

**Läkemedelsrester i Ryaverkets avloppsvatten och effekter på fisk:
riskbild och kunskapsluckor**

Rapport: 2015-08-24



Rapporten är sammanställd av Professor Joakim Larsson på uppdrag av Gryaab

Innehållsförteckning

Sammanfattning och rekommendationer	3
Uppdragets avgränsningar	4
Bakgrund	5
Sammanställning av litteratur-data	8
<u>Läkemedelshalter i Ryaverkets renade avloppsvatten</u>	8
<u>Läkemedelshalter i fisk</u>	9
<u>Läkemedelshalter i ytvatten och sediment</u>	10
<u>Kontrollerade effektstudier på fisk exponerade för Ryaverkets avloppsvatten</u>	10
<u>Hälsostatus hos fisk fångade i Ryaverkets recipient i relation till läkemedelshalter</u>	11
Diskussion kring risker och kunskapsluckor	12
<u>Generella konklusioner och kunskapsluckor</u>	12
<u>Utspädningens roll</u>	12
<u>Behov av mätningar i recipient och vild fisk för att klargöra exponering</u>	13
<u>Östrogena effekter i fisk</u>	13
<u>Anti-inflammatoriska medel</u>	14
<u>Syntetiska progesteron-liknande substanser och risker med hämmad fortplantning</u>	14
<u>Vilka läkemedel utgör störst risk i Ryas recipient?</u>	15
<u>Reflektion kring behov av ytterligare rening av läkemedelsrester</u>	16
Rekommendationer	17
Tack	18
Redovisning av eventuella egenintressen	18
Referenser	18

Sammanfattning och rekommendationer

Det renade avloppsvattnet från Ryaverket innehåller ett flertal läkemedel i vattenhalter som riskerar påverka fisk. Fiskar som utsatts för outspätt, renat avloppsvatten uppvisar dessutom en tydligt påverkad fysiologi, vilket sannolikt är ett resultat av både läkemedel och andra oönskade ämnen i avloppsvattnet. Därvidlag utmärker sig dock inte Ryaverket från andra undersökta svenska, kommunala reningsverk. Utspädningen i Göta älv är dock stor, vilket högst sannolikt leder till relativt låga vattenhalter i recipienten, hur låga är dock oklart. Även om det också är tydligt att fysiologin hos fisk fångad i Ryaverkets recipient (Danafjord) är påverkad så finns i dagsläget inga klara kopplingar till att de effekter man ser där beror på läkemedel från Ryaverkets avloppsvatten. Samtidigt finns det betydande kunskapsluckor för att kunna göra en bra riskbedömning. Vissa av dessa kunskapsluckor är generella, t ex en bristande förståelse för vilka effekter olika läkemedel har på fisk och vid vilka halter dessa effekter uppstår. Detta är en internationell angelägenhet och kräver omfattande forskningsresurser under längre tid för att lösas. Andra kunskapsluckor är specifika för Ryaverkets recipient, t ex brist på haltdata i såväl vatten som i vild fisk i Göta älvs mynningsområde, samt begränsad data kring möjliga effektbilder i vild fisk. Här skulle lokala undersökningsinsatser av mer begränsad omfattning förbättra möjligheterna till en bra riskbedömning.

För att bättre förstå riskerna med läkemedelsrester i Ryaverkets avloppsvatten föreslås följande lokala insatser:

1. Analyser av läkemedelsrester i vattenprover från Göta älvs mynningsområde (botten- och ytvatten)
2. Analyser av läkemedelsrester i såväl botten- som ytlemande fisk
3. Återkommande analyser av utvalda riskläkemedel i renat avloppsvatten
4. Studier av fortplantningsförmåga och andra relevanta effekter hos fisk utsatta för renat avloppsvatten i olika spädningar
5. Återkommande övervakning av relevanta effekter i fisk i recipienten

Uppdragets avgränsningar

Detta utredningsuppdrag syftar till att sammanställa och utvärdera befintliga data med relevans för hur läkemedel i Ryaverkets avloppsvatten påverkar eller riskerar påverka fisk i recipienten. Litteratur har sammanställts avseende information om uppmätta läkemedelshalter i renat avloppsvatten, ytvatten, sediment och biota, hälsostatus hos fisk fångade i recipienten samt effektstudier på fisk exponerade för Ryaverkets avloppsvatten. Rapporter från perioden 2000-2015 är inkluderade. En riskbedömning för fisk i recipienten har utförts baserad på koncentrationer av läkemedel som förväntas påverka fisk, uppmätta koncentrationer i avloppsvatten samt spädningsmodeller i recipienten. Centrala kunskapsluckor är belysta, och förslag på studier som skulle kunna klargöra riskbilden är inkluderad.

Bakgrund

Läkemedel utgör en stor grupp biologiskt högpotenta ämnen med stor användning i samhället. Många läkemedel hamnar i vattenmiljön som ett resultat av utsöndring via urin och fekalier. Det mest välstuderade exemplet på läkemedels effekter i vattenmiljön är östrogen, främst det syntetiska hormonet etinylöstradiol men också naturligt östrogen (östradiol, östron, östriol) från kvinnors urin som visat sig feminisera han-fiskar nedströms kommunala reningsverk. Forskare har visat att denna feminisering också lett till nedsatt fortplantningsförmåga (Jobling 2002a,b; 2006).

Läkemedel kan påverka flera olika typer av vattenlevande organismer, men fisk utgör en särskilt utsatt grupp. Det beror på att de, liksom vi, är ryggradsdjur. De allra flesta av de receptorer och enzymer som läkemedel är avsedda att påverka hos människor återfinns också hos fisk. Således kan de flesta läkemedel som är avsedda att påverka människor också påverka fisk genom att specifikt binda till motsvarande receptorer och enzymer (måltavlor) i fisken. Bevarade måltavlor för läkemedel i olika organismer, inklusive fisk, finns sammanställda i Gunnarsson et al (2008).

Det första som behövs för att bedöma risken för att ett läkemedel skall påverka fisk i ett vattendrag är ett mått på *exponeringen*, d v s vilken koncentration av läkemedel som fisken utsätts för. Ofta saknas det direkta data på exponering (koncentrationer i vattnet precis där fiskarna lever), utan man får förlita sig på analyser av kommunalt avloppsvatten – den stora källan till läkemedel i vattenmiljön i Sverige - och utspädnings- och spridningsmodeller i recipienten, d v s vattendraget som mottar avloppsvattnet. När det är möjligt bör analyser av avloppsvatten kompletteras med direkta mätningar i recipienten.

För att kunna beräkna risken för påverkan på fisk räcker dock inte data på exponering, utan man behöver också veta vilken vatten-koncentration av ett läkemedel som behövs för att påverka fisken. Även om data på akut giftighet för fisk finns tillgänglig för en hel del läkemedel (t ex via www.fass.se) så är det sällan den sortens effekt-data som är mest relevant att jämföra med, utan snarare de halter som ger upphov till *kronisk giftighet* och effekter på t ex överlevnad, tillväxt, fortplantning eller beteende. För läkemedel efterfrågas ofta studier av effekter som är anpassade till den specifika verkningsmekanismen för olika läkemedel. T ex kan beteende-studier vara särskilt relevanta att utvärdera för läkemedel som är avsedda att påverka hjärnans funktion. Denna typ av data finns bara för ett mindre antal läkemedel. En bra webresurs som sammanfattar ett ganska stort antal effektstudier på fisk och andra vattenlevande organismer är "wikipharma" (www.wikipharma.org).

Miljöforskare vid läkemedelsföretaget Pfizer föreslog 2003 ett sätt att i frånvaro av relevanta effektstudier på fisk ändå preliminärt kunna bedöma risken att ett läkemedel påverka fisk vid en viss vattenkoncentration (Hugget et al, 2003). De kallar angrepps-sättet "fisk-plasma-modellen". I denna modell antas att det krävs ungefär samma koncentration av läkemedlet i blodplasma i en fisk som i en människa för att en effekt ska uppnås. De antog vidare att hur läkemedlet ansamlas i fisken enbart baseras på dess fettlöslighet (vilket brukar stämma ganska bra för oladdade, opolära substanser) och att halten i fisken är linjärt proportionell mot vattenkoncentrationen den utsätts för. Det fina med denna modell är att fettlöslighetsdata är tillgängliga för alla läkemedel, och maximal blodplasma-koncentration under behandling av människa är framtagna för nästan alla läkemedel. Således kan man beräkna en preliminär risk för fisk vid en given vattenkoncentration för nästan alla läkemedel. På samma sätt kan man också räkna ut vilken vattenkoncentration som borde resultera i en blodplasma-koncentration i fisken som är lika hög som den maximala koncentrationer i människa under behandling.

