

Programområde:

Kust och hav

Undersökningstyp:

**Patologi hos gråsäl,
vikaresäl och knobbsäl**

Bakgrund och syfte med undersökningstypen

Östersjön har de senaste decennierna visat sig vara kraftigt kontaminerad av miljögifter, speciellt av polyklorerade bifenylter (PCB). Även Östersjöns sälar har visat sig ha höga halter av dessa organiska miljögifter och många klorerade kolväteföreningar anrikas i sälarnas fettvävnad. Halterna av många miljögifter är så höga att man kan förvänta sig patologiska effekter. Syftet med undersökningen är att kontinuerligt övervaka hälsotillståndet hos populationerna av östersjösäl via obduktioner av djur som inkommer till Naturhistoriska Riksmuseet. Undersökningstypen kan användas för att fastställa ett områdes status i förhållande till miljömålen *Hav i balans samt levande kust och skärgård* och *Giftfri miljö*.

Samordning

Undersökningstypen bör samordnas med kemiska och populationsdynamiska undersökningar inom området och undersökningstypen *Gråsälbestånd*. Vid obduktion kan prover för miljögiftsundersökning tas.

Strategi

Frekvens och grader över tid av vissa typer av organskador studeras via obduktionsresultat. Detta sker genom att använda gängse makroskopiska bedömningsmetoder inom patologin tillsammans med andra tekniker, i synnerhet för mikroskopisk organundersökning (histopatologi, immunohistokemi) samt tekniker för mikrobiologi (parasitologi, bakteriologi, virologi). Trender när det gäller frekvens och grad av olika organskador har hittills (år 2003) endast kunnat studeras på gråsäl. Antalet vikare och knobbsälar som inkommit för obduktion har varit för litet för att utgöra grund för en sådan undersökning.

Statistiska aspekter

För att få tillräcklig omfattning av datamaterial bör statistisk utvärdering ske efter insamlingsperioder om fem eller helst tio år. Detta är nödvändigt för att för respektive art få information om hälsosituationen inom köns- och olika åldersgrupper. Datamaterialet omfattar uppgifter om art, kön, ålder, fyndplats etc. (se bilaga 1) och de sjukdomsvariabler som beskrivs nedan.

Plats/stationsval

Undersökningen utförs på sälar från hela Sveriges kust.

Mätprogram**Variabler**

Tidigare har vissa kroniska organskador med karaktär av ett sjukdomskomplex redovisats (Bergman och Olsson, 1985). Skador ses hos vuxna djur i form av förändringar i integument (hud och kloförändringar), käkbensdestruktioner, tarmsår, arterioskleros ("åderförkalkning"), njurförändringar, binjurebarksförtjockning och förändringar i honliga könsorgan. Honliga könsorgan hos gråsäl och vikare kan uppvisa partiella eller fullständiga avstängningar (stenoser resp. ocklusioner) av livmodern. Hos gråsälshonor är dessutom livmodertumörer av typ leiomyom vanliga. Sammantaget uppvisar de organskador som kännetecknar detta sjukdomskomplex likheter med de som förekommer vid s.k. hyperadrenokorticism (abnormt ökad binjurebarksfunktion) hos djur och människa. Som grundorsak till detta sjukdomskomplex misstänks miljögifter av typ organiska klorföreningar, främst PCB. Vissa sjukdomsprocesser karakteriseras av förändringar i organstorlek. Organvikter kan därför användas som variabler. Kriterier för olika grader av organskador redovisats i publikationer Bergman (1999) och Bergman och Olsson (1985).

Vid obduktionerna följs ett protokoll (bilaga 1) enligt vilket notering av vissa mått- och viktuppgifter samt bedömning av yttre och inre organ utförs. För varje djur genomgås rutinmässigt nära 90 variabler, mestadels i form av organbedömningar. Vid organbedömningarna används en fyrgradig skala: (0) Skada ej påvisad (organet är normalt), (1) Lindrig skada, (2) Måttlig skada och (3) Grav skada.

