

Gränsvärden för biomarkörer och dess tillämpning i bedömningsgrunder för fiskhälsa

Niklas Hanson, Åke Larsson och Lars Förlin

Bakgrund

Sedan slutet av 1980-talet har fiskens hälsotillstånd övervakats vid referenslokaler längs den svenska kusten. Detta görs genom årliga mätningar av ett antal biomarkörer, vilket är fysiologiska och biokemiska mätningar som kan avslöja om fisken är exponerad för miljögifter eller annan stress. Vissa av biomarkörerna är specifika för miljögifter, eller till och med för vissa grupper av miljögifter. Ett exempel är biomarkören EROD, som beskriver avgiftningsaktiviteten hos ett enzym som är specialiserat på att ta hand om ämnen med dioxinliknande struktur. Andra biomarkörer kan reagera på olika sorters stress, t.ex. syrebrist och födobrist. Exempel på sådana, mer generella, biomarkörer är fiskens konditionsfaktor (vikt i förhållande till längd) och gonadernas storlek (=antal ägg). Några biomarkörer speglar statusen hos specifika fysiologiska funktioner (t.ex. saltbalans), andra biomarkörer beskriver allmäntillståndet hos fisken.

Inom miljöövervakningen har numera ett stort dataunderlag samlats in som beskriver nivåer och variationer av ett flertal biomarkörer vid ett antal referensområden längs den svenska kusten. Denna information bör kunna användas för att jämföra med (misstänkt) påverkade områden, t.ex. i ett recipientkontrollprogram eller ett tillståndsärende i miljödomstolen. Att det är data från referensområden behöver inte betyda att det är helt opåverkat, men det är den relevanta bakgrundsnivån som recipienter bör jämföras med. Detta eftersom en industri eller annan föroreningskälla inte kan ställas till svars för de bakgrundsnivåer av föroreningar som finns i våra kustvatten.

Syftet med denna rapport är att presentera gränsvärden för de biomarkörer som används inom kustfiskövervakningen i Sverige. Dessa gränsvärden kan utgöra ett stöd vid bedömning av biomarkörsvärden från andra, misstänkt förorenade, områden. I rapporten presenteras också en bedömningsmodell för hur resultaten från många biomarkörer kan vägas samman till en tydlig slutsats, samt hur resultat från kemikaliemätningar och biomarkörer kan vägas samman. Både gränsvärden och tolkningsmodeller är välbehövliga eftersom det idag inte finns någon mall för hur resultaten från sådana undersökningar skall tolkas, vilka statistiska metoder som skall användas och hur resultaten skall vägas samman. Gränsvärden kan även reducera, eller helt ta bort, behovet av lokala referenslokaler vid den här typen av undersökningar. Detta förutsätter dock att mätningarna är utförda vid samma tidpunkt på året och enligt samma metod. Ett antal biomarkörer har förändrat sig under de drygt 25 år som miljöövervakningen av fiskhälsa har pågått. Äldre data har i dessa fall plockats bort så att tidstrenden har försvunnit. På så vis har äldre data, som inte beskriver dagens läge, inte påverkat resultatet. Detta betyder också att de gränsvärden som presenteras i rapporten skall ses som färskvara och behöver uppdateras i takt med att nya data kommer in från den årliga kustfiskövervakningen.

Metod

Bakgrundsdata finns för abborrar från tre referenslokaler och tånglake från två referenslokaler, som sammantaget täcker våra havsområden (Botniska viken, Egentliga Östersjön och Västerhavet). De tre

lokalerna för abborre är Holmöarna, Kvädöfjärden och Torhamn. För tånglake används stationerna Fjällbacka och Kvädöfjärden. Eftersom en del biomarkörer kan påverkas av miljöfaktorer som varierar geografiskt, t.ex. temperatur och salthalt, gjordes först en statistisk jämförelse mellan stationerna. De olika stationerna jämfördes med hjälp av variansanalys (ANOVA) och för abborre rangordnades de tre lokalerna med hjälp av SNK-posthoc test. Eftersom tånglake bara övervakas vid två stationer behövdes ingen posthoc test. För de biomarkörer där en lokal var signifikant skild från de övriga togs separata gränsvärden fram för denna lokal. I ett fall, konditionsfaktor för abborre, skilde sig samtliga tre lokaler åt. Därför togs tre gränsvärden fram för konditionsfaktor för abborre. För de biomarkörer som inte skilde sig åt mellan stationerna togs generella gränsvärden för respektive fiskart fram baserade på alla tillgänglig data. Tabell 1 visar vilka biomarkörer som skilde sig åt mellan stationerna.

Tabell 1. För både abborre och tånglake fanns det skillnader mellan lokaler för sex respektive sju biomarkörer, vilket kan jämföras med de 17 biomarkörer som inte skilde sig åt mellan lokalerna. För biomarkörerna DNA-addukter och Metallothionein kunde inte någon jämförelse göras eftersom de bara analyserats vid en lokal för respektive art.

Abborre		Tånglake	
Hematokrit	Högre värden vid Holmöarna	Hematokrit	Högre värden i Fjällbacka
Glukos	Inga skillnader	Glukos	Inga skillnader
Hemoglobin	Inga skillnader	Hemoglobin	Inga skillnader
Hb:HT kvot	Inga skillnader	Hb:HT kvot	Högre värden i Kvädöfjärden
Konditionsfaktor	Ökande nord-syd gradient	Konditionsfaktor	Högre värden i Fjällbacka
GSI	Lägre värden vid Torhamn	GSI	Inga skillnader
LSI	Lägre värden vid Kvädöfjärden	LSI	Högre värden i Fjällbacka
Lymfocyter	Inga skillnader	Lymfocyter	Inga skillnader
Granulocyter	Inga skillnader	Granulocyter	Inga skillnader
Trombocyter	Inga skillnader	Trombocyter	Inga skillnader
Tot: Vita blodceller	Inga skillnader	Tot: Vita blodceller	Inga skillnader
Omogna röda blodceller	Inga skillnader	Omogna röda blodceller	Inga skillnader
EROD	Inga skillnader	EROD	Inga skillnader
GR	Inga skillnader	GR	Inga skillnader
Vitellogenin, Honor	Inga skillnader	Vitellogenin, Honor	Inga skillnader
Vitellogenin, Hanar	Inga skillnader	Vitellogenin, Hanar	Inga skillnader
DNA-addukter	Enbart Kvädöfjärden	DNA-addukter	Enbart Fjällbacka
Metallothionein	Enbart Kvädöfjärden	Metallothionein	Enbart Fjällbacka
Kloridjoner i blodplasma	Lägre värden vid Holmöarna	Kloridjoner i blodplasma	Högre värden i Fjällbacka
Kaliumjoner i blodplasma	Inga skillnader	Kaliumjoner i blodplasma	Inga skillnader
Natriumjoner i blodplasma	Inga skillnader	Natriumjoner i blodplasma	Inga skillnader
Kalciumjoner i blodplasma	Inga skillnader	Kalciumjoner i blodplasma	Inga skillnader
Blodlaktat	Högre värden vid Torhamn	Blodlaktat	Inga skillnader
GST	Inga skillnader	GST	Högre värden i Fjällbacka
Katalas	Inga skillnader	Katalas	Högre värden i Fjällbacka
Histologi	Inga skillnader	Könskvot	Inga skillnader