Denna teoretisk beräknande koncentration brukar kallas Critical Environmental Concentration (Fick et al, 2010a).

En osäkerhet i angreppssättet med fisk-plasma-modellen är att det inte bara är fettlöslighet som styr hur läkemedel ansamlas i fisken (biokoncentreras), och därmed blir uppskattning av halten i fiskens blod osäker (Fick et al, 2010a,b). Detta problem kan dock kringgås om man *de facto* mäter läkemedel i blodet hos exponerade fiskar, något som visserligen kräver en hel del arbete, men ändå mycket mindre arbete än omfattande effektstudier. En annan osäkerhet ligger i att vi inte vet precis hur långt under eller över maximal blodplasma-koncentration i människa som krävs i fisken för att orsaka en effekt; I och med att det är just den *maximala* plasmakoncentrationen under behandling i människa man jämför med i modellen (inte den *minsta* koncentrationen som ger effekt) så är det rimligt att utgå från att även blodplasmakoncentrationer *under* denna kan ge effekt i fisk. Dessutom är det så kallade "terapeutiska fönstret" ganska stort för många läkemedel – d v s det koncentrations-spann i blodet som ger upphov till önskad effekt. Så, om man finner att halten av läkemedel i fisken är 10 eller kanske t o m 100 gånger lägre and maximal blodplasmakoncentration i människa, så utesluter det inte en påverkan på fisken, även om risken naturligtvis minskar ju större skillnaden är. Slutligen så kan effektbildningen av t ex en receptor-stimulering i en fisk vara ganska annorlunda jämfört med människa, beroende på skillnader i fysiologi och ekologi. Ett talande exempel är oxazepam – den aktiva substansen i t ex *Sobril* - som ger en lugnande effekt på såväl människor som abborrar. Skillnaden i ekologi mellan arter gör dock att abborren tappar sin naturliga rädsla och blir därmed mycket lättare uppäten av rovfiskar (Brodin et al, 2013, 2014).

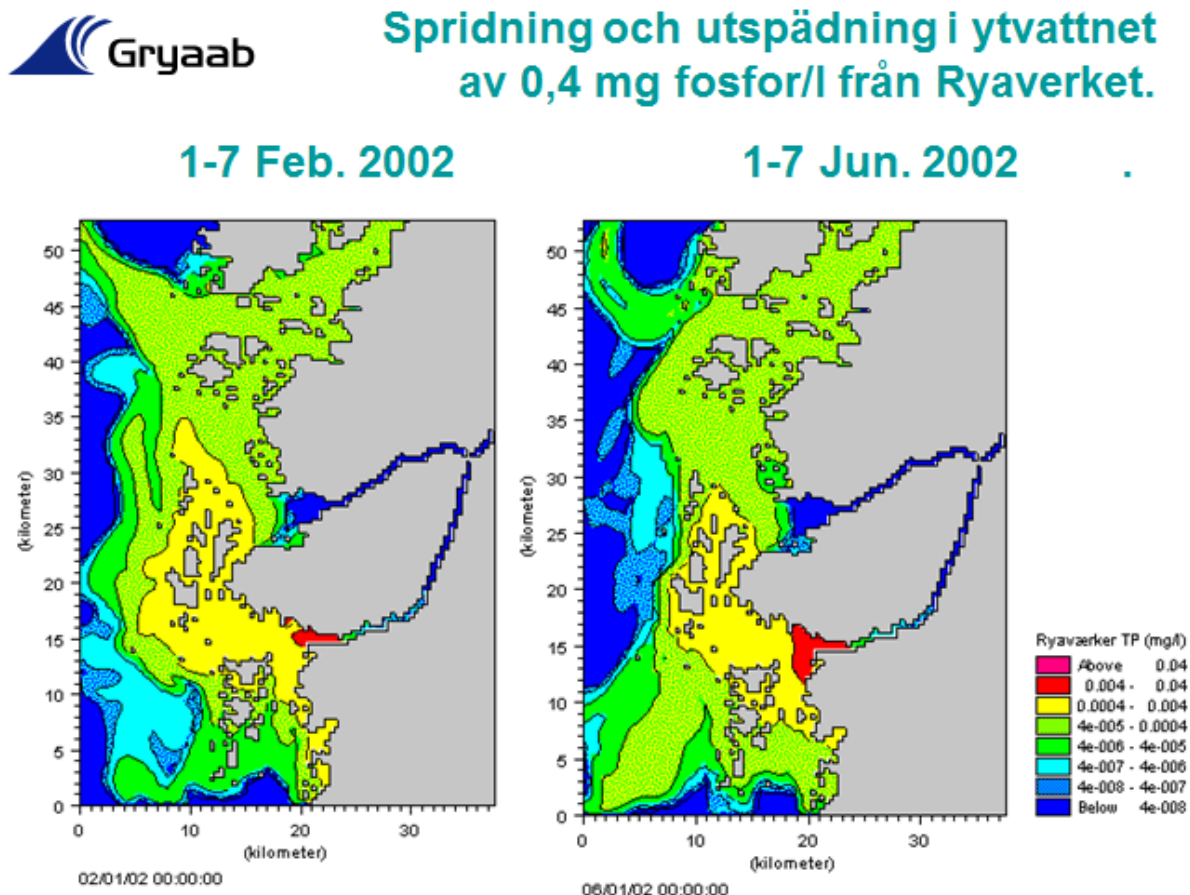
Observationer hos fisk i recipienten som bär på den typ av skador eller effekter man kan förvänta sig av ett visst läkemedel utgör ytterligare bevis för ett orsakssamband. Det finns dock stora utmaningar med att tolka effektdata från vild fisk. Då fiskar rör på sig är det svårt att veta i vilken utsträckning de exponerats för avloppsvatten, inklusive läkemedelsrester. Mätningar av interna koncentrationer av läkemedel i vild fisk är därför särskilt värdefulla, då det kan ge information om i vilken grad fisken utsatts för läkemedelsrester. Det vanligaste är dock att man försöker studera effekter på relativt stationära arter (fiskar som inte flyttar på sig så mycket), och så jämför man data från fisk fångade vid olika platser med olika förväntad exponeringsgrad. Dock är det ju aldrig så att två platser enbart skiljer sig m a p exponering för t ex avloppsvatten. De effekter man studerar påverkas ofta av en mängd olika faktorer, inklusive olika gifter, men de kan också påverkas av fiskens födotillgång, ålder, infektioner, temperatur mm. Därför är det ofta svårt att skapa säkra samband mellan exponering och effekt enbart baserat på observationer i fält. Vid recipienter för kommunalt avloppsvatten är exponeringsbilden ofta komplex, vilket också är fallet i Ryaverkets recipient. Det är således inte bara kemikalierester i avloppsvatten från Ryaverket som fisken exponeras för utan också kemikalier från annan verksamhet i Göta älvs avrinningsområde liksom aktiviteter i hamnområdet.

För de allra flesta läkemedel saknas kunskap om hur fisk påverkas och vid vilka koncentrationer effekter uppstår. Det betyder att det generellt är en stor utmaning att etablera samband med eventuella förändringar hos fisken i recipienten. För östrogen (kvinnligt könshormon) så finns dock ganska bra kunskap; Vitellogenin är ett protein som bildas av levern i könsmogna honfiskar och transporteras med blodet till äggstockarna där det bygger upp ägg-gulan. Om fisk utsätts för östrogen eller östrogen-liknande ämnen i vattnet i tillräcklig hög koncentration bildar dock även hanar och icke-könsmogna honfiskar vitellogenin. Observationer av ökade vitellogenin-nivåer i hanfisk är den effekt som kanske pekar starkast mot påverkan från ett läkemedel – etinylöstradiol från antikonceptionsmedel (t ex p-pillar)

Men det finns också naturligt östrogen från kvinnors urin i renat, kommunalt avloppsvatten som också kan stimulera vitellogenin-bidning. Så även i de fall man ser en ökning av vitellogenin i fisk i recipienten är det svårt att knyta detta med säkerhet mot just läkemedel utan en samtidig kunskap kring vilka halter av olika östrogena ämnen som fisken sannolikt har utsatts för. Vitellogenin-produktion kan påverkas när som helst under en fisks livstid, men under den tidiga utvecklingen som ägg eller yngel kan östrogen också påverka utvecklingen av fiskarnas könskörtlar, vilket kan leda till nedsatt fruktsamhet, intersex (två-könade fiskar) och/eller skeva könskvoter (fördelningen mellan hanar och honor), effektbilder som kan medföra betydande ekologiska konsekvenser. Könskvot hos ofödda tånglake-yngel, en art som ofta används för övervakning i svenska marina miljöer, är därför en annan effekt som man skulle kunna tänka sig påverkas av östrogen. Det är dock inte fastställt hur känslig tånglaken är för feminisering jämfört med andra arter. Storleken av testiklar och äggstockar kan också påverkas av östrogen, men exponering för en lång rad andra ämnen kan på liknande sätt ge upphov till minskade testiklar/äggstockar.