Mätvariabler (organskador) som är typiska för sjukdomskomplexet hos östersjösälar:

För båda könen:

- Skador i kloregioner.
- Tarmsår
- Arterioskleros ("åderförkalkning").
- Njurskador (glomeruliförändringar, tubulära cellproliferationer)
- Skallbensdestruktioner (osteoporos).
- Binjurebarksförtjockning (adrenokortikal hyperplasi)

För honliga könsorgan:

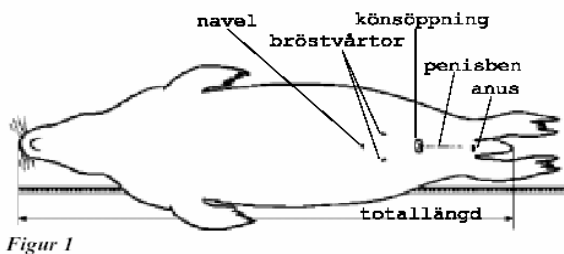
- • Livmoderstenoser, livmoderocklusioner och livmodertumörer.

Tabell 1. Översiktstabell för variabler.

Område	Företeelse	Determinand (Mätvariabel)	Metodmo- ment	Enhet / klassade värden	Priori- tet	Referens till provtag- nings- eller observa- tionsmetodik
	Gråsäl, Vikare eller Knobbsäl	Kön		Hona/Hane	1	Ref 1
		Ålder	Tandunder sökning	år	1	Ref 2
		Massa		kg	1	
		Längd (Kroppslängd)		cm		Se nedan
		Avstånd svans - anus			2	Se nedan
		Kadaverösa förändringar		Klassat 1-5		
	Späck	Tjocklek			1	Se nedan
	Bakfot	Längd			2	
	Organ etc. enl. obduk- tionsproto- kollet	Skada		Klassad ¹	1	Ref 3
	Vissa organ	Massa, Bredd Längd eller Höjd		g (mg), mm	1	Bilaga 1

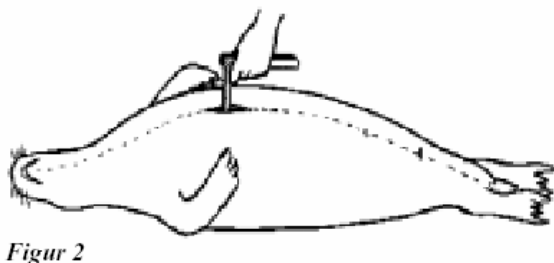
¹ 0 = skada ej påvisad (organet är normalt), 1 = lindrig skada, 2 = måttlig skada och 3 = grav skada

Vad innebär kroppslängd?



1. Kroppslängden mäts när sälen ligger på rygg på plant underlag (figur 1) Mätningen görs med tumstock.
2. Läg tumstocken under sälen.
3. Skallen ska tryckas mot underlaget så att nosen sträcks ned mot tumstocken.
4. Mät kroppslängden mellan nospets och svanspets.

Vad innebär späcktjocklek?



1. Späcktjockleken mäts innan sälen öppnas.
2. Läg ett ca 10 cm långt längdsnitt i mittlinjen i huden vid bröstorgans bakre del.
3. Skär genom späcket ner till bröstkorgen.
4. Mät späcktjockleken (utan hud) med en tumstock. Kläm ihop snittet runt tumstocksändan vid mätningen.

Frekvens och tidpunkter

Den faktor som kanske främst har betydelse för insändningsfrekvensen är issituationen. Insamlingsperioden sker under hela året men sträcker sig i allmänhet fr.o.m. april t.o.m. december.

Observations/provtagningsmetodik

Djuren inspekteras och yttre mått, kroppsvikt m.m. noteras. Under obduktionerna noteras sjukliga organförändringar och dessa graderas. Dessutom vägs flera organ. Organmaterial för histologisk undersökning uttas. Vid misstanke om infektion tas material för bakteriologisk, virologisk eller parasitologisk undersökning. Uttag av organprover för miljögiftsundersökning är en viktig del av obduktionsrutinerna.