För ett antal biomarkörer har tidstrender observerats vid en eller flera lokaler. Det betyder att de värden som är relevanta för en viss biomarkör idag kan skilja sig åt från historiska värden. Om hela tidsperioden tas med i analysen kan detta leda till att variationen överskattas, med förhöjd miljörisk som följd. För att undvika detta problem plockades äldre data bort från de tidsserier som visade en signifikant tidstrend. I de flesta fall räckte det med att plocka bort ett par år från början av mätserien för att undvika de signifikanta tidstrenderna. Tabell 2 visar de tidsserier som kvarstod efter att äldre, icke representativa, data tagits bort. Trots att det fanns många tidstrender i materialet räckte det i de flesta fall att ta bort några få år från början av serien för att tidstrenderna skulle försvinna. Det betyder att materialet fortfarande var relativt stort för att skapa gränsvärden. För några biomarkörer som tillkommit på 2000-talet blev dock tidsserierna kortare än 10 år. De kortaste tidsserierna var för plasmajoner hos tånglake, som tillkommit så sent som 2005. På grund av signifikanta tidstrender kapades ytterligare ett par år bort. Den biomarkör som hade kortast tidsserie var metallothionein, som togs med i programmet 2002 och på grund av metodproblem inte har analyserats sedan 2006. Detta är dock fortfarande att betrakta som ett relativt stort material jämfört med de enstaka referenslokaler som används i de flesta recipientstudier med biomarkörer.

Tabell 2. Tabellen visar från vilket år som data har använts för att beräkna gränsvärden.

	Abborre			Tånglake	
	Holmöarna	Kvädöfjärden	Torhamn	Fjällbacka	Kvädöfjärden
Hematokrit	1990	1988	2002	1989	1995
Glukos	1997	2005	2004	2002	2007
Hemoglobin	1997	1995	2002	2004	2001
Hb:HT kvot	2001	1995	2002	2001	2001
Konditionsfaktor	1990	1988	2006	1990	1995
GSI	1997	1990	2002	1992	1995
LSI	1990	1988	2002	1992	1995
Lymfocyter	1999	1999	2002	2003	2002
Granulocyter	1999	2000	2002	1999	1999
Trombocyter	1999	2000	2002	2003	2004
Tot: Vita blodceller	1999	2000	2002	2002	2002
Omogna röda blodceller	1999	2002	2003	1999	1999
EROD	1998	1998	2002	1993	1998
GR	2002	2001	2002	1995	1995
Vitellogenin, Honor	2002	2002	2002	2001	2001
Vitellogenin, Hanar	2002	2002	2002	2001	2001
DNA-addukter	-	2001	-	2002	-
Metallothionein	-	2001	-	2003	-
Kloridjoner i plasma	2003	1991	2002	1989	1997
Kaliumjoner i plasma	2003	2003	2003	2005	2005
Natriumjoner i plasma	2003	2003	2003	2005	2005
Kalciumjoner i plasma	2003	2004	2003	2007	2006
Blodlaktat	1993	1988	2002	1991	1995
GST	2005	2001	2002	2000	1998
Katalas	2001	2001	2002	1993	1995
Histologi	2003	2003	2003	-	-
Könskvot	-	-	-	1998	1997

Alla gränsvärden baserades på variationen i medelvärden mellan åren.

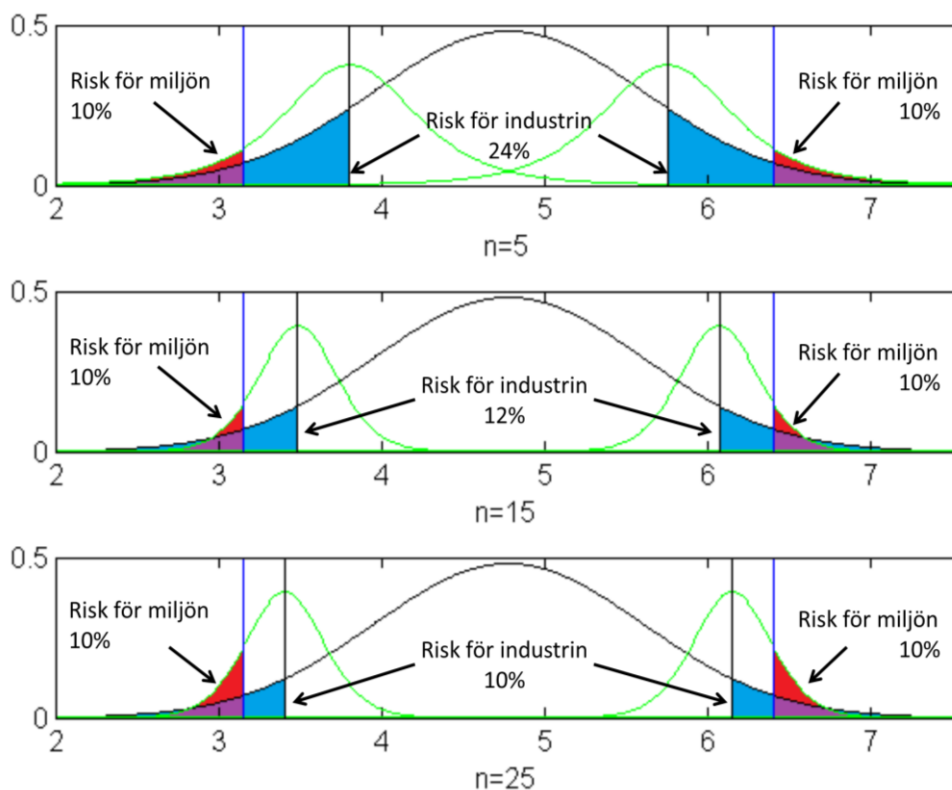
Normalvariationen togs fram som det intervall som innefattar 95% av alla värden vid referenslokaler (Figur 1). Detta ger ett övre och ett undre extremvärde. En undersökt lokal kan sedan testas statistiskt för att se om den ligger mellan dessa extremvärden med hjälp av T-fördelningen, som bestämmer precisionen i ett medelvärde. Precis som i alla tester som baseras på statistiska sannolikhetsfördelningar måste man acceptera en viss sannolikhet att ha fel.

Inom forskning är denna sannolikhet i allmänhet satt till 5%. Det betyder att man accepterar att ett utav 20 positiva resultat (att man ser en effekt) är felaktig. Inom forskning är det ofta inte så intressant hur stor den omvända risken är, att

Faktaruta

Risk för miljön: Sannolikheten, i procent, att en svagt förorenad lokal (precis utanför det normala) skall bli felaktigt betraktad som opåverkad.

Risk för industrin: Sannolikheten, i procent, att en undersökt lokal skall bli felaktigt betraktad som påverkad. Denna risk är samma oavsett om det är industri, annan typ av verksamhet, eller en ren bakgrundslokal som undersöks. För enkelhetens skull benämns det här som risk för industrin, eftersom det största användningsområdet torde vara recipientundersökningar för industri.