För att bedöma risker med exponering för läkemedel i avloppsvattnet från Ryaverket så har fisk-plasma-modellen använts i flera studier, så också i denna sammanställning. För några läkemedel har exponering relaterats till experimentella, relevanta effektdata på fisk. Fysiologiska undersökningar av fisk fångad i recipienten har kompletterat bilden. Ingen detaljerad bedömning av utspädning/reduktion av läkemedel i recipienten har utförts. En tidigare framtagen modellering av hur fosfor sprider sig utifrån Ryaverket kan preliminärt fungera som en grov modell (Fig 1).

Fig 1.



Sammanställning av litteratur-data

Läkemedelshalter i Ryaverkets renade avloppsvatten

Eurofins har på uppdrag av Gryaab analyserat utgående avloppsvatten från Ryaverket med 78 läkemedel, sammanställda i rapporten "Ozonbehandling av östra sjukhusets avloppsvatten" (Göteborgs stad, 2012). I denna rapport har man bland annat relaterat uppmätta koncentrationer av läkemedel i renat avloppsvatten från Ryaverket till de koncentrationer som teoretiskt bör leda till en blodplasma-koncentrationen i en exponerad fisk som motsvarar den maximala blodplasma-koncentrationen under behandling i människa (tabell 5.5 i rapporten). Denna teoretiska beräknade koncentration brukar kallas Critical Environmental Concentration (CEC; Fick et al, 2010a). Elva läkemedel uppmättes i renat avloppsvatten i en koncentration som var minst 10% av CEC. Dessa läkemedel, med koncentration och % av CEC listas i tabell 1. Notera att de tre sistnämnda kan ses som olika aktiva metaboliter av samma hormon, och de förekommer i vissa läkemedel (t ex som östrogen-substitution vid klimakteriebesvär) men den naturliga produktionen och utsöndringen från kvinnor av östradiol, östron och östriol är sannolikt en mycket större källa än läkemedel (Johnsson and Williams, 2004). I rapporten

Tabell 1. Läkemedelskoncentrationer uppmätta i Ryaverkets renade avloppsvatten. Tabellen anger även teoretiskt beräknad halt i fisk utsatt för utspädd avloppsvatten, uttryckt i % av den maximala blodplasma-koncentrationen i människa under behandling (CEC; critical environmental concentration). Data från Göteborgs stad (2012).

läkemedel	koncentration (ng/L)	% av CEC
citalopram	140	170
dextropropoxifen	16	30
felodipin	14	333
loratadine	6	1070
losartan	310	17
paroxetin	4	14
sertralin	35	49
tramadol	677	14
östradiol	4	1000
östriol	38	1240
östron	33	720

(Göteborgs stad, 2012) poängterades risken med vissa läkemedel (t ex etinylöstradiol, simvastatin) utan att de detekterats i avloppsvattnet. Det är rimligt att lyfta risken med just etinylöstradiol, då det är ett läkemedel som ofta återfinns i avloppsvatten i koncentrationer som kan påverka fisk. Detektionsgränsen (den minsta halt som kan mätas med säkerhet) i just denna studie var emellertid så hög för flera läkemedel (inklusive etinylöstradiol) att analysen inte gav någon ytterligare information kring de eventuellt risker just dessa läkemedel medför för fisken i Göta älvs mynning.

Fick et al (2010b) rapporterade halter av 21 läkemedel i avloppsvatten från Ryaverket, Henriksdal i Stockholm och Umeå reningsverk över en tvåveckors period. Tre läkemedel kunde inte återfinnas vid något reningsverk. Av återstående 18 läkemedel fanns åtta i högst koncentration vid Ryaverket, fem vid Henriksdal och två vid Umeå reningsverk. Uppgifter om tillflöde av dagvatten, reningsteknik mm som kraftigt kan påverka resultatet beaktades inte, då huvudsyftet med studien inte var att jämföra anläggningarnas reningsförmåga. Av de 21 läkemedel som studeras av Fick et al (2010) analyserades 10 i studien av Göteborgs stad (2012). Överensstämmelsen mellan studierna var inom en faktor tre för nästan alla dessa läkemedel, med undantag för ketoprofen som återfanns i 4268ng/L i studien av Fick et al, och 567ng/L i Göteborg stads studie. Endast 2 av läkemedlen i tabell 1 analyserades även i studien av Fick et al (sertralin, tramadol). För tramadol var koncentrationen snarlik (738ng/L) medan sertralin var under detektionsgräns (<5 ng/L).

I en studie initierad av Regionsstyrelsen i Västra Götaland 2007 analyserades 92 läkemedelssubstanser av Eurofins från tre reningsverk; Ryaverket, Skövde reningsverk och Gässlösa reningsverk i Borås (Västra Götalandsregionen, 2008). Mätdata jämfördes också med genomsnittet från en nationell screening av Naturvårdsverket. En riskbedömning för varje recipient gjordes av IVL baserat på beräknad koncentration i recipienten och toxicitetsdata som bland annat genererats från en QSAR-modell. Tillämpning av en sådan modell på specifikt verkande läkemedel är dock mycket starkt ifrågasatt, vilket också nämns i rapporten. Beroende på modellens brister och stora osäkerhet har därför ingen vikt lagts till själva riskbedömningen här. Kemisk analysdata visade emellertid på jämförbara halter i Skövde och Göteborg i renat vatten för de flesta läkemedel. En jämförelse mellan Ryaverkets avloppsvatten mot medelvärdet för den nationella screeningen visade på lägre halter av läkemedel i Ryaverkets renade vatten för 35 (80%) av de 44 läkemedel för vilka man kunde göra en direkt jämförelse. Dock var halterna av t ex östriol (57 ng/L) i Ryaverkets avloppsvatten ca dubbelt så högt som genomsnittet.

En omfattande studie av bland annat läkemedelsrester i slam och vatten från en lång rad svenska kommunala reningsverk, däribland Ryaverket, har genomförts och resultaten är just nu under analys (Markus Östman, Umeå universitet, muntligen). Läkemedel har också analyserats i renat avloppsvatten från Ryaverket i studier där man huvudsakligen fokuserat på hur läkemedel från avloppsvattnet ansamlas i fisk (se nedan).

Läkemedelshalter i fisk

Tre studier har rapporterat läkemedelskoncentrationer i fisk exponerade för outspätt, renat avloppsvatten från Ryaverket (Brown et al, 2007; Fick et al, 2010b, Grabicova et al 2014). Studien av Brown fokuserade på anti-inflammatoriska substanser och blodfett-sänkaren gemfibrozil, Fick's studie täckte ett bredare batteri av läkemedel, medan man i Grabicovas studie analyserade fyra antidepressiva medel. I Brown's studie jämfördes läkemedelshalter i blod från fiskar exponerade vid tre reningsverk, Ryaverket, Gråbo och Spenshult, medan Fick jämförde blodprover från fisk från Ryaverket, Reningsverket i Umeå och Henriksdal reningsverk i Stockholm. I Grabicovas studie analyserades enbart fisk exponerade vid Ryaverket, men å andra sidan jämfördes halter i fiskarnas blod, lever, muskel och hjärna med varandra. I alla tre studierna relaterade man *uppmätta halter i fisken* med de halter som man vet ger effekter på människa (Fick et al, 2010a). Notera skillnaden mot motsvarande riskbedömning baserad på halter av läkemedel *i vatten* (ovan) där en stor osäkerhet tillkommer avseende hur väl läkemedlen biokoncentreras i fisken. En bedömning baserad på uppmätta halter i fisken är således betydligt säkrare, även om osäkerhet avseende vilken halt i fisken som ger upphov till en effekt kvarstår.

