte med undersökningstypen

Avsikten är att samla in prov från ren för att kunna bestämma nivå och förändringar av miljögiftshalter i fjällområdet. Provinsamlingen ska möjliggöra retrospektiva undersökningar av miljögifter, både redan kända och ännu inte upptäckta. Frågeställningarna kan vara kopplade till begränsningar i konsumtion av livsmedel p. g. a. hälsomässiga skäl, vilket i sin tur kan påverka viljan och möjligheterna att utnyttja naturresursen inom både yrkes- och fritidsverksamhet. De kan också vara föranledda av artens exponering och den biotop de representerar. Undersökningen ska utgöra grund för behovsprövning av, förslag till eller uppföljning av åtgärder.

Undersökningstypen ska kunna användas för att följa utveckling och status i förhållande till miljömålet Giftfri miljö.

## Samordning

Det är en fördel för undersökningstypen om den kan kombineras med andra undersökningstyper i akvatiska miljöer. Genom kombinationen mellan terrestra och akvatiska studier kan våt- och torrdeposition mätas och jämföras sinsemellan samt med tillförsel av förorenande ämnen från andra källor.

## Strategi

Renen finns som domesticerat djur i norra Fennoskandien och även i vild, tam eller förvildad form på den Arktiska tundran och i den subarktiska taigan och barrskogen. Ren används i kontinentala och interkontinentala övervakningsprogram t.ex. inom Arctic Monitoring and Assessment Program (AMAP) där övriga deltagarnationer på Nordkalotten även använder sig av samma matris. Information om individer (ålder, kön, renbetesområde) från vilka prov samlas är obligatoriskt. Som regel är miljögiftshalterna i en individ ett uttryck av en dos, men också en effekt av exempelvis ålder och näringsstatus hos individen. Proverna av ren insamlas på hösten i samband med ordinarie sarv (rentjurs) slakt. Proverna utgörs av muskel från framben, lever, njure samt ena halva underkäken för åldersbetsämning. Prover från 50 vuxna hanrenar (cirka 3 års ålder) tas per lokal och år. Så snart som möjligt efter slakt ska proverna förvaras under kyla. Yttäckande övervakning genomförs dels för att erhålla en bild av belastningen i ett större område samt den långväga transporten av föroreningar, dels för att beskriva den ytmässiga utbredningen av påverkan från en eller flera föroreningskällor eller deras lokalisering.

Tidsserieövervakning används, som namnet anger, för att visa förändringar med tiden, bl.a. för att beskriva belastningsstatus och detektera ändringar i belastning och effekter av åtgärder. Det eller de ämnen som ska studeras har liksom föroreningshistoriken som regel också en avgörande betydelse för hur undersökningarna ska genomföras.

## Yttäckande övervakning

Yttäckande övervakning syftar till att vid ett och samma tillfälle ge en bild av belastningssituationen. Den kan vara upplagd för att beskriva situationen nationellt eller regionalt och användas för beslut om åtgärder. En lokal variant syftar som

regel till att beskriva effekterna i en recipient av t ex utsläpp, vilket som regel ställer särskilda krav på materialet för att uppnå tillräcklig statistisk säkerhet. Skälet till det senare är att de tidsmässiga variationerna (t ex beträffande utsläppsmängder) och kravet på precision (detektion av små skillnader) och ansvarsfrågor som regel är större.

### **Tidsserieövervakning**

Precisionskravet för denna typ av övervakning regleras av ambitionen att kunna påvisa signifikanta förändringar inom en rimlig tid och därmed ge möjligheter till att fatta relevanta beslut om åtgärder. Valet av matris (ålder, kön, vävnad etc.) har betydelse för hur snabbt förändringar statistiskt kan beläggas, därmed också om det finns möjlighet att göra avsteg ifrån årlig provtagning. För matriser som endast återspeglar belastningsläget under det senaste året eller de två senaste åren gäller att provtagningarna inte får göras glesare än en gång/år.

### **Statistiska aspekter**

Antalet individer från vilka organ- och vävnadsprover bör samlas in vid ett och samma tillfälle från ett område, är beroende av den naturliga variationen i populationen (ålder, vikt, näringsstatus, kön etc.). Dessa biologiska faktorer påverkar en organisms upptag och belastning av bioackumulerande ämnen, varför dessa bör vara kända när ett enhetligt material väljs ut som matris för analys. För att erhålla ett acceptabelt och tillförlitligt medelvärde krävs som regel 10-15 individuellt analyserade prover men det är förhållandena i de enskilda fallen som är styrande för var gränsen går för statistiskt säkerställda data. För att eliminera naturligt betingade variationer och därmed öka precisionen i tolkning och jämförbarhet mellan lokala, regionala och nationella undersökningar bör materialet kunna ålders- eller storleks-begränsas Detta eftersom miljögifter bioackumuleras och därför inte bara är ett uttryck för den aktuella belastningen utan också ett resultat av historisk exponering, individens ålder, bytesval, tillväxthastighet m.m. Innan ett beslut om ändring av periodiciteten och matrisstorlek fattas ska en statistisk genomgång av resultaten göras för att visa hur detta påverkar möjligheten att dra slutsatser.