Figur 1. Figuren visar hur riskerna för industrin och miljön förhåller sig till varandra och hur de förändras då fler fiskar provtas. Exemplet är baserat på biomarkören GSI och ett stickprov på fem abborrar. Den svarta normalkurvan visar variationen i medelvärden som ligger till grund för att fastslå normalvariationen (området mellan de blå linjerna). De gröna kurvorna är T-fördelningar som visar precisionen i ett skattat medelvärde. De blå markeringarna visar sannolikheten att ett värde som är taget från normalfördelningskurvan skall hamna utanför gränsvärdena och därmed, felaktigt, betraktas som påverkat. De röda markeringarna visar sannolikheten att ett skattat medelvärde som ligger precis på ett gränsvärde (svarta linjerna) i själva verket ligger utanför normalvariationen.

man inte ser en effekt som faktiskt finns. För miljöförvaltning är dock båda dessa risker viktiga. Figur 1 visar hur sannolikheten att se en effekt som inte finns (här kallat *risk för industrin*, se faktaruta) förhåller sig till sannolikheten att missa en sann effekt (här kallat *risk för miljön*, se faktaruta). Begreppet *risk för industrin* omfattar alla felaktiga bedömningar där ett påverkat område pekats ut som påverkat. Det behöver inte nödvändigtvis vara en industri som undersöks utan kan lika gärna vara, t.ex. en småbåtshamn, dagvatten från ett samhälle, eller till och med ett referensområde. Risken för industrin är summan utav de blå ytorna på båda sidor av normalfördelningen. Anledningen till att båda sidorna av normalfördelningen tas med är att en lokal som är ostörd har lika stor sannolikhet att avvika åt båda hållen. Genom att öka antalet prover blir T-fördelningen smalare och risken för både industrin och miljön kan minskas. Gränsvärdena här har satts så att risken för miljön och industrin blir balanserat vid en provtagningsinsats av ungefär 25 fiskar, vilket också är det antal som provtas vid respektive station varje år inom kustfiskövervakningen.

Gränsvärdena justerades så att risken för miljön alltid var 10%. Detta betyder att en lägre provtagningsinsats straffar sig i form av ökad risk för industrin, medan risken för miljön är oförändrad. Denna effekt illustreras i Figur 1, där gränsvärden för 5, 15 och 25 prover visas (för GSI). Ju fler prover som ingår i studien, desto mindre blir effekten av att lägga till ytterligare en. Till exempel så minskar risken för industrin från 24% till 12% om insatsen ökar från 5 till 15 fiskar. Att sedan öka provtagningen med ytterligare 10 fiskar, från 15 till 25, sänker bara risken med ytterligare 2% (till 10%).

Resultat

Alla gränsvärden för abborre presenteras i Tabell 3, och alla gränsvärden för tånglake presenteras i Tabell 4. I tabellerna framgår det övre och det undre gränsvärdet samt risk för industrin då medelvärden tas fram från 5, 15, 25 eller 50 fiskar. Tabellen visar tydligt att industrin kan minska risken att drabbas av en felaktig bedömning genom att provta fler fiskar. Risken för industrin är i allmänhet relativt hög då enbart 5 fiskar används. För några biomarkörer hos tånglake (LSI, MT, könkvot) är osäkerheten så stor att min- och maxvärdena överlappar då enbart fem fiskar analyseras. Det betyder att risken för industrin är 100%, dvs alla värden tolkas som bevis för påverkan (i åtminstone en riktning). Om antalet fiskar ökas till 15 så mer än halveras risken i de flesta fall, och vid 25 fiskar så ligger risken ofta runt 10%. Ytterligare ökning ger sedan ganska liten effekt. Gränsvärdena är satta så att risken för miljön är alltid 10%, oavsett antalet provtagna fiskar.

Tabell 3. Gränsvärden för biomarkörer hos abborre för medelvärden baserade på 5, 15, 25 eller 50 abborrar. Risken för industrin (%) redovisas i tabellen. Risken för miljön är alltid 10%.

	n	Holmöarna			Kväddöfjärden			Torhamn		
		Min	Max	Risk	Min	Max	Risk	Min	Max	Risk
Hematokrit (%)	5	27,8	32,0	32	25,7	28,3	34	26,8	28,4	40
	15	26,8	33,0	14	25,0	28,9	16	26,3	28,9	16
	25	26,6	33,2	12	24,8	29,1	12	26,2	29,0	14
	50	26,4	33,4	10	24,7	29,3	10	26,1	29,1	10
Glukos (mmol/L)	5	4,95	6,50	40	4,95	6,50	40	4,95	6,50	40
	15	4,47	6,98	18	4,47	6,98	18	4,47	6,98	18
	25	4,35	7,11	14	4,35	7,11	14	4,35	7,11	14
	50	4,21	7,24	10	4,21	7,24	10	4,21	7,24	10
Hemoglobin (g/L)	5	60,5	71,1	36	60,5	71,1	36	60,5	71,1	36
	15	57,7	73,9	16	57,7	73,9	16	57,7	73,9	16
	25	56,9	74,7	12	56,9	74,7	12	56,9	74,7	12
	50	56,3	75,3	10	56,3	75,3	10	56,3	75,3	10
Hb:HT kvot	5	2,08	2,62	24	2,08	2,62	24	2,08	2,62	24
	15	1,99	2,70	12	1,99	2,70	12	1,99	2,70	12
	25	1,97	2,72	10	1,97	2,72	10	1,97	2,72	10
	50	1,95	2,75	8	1,95	2,75	8	1,95	2,75	8
Konditionsfaktor	5	1,11	1,18	44	1,18	1,20	82	1,22	1,26	56
	15	1,09	1,20	18	1,15	1,22	28	1,19	1,29	22
	25	1,08	1,21	14	1,15	1,23	20	1,19	1,30	16
	50	1,07	1,22	10	1,14	1,24	14	1,18	1,30	12
GSI (%)	5	3,80	5,75	24	3,80	5,75	24	4,25	5,50	32
	15	3,48	6,07	12	3,48	6,07	12	3,96	5,80	14
	25	3,40	6,15	10	3,40	6,15	10	3,90	5,86	12
	50	3,32	6,23	8	3,32	6,23	8	3,83	5,92	10
LSI (%)	5	1,58	1,80	46	1,46	1,55	66	1,58	1,80	46
	15	1,50	1,88	18	1,38	1,63	24	1,50	1,88	18
	25	1,48	1,90	14	1,36	1,65	18	1,48	1,90	14
	50	1,46	1,92	12	1,34	1,67	12	1,46	1,92	12
Lymfocyter (%)	5	2,70	3,24	50	2,70	3,24	50	2,70	3,24	50
	15	2,46	3,49	20	2,46	3,49	20	2,46	3,49	20
	25	2,40	3,54	16	2,40	3,54	16	2,40	3,54	16
	50	2,34	3,60	12	2,34	3,60	12	2,34	3,60	12
Granulocyter (%)	5	0,89	0,98	74	0,89	0,98	74	0,89	0,98	74
	15	0,78	1,10	26	0,78	1,10	26	0,78	1,10	26
	25	0,75	1,12	18	0,75	1,12	18	0,75	1,12	18
	50	0,72	1,15	14	0,72	1,15	14	0,72	1,15	14
Trombocyter (%)	5	1,67	2,79	26	1,67	2,79	26	1,67	2,79	26
	15	1,49	2,97	14	1,49	2,97	14	1,49	2,97	14
	25	1,44	3,02	12	1,44	3,02	12	1,44	3,02	12
	50	1,40	3,06	10	1,40	3,06	10	1,40	3,06	10
Tot: Vita blodceller (%)	5	5,27	7,02	32	5,27	7,02	32	5,27	7,02	32
	15	4,89	7,41	16	4,89	7,41	16	4,89	7,41	16
	25	4,77	7,53	12	4,77	7,53	12	4,77	7,53	12
	50	4,68	7,62	10	4,68	7,62	10	4,68	7,62	10
Omogna röda blodceller (%)	5	0,45	1,10	22	0,45	1,10	22	0,45	1,10	22
	15	0,35	1,19	12	0,35	1,19	12	0,35	1,19	12
	25	0,33	1,22	10	0,33	1,22	10	0,33	1,22	10
	50	0,31	1,24	8	0,31	1,24	8	0,31	1,24	8
EROD (nmol/mg x minut)	5	0,08	0,20	22	0,08	0,20	22	0,08	0,20	22
	15	0,06	0,22	12	0,06	0,22	12	0,06	0,22	12
	25	0,05	0,23	10	0,05	0,23	10	0,05	0,23	10
	50	0,05	0,23	8	0,05	0,23	8	0,05	0,23	8
GR (nmol/mg x minut)	5	4,76	8,42	20	4,76	8,42	20	4,76	8,42	20
	15	4,33	8,85	12	4,33	8,85	12	4,33	8,85	12
	25	4,20	8,98	10	4,20	8,98	10	4,20	8,98	10
	50	4,07	9,11	8	4,07	9,11	8	4,07	9,11	8
Vitellogenin, Honor (µg/ml)	5	717	2 052	22	717	2 052	22	717	2 052	22
	15	536	2 233	12	536	2 233	12	536	2 233	12
	25	489	2 281	10	489	2 281	10	489	2 281	10
	50	438	2 331	8	438	2 331	8	438	2 331	8