I Browns studie koncentrerades läkemedlen mer effektivt från vatten till blod från fiskar exponerade vid Ryaverket jämfört med vid de två andra reningsverken. I Ficks studie var skillnaden mellan reningsverken mindre uttalad. I Browns studie uppnåddes en halt av diklofenak i fiskens blod motsvarande 1/35 av den maximala blodplasma-nivå som uppnås under behandling i människa. I Ficks studie återfanns flera läkemedel i halter som närmade sig de man vet ger effekt i människa, t ex risperidon i knappt 1/2 denna halt, haloperidol och cilazapril i 1/4 och verapamil i 1/14 av den terapeutiska halten i människa. I Grabicovas studie var det bara venlafaxin som återfanns i fiskarnas blod, dessutom i låga halter. Å andra sidan visade det sig att dessa läkemedel koncentrerades mycket mer effektivt i fiskarnas hjärnor – just det organ där man i första hand kan förvänta sig en effekt av antidepressiva medel. Koncentrationerna av citalopram, sertralin och venlafaxin i fisk-hjärna var upp till 1/12, 1/8

respektive 1/26 av den lägsta koncentrationen man uppmätt i hjärnan hos däggdjur som behandlats med terapeutiska doser.

Noterbart är att man i Ficks studie såväl i Umeå som i Henriksdal fann könshormonet levonorgestrel i fiskblod i halter som översteg med råge de halter som ger effekt i människa. Levonorgestrel hittades inte i avloppsvattnet från Ryaverket (<1 ng/L) eller fiskar exponerade för detta vatten, samtidigt så bör det noteras att detektionsgränsen var ganska hög i relation till hur exceptionellt potent denna substans är. Detta hormonella läkemedel har visat sig stoppa fortplantning hos fisk vid en vattenkoncentration om 0.8 ng/L (Zeilinger et al, 2009). I den databas av miljöövervakningsdata som IVL tillhandahåller (<http://dvss.ivl.se/DataSelect.aspx>) finns uppgift om uppmätt halt om 45 ng/L levonorgestrel i Ryaverkets avloppsvatten 2010-10-04. Detta är dock en orimligt hög koncentration i relation till övrig litteratur. I ljuset av de stora utmaningar som finns med att korrekt identifiera och mäta just levonorgestrel är detta sannolikt en felmätning.

Inga data på läkemedelshalter i vild fisk i recipienten har kunnat identifieras. Ett prov från blåmussla plockad ca 6,5 km utanför Ryaverkets utsläppspunkt har analyserats m a p ca 100 läkemedel (Fick et al, 2011). I provet fann man fyra läkemedel över detektionsgräns; haloperidol (0,52 µg/kg), alfuzosin (0,2 µg/kg), bupropion (0,15 µg/kg) och risperidon (0,13 µg/kg). Ett annat prov från 2007 av blåmussla från samma område (Danafjorden) har analyserat av Bohuskustens vattenvårdsförbund m a p 31 läkemedel (Bvvf 838), men alla var under detektionsgräns (som i många fall skiljde sig åt från studien av Fick et al (2011)).

Läkemedelshalter i ytvatten och sediment

Inga data på läkemedel från ytvatten i recipienten har kunnat identifieras. En pågående studie vid Göteborgs universitet (www.nice.gu.se) har analyserat ett vattenprov från lokalen Skalkorgarna m a p drygt 30 läkemedel, men data är inte tillgängliga än. Bohuskustens vattenvårdsförbund har låtit analysera 31 läkemedel i ett sedimentprov från Danafjord, men alla läkemedel var under detektionsgräns (Bvvf 838).

Kontrollerade effektstudier på fisk exponerade för Ryaverkets avloppsvatten

Sedan ca 15 år tillbaka har vid flera tillfällen fisk exponerats för Ryaverkets renade avloppsvatten som del i kursmoment på biolog-utbildningen vid Göteborgs universitet, under ledning av Docent Joachim Sturve/Professor Lars Förllin. Effekter som studerats vid flera tillfällen är EROD-aktivitet i levern och vitellogenin i blodplasma. EROD reflekterar framför allt exponering för vissa polyaromatiska kolväten (PAH). Vitellogenin reflekterar östrogenpåverkan och har beskrivits ovan. Tydliga effekter på såväl EROD som vitellogenin brukar observeras vid varje exponering för Ryaverkets avloppsvatten. Vid 2014-års laboration var effekten på vitellogenin särskilt stark (Joachim Sturve, muntligen).

Två pilotförsök med avloppsvatten-exponerad zebrafisk och analys av fortplantningsframgång har utförts (Joachim Sturve, muntligen). Vid det ena slutade zebrafiskarna fortplanta sig vid exponering för avloppsvatten utspätt 10 gånger. Även om detta är en allvarlig observation, så måste data ännu ses som preliminära.

Om man jämför data på hur mycket det anti-inflammatoriska läkemedlet ketoprofen biokoncentrerade till fisk exponerad för Ryaverkets avloppsvatten (Brown et al, 2007, Fick et al, 2010b) alternativt fiskar exponerade för rent vatten med tillsatt ketoprofen (Cuklev et al, 2012) finns indikationer på att ketoprofen skulle kunna biokoncentrera *mer* från avloppsvatten. Detta skulle kunna bero på att avloppsvattnet innehåller ämnen som påverkar

fiskarnas förmåga att eliminera läkemedlet. Denna möjlighet har undersökts vidare i en studie av Gunnarsson et al (2013). Där visades att injicerat, isotopmärkt ketoprofen eliminerades långsammare från fiskar som för-exponerats för avloppsvatten från Ryaverket, jämfört med fisk som bara simmat i rent vatten innan de injicerades med isotopmärkt ketoprofen. Detta tyder på att traditionella giftighets-studier, där man använder rent vatten och en tillsatt, studerad substans, kan underskatta den interna exponeringen av läkemedlet i fisken som skulle uppnås i en verklig exponerings-situation i fält där ju fisken blir utsatt för en cocktail av substanser. Traditionell giftighets-testning (som används som grund för all regulatorisk verksamhet) riskerar därmed att överskatta de vattenkoncentrationer som krävs för att ge en effekt, och således underskatta risken. Resultat från studien har presenterats vid en internationell vetenskaplig konferens, men en vetenskaplig artikel är ännu inte sammanställd.

Sturve et al (2008) exponerade regnbåge för utspätt, renat avloppsvatten från Ryaverket och fann påverkan på såväl EROD som antioxidant-enzymmer. En studie av hur Ryaverkets avloppsvatten påverkar förekomsten av olika signalsubstanser i blodet på exponerad fisk har utförts, och data håller på att analyseras (Gunnarsson et al, opublicerat).

Hälsostatus och effektbild hos fisk fångade i Ryaverkets recipient i relation till läkemedelshalter

Vild fisk i recipienten utgör ju själva skyddsobjektet, och data från vild fisk är därför särskilt värdefull. Zoologiska institutionen (Prof Lars Förllin) vid Göteborgs universitet genomförde på uppdrag av Bohuskustens vattenvårdsförbund en hälsoundersökning av tånglake vid bland annat lokalen Skalkorgarna i Danafjord i Ryaverkets recipient (Förllin, 2008). Inga effekter konstaterades m a p vitellogenin i hanfisk eller avseende könkvot hos tånglakeyngel. De tydligaste skillnaderna mot övriga lokaler var en förhöjd EROD aktivitet (som tyder på påverkan av PAH) samt en ökad genotoxicitet mätt som s k DNA-addukter, vilket också kan vara en konsekvens av PAH exponering men även andra ämnen. DNA-skador hos tånglake i Danafjorden har också dokumenterats av Frenzilli et al (2004).

Sturve et al (2005) undersökte hälsostatus hos tånglake i Ryaverkets recipient 2002 och 2003, före respektive under en större muddring i hamnen. Vitellogenin var inte påverkat vid något tillfälle. Metallothionein (som indikerar påverkan av tungmetaller) var högre närmare Rya/älvmynningen såväl före som under muddringen. Ett utsläpp av bunkerolja från hamnen sommaren 2003 kunde kopplas till en förhöjd EROD aktivitet i tånglake i Danafjord (Sturve et al, 2014).

Asker et al (2013) undersökte aktiviteten hos många tusen olika gener i levern hos tånglake fångad i Ryaverkets recipient och jämförde den med fiskprover från referenslokalen Fjällbacka. Gener involverade i programmerad celldöd, reparation av DNA-skador samt immunsystemet var påverkade i fisk utanför Ryaverket jämfört med Fjällbacka. Vi har ännu för dålig kunskap om vilka gener som påverkas av läkemedel för att kunna göra eventuella kopplingar till resultaten i tånglake. Det är dock värt att notera att antiinflammatoriska ämnen (NSAID) såsom diklofenak påverkar just gener involverade i immunsystemet, så också hos fisk (Cuklev et al, 2011).