Fältobduktioner i form av ”endagsförrättning” utförs vid något eller några tillfällen per år. Detta gäller som regel gråsäl som påträffats döda i strandregionen och där transport av djuret till Riksmuseet bedöms vara svår att genomföra. Fastställande av dödsorsak har i dessa fall bedömts vara väsentlig för undersökningen. Av kostnadsskäl har detta förfarande begränsats till Upplands- och Södermanlandskusten. Omfattande fältexpeditioner görs vid utbrott av sjukdom av epizootikaraktär, t.ex. vid valpsjuka hos säl, den virussjukdom som främst drabbade knobbsäl på västkusten år 1988 och 2002.

Tillvaratagande av prov, analysmetodik

Organmaterial för histologisk undersökning fixeras, som regel i formalin, paraffininbäddas, snittas, färgas och undersöks ljusmikroskopiskt. Beskrivning av dessa tekniker är redovisade i artiklar i referenslistan, (Bergman och Olsson, 1985, samt Bergman, Bergstrand och Bignert 2001). För beskrivning av metoder för färgningar etc. vid ljusmikroskopi se Bancroft och Stevens (1982). I några fall har organmaterialet varit så pass färskt att tekniker för elektronmikroskopi kunnat användas (Bergman, Bergstrand och Bignert, 2001). Vid bakteriologiska, virologiska och parasitologiska undersökningar har Statens Veterinärmedicinska Anstalts laboratorier anlåtats.

Organprover för miljögiftsundersökningar djupfrysas och magasinerar i Riksmuseets Miljöprovbänk. Vid obduktionerna tillvaratas rutinmässigt prov från späck, skelettmuskel, lever, njure, lunga och hjärna för detta ändamål. För metodbeskrivning i samband med kemisk undersökning se Roos m.fl. (1992), Blomquist m.fl. (1992) samt Frank m.fl. (1992).

Fältprotokoll

Under fältobduktioner följes i stort sett samma rutiner som beskrivits ovan och samma protokoll kan användas (bilaga 1). Såväl organvikts- som kroppsviktsdata kan på grund av väderlek etc. vara svåra att bestämma i fält. Organviktsdata kan kompletteras genom att hela organ tas tillvara. Vid tillfällen då djurets kroppsvikt ej är möjlig att bestämma kan denna uppskattas via mått på kroppslängd och späcktjocklek.

Bakgrundsinformation

Detaljerad information om nödvändig bakgrundsinformation ges i metodreferenslistan.

Kvalitetssäkring

Obduktioner eller organundersökning ska utföras av veterinär eller biolog med erfarenhet inom ämnesområdet veterinärmedicinsk patologi. Kvalitetssäkring ska ske genom nära kontakter och samarbete med specialister inom ämnesområdena veterinär- och humanmedicinsk patologi. Laboratoriearbeten och laboratorieanalyser ska utföras av ackrediterade laboratorier. Vid provtagning i fält ska utförare informeras, speciellt om handhygien, och då särskilt om risken för att drabbas av sårinfektion vid hantering av djuren.

Databehandling, datavärd

Databehandling utförs i samråd med datavärd. Sammanställning av resultat från undersökta djur avseende de mätvariabler som anges i undersökningstypen utgör grund för detta arbete.

En förteckning över datavärddar finns att hitta på Naturvårdsverkets webbplats under adressen <http://www.naturvardsverket.se/tillstandet-i-miljon/miljoovervakning/miljoovervakningsdata/>

Rapportering, utvärdering

Resultat redovisas årligen i en rapport med beskrivning av vad som gjorts (exempel Bergman, 2001). När det gäller tendenser för hälsotillståndet hos östersjösälar bör utvärdering, som nämnts ovan, inte ske förrän tidigast efter varje femårsperiod. Arbeten/beskrivningar om patologin i olika organsystem hos östersjösälar publiceras i internationella vetenskapliga tidskrifter. Efter varje tioårsperiod redovisas också tendenser för hälsotillståndet hos östersjösälar i internationell vetenskaplig tidskrift (exempel Bergman, 1999).