Tabell 3. forts...

	n	Holmöarna			Kvädöfjärden			Torhamn		
		Min	Max	Risk	Min	Max	Risk	Min	Max	Risk
Vitellogenin, Hanar (ng/ml)	5	176	605	22	176	605	22	176	605	22
	15	115	665	12	115	665	12	115	665	12
	25	100	681	10	100	681	10	100	681	10
	50	83	698	8	83	698	8	83	698	8
DNA-addukter (nmol/mol)	5	Finns bara för Kvädöfjärden			0,13	0,71	24	Finns bara för Kvädöfjärden		
	15				0,04	0,80	12			
	25				0,02	0,83	10			
	50				0,00	0,85	8			
Metallothionein (µg/mg)	5	Finns bara för Kvädöfjärden			3,42	7,01	24	Finns bara för Kvädöfjärden		
	15				2,84	7,60	12			
	25				2,69	7,74	10			
	50				2,54	7,89	8			
Kloridjoner i plasma (%)	5	89	113	26	112	124	26	112	124	26
	15	86	117	14	110	126	12	110	126	12
	25	84	118	10	109	127	10	109	127	10
	50	84	119	10	109	127	10	109	127	10
Kaliumjoner i plasma (%)	5	3,52	4,00	48	3,52	4,00	48	3,52	4,00	48
	15	3,32	4,20	20	3,32	4,20	20	3,32	4,20	20
	25	3,26	4,26	14	3,26	4,26	14	3,26	4,26	14
	50	3,22	4,30	12	3,22	4,30	12	3,22	4,30	12
Natriumjoner i plasma (%)	5	134	160	18	134	160	18	134	160	18
	15	131	163	10	131	163	10	131	163	10
	25	131	163	10	131	163	10	131	163	10
	50	130	164	8	130	164	8	130	164	8
Kalciumjoner i plasma (%)	5	0,46	1,12	28	0,46	1,12	28	0,46	1,12	28
	15	0,41	1,17	20	0,41	1,17	20	0,41	1,17	20
	25	0,40	1,19	16	0,40	1,19	16	0,40	1,19	16
	50	0,39	1,20	16	0,39	1,20	16	0,39	1,20	16
Blodlaktat (mg/100 ml)	5	5,95	12,67	30	5,95	12,67	30	11,89	16,93	54
	15	4,55	14,08	14	4,55	14,08	14	9,29	19,54	22
	25	4,25	14,38	12	4,25	14,38	12	8,59	20,24	16
	50	3,94	14,69	10	3,94	14,69	10	7,96	20,86	12
GST (µmol/mg x minut)	5	0,06	0,16	14	0,06	0,16	14	0,06	0,16	14
	15	0,05	0,16	10	0,05	0,16	10	0,05	0,16	10
	25	0,05	0,17	8	0,05	0,17	8	0,05	0,17	8
	50	0,05	0,17	8	0,05	0,17	8	0,05	0,17	8
Katalas (mmol/mg x minut)	5	140	157	72	140	157	72	140	157	72
	15	122	176	26	122	176	26	122	176	26
	25	117	180	18	117	180	18	117	180	18
	50	113	184	14	113	184	14	113	184	14
Histologi, makrofagcentra (MC/mm ²)	5	1,40	2,93	32	1,40	2,93	32	1,40	2,93	32
	15	1,04	3,29	14	1,04	3,29	14	1,04	3,29	14
	25	0,97	3,36	12	0,97	3,36	12	0,97	3,36	12
	50	0,89	3,44	10	0,89	3,44	10	0,89	3,44	10

Tabell 4. Gränsvärden för biomarkörer hos tånglake för medelvärden baserade på 5, 15, 25 eller 50 tånglakar. Risken för industrin (%) redovisas i tabellen. Risken för miljön är alltid 10%.

	n	Fjällbacka			Kväddöfjärden		
		Min	Max	Risk	Min	Max	Risk
Hematokrit (%)	5	9,77	23,94	18	10,53	15,75	34
	15	8,17	25,54	10	9,28	17,00	16
	25	7,97	25,74	10	8,92	17,36	12
	50	7,50	26,21	8	8,65	17,63	10
Glukos (mmol/L)	5	2,11	3,28	30	2,11	3,28	30
	15	1,86	3,52	14	1,86	3,52	14
	25	1,81	3,58	12	1,81	3,58	12
	50	1,76	3,63	10	1,76	3,63	10
Hemoglobin (g/L)	5	35,00	44,11	44	35,00	44,11	44
	15	31,69	47,42	18	31,69	47,42	18
	25	30,88	48,23	14	30,88	48,23	14
	50	30,00	49,11	10	30,00	49,11	10
Hb:HT kvot	5	2,28	2,93	34	2,47	3,30	28
	15	2,12	3,09	16	2,32	3,46	14
	25	2,08	3,14	12	2,28	3,50	12
	50	2,04	3,17	10	2,24	3,53	10
Konditionsfaktor	5	0,46	0,50	46	0,42	0,43	72
	15	0,45	0,52	18	0,40	0,44	26
	25	0,44	0,52	14	0,40	0,45	18
	50	0,44	0,52	12	0,40	0,45	14
GSI (%)	5	12,54	18,49	34	12,54	18,49	34
	15	11,11	19,91	16	11,11	19,91	16
	25	10,70	20,33	12	10,70	20,33	12
	50	10,39	20,64	10	10,39	20,64	10
LSI (%)	5	Ej möjligt			2,11	2,31	64
	15	1,60	1,80	38	1,97	2,45	24
	25	1,57	1,83	26	1,93	2,49	18
	50	1,55	1,86	18	1,89	2,53	12
Lymfocyter (%)	5	1,22	1,51	48	1,22	1,51	48
	15	1,09	1,64	20	1,09	1,64	20
	25	1,06	1,67	14	1,06	1,67	14
	50	1,03	1,70	12	1,03	1,70	12
Granulocyter (%)	5	0,68	0,94	46	0,68	0,94	46
	15	0,58	1,04	18	0,58	1,04	18
	25	0,56	1,06	14	0,56	1,06	14
	50	0,54	1,08	12	0,54	1,08	12
Trombocyter (%)	5	1,11	1,14	90	1,11	1,14	90
	15	1,01	1,24	32	1,01	1,24	32
	25	0,98	1,27	22	0,98	1,27	22
	50	0,96	1,29	16	0,96	1,29	16
Tot: Vita blodceller (%)	5	2,94	3,57	46	2,94	3,57	46
	15	2,68	3,82	18	2,68	3,82	18
	25	2,62	3,88	14	2,62	3,88	14
	50	2,58	3,93	12	2,58	3,93	12
Omogna röda blodceller (%)	5	0,48	0,74	38	0,48	0,74	38
	15	0,41	0,82	16	0,41	0,82	16
	25	0,39	0,84	12	0,39	0,84	12
	50	0,37	0,85	10	0,37	0,85	10
EROD (nmol/mg x minut)	5	0,04	0,15	26	0,04	0,15	26
	15	0,02	0,17	12	0,02	0,17	12
	25	0,02	0,18	10	0,02	0,18	10
	50	0,01	0,18	10	0,01	0,18	10
GR (nmol/mg x minut)	5	16,91	19,75	56	16,91	19,75	56
	15	15,31	21,35	22	15,31	21,35	22
	25	14,90	21,76	16	14,90	21,76	16
	50	14,52	22,14	12	14,52	22,14	12
Vitellogenin, Honor (µg/ml)	5	27	197	20	27	197	20
	15	21	248	12	21	248	12
	25	20	264	10	20	264	10
	50	18	284	8	18	284	8