Asker et al (2015) analyserade i en annan studie en rad olika fysiologiska parametrar i tånglake från fem lokaler på den svenska västkusten, däribland Göta älvs mynning. Återigen kunde effekter på immunsystemet hos fiskarna i Göta älvs mynning påvisas. Dessutom uppvisade de flesta fiskar från Göta älvs mynning utbredda fett-blåsor i levern vilket kan tyda på en störd fett-metabolism. Andelen honor som bar på yngel som hade dött sent under graviditeten var också förhöjd. Orsakerna till dessa effekter är oklar.

Diskussion kring risker och kunskapsluckor

Generella konklusioner och kunskapsluckor

Det renade avloppsvattnet från Ryaverket innehåller ett flertal läkemedel i vattenhalter som riskerar påverka fisk. Fiskar som utsatts för utspätt, renat avloppsvatten uppvisar dessutom en tydligt påverkad fysiologi, vilket sannolikt är ett resultat av både läkemedel och andra oönskade ämnen i avloppsvattnet. Därvidlag utmärker sig dock inte Ryaverket från andra undersökta svenska, kommunala reningsverk. Utspädningen i Göta älv är dock stor, vilket högst sannolikt leder till relativt låga vattenhalter i recipienten, hur låga är dock oklart. Även om det också är tydligt att fysiologin hos fisk fångad i Ryaverkets recipient (Danafjord) är påverkad så finns i dagsläget inga klara kopplingar till att de effekter man ser där beror på läkemedel från Ryaverkets avloppsvatten. Samtidigt finns det betydande kunskapsluckor för att kunna göra en bra riskbedömning. Vissa av dessa kunskapsluckor är generella, t ex en bristande förståelse för vilka effekter olika läkemedel har på fisk och vid vilka halter dessa effekter uppstår. Detta är en internationell angelägenhet och kräver omfattande forskningsresurser under längre tid för att lösas. Andra kunskapsluckor är specifika för Ryaverkets recipient, t ex brist på haltdata i såväl vatten som i vild fisk i Göta älvs mynningsområde, samt begränsad data kring möjliga effektbilder i vild fisk. Här skulle lokala undersökningsinsatser av mer begränsad omfattning förbättra möjligheterna till en bra riskbedömning.

Utspädningens roll

En avgörande aspekt för miljörisken är hur stor utspädningen av avloppsvatten är i den aktuella recipienten. Få läkemedel är riktigt svårnedbrytbara. Med några få undantag är det därför koncentrationen i den lokala recipienten som är avgörande för risken, snarare än det totala mass-flödet till miljön. Här skiljer sig riskscenariot med läkemedel från t ex dioxiner som ju kan spridas över jorden och ansamlas i näringskedjor och på så sätt kan ge effekter mycket långt från utsläppspunkten. I fallet med dioxiner löser därför en stor initial utspädning i recipienten inte problemet, men en stor och snabb utspädning kan minska miljörisken för många läkemedel. Ryaverket tar visserligen emot avloppsvatten från en stor population (>725,000 personer), men samtidigt är Göta älv ett mycket stort vattendrag. Medelflödet på årsbasis från Ryaverket ($4.38 \text{ m}^3/\text{s}$; Miljörapport Ryaverket 2014) motsvarar drygt 3% av Göta älvs flöde genom Göteborgs-grenen. Vid komplett omblandning skulle det innebära en 97% reduktion jämfört med koncentrationerna i det renade avloppsvattnet. Omblandningen sker dock gradvis, men vattenvolymen som exponeras för >10% avloppsvatten är sannolikt mycket begränsad. När Göta älv möter havet sker dessutom en ytterligare utspädning med havsvatten. Denna utspädning är dock inte lika effektiv som mellan älvvattnet och avloppsvattnet, då havsvattnet är tyngre, varvid älv/avloppsvattnet företrädesvis hamnar i ytan och det saltare havsvattnet vid botten. Det leder till att arter som uppehåller sig mycket pelagiskt/vid ytan såsom mört, mulle, löja m m sannolikt blir mer exponerade för läkemedelsrester än de som uppehåller sig enbart vid botten, såsom tånglakar. Detta kan betyda att de effekt-data som finns att tillgå data från vild fisk i recipienten (tånglake) inte nödvändigtvis reflekterar en lika stor exponering för läkemedel som de halter vissa andra arter blir utsatta för.

Som beskrivits ovan har man i flera studier uppskattat eller uppmätt läkemedelshalten i fisk utsatt för utspätt renat avloppsvatten. I något fall var den uppskattade koncentrationen i fisken ca 10 gånger så hög som den maximal blodplasma-koncentration som uppnås i människa under behandling. För sådana läkemedel är det inte orimligt att en spädning om 10-

100 gånger och kanske ännu mer resulterar i halter som fortfarande skulle kunna påverka fisk. Samtidigt saknas experimentella data helt för flera av dessa läkemedel avseende vilka halter de faktiskt påverkar fisk och vilka effekterna är. Det gör att riskbedömningen blir mycket osäker, men man kan på intet sätt utesluta risk. Det skall också påpekas att det finns ett stort antal läkemedelssubstanser som man inte genomfört någon riskbedömning alls för.

Behov av mätningar av läkemedel i recipient och i vild fisk för att klargöra exponering

Det är en uppenbar kunskapslucka att det i stort sett saknas data på läkemedelsrester i Göta älvs mynningsområde. För att bättre kartlägga den aktuella exponeringen för vild fisk rekommenderas därför läkemedels-analyser i såväl bottenfisk (tånglake) som ytvattenlevande fisk i recipienten. Då många läkemedel har en mycket snabb omsättningstid i fisken (för vissa kan det handla om halveringstider på mindre än en timme) rekommenderas inte sumpning efter fångst (som ibland sker vid miljöövervakningsstudier), då det kan leda till att läkemedel ”vädras ut” eller ansamlas, beroende på sumpningsplats. Fisken bör därför avlivas och provtas direkt i samband med fångst. Prover av blodplasma samt muskel underlättar riskbedömning och jämförelser med redan genomförda studier. För neuroaktiva läkemedel rekommenderas kompletterande prover på hel hjärna. För val av läkemedel att analysera rekommenderas de som i andra studier visat sig biokoncentrera mycket och som frekvent detekteras i fisk. I den nationella övervakningen av läkemedel återfanns 27 substanser i fisk (Fick et al, 2011) och dessa eller ett urval av dessa bör inkluderas (se fig 7 i Fick et al, 2011). Ett urval från de 11 läkemedel som detekterats i avloppsvatten i koncentrationer nära CEC kan också inkluderas (tabell 1), givet att analysernas detektionsgräns är rimligt låg i relation till en förväntad halt i fisken (Fick et al, 2010a).

Östrogena effekter i fisk

De östrogena effekterna på fisk (ökad bildning av vitellogenin) av utspädd avloppsvatten från Ryaverket är tydliga. Att utspädd, renat kommunalt avloppsvatten innehåller tillräckligt mycket östrogena substanser för att påverka fisk är dock snarare en regel än undantag bland kommunala reningsverk. Inga effekter på vitellogenin har dock observerats på tånglaxar i recipienten, vilket sannolikt är ett resultat av en stor utspädning. Som tidigare nämnts kan dock bottenfisk, såsom tånglake, vara mindre exponerad än pelagisk/ytsimmande fisk.