Data ska utvärderas vad gäller tendenser över tid (fem- eller helst tioårsperioder) för ovan nämnda organskadevariabler. En utvärdering har gjorts inom Miljögiftsgruppen för två tioårsperioder: 1977-1986 och 1987-1996 (Bergman, 1999).

Kostnadsuppskattning

Fasta kostnader

Kemiska produkter, burkar, provrör, handskar m.m. kostar ca 5000 kr per år (2003).

Analyskostnader

- Obduktion och journalskrivning per säl ca 850-1900 kr
- Destruktion 10 kr/kg* (ca 150-1500 kr per säl)
- Åldersbestämning 350 kr* per säl
- Histologi 150 kr/snitt* (0-90 snitt per säl = 0-12.870 kr per säl)
- Bakteriellt prov 300 kr*
- Virologiskt prov (valpsjuka) 500 kr*
- PCB/DDT analys 3000 kr per prov

* Statens veterinärmedicinska anstalts (SVA) prislista 2003

Tidsåtgång

- Obduktion och journalskrivning 4-9 timmar per säl
- Insamling ca 1 timme per säl
- Histologi, preparering i medeltal 3 timmar per säl
- Utvärdering av histologi i mikroskop i medeltal 2 timmar per säl

Kontaktpersoner

Programområdesansvarig, Naturvårdsverket:

Sverker Evans

Miljöövervakningsenheten

Naturvårdsverket

106 48 Stockholm

Tfn: 08-698 13 02

E-post: sverker.evans@naturvardsverket.se

Expert, Naturhistoriska riskmuseet:

Britt-Marie Bäcklin

Naturhistoriska Riksmuseet

Gruppen för Miljögiftsforskning

Box 500 07

104 05 Stockholm

Tfn: 08-519 542 59

E-post: britt-marie.backlin@nrm.se

Fax: 08-519 542 56

Referenser**Metodreferenslista**

1. Almkvist, L., Olsson, M. & Söderberg, S. 1980. Sälar i Sverige. Svenska Naturskyddsföreningen. ISBN 91-558-5171-1.
2. Johnston, D.H. & Watt, I.D 1980. A rapid method for sectioning undecalcified carnivore teeth for aging. *1st Worldwide Furbearer Conference Proceedings, August 3-11, 1980*, Frostburg, Maryland, USA, Vol. 1, pp 407- 422.
3. Bergman, A. 1999. Health condition of the Baltic grey seal (*Halichoerus grypus*) during two decades. Gynaecological health improvement but increased prevalence of colonic ulcers. *APMIS* 107, 270-282.
4. Bergman, A. och Olsson, M., 1985. Pathology of Baltic grey seal and ringed seal females with special reference to adrenocortical hyperplasia: Is environmental pollution the cause of a widely distributed disease syndrome? *Finnish Game Res.*, 44:47-62.
5. Bergman, A., Bergstrand, A. and Bignert, A. 2001. Renal lesions in Baltic grey seals (*Halichoerus grypus*) and ringed seals (*Phoca hispida botnica*). *Ambio* 30, 397-409.

Version 1:0 : 2004-01-23

6. Bancroft, J.D. and Gamble, M. (eds.) 2002. Theory and practice of histological techniques. Churchill Livingstone. London. (flera upplagor finns)
7. Roos, A., Blomkvist, G., Jensen, S., Olsson, M., Bergman, A. och Härkönen, T. 1992. Sample selection and preparation procedures for analyses of metals and organohalogen compounds in Swedish seals. *Ambio* 21 (8), 525-528.
8. Blomkvist, G., Roos, A., Jensen, S., Bignert, A. och Olsson, M. 1992. Concentrations of sDDT and PCB in seals from Swedish and Scottish waters. *Ambio* 21, 539-545.
9. Frank, A., Galgan, V., Roos, A., Olsson, M., Petersson, L.R. och Bignert, A. 1992. Metal concentrations in seals from Swedish waters. *Ambio* 21, 529- 538.