Tabell 4. forts...

	n	Fjällbacka			Kvädöfjärden		
		Min	Max	Risk	Min	Max	Risk
Vitellogenin, Hanar (ng/ml)	5	35	990	14	35	990	14
	15	28	1240	10	28	1240	10
	25	25	1350	8	25	1350	8
	50	25	1400	8	25	1400	8
DNA-addukter (nmol/mol)	5	0,31	0,69	34	Finns bara för Fjällbacka		
	15	0,26	0,84	16			
	25	0,24	0,89	12			
	50	0,23	0,93	10			
Metallothionein (µg/mg)	5	Ej möjligt			Finns bara för Fjällbacka		
	15	12,34	12,65	82			
	25	12,07	12,92	52			
	50	11,82	13,17	30			
Kloridjoner i plasma (mmol/L)	5	141	166	22	135	159	18
	15	138	169	12	132	162	10
	25	137	170	10	132	162	10
	50	136	171	8	131	163	8
Kaliumjoner i plasma (mmol/L)	5	4,16	5,96	40	4,16	5,96	40
	15	3,58	6,53	16	3,58	6,53	16
	25	3,47	6,64	14	3,47	6,64	14
	50	3,32	6,79	10	3,32	6,79	10
Natriumjoner i plasma (mmol/L)	5	155	194	12	155	194	12
	15	152	196	8	152	196	8
	25	152	197	8	152	197	8
	50	152	197	8	152	197	8
Kalciumjoner i plasma (mmol/L)	5	0,76	1,49	16	0,76	1,49	16
	15	0,69	1,56	10	0,69	1,56	10
	25	0,67	1,58	8	0,67	1,58	8
	50	0,66	1,59	8	0,66	1,59	8
Blodlaktat (mg/100 ml)	5	0,51	7,34	20	0,51	7,34	20
	15	0,36	9,72	12	0,36	9,72	12
	25	0,33	10,53	10	0,33	10,53	10
	50	0,29	11,48	8	0,29	11,48	8
GST (µmol/mg x minut)	5	0,40	0,60	32	0,17	0,48	18
	15	0,35	0,65	16	0,14	0,51	10
	25	0,34	0,66	12	0,13	0,52	10
	50	0,33	0,67	10	0,12	0,53	8
Katalas (mmol/mg x minut)	5	91	232	24	71	172	24
	15	69	254	12	55	188	12
	25	63	259	10	51	192	10
	50	58	265	8	47	196	8
Könskvot (% honor)	5	Ej möjligt			Ej möjligt		
	15	49,12	51,71	52	49,12	51,71	52
	25	48,49	52,34	34	48,49	52,34	34
	50	47,92	52,91	22	47,92	52,91	22

Test av metoden på miljöövervakningsdata

Om gränsvärdena fungerar som de skall kan en jämförelse med dessa vara ett alternativ till att analysera flera referenslokaler vid varje fiskhälsoundersökning. Detta betyder att stora summor pengar kan sparas och färre djur behöver användas och dödas. Detta förutsätter dock att gränsvärdena fungerar och inte ger upphov till sämre bedömningar än då lokala referenser används som jämförelse. För att undersöka om gränsvärden ger upphov till annorlunda bedömningar testades metoden på miljöövervakningsdata från både förväntat påverkade och förväntat opåverkade lokaler. För abborre analyserades data från Svensksundsviken i inre Bråviken och från biotestsjön vid Forsmark (påverkade) samt Öregrundsgrepen och Missjö i Sant Annas skärgård (opåverkade). För Tånglake analyserades data från fyra lokaler på olika avstånd från Mönsterås bruk. De fyra lokalerna

var Marsö (ca 46 km norr om utsläppstuben), Gåsö (ca 1,5 km norr om utsläppstuben), Svartingskär (ca 1 km söder om utsläppstuben), och Slakmöre (ca 24 km söder om utsläppstuben).

Då referenslokaler används för att bedöma en misstänkt påverkad lokal kan ett antal olika statistiska metoder användas. Vanligast i recipientundersökningar är att använda variansanalys (ANOVA), där de olika lokalerna jämförs med varandra och man kan peka ut vilka som, eventuellt, avviker från de andra. Fördelen med metoden är att det är enkelt och att ANOVA är en vanlig statistisk metod som många känner till. Nackdelen är att ANOVAn bara testar om lokalerna skiljer sig åt, inte om de skiljer sig åt mer än vad som är normalt. För biologiska variabler är det ofta mer regel än undantag att olika lokaler skiljer sig åt, även om båda lokalerna är att betrakta som opåverkade. Detta beror på att naturliga lokaler skiljer sig åt vad gäller faktorer som syrehalt, temperatur, näringstillgång, struktur på näringsväv, predationstryck, etc. Analysen blir säkrare om flera referenslokaler används, men då uppstår även andra problem. Det främsta problemet är hur många referenslokaler som den undersökta lokalen skall avvika ifrån för att betraktas som påverkad. Här finns inget rätt svar utan det är upp till den som utför analysen, dvs analysen blir subjektiv. Ett annat problem är att det blir extremt svårt att få en uppfattning om den faktiska risken för industrin respektive miljön.

En bättre metod för att handskas med samma data (en misstänkt påverkad lokal och ett antal referenser) kan vara att använda sig av den så kallade normalvariationen. Från referenslokalernas variation (i medelvärde) skapas ett intervall som rymmer en viss andel (oftast 95%) av den variation som förväntas vid opåverkade lokaler. Därefter testas det om den undersökta lokalen är signifikant utanför eller signifikant innanför detta intervall. I de fall där det inte går att avgöra så får man välja om man vill tillämpa försiktighetsprincipen eller om ett osäkert resultat skall tolkas till industrins fördel. Fördelen gentemot ANOVA är att man slipper den subjektiva bedömningen om hur många referenslokaler som måste avvika för att det skall bedömas som en påverkan samt att man hela tiden har kontroll på risken för industrin respektive miljön. En nackdel med denna metod är att det krävs många referenslokaler för att få en bra skattning av hur stor den naturliga variationen är.

I föreliggande jämförelsen mellan gränsvärden och andra statistiska metoder som baseras på flera referenslokaler användes två metoder baserade på ANOVA och två metoder baserade på normalvariation. Den första metoden som baserades på ANOVA var "försiktighetsprincipen". Här bedömdes en lokal som påverkad om den var signifikant skild från minst en referenslokal. Den andra ANOVA metoden var att tolka resultaten till industrins fördel genom att bara bedöma en lokal som påverkad om den skiljer sig från samtliga referenslokaler. Båda dessa metoder har använts för recipientkontroll av industrier. För normalvariationen användes två metoder, där osäkerhet tillfaller miljön respektive industrin. Även här kan man således tala om "försiktighetsprincipen" och "tolkning till industrins fördel". I Tabell 5 redovisas vilka referenslokaler som använts i respektive undersökning för att bilda normalvariationen eller som jämförelse i ANOVA.