Viss information kan dras kring vilka östrogena hormoner som står bakom vitellogenin-effekterna då kunskapen är särskilt god kring deras potens i fisk. Detta är således ett fall där vi inte behöver förlita oss till den mer teoretiska fisk-plasma-modellen som vi vet överskattar effekter av östriol, östron och östradiol i relation till det exceptionellt potent läkemedlet etinylöstradiol. Thorpe et al (2003) visade att etinylöstradiol var 11-27 gånger mer potent än östradiol i fisk och östradiol i sin tur 2,3-3,2 gånger mer potent än östron. Detta kan översättas till att EC50 (den koncentration som krävs för att 50% av den maximala effekten skall uppnås) var 0,95-1,8 ng/L för etinylöstradiol, mellan 19 och 26 ng/L för östradiol och 60ng/L för östron. Östriol har ännu lägre potens. Med uppmätta koncentrationer om 4 ng/L östradiol och 33 ng/L östron i renat avloppsvatten från Ryaverket så verkar det rimligt att dessa två substanser bidrar till de effekter man ser i fisk exponerad för utspädd, renat avloppsvatten. Bidraget från etinylöstradiol är dock okänt, då det i praktiken saknas data för etinylöstradiol i Ryaverkets renade avloppsvatten. De detektionsnivåer om 10 ng/L för etinylöstradiol som Eurofin kunnat erbjuda i sitt analyspaket är av begränsat värde, då trovärdiga halter av etinylöstradiol över 10 ng/L i renat kommunalt avloppsvatten mycket sällan eller aldrig förekommer. Flera studier har rapporterat effekter i fisk vid en exponering mellan 0,1 och 1 ng/L. I regionens tidigare studie (Västra Götalandsregionen, 2008) anger lite förvånande samma analyskonsult en 10 gånger lägre detektionsgräns, men kanske bör denna tas med en

nypa salt. Under den så kallade "bevaknings-listan" under EUs vattendirektiv så är etinylöstradiol ett av de läkemedel man överväger skall regleras. Under en tid framöver skall substansen mätas i ytvatten i alla medlemsländer. Det referensvärde (EQS) som diskuteras för etinylöstradiol och som ej bör överskridas i ytvatten om etinylöstradiol inkluderas i listan över prioriterade ämnen är 0,035 ng/L. Givet den tydliga östrogena effekten som observerats återkommande i fisk efter exponering för Ryaverkets avloppsvatten, samt en möjlig framtida reglering, så rekommenderar jag redan nu återkommande analyser av etinylöstradiol i renat avloppsvatten med ett känsligare och validerat protokoll (detektionsgräns under 1 ng/L). Även östradiol är inkluderat i bevakningslistan med ett föreslaget EQS på 0,4 ng/L och bör därför också mätas. En utmaning är att det i dagsläget är svårt att analysera såväl etinylöstradiol som östradiol på ett tillförlitligt sätt i de halter man vill underskrida i recipienten. I dagsläget kan det därför vara rimligt att istället fokusera analyser på renat avloppsvatten i stället för recipient-vatten för dessa substanser. För etinylöstradiol är även detta en betydande analytisk utmaning.

Anti-inflammatoriska medel

Även diklofenak finns på EUs bevakningslista och kan inom en snar framtid bli en reglerad substans. För diklofenak är det föreslagna EQS värdet 100 ng/L vilket inte innebär några större analytiska utmaningar. Paxeus uppmätte i medel 287 ng/L i renat avloppsvatten från Ryaverket (Göteborgs stad, 2012). Brown (2007), å andra sidan, uppmätte hela 2320 ng/L i medel över flera prover, medan Fick et al (2010b) uppmätte ett tvåveckors-medelvärde om 720 ng/L och Västra Götalandsregionen (2008) rapporterade ett medelvärde om 137 ng/L. Om koncentrationen av diklofenak ligger på nivåer kring de som Brown uppmätte finns en viss risk att EQS kan överskridas i recipienten. Bortsett från det rent lagliga perspektivet så bör man också ta hänsyn till följande: 1) I avloppsvattnet finns det ett flertal läkemedel med överlappande verkningsmekanism (t ex naproxen, ibuprofen, ketoprofen) som högst sannolikt samverkar med diklofenak. 2) Gunnarssons studie (2013) visar att okända ämnen i avloppsvattnet minskade fiskens förmåga att eliminera ketoprofen, vilket därmed förväntas förstärka en eventuell effekt. 3) Tånglake i recipienten uppvisar förändringar i uttryck av gener involverade i immunsystemet – en effektbild man kan förvänta sig efter exponering för diklofenak och liknande läkemedel. Med detta i åtanke rekommenderar jag återkommande analyser av NSAID, särskilt diklofenak men gärna också naproxen, ketoprofen och ibuprofen, i renat avloppsvatten. Dessa bör också analyseras i recipientvatten.

Syntetiska progesteron-liknande substanser och risker med hämmad fortplantning hos fisk

De preliminära observationerna av Docent Joachim Sturve vid Göteborgs universitet att fortplantning hos zebrafisk stoppades vid exponering för 10% avloppsvatten är oroväckande och bör följas upp med fler fortplantningsförsök på utspätt avloppsvatten. Om data på levonogestrel-koncentrationen i avloppsvatten i IVL-s data bas (45ng/L) är korrekt (vilket den sannolikt inte är) så vore resultaten med hämmad fortplantning emellertid en rimlig konsekvens. En rapport från läkemedelsföretaget Bayer-Schering (som tillverkar levonorgestrel) visade att 0,8 ng/L levonorgestrel kan stoppa fortplantning hos fisk helt (Ziehlinger et al, 2009). Om halten av levonorgestrel i Ryaverkets avloppsvatten vore 45 ng/L så skulle det kunna orsaka fortplantningsproblem i recipienten. Dessutom används en lång rad ytterligare syntetiska hormoner i olika antikonceptionsmedel som binder till samma receptor som levonorgestrel. Uppföljande analyser av levonorgestrel samt övriga progesteron-liknande, syntetiska hormoner rekommenderas därför. Här finns dock återigen utmaningar att med kvaliteten och känsligheten hos de kemiska analyserna för dessa exceptionellt potenta ämnen.

I människa använder man ofta en kombination av östrogen (etinylostradiol) och en progesteron-lik substans (såsom levonorgestrel) för att mer effektivt hämma ägglossning (i s k kombinations-p-piller). Vi vet att avloppsvattnet från Ryaverket innehåller östrogen vilket i sig självt eller i kombination med progesteron-lik substanser kan minska fortplantningsförmågan hos fisk (och därmed skulle kunna förklara den preliminära observationen med utebliven fortplantning hos zebrafisk). Att förstå kombinationseffekter är en stor utmaning för forskarsamhället i stort. Vidare studier av effekter på fisk av det komplexa avloppsvattnet, liksom studier av fisk i recipienten är ett sätt att förstå de integrerade effekterna av alla kemikalier fisken utsätts för.

Vilka läkemedel utgör störst risk för fisk i Ryas recipient?

En relevant fråga är om Ryaverkets avloppsvatten innehåller mer eller mindre läkemedel än avloppsvatten från andra svenska kommunala reningsverk. I olika så kallade ”runda-bords-tester” där olika laboratorier fått analysera samma prov visar det sig att resultaten ibland kan variera ganska mycket. Därför är det bäst att relatera data från samma laboratorium, allra helst prover analyserade vid samma tillfälle. Reningsgrad varierar dessutom mycket över dygnet (Sehlén et al 2015) så en förutsättning är att man jämför integrerade prover insamlade över en längre tid. I jämförelsen av tre reningsverk i Fick et al (2010b) återfanns flest läkemedel i högst koncentration vid Ryaverket. I studien av Västra Götalandsregionen (2008) var dock läkemedelshalterna i renat avloppsvatten från Ryaverket för de flesta läkemedel lägre än de genomsnitt som rapporterats av Naturvårdsverket för flera svenska reningsverk. Dock påverkas reningen i stor grad av faktorer såsom säsong, lokal användning av läkemedel och inflöde av dagvatten, så alla jämförelser mellan reningsverk är förknippade med betydande osäkerheter. Mer omfattande jämförelser och analyser utförda vid samma laboratorium behövs sannolikt om man vill uttala sig säkert kring systematiska skillnader mellan reningsverk. Det är av intresse att se hur läkemedelsreningen påverkas vid kraftigt regn, då ett ökat dagvattenflöde vid Ryaverket kan leda till att stora delar av flödet enbart genomgår en förenklad reningsprocess. Flera tekniska förbättringar har genomförts vid Ryaverket; 2005 infördes kemisk rening av bräddvatten och 2010 togs ytterligare en kväverensningsanläggning i drift och skivfilter (15 µm) som slutpoleringssteg. Exakt hur dessa förändringar har påverkat läkemedelsflödet är oklart.