Rekommenderad litteratur

10. Bergman, A. 2001. Gråsälspopulationens hälsotillstånd. Sid. 22-23 i "Bottniska Viken 2000", Umeå Marina Forskningscentrum, Red. Kristina Wiklund.
11. Bergman, A. och Bäcklin, B.-M. 2000. Gråsälarnas hälsa – bättre men inte bra. Sid. 10-14 i "Östersjö 99", Stockholms Marina Forskningscentrum, Red. Annika Tidlund.
12. Bergman, A., Olsson, M. and Reiland, S. 1992: Skull-bone lesions in the Baltic grey seal (*Halichoerus grypus*). *Ambio* 21 (8): 517-519.
13. Bergman, A., 1990. Patologi hos sälar från svenska kustområden 1989. Rapport / Naturvårdsverket 3855.
14. Bergman, A., Järplid, B. och Svensson, B.-M., 1990. Pathological findings indicative of distemper in European seals. Proceedings, First Congress of the European Society for Veterinary Virology, Liege, April 5-7, 1989. *Veterinary Microbiology*, 23:331-341.
15. Bergman, A. och Olsson, M., 1989. Pathology of Baltic grey and ringed seal males : report regarding animals sampled 1977-1985. I: Influence of human activities on the Baltic ecosystem : proceedings of the Soviet-Swedish Symposium Effect of toxic substances on dynamics of seal populations. Moscow, USSR, April 14-18, 1986. Leningrad Hidrovmeteoizdat, pp. 74-86
16. Bergman, A., Olsson, M. och Reutergård, L., 1981. Lowered reproduction rate in seal populations and PCB. A discussion of comparability of results and a presentation of some data from research on the Baltic seals. ICES, C.M.1981/N:10,18 pp.
17. Mortensen, P., Bergman, A., Bignert, A., Hansen, H.J., Härkönen, T. och Olsson, M. 1992. Prevalence of Skull lesions in harbor seals (*Phoca vitulina*) in Swedish and Danish Museum collections. *Ambio* 21, 520-524.

Uppdateringar, versionshantering

Version 1:0, 2004-01-23. Ny undersökningstyp.

Bilaga 1. Obduktionsprotokoll

Nr:	Lnr:							
Art:	Kön:	Ålder:	Kroppsvikt., kg:	Kroppslängd, cm:	Späck- tjocklek, cm:			
Fynddatum:	Fyndomständigheter:		Bakfot, längd, cm:	Svans-anus, avst., cm:				
Obduktionsdatum:	Materialomfattning:							
Obduktionsplats:	KF:	Hull:						
			1	2	3	4	5	6
			LM	EM	VIR	BCT	PAR	BCD
Organmaterial								
01	Hud, överläpp							
02	Hud, ansikte							
03	Hud, ögonlock							
04	Hud, superciliae							
05	Hud, ytteröra							
06	Tårkörtel							
07	Öga							
08	Hud, enl. figurer							
09	Digit							
10	Hud, underläpp							
11	Tänder, gingiva							
12	Pharynx							
13	Tonsill							
14	Larynx, Epiglottis							
15	Parotis							
16	Submandibularlymfknota							
x17	Thymus	Vikt, g, c-a:						
18	Magsäck, fundus							
19	Magsäck, pylorus							
x20	Thyreoida, vä	Vikt, g:						
x21	Thyreoida, hö	Vikt, g:						
x22	Parathyroidea, vä., antal:							
		Sammanlagd vikt:	mg					
x23	Parathyroidea, hö., antal:							
		Sammanlagd vikt:	mg					
24	Hud, hals							
25	Boglymfknota							
26	Skelettben, benmärg							
27	Skelettmuskel							
28	Oesophagus							
29	Trachea							
30	Duodenum							
31	Hud, bröst							
32	Bronkiallymfknota							
33	Bronk							
x34	Lunga, vä	Vikt, g:						
x35	Lunga, hö	Vikt, g:						
36	Diafragma							
37	Jejunum							
x38	Hjärta	Vikt, g:						
39	Arteria coronaria sinistra							
40	Arteria coronaria dextra							
41	Axillarlymfknota, vä	Vikt, g:						
42	Axillarlymfknota, hö	Vikt, g:						
43	Aorta							
44	Blod							