De båda metoderna som baserades på normalvariation gav klart sämst resultat. Över 40% av alla biomarkörer föll ut som påverkade då försiktighetsprincipen användes, oavsett om lokalen var en misstänkt förorenad lokal eller en referenslokal. Då osäkerheten istället tolkades till industrins fördel föll ingen biomarkör ut som påverkad vid någon lokal (Tabell 6). Förklaringen till detta är att osäkerheten i hur stor normalvariationen egentligen är blir allt för stor då bara 3-4 referenser används.

Tabell 5. Tabellen visar vilka referenslokaler som använts i var och en av de olika undersökningarna.

Undersökt lokal	Antal referenser	Referenslokaler
<i>Abborre</i>		
Biotesten	4	Öregrundsgrepen, Kvädöfjärden, Holmöarna, Torhamn
Bråviken	4	Missjö, Kvädöfjärden, Häxvassen, Torhamn
Öregrundsgrepen	3	Kvädöfjärden, Holmöarna, Torhamn
Missjö	3	Kvädöfjärden, Häxvassen, Torhamn
<i>Tånglake</i>		
Gåsö	4	Kvädöfjärden, Marsö, Taktö, Slakmöre
Svartingskår	4	Kvädöfjärden, Marsö, Taktö, Slakmöre
Marsö	3	Kvädöfjärden, Taktö, Slakmöre
Slakmöre	3	Kvädöfjärden, Marsö, Taktö

De båda metoderna som baseras på ANOVA resulterade i att ungefär dubbelt så många biomarkörer föll ut som påverkade vid de misstänkt påverkade lokalerna jämfört med referenslokalerna. Då försiktighetsprincipen användes så föll drygt 34% av biomarkörerna vid misstänkt påverkade lokaler ut som påverkade. Det betyder att de skiljer sig åt från minst en referenslokal. För opåverkade lokaler var den siffran ungefär 18%. Det indikerar att metoden är bra på att hitta påverkade lokaler, men att opåverkade lokaler allt för ofta pekas ut felaktigt. Då osäkerheten istället tolkas till industrins fördel var det bara knappt 6% av biomarkörerna vid misstänkt påverkade lokaler som faktiskt föll ut som påverkade, och för opåverkade lokaler var siffran 2,5%. Det betyder att risken att peka ut en "oskyldig" lokal är relativt låg, men att det samtidigt kan vara stor risk att även lokaler som faktiskt är påverkade missas. Båda metoderna som baserades på ANOVA pekade ut ungefär dubbelt så många biomarkörer vid misstänkt påverkade lokaler som vid referenslokaler (Tabell 6). Det är viktigt att poängtera att andelen utpekade biomarkörer skulle förändras dramatiskt om antalet referenser ändrades. Då antalet referenser ökar så blir det fler biomarkörer som faller ut då man bedömer enligt försiktighetsprincipen, och färre då man bedömer till industrins fördel.

Tabell 6. Tabellen visar hur stora andel (%) av alla biomarkörer som betraktas som påverkade enligt de fem olika statistiska metoderna när två misstänkt påverkade lokaler och två referenslokaler testades för vardera art (abborre och tånglake).

	Typ av lokal	Gränsvärde	Normalvariation (förs.)	Normalvariation (ind.)	ANOVA (förs.)	ANOVA (ind.)
<i>Abborre</i>						
Biotesten	Påverkad	18	50	0	32	5
Bråviken	Påverkad	14	68	0	68	18
Missjö	Referens	18	45	0	14	0
Grepen	Referens	5	41	0	9	0
<i>Tånglake</i>						
Gåsö	Påverkad	9	18	0	14	0
Svartlingskår	Påverkad	9	32	0	23	0
Marsö	Referens	0	32	0	18	5
Slakmöre	Referens	5	55	0	32	5
<hr/>						
Medel: Påverkad		12,5	42	0	34,3	5,8
Medel: Referens		7	43,3	0	18,3	2,5

Även då gränsvärden användes så var det ungefär dubbelt så många biomarkörer vid misstänkt påverkade lokaler som föll ut jämfört med vid referenslokaler. Andelen som föll ut hamnade här mellan de värden som de två metoderna baserades på ANOVA, ca 14% av biomarkörerna vid de

misstänkt påverkade lokalerna och ca 8% vid referenslokalerna (Tabell 6). Att 8% av biomarkörerna vid referenslokalerna föll ut stämmer bra överens med den risk för industrin som redovisas i Tabell 3 och Tabell 4. Hur väl risken för miljön stämmer går inte att avgöra då vi inte vet om, och i så fall hur mycket, de misstänkt påverkade lokalerna faktiskt är påverkade.

Från resultaten så framgår det tydligt att de två metoderna som baseras på normalvariationen inte är lämpliga att använda vid undersökningar av denna typ. Den naturliga variationen mellan lokaler är för stor för att 3-4 referenslokaler skall ge en acceptabel skattning av normalvariationen. Som ett resultat av detta klarar inte metoden att skilja på påverkade och opåverkade lokaler. Inte heller ANOVA som tolkas enligt försiktighetsprincipen är en metod som fungerar att användas rent praktiskt. Nästan en av fem biomarkörer vid referenslokaler pekas här ut som påverkade. Det betyder att det är mycket svårt (eller omöjligt) att hitta någon lokal över huvud taget som inte ses som påverkad. Alla dessa tre metoder får därför anses ge helt orimliga resultat.

Kvar finns gränsvärden och ANOVA som tolkas till industrins fördel. Båda metoderna leder ibland till felaktiga bedömningar, men inte oftare än vad som är förväntat med tanke på den statistiska osäkerheten. Det finns dock ett antal fördelar med att använda gränsvärden jämfört med ANOVA. Dessa listas nedan:

1. ANOVA resultaten ovan baseras på tre till fyra referenser. Om färre referenser används ökar risken att peka ut rena områden, om fler används ökar risken att missa en recipient som faktiskt är påverkad. Detta betyder att en industri kan "köpa sig fri" genom att använda många referenser.
2. Riskerna för miljön och industrin är okända för ANOVAn, men listas i tabellerna för gränsvärden. Därmed går det att värdera resultaten och göra avvägningar beroende på industrins och miljöns värde för samhället.
3. Att använda gränsvärden minskar kostnaderna eftersom referenslokaler inte behövs.
4. Antalet döda djur minskar om inte referenslokaler behöver användas

En risk som finns då man använder gränsvärden är att man råkar utföra undersökningen ett extremår, där även ostörda lokalerna avviker från gränsvärdena. Detta händer i genomsnitt ett år på tjugo, eftersom 95% intervallet användes för att definiera vad som är normalt. Ett exempel på ett sådant extremår är 2006, vilket är det år då data samlades in från Missjö (Tabell 6). Detta år låg konditionsfaktorn vid samtliga referenslokaler (Missjö, Kvädöfjärden, Häxvassen, Torhamn) under det lägre gränsvärdet och LSI var högre än det övre gränsvärdet vid samtliga lokaler utom Torhamn (där det låg nära maxvärdet). Det är därför rimligt att tro att det, pga någon eller några miljöfaktorer, var normalt med avvikande värden detta år. Det är troligt att det är naturliga variationer i, till exempel, klimat och födotillgång som ligger bakom.