En annan fråga som ofta ställs är vilka läkemedel som utgör störst risk och därmed är viktigast att rena från avloppsvatten. Reningsgraden för olika läkemedel varierar mellan reningsverk, liksom den lokala användningen. Den stora osäkerheten kring vilka koncentrationer som utgör en risk för olika läkemedel överskuggar dock ofta denna variation. Givet att vi talar om välfungerande, svenska reningsverk är det därför sannolikt ungefär samma läkemedel som utgör högst miljörisk oavsett vilket reningsverk det handlar om. Roos et al (2012) har jämfört olika sätt att ranka miljörisker mellan olika läkemedel, och också diskuterat metodernas för- och nackdelar. Det mest klassiska angreppssättet, som också utgör basen för regulatorisk toxikologi, baseras på en jämförelse mellan exponering och en kunskap kring vilka exponeringsnivåer som ger en effekt. Beroende på en mycket fragmentarisk kunskap kring såväl exponering som relevanta effekter av de över 1000 läkemedelssubstanser som används enbart i Sverige, så kan en sådan bedömning bara göras för ett mycket litet antal läkemedel. Hela tiden tillkommer dock nya effekt- och exponerings-data som förändrar vår bedömning av risk. Till exempel identifierades oxazepam som en risksubstans 2013 (Brodin et al, 2013; 2014), och helt nyligen kom en rapport som visade att metformin, ett högvolumsläkemedel som används mot diabetes, kan hämma fortplantning hos fisk i de halter som påträffats i renat avloppsvatten (Niemuth and Klaper, 2015). En annan färsk, och samtidigt mycket kontroversiell studie hävdar att exceptionellt låga koncentrationer (1 ng/L)

av propranolol (en hjärtmedicin) påverkar fortplantningen hos vattenloppor och att 1 ng/L fluoxetin (antidepressivt medel) och 10 ng/L carbamazepin (antiepileptika) påverkar deras beteende (Rivetti et al, 2015). Om resultaten från denna studie är korrekta är effekterna av läkemedel i miljön långt mer utbredda än vi tidigare trott. Samtidigt så varierar kvaliteten på vetenskapliga studier, vilket betyder att alla rapporter kring såväl exponering som effektnivåer bör läsas med kritiska ögon (Ågerstrand et al, 2011). Som nämnts ovan finns dokumenterade risker kopplade till etinylöstradiol och östradiol, NSAID (särskilt diklofenak) och progesteron-lika läkemedel (t ex levonorgestrel). För flera av de läkemedel som visat sig biokoncentrera i fisk exponerad för Ryaverkets avloppsvatten saknas relevanta effektdata på fisk för nästan alla. Riskbedömningen för dessa läkemedel baseras därför inte på en kombination av exponering och effektdata, utan enbart på en exponering, samt en extrapolation mellan människa och fisk avseende läkemedlens potens och möjliga effektbild. För andra läkemedel har det enbart *beräknats* en intern exponering i fisk som i vissa fall överskred effektnivåer i människa. Här tillkommer dock ytterligare osäkerheten kring hur väl läkemedlen egentligen biokoncentreras i fisk. Att jämföra risker som beräknas på olika sätt och med olika stor grad av osäkerhet är mycket svårt. Lämpligen bör man på olika sätt försöka klargöra riskbilden för alla substanser där en risk har identifierats, oavsett vilken metod som har använts.

Reflektioner kring behov av ytterligare rening av läkemedelsrester

Då användning av läkemedel är så intimt kopplad till vår hälsa och välbefinnande är det en grupp substanser för vilka så kallade effektiva ”uppströmsåtgärder” (t ex utfasning) är en relativt svår väg att gå om man vill minska halterna i miljön. Det är en stark rekommendation i Sverige att patientens hälsa skall beaktas i första hand vid val av behandling. Om två läkemedel skiljer sig åt avseende vilken risk de har för miljön efter utsöndring, så skiljer de sig också i de allra, allra flesta fall åt m a p vilken risk och nytta de har för patienten. Endast i undantagsfall är det helt egalt ur klinisk synpunkt om det ena eller andra läkemedlet används. Därför kan en forskrivare relativt sällan välja en mindre miljöbelastande läkemedelssubstans utan att åtminstone till viss del riskera hälsan hos patienten. Att i större omfattning ersätta befintliga läkemedel genom att ta fram nya, nedbrytbara varianter är dessutom av flera skäl mycket svårt. Sammantaget talar detta för att förbättrad rening av avloppsvatten är en framkomlig väg om man vill minska miljöexponeringen.

Givet de data som funnits att tillgå vid sammanställningen av denna rapport är min bedömning att det idag inte finns starka indikationer för läkemedelspåverkan på fisk i Göta älvs mynning. Flera betydande osäkerheter kvarstår dock, vilka beskrivits ovan. Givet att lagliga krav är uppfyllda så är beslut kring eventuell ytterligare rening därför ett avvägande kring hur långt man vill applicera försiktighetsprincipen. Samtidigt bör beslut balanseras mot olika kostnader och tekniska möjligheter. En sådan bedömning ligger emellertid utanför ramarna för denna rapport. En tidigare utredning har visat att en riktad insats för att rena Östra sjukhusets avloppsvatten från läkemedelsrester skulle minska det totala läkemedelsflödet till recipienten mycket marginellt (Göteborgs stad, 2012). Huruvida det krävs insatser för förbättrad läkemedels-rening vid Ryaverket i ett längre perspektiv beror av hur våra kunskaper kring läkemedel i miljön utvecklas generellt, samt hur kunskapsluckor kring exponeringsgrad i recipienten och effektbild i fisk kan fyllas. För det senare krävs lokala initiativ (se rekommendationer nedan). Om vissa läkemedel blir reglerade enligt vattendirektivet med de gränsvärden som i dag diskuteras kan det i framtiden bli nödvändigt med ytterligare rening.

Rekommendationer

För att bättre förstå riskerna med läkemedelsrester i Ryaverkets avloppsvatten föreslås följande lokala insatser:

1. Analyser av läkemedelsrester i vattenprover från Göta älvs mynningsområde (botten- och ytvatten)

Kommentar: Tillgängliga data på läkemedelshalter i vattenprover från recipienten saknas helt. Utan sådana data är vår bedömning av vilka halter vild fisk utsätts för mycket osäker och därmed jämförelsen till de halter av läkemedel man vet ger effekter. Då älvvattnet skiktas sig ovanför det saltare vattnet från kusten rekommenderas analyser av såväl botten- som ytvatten.

2. Analyser av läkemedelsrester i såväl botten- som ytlevande fisk

Kommentar: Data på läkemedelshalter i fisk i recipient gör det möjligt att bedöma risk för i princip alla uppmätta läkemedel utifrån deras potens i människa utan de betydande osäkerheter som annars finns kring läkemedlets spridning i miljön och deras förmåga att ansamlas i fisk. Osäkerhet kvarstår naturligtvis avseende extrapolationen mellan människa och fisk avseende potens och effektbild.

3. Återkommande analyser av utvalda riskläkemedel i renat avloppsvatten

Kommentar: Flera läkemedel är från andra studier associerade med hög risk, och vissa av dessa läkemedel kan inom kort bli föremål för reglering enligt det Europeiska vattendirektivet. En god kunskap om hur halterna av dessa varierar i Ryaverkets avloppsvatten är en god förberedelse för eventuella krav som skulle kunna kräva mycket kostsamma åtgärder.

4. Studier av fortplantningsförmåga och andra relevanta effekter hos fisk utsatta för renat avloppsvatten i olika spädningar

Kommentar: Indikationer, om än mycket preliminära, finns på att fiskars fortplantning kan påverkas av utspätt, renat avloppsvatten från Ryaverket. En sådan effekt skulle kunna vara resultatet av reproduktionsstörande läkemedel. Effekter på fortplantning måste ses som en allvarlig typ av effekt, och det bör klargöras vilka säkerhetsmarginaler som finns avseende fortplantningspåverkan på fisk i recipienten. När sådana studier utförs bör man också följa upp andra mer specifika effektparametrar, t ex vitellogenin i hanfiskar, som kan ge indikationer på vilka typer av substanser som kan ligga bakom eventuella effekter.

5. Återkommande övervakning av relevanta effektparametrar i fisk i recipienten

Kommentar: Observationer av eventuella effektbilder i vild fisk är en viktig del i en bedömning huruvida läkemedel i Ryaverkets avloppsvatten påverkar recipienten. Effektstudier ger en integrerad bild av hur alla substanser i recipienten påverkar djurlivet, en kunskap vi inte kan få fram enbart utifrån studier på enskilda kemikalier. Relevant data från vild fisk finns men den är begränsad. Återkommande övervakning

ger också möjligheter att relativt tidigt upptäcka försämringar i hälsostatus hos vild fisk, och därmed styra eventuella åtgärder.