Förklaring av vissa ord och förkortningar: KF, kadaverösa förändringar (förruttelse): graderas från 1=nära livsvarmt till 5= mycket höggradig förruttelse. Digi, djurets tår. Pharynx, svalg. Larynx och epiglottis, struphuvud resp. struplock. Parotis, öronspottkörtel. rlymfknota, lymfkörtel. Thyreoida och parathyroidea, sköldkörtel resp. bisköldkörtel. Oesophagus, matstrupe. Duodenum, tolvfingertarm. Jejunum, tunntarmens främre del efter duodenum. Ileum, tunntarmens bakre del. Trachea, luftstrupen. Art. coronaria sinistra o. dextra, hjärtats vänstra och högra kranskärl.

Version 1:0 : 2004-01-23

Nr: Lnr:

		1	2	3	4	5	6
Organmaterial		LM	EM	VIR	BCT	PAR	BCD
45	Hud, buk, prox						
x46	Portalymfknuta	Vikt, g:					
x47	Lever	Vikt, g:					
48	Gallblåsa						
49	Galla						
x50	Mjälte	Vikt, g:					
51	Ileum						
x52	Pankreas	Vikt, g:					
	-"- , duodenal del						
	-"- , mitt						
	-"- , lienal del						
53	Hud, buk, dist						
54	Kröslymfknuta						
x55	Njüre, vä	Vikt, g:					
x56	Njüre, hö	Vikt, g:					
57	Urinblåsa						
58	Urin						
59	Caecum						
x60	Binjüre, vä	Vikt, g:					
x61	Binjüre, hö	Vikt, g:					
62	Hud, scrotumregion						
63	Juver+hud, nipple						
64	Ileocaecallymfknuta						
65	Colon						
66	Inguinallymfknuta						
67	Bäckenlymfknuta						
68	Analkörtlar						
x69	Prostata	L: B: H: ,mm	Vikt, g:				
x70	Testis, vä	L: B: H: ,mm	Vikt, g:				
x71	Testis, hö	L: B: H: ,mm	Vikt, g:				
x72	Bitestikel, vä	L: B: H: ,mm	Vikt, g:				
x73	Bitestikel, hö	L: B: H: ,mm	Vikt, g:				
x74	Ovarium, vä	L: B: H: ,mm	Vikt, g:				
x75	Ovarium, hö	L: B: H: ,mm	Vikt, g:				
76	Salpinx, vä	Tjl,mitt: ,mm					
77	Salpinx, hö	Tjl,mitt: ,mm					
x78	Uterus, vä horn	L: Diam.X2: ,mm	Vägg tj: ,mm				
x79	Uterus, hö horn	L: Diam.X2: ,mm	Vägg tj: ,mm				
		Uterus, Vikt,g:					
x80	Corpus uteri	L: ,mm					
x81	Cervix uteri	L: ,mm					
x82	Vagina	L: ,mm					
x83	Vulva	L: ,mm					
x84	Clitoris	Diam, bas: ,mm					
x85	Hjärna	Vikt, g:					
x86	Hypofys	Vikt, mg:					
87	Epifys	[Vikt, mg:]					
88	Ryggmärg, L1-L3						
89	Perifera nerver						
90	Benvävnad i främre extremitet (skapula - t.o.m. -digi), L1-L3, Skalle inkl. Mandibel.						

Förklaring av vissa ord och förkortningar: Pankreas, bukspottkörtel. Caecum, blindtarm. Colon, grovtarm. Salpinx, äggledare. Ovarium, äggstock. Uterus, livmoder. Epifys, tallkottkörtel. L, B och H = längd, bredd, höjd. **Laboratorieundersökningar:** LM, ljusmikroskopi, EM, elektronmikroskopi. VIR, virologi. BCT, bakteriologi. PAR, parasitologi. BCD, "biocid"- miljögiftsundersökning.