För att välja lämplig statistisk bearbetning eller metoder rekommenderas den handledning i "Dataanalys och hypotesprövning för statistikanvändare", som finns på Naturvårdsverkets webbplats i "Handledning för miljöövervakning" samt en fristående webbplats med vägledning i miljöstatistik [www.miljostatistik.se](http://www.miljostatistik.se).

## Mätprogram

### Variabler

Tabell 1. Översiktstabell med variabler och tidsperioder, mm.

Område	Före- teelse	Mät-variabel	Enhet/ klassade värden	Prioritet	Frekvens	Referens till prov- tagnings eller observations- metodik	Referens till tillvara- tagande av prov/ analys- metod
	Ren	Kön	Hane, Hona	Obligatoriskt	Årligen, hösten	Bilaga 1	
	Ren	Ålder	År	Obligatoriskt		Bilaga 1	
	Ren	Vikt	Kg	Obligatoriskt		Bilaga 1	
	Ren, under-käke			Obligatoriskt			Bilaga 1 Bilaga 3
	Ren, muskel			Obligatoriskt		Bilaga 1	
	Ren, lever			Obligatoriskt		Bilaga 1	
	Ren, njure			Obligatoriskt		Bilaga 1	

### Frekvens och tidpunkter

För undersökningar som endast återspeglar belastningsläget under det senaste året eller de två senaste åren gäller att provtagningarna inte får göras glesare än en gång/år. Innan man gör avsteg från årlig provtagning måste man ha kunskap om såväl mellanårs-, inomårs- som slumpmässig variation beträffande halten av studerad förorening hos matrisen. Provtagningsfrekvensen är beroende av hur snabba förlopp som ska beskrivas. Ändrade utsläpp eller insatta åtgärder kan göra att halterna i organismer förändras på mycket kort sikt. För att detektera dessa förlopp krävs med största sannolikhet årlig provtagning. Vill man trots det göra avsteg från årlig provtagning måste detta särskilt motiveras.

### Observations/provtagningsmetodik

Se Bilaga 1.

### Tillvaratagande av prov

Se Bilaga 2.

### Fältprotokoll

Se Bilaga 4.

## Kvalitetssäkring

För att hålla en hög kvalitet krävs att fångst och hanteringskedjan är så anpassade att provet/organismen snarast möjligt kommer i kyla. Övriga praktiska instruktioner framgår av metodbeskrivningarna i bilagorna.

När det gäller arbetet på slakteriet ska personalen vara utbildad i de rutiner som gäller för slakt och hantering av kött för livsmedelsproduktion.

Vid laboratoriearbete/analyser ska personalen vara införstådd med och arbeta enligt de rutiner som finns för laboratoriearbete och provtagning vid Enheten för

miljöforskning och övervakning (MFÖ) vid Naturhistoriska riksmuseet som för närvarande sköter verksamheten.

## **Databehandling, datavärd**

Data om insamlade prover registreras och lagras hos Naturhistoriska riksmuseet i Miljöprovbanken, se bilagor.

Data som uppkommer efter det att prover/material tagits ur provbanken och analyserats ska registreras hos datavärd enligt överenskommelse med Naturvårdsverket och Naturhistoriska riksmuseet.

## **Rapportering, utvärdering**

Miljöprovbankens status redovisas årligen till Naturvårdsverket.

## **Tids- och kostnadsuppskattning**

Kostnader uppstår vid insamling, provhantering och för insamlingspersonal.

Därutöver tillkommer kostnader för transport från provtagningsplats till provbank och personalkostnader på laboratorium för hantering och preparering av prover för provbanksning, accessionsföring och dataläggning (enligt bilagor).

## **Författare och övriga kontaktpersoner**

*Programansvarig, Naturvårdsverket:*

Anna Hellström

Miljögiftsenheten

Naturvårdsverket 106 48 Stockholm

Tel: 010-698 11 39

E-post: Anna.Hellstrom@Naturvardsverket.se

*Författare och expert:*

Naturhistoriska riksmuseet:

Ylva Lind Naturhistoriska riksmuseet

Enheten för miljöövervakning Box 50007 104 05 Stockholm

Tel: 08 - 519 54111

E-post: ylva.lind@nrm.se

## **Referenser**

1. Bignert, A., Göthberg, A., Jensen, S., Litzén, K., Odsjö, T., Olsson, M. och Reutergårdh, L. 1993. The need for adequate biological sampling in ecotoxicological investigations: A retrospective study of twenty years pollution monitoring. *The science of the total environment* 128:121-139.
2. Bignert, A., Olsson, M., de Wit, C., Litzén, K., Rappe, C. & Reutergårdh, L. 1994. Biological variation - an important factor to consider in ecotoxicological studies based on environmental samples. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 348:76-85.

3. Hals, E. 1981. Teeth as a base for age determination in deer, moose and reindeer. Den Norske tannlegerforeningens tidene, 91: 151-155.

4. Reimers, E., and Nordby, O. 1968. Relationship between age and tooth cementum layers in norwegian reindeer. Journal of Wildlife Management, 32: 957-961.