Ett sätt att förbättra bedömningen kan vara att även gå in och titta på årsmedelvärdet vid den nationella referenslokal som ligger till grund för gränsvärden som använts. Om detta värde för det aktuella året ligger utanför det normala så bör bedömningen anpassas efter detta. Tabell 7 visar en ny bedömning av samma lokaler där gränsvärden bara har använts som bevis för påverkan om referenslokalen Kvädöfjärden för aktuellt år ligger inom det normala. Risken för att felaktigt peka ut en lokal med gränsvärden sjunker då till under 5% samtidigt som andelen biomarkörer som faller ut vid de misstänkt påverkade lokalerna minskar till drygt 11%.

Tabell 7. Tabellen visar hur stora andel (i %) av alla biomarkörer som betraktas som påverkade enligt de fem olika statistiska metoderna när två misstänkt påverkade lokaler och två referenslokaler testades för vardera art (abborre och tånglake). Gränsvärdena ses här bara som bevis för påverkan om referenslokalen Kvädöfjärden för aktuellt år ligger inom det normala.

	Typ av lokal	Gränsvärde	Normalvariation (förs.)	Normalvariation (ind.)	ANOVA (förs.)	ANOVA (ind.)
<i>Abborre</i>						
Biotesten	Påverkad	18	50	0	32	5
Bråviken	Påverkad	9	68	0	68	18
Missjö	Referens	9	45	0	14	0
Grepén	Referens	5	41	0	9	0
<i>Tånglake</i>						
Gåsö	Påverkad	9	18	0	14	0
Svartingskår	Påverkad	9	32	0	23	0
Marsö	Referens	0	32	0	18	5
Slakmöre	Referens	5	55	0	32	5
Medel: Påverkad						
		11,3	42	0	34,3	5,8
Medel: Referens						
		4,8	43,3	0	18,3	2,5

Bedömningsgrunder

Som framgår ovan är det mer regel än undantag att en eller flera biomarkörer bedöms som påverkad även vid ett referensområde. Detta skall dock inte alltid tolkas som bevis för att lokalen är påverkad. Istället är det en naturlig följd av den naturliga variationen i biologiska mätvariabler i kombination med att det är många biomarkörer som mäts. För att avgöra vad som är påverkan och vad som är normalt krävs därför en djupare analys av data. Som ett stöd för denna analys har en bedömningsmall utarbetats för integrerad fiskövervakning. Bedömningsmallen syftar till att väga samman påverkan på fiskbestånd och fiskfysiologi med mätningar av miljögifter för att skapa en helhetsbild av miljötillståndet i ett område. I bedömningsgrunderna används fyra "komponenter", som vägs samman med hjälp av en beslutsmatris. Dessa komponenter är halter av miljögifter, biomarkörer för exponering, biomarkörer för effekt, samt påverkan på fiskesamhälle. Utav dessa fyra komponenter kan de två som behandlar biomarkörer vara av särskilt intresse här.

Biomarkörer för exponering avser de biomarkörer som mäter en direkt interaktion mellan ett miljögift och organismen eller aktiviteten hos de naturliga avgiftningssystemen. Utav de biomarkörer som har presenterats i den här rapporten är det EROD, GR, DNA-addukter, GST, Katalas och MT som uppfyller det kriteriet. Även biomarkören Vtg kan räknas in här, eftersom den uppvisar ett tydligt dos-respons samband med en viss typ av kemikalier (östrogener). Om någon utav dessa ligger utanför de spann som gränsvärdena anger skall komponenten "Biomarkörer för exponering" anses vara påverkad.

Biomarkörer för effekt avser de biomarkörer som indirekt mäter stress hos fisken. Denna stress kan vara orsakad av miljögifter, andra typer av mänsklig miljöpåverkan, eller naturliga förändringar i miljön. Kopplingen till miljögifter är alltså svagare, men samtidigt blir den biologiska relevansen större då förändringar ofta speglar en nedsatt fysiologisk funktion. För att behålla den biologiska relevansen för den här komponenten har ett poängsystem utvecklats där de olika biomarkörerna graderas beroende på hur "viktiga" de är för fiskens hälsa och, i förlängningen, populationstillväxten.

Biomarkörerna har här uppdelats efter vilken fysiologisk funktion de förväntas beskriva. Denna uppdelning, och poängsättning, presenteras i Tabell 8. Om antalet "markörpoäng" inom en viss fysiologisk funktion uppnår, eller överskrider, "gräns för påverkad funktion", så bedöms funktionen som påverkad. Om någon av funktionerna *reproduktion* eller *kondition och metabolism* är påverkade så bedöms hela komponenten "biomarkörer för effekt" som påverkad. Om minst två utav övriga funktioner faller ut som påverkade blir bedömningen också att hela komponenten anses påverkad.

Tabell 8. Om summan av *markörpoängen* inom en viss funktion överstiger *gränsen för påverkad funktion* bedöms funktionen som påverkad. Om någon av funktionerna *reproduktion* eller *kondition och metabolism* bedöms som påverkade, eller om minst två andra funktioner är påverkade, bedöms hela komponenten "biomarkörer för effekt" som påverkad.

	Markörpoäng	Gräns för påverkad funktion
Reproduktion		
GSI under gränsvärde	1	
Vitellogenin över gränsvärde för hanar	1	1
Vitellogenin under gränsvärde för honor	1	
Skev könsvot hos yngel (tånglake)	1	
Kondition och metabolism		
Konditionsfaktor under gränsvärde	2	
Konditionsfaktor över gränsvärde	1	
Förändring av LSI	1	2
Förändring i glukoshalt	1	
Förändring i laktathalt	1	
Leverfunktion		
Förändring av LSI	3	
Förändring av EROD-aktivitet	1	4
Förändring av GR	1	
Förändring av MT	1	
Immunförsvar		
Förändring i antal vita blodceller (totalt)	2	
Ökning av antal makrofagcentra	2	
Förändring i antal lymfocyter	1	3
Förändring i antal trombocyter	1	
Förändring i antal granulocyter	1	
Röda blodceller		
Förändring i HT	2	
Förändring i Hb	2	3
Förändring i omogna röda blodceller	1	
Jonreglering		
Förändring i kaliumhalt	2	
Förändring i kalciumhalt	2	
Förändring i klorid- OCH natriumhalt	3	3
Förändring i klorid- ELLER natriumhalt	1	

Efter att en bedömning har gjorts av biomarkörer för exponering respektive biomarkörer för effekt kan resultaten vägas samman enligt Tabell 9. I Tabellen används "+" för påverkan och "-" för ingen betydande påverkan. Om både biomarkörer för exponering och effekt är påverkade blir, till exempel, bedömningen att fisken är påverkad och att åtgärder behöver vidtas för att minska belastningen. Tabell 9 ger exempel på slutsatser och åtgärder, men dessa måste naturligtvis anpassas efter vilken typ av verksamhet och recipient det är man undersöker.

Tabell 9. Tolkningsmatris för att väga samman påverkan på biomarkörer för exponering och biomarkörer för effekt.

Exponering	Effekt	Bedömning	Åtgärder
+	+	Påverkan av kemikalier.	Begränsa exponeringen.
+	-	Exponering för kemikalier, men inga negativa hälsoeffekter.	Uppföljande övervakningsprogram. Eventuella åtgärder för att minska exponering.
-	+	Fisken är påverkad av miljögifter eller något annat.	Uppföljande undersökningar för att identifiera orsaker .
-	-	Ingen påverkan på fisken .	Inga åtgärder krävs.

+ = Påverkat
- = Ej påverkat

I Tabell 10 redovisas vilka bedömningar som skulle göras för lokalerna i Tabell 7 om man använder de gränsvärden som presenteras här samt väger samman resultaten enligt bedömningsgrunderna (Tabell 8 och Tabell 9). Resultaten blir ungefär de förväntade med tanke på lokalernas lägen. Lokalen Svartingskär, som ligger i recipienten till Mönsterås bruk, bedöms här som opåverkad. Om detta är en korrekt bedömning vet vi inte. Lokalen Slakmöre, som ligger längre ifrån bruket, bedöms däremot som påverkad. Detta baseras på en skev könskvot, med fler honyngel än förväntat. Detta kan troligtvis inte Mönsterås bruk belastas för då tidigare studier visat att det istället finns färre honyngel i Mönsteråsrecipienten. Det troligare att detta beror på naturliga variationer eller någon lokal miljöfaktor. Detta visar dock att det är viktigt att också göra en kvalitativ analys av resultaten, och inte blint använda gränsvärden och bedömningsmallar. Det visar också att lokala referenslokaler inte nödvändigtvis ger en rättvis bild av normaltillståndet.

Tabell 10. Tabellen visar hur de åtta lokalerna bedöms med hjälp av gränsvärden och en sammanvägning enligt Tabell 8 och Tabell 9.

	Typ av lokal	Bedömning
<i>Abborre</i>		
Biotesten	Påverkad	Fisken är påverkad av miljögifter eller något annat
Bråviken	Påverkad	Fisken är påverkad av kemikalier
Missjö	Referens	Ingen påverkan på fisken
Grepen	Referens	Ingen påverkan på fisken
<i>Tånglake</i>		
Gåsö	Påverkad	Fisken är påverkad av miljögifter eller något annat
Svartingskär	Påverkad	Ingen påverkan på fisken
Marsö	Referens	Ingen påverkan på fisken
Slakmöre	Referens	Fisken är påverkad av miljögifter eller något annat

Ofta ingår mätningar av kemikalier i ett program för recipientkontroll. Det innebär att det finns ytterligare information att lägga till i bedömningen. I HAVET – 2010 (Reutgard et al, 2010) presenterades ett förslag på bedömningsmodell baserat på miljögiftsexponering, biomarkörer för exponering och biomarkörer för effekt. Detta resulterar i en större beslutsmatris, med mer detaljerade tolkningar (Tabell 11). I bedömningsmodellen som presenterades ingick även en gradering av de olika utfallen i tre nivåer enligt trafikljusprincipen. Denna gradering kan hjälpa till att

tydliggöra resultaten i kommunikation. Grönt markerar ett område där inga tecken på miljöpåverkan syns. För ett sådant område krävs varken åtgärder eller fördjupade undersökningar. Gult används för områden där resultaten antyder en förhöjd risk, men där inga betydande effekter syns på fiskens fysiologi. För en recipient som hamnar på denna nivå krävs oftast inga omedelbara åtgärder. Däremot är det viktigt med fortsatta, och eventuellt fördjupade, undersökningar. Rött används för recipienter där fiskens fysiologi är påverkad. För sådana områden krävs alltid riskreducerande åtgärder. Ofta kan kompletterande undersökningar krävas för att ringa in orsaken till de observerade effekterna.

Tabell 11. Tabellen visar hur de tre komponenterna miljögifter, biomarkörer för exponering, samt biomarkörer för effekt kan vägas samman på ett enkelt sätt. Färgerna visar hur allvarliga de observerade effekter är, och vilken typ av åtgärder som behöver vidtas.

Miljögifter	Exponering	Effekt	Bedömning	Förslag på åtgärder
+	+	+	Påverkad fiskhälsa; troligen orsakad av miljögifter.	Utsläppsminskande åtgärder.
+	+	-	Exponering för miljögifter i halter som inte påverkar fiskens hälsa. Tidig varningssignal.	Uppföljande övervakning av fiskhälsa.
+	-	+	Påverkad fiskhälsa; eventuellt orsakad av miljögifter som ej fångas upp av exponeringsmarkörer.	Riskreducerande åtgärder. Eventuellt uppföljande studier för att identifiera orsak.
+	-	-	Miljögifter ej biotillgängliga, eller tillgängliga i ofarliga nivåer.	Uppföljande övervakning av miljögiftshalter.
-	+	+	Påverkad fiskhälsa; eventuellt påverkad av andra miljögifter än de analyserade.	Riskreducerande åtgärder. Eventuellt uppföljande studier för att identifiera orsak.
-	+	-	Varningssignal för effekter av ej analyserade kemikalier.	Uppföljande övervakning av fiskhälsa.
-	-	+	Påverkad fiskhälsa; troligtvis orsakad av annan stress än kemikalier.	
-	-	-	God fiskhälsa. Inga tecken på miljögiftseffekter.	Inga åtgärder krävs

Grönt = Ok

Gult = Uppföljning

Rött = Riskreducerande åtgärder

Diskussion

De referensvärden som presenteras i Tabell 3 och Tabell 4 beskriver den variation som har observerats vid de nationella referensområdena. Värden som ligger mellan dessa gränsvärden kan anses vara normala. För värden som ligger utanför gränsvärdena finns det anledning att tro att påverkan förekommer, även om extremvärden även förekommer naturligt. Det finns dock ett antal saker som måste beaktas innan dessa gränsvärden används i miljöbedömningar.

För vissa biomarkörer (se Tabell 1) är gränsvärdena lokalspecifika. Det är därför viktigt att i dessa fall välja gränsvärden från den referenslokal som bäst beskriver normaltillståndet vid den undersökta lokalen.

För ett antal biomarkörer fanns det tidstrender (Tabell 2). För att undvika allt för hög variation i data, med resulterande stora normalvariationer, plockades äldre data bort tills tidstrenderna försvann. Detta betyder att gränsvärdena är färskvara och att de behöver revideras i takt med att nya data kommer. De gränsvärden som presenteras i denna rapport bör inte användas längre än till 2014.

Det finns många fördelar med att använda gränsvärden istället för lokala referenser. Kostnaden för studien blir lägre, färre djur behöver användas och man får större kontroll över riskerna för fel åt båda hållen. Dessutom kommer det att ligga i industrins intresse att utföra ett tillräckligt ambitiöst provtagningsprogram för att hålla risken för industrin på en låg nivå. Samtidigt påverkas inte risken för miljön av hur många fiskar som provtas. Det går därmed inte, som med andra metoder, att "köpa sig fri" genom ett allt för glest eller extremt tätt provtagningsprogram (beroende på vilken statistisk metod som används). En jämförelse med andra statistiska metoder visar att gränsvärden dessutom minskar risken för felaktiga bedömningar.

Gränsvärden kan med fördel användas i kombination med de bedömningsgrunder som tidigare tagits fram för biomarkörer hos fisk. Detta ger ett bra stöd för den som skall tolka resultaten och minskar utrymmet för subjektiva tolkningar. Eftersom biologiska variabler varierar naturligt måste utrymme finnas för att göra andra bedömningar än de som bedömningsmallen resulterar i. Detta måste då motiveras.

Referenser:

Reutgard M, Sundelin B, Magnuson M, Granmo Å, Larsson Å, Förlin L, Hanson N, Parkkonen J. 2010. Biologiska effekter – bedömningsgrunder under utveckling. *Havet 2010 – Om miljötilståndet i våra havsområden*. Naturvårdsverket. p:77:84