## Uppdateringar, versionshantering

Version 1:1: 2000-08-29. Fullständig uppdatering av undersökningstyp.

Version 1:2 2017-11-16. Fullständig uppdatering.

## **Bilaga 1. Observation/provtagningsmetodik**

### **Insamlingsområden**

Insamling som sker inom den nationella övervakningen är förlagd till två olika områden i norra och mellersta/södra Lappland.

### **Insamlingstillfälle**

Insamling av prover sker i samband med sarvslakten som infaller i början av september.

### **Insamlade prover**

Prover av muskel, lever, njure med vidhängande njurtalg och en halv underkäke insamlas från handjur (sarvar). Provmängden av muskel och lever bör vara ca 150-200 g. En hel njure tillvaratas. Prover tas från 50 djur per lokal.

### **Insamlingsteknik**

För att möjliggöra senare, exakt åldersbestämning tas en underkäke för åldersbestämning i laboratoriet (bestämning med tandstege eller tandsnittning). Samtliga prover läggs i separata plastpåsar av polyeten. Plastpåsar med organprover från samma individ förpackas tillsammans i gemensam plastpåse. Proverna bör snarast läggas i frysbox.

### **Transport**

Proverna av vävnader och organ ska före transport frysas till -20°C. Materialet ska förpackas i isolerande material så att den låga temperaturen i största möjliga grad behålls under transporten. Olika transportmedel kan förekomma. Snabbast möjliga transportsätt ska utnyttjas för att provernas kondition inte ska påverkas negativt.

### **Registrering i Miljöprovbanken på NRM**

Vid ankomst till NRM:s laboratorium antecknas ankomstdatum på kartongen med prover från slakteriet.

Efter ankomsten till laboratoriet på NRM registreras proverna i samband med ompackning. Varje individ ges ett separat accessionsnummer. På accessionsblanketten antecknas även:

- individnummer som följer med renen från slakteriet
- art;
- insamlingsplats (sameby, län, landskap)
- insamlingsdatum;
- insamlingsmetod;
- veterinärens namn, arbetsplats (från Livsmedelsverket), telefonnummer och e-post
- slakteriets namn och adress
- tillvaratagna organ och vävnader samt provvikt;
- avvikelser
- biologiska parametrar: slaktvikt, näringsstatus, ålder, kön).



## **Preparering**

Prepareringen ska utföras under sedvanliga kontaminationsfria förhållanden. Laboratoriepersonalen ska bära rena gummihandskar och använda speciellt diskade knivar med blad av rostfritt stål, keramik eller titan för att reducera risken för kontaminering med Cr och Ni. Ofärgade pincetter av polyeten rekommenderas för att hantera vävnaden under dissektion. Före provpreparering ska verktygen rengöras regelmässigt. Alla instrument och övrig utrustning som ska användas ska diskas enligt nedanstående schema för att undvika kontaminering:

- diska på normalt sätt med diskmedel
- skölj i HNO<sub>3</sub> p.a./destillerat vatten; spädning 1+6;
- skölj i destillerat vatten;
- skölj i aceton p.a. och spektrografsprit 1+ 1.

## **Bilaga 2. Tillvaratagande av prov**

I övrigt omförpackas samtliga enskilda prov i diffusionstät aluminium/polyeten-laminat. Efter evakuering av luft försluts förpackningen med plastsvets och förpackningen märks med innehåll och accessionsnummer. Alla prover från en och samma individ förpackas tillsammans i en laminatförpackning av aluminium/polyeten, som märks med accessionsnummer och art. Som alternativ (i andra hand) kan varje enskilt prov förpackas i aluminiumfolie varefter paketet försluts i plastpåse av polyeten som försluts med plastsvets och märks för identifiering av innehåll och individ. Varje organ och vävnad som förvaras i miljöprovbank ska vara förpackat i enlighet med anvisningar ovan.

## **Bilaga 3. Åldersbestämning av ren med hjälp av renens tänder**

Åldern bestäms enklast genom att jämföra tanduppsättning och förslitningsgrad på tänderna med motsvarande karaktärer i käkar av ren av känd ålder (tandstege). Åldern kan även fastställas med hjälp av sågning av snitt ur en kindtand (molar), varvid snittet läggs i kronan mellan rötterna. Tillväxtzonerna avläses i preparermikroskop (Reimers and Nordby, 1968; Hals, 1981).

## **Bilaga 4. Fältprotokoll**

### **PROTOKOLL FRÅN SLAKTERIET**

Slakteriet ska ingå i Livsmedelsverkets kontrollslakterier.

Protokoll från slakteriet upprättas och kontrolleras och signeras av en ansvarig veterinär från Livsmedelsverket. Veterinärens namn, arbetsplats, telefonnummer och e-post anges på protokollet. I protokollet ska det finnas uppgifter om vilket slakteri som utfört slakten (slakteriets namn och adress) vad som provtagits, slaktdatum, vilken sameby som äger renen, idnummer på renen, slaktvikt, kön (bara hanar provtats) och näringsstatus.

Renens ålder bestäms på NRM med hjälp av tandanalys.