Tack

Jag vill tacka Lars Förlin och Joachim Sturve vid Institutionen för biologi och miljövetenskaper vid Göteborgs universitet samt Ann Mattsson, Jan Mattsson, Nicklas Paxeus samt Susanne Tumlin vid Gryaab för goda råd och information om relevanta studier.

Redovisning av eventuella egenintressen

Rapporten är sammanställd av Joakim Larsson, professor i miljöfarmakologi vid Sahlgrenska akademien vid Göteborgs universitet. Larsson har ca 20 års erfarenhet av forskning kring läkemedel, fisk och kommunalt avloppsvatten, och har själv bidragit till flera av de vetenskapliga studier som berörs i rapporten. Sedan en tid tillbaka är Larssons forskningsfokus antibiotika och antibiotika-resistens hos bakterier i miljön. Eventuella nya uppdrag kring läkemedelsanalyser och studier av fisk som är ett resultat av rekommendationerna i denna rapport kommer därför inte att leda till ökade forskningsmedel för Larsson eller hans forskargrupp.

Referenser

Asker N, Kristiansson E, Albertsson E, Larsson DGJ, Förlin L. 2013. Hepatic transcriptome profiling indicates differential mRNA expression of apoptosis and immune related genes in eelpout (*Zoarces viviparus*) caught at Göteborg harbor, Sweden. *Aquatic Toxicology*. 130–131:58-67.

Asker N, Carney Almroth B, Albertsson E, Coltellaro M, Bignell JP, Hanson N, Scarcelli V, Fagerholm B, Parkkonen J, Wijkmark E, Frenzilli G, Förlin L, Sturve J. 2015. A gene to organism approach-assessing the impact of environmental pollution in eelpout (*Zoarces viviparus*) females and larvae. *Environ Toxicol Chem*. 34(7):1511-23.

Brodin T, Fick J, Jonsson M, Klaminder J. 2013. Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations. *Science* 339(6121):814-5.

Brodin T, Piovano S, Fick J, Klaminder J, Heynen M, Jonsson M. 2014. Ecological effects of pharmaceuticals in aquatic systems--impacts through behavioural alterations. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 369(1656). pii: 20130580.

Brown JN, Paxeus N, Förlin L and Larsson DGJ. 2007. Variations in bioconcentration of human pharmaceuticals from sewage effluents into fish blood plasma. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 24, 267-274.

Bvvf 338. Data från Bohuskustens vattenvårdsförbund, rapport 838.

Cuklev F, Kristiansson K, Fick J, Asker N, Förlin L, Larsson DGJ. 2011 Diclofenac in fish - blood plasma levels similar to human therapeutic levels affect global hepatic gene expression. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 30 (9): 2126–2134.

Cuklev F, Fick J, Cvijovic M, Kristiansson E, Förlin L, Larsson DGJ. 2012. Does ketoprofen or diclofenac pose the lowest risk to fish? *Journal of Hazardous Materials*. 229-230:100-106.

- Fick J, Lindberg RH, Tysklind M, Larsson DGJ. 2010a. Predicted Critical Environmental Concentrations for 500 Pharmaceuticals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 58: 516-523.
- Fick J, Lindberg RH, Parkkonen J, Arvidsson B, Larsson DGJ. 2010b. Therapeutic levels of levonorgestrel detected in blood plasma of fish: Results from screening rainbow trout exposed to treated sewage effluents. *Environmental Science and Technology*. 44:2661-2666
- Fick J, Lindberg RH, Kaj L, Broström-Lunden E. 2011. Results from the Swedish national screening program 2010. Subreport 3 Pharmaceuticals. IVL report B2014.
- Frenzilli G, Scarcelli V, Del Barga I, Nigro M, Förlin L, Bolognesi C, Sturve J. 2004. DNA damage in eelpout (*Zoarces viviparus*) from Göteborg harbour. *Mutat Res*.552(1-2):187-95.
- Förlin L. 2008. Miljögifters effekter hos tånglake längs Bohuskusten 2006. Rapport 2008-06-25 på uppdrag av Bohuskustens vattenvårdsförbund. Rapport 851. 14 pp.
- Grabicova K, Lindberg RH, Östman M, Grabic R, Randak T, Larsson DGJ, Fick J. (2014) Tissue-specific bioconcentration of antidepressants in fish exposed to effluent from a municipal sewage treatment plant. *Science of the Total Environment*, 488-489, 46-50.
- Gunnarsson L, Jauhiainen A, Kristiansson E, Nerman O, Larsson DGJ. 2008. Evolutionary conservation of human drug targets in organisms used for environmental risk assessments. *Environmental Science and Technology* 42:5807-5813.
- Gunnarsson L, Fick J, Gräns A, Axelsson M, Larsson DGJ. 2013. How does sewage effluent exposure affect the pharmacokinetics of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in fish? Oral presentation at SETAC Europe conference, Glasgow, Scotland.
- Göteborgs stad 2012. Östra sjukhusets avloppsvatten: Förutsättningar att inrätta en ozonbehandlingsanläggning för oskadliggörande av läkemedelsrester och multiresistenta organismer. Rapport 2012:2. ProjektID:6404. 63pp.
- Huggett DB, Cook JC, Ericson JF, Williams RT. 2003. A theoretical model for utilizing mammalian pharmacology and safety data to prioritize potential impacts of human pharmaceuticals to fish. *Hum Ecol. Risk Assess*. 9: 1789-1799.
- Jobling S, Williams R, Johnson A, Taylor A, Gross-Sorokin M, Nolan M, Tyler CR, van Aerle R, Santos E, Brighty G. 2006. Predicted exposures to steroid estrogens in U.K. rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations. *Environ Health Perspect*. 114 Suppl 1:32-9.
- Jobling S., Beresford N., Nolan M., Rodgers-Gray T., Brighty G.C., Sumpter J.P. & Tyler C.R. 2002a. Altered sexual maturation and gamete production in wild roach (*Rutilus rutilus*) living in rivers that receive treated sewage effluents. *Biol. Reprod*. 66: 272-281.
- Jobling S, Coey S, Whitmore JG, Kime DE, Van Look KJ, McAllister BG, Beresford N, Henshaw AC, Brighty G, Tyler CR, Sumpter JP. 2002b. Wild intersex roach (*Rutilus rutilus*) have reduced fertility. *Biol Reprod*. 67(2): 515-24.
- Johnson AC, Williams RJ. 2004. A model to estimate influent and effluent concentrations of estradiol, estrone, and ethinylestradiol at sewage treatment works. *Environ Sci Technol*. 38(13):3649-58.

Miljörapport Ryaverket 2014. Jan Mattsson 2015-03-31. Gryaabrapport 2015:4.

Niemuth NJ, Klaper RD. 2015. Emerging wastewater contaminant metformin causes intersex and reduced fecundity in fish. *Chemosphere* 135:38–45.

Rivetti C, Campos C, Barata C. 2015. Low environmental levels of neuro-active pharmaceuticals alter phototactic behaviour and reproduction in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*. E-publication ahead of print. doi:10.1016/j.aquatox.2015.07.019

Roos V, Gunnarsson L, Fick J, Larsson DGJ, Rudén C. 2012. Prioritising pharmaceuticals for environmental risk assessment: Towards adequate and feasible first-tier selection. *Science of the Total Environment*. Vol 421-422:102-10

Sehlén R, Malmberg J, Baresel C, Ek M, Magnér J, Allard A-S, Yang J. 2015. Pilotanläggning för ozonoxidation av läkemedelsrester i avloppsvatten. IVL rapport B2218. 60 pp.

Sturve J, Berglund A, Balk L, Broeg K, Böhmert B, Massey S, Savva D, Parkkonen J, Stephensen E, Koehler A, Förlin L. 2005. Effects of dredging in Göteborg harbor, Sweden, assessed by biomarkers in eelpout (*Zoarces viviparus*). *Environ Toxicol Chem*. 24(8):1951-61.

Sturve J, Almroth BC, Förlin L. 2008. Oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sewage treatment plant effluent. *Ecotoxicol Environ Saf*70(3):446-52.

Sturve J, Balk L, Liewenborg B, Adolfsson-Erici M, Förlin L, Carney Almroth B. 2014. Effects of an oil spill in a harbor assessed using biomarkers of exposure in eelpout. *Environ Sci Pollut Res Int*. 21(24):13758-68.

Thorpe KL, Cummings RI, Hutchinson TH, Scholze M, Brighty G, Sumpter JP, Tyler CR. 2003. Relative potencies and combination effects of steroidal estrogens in fish. *Environ Sci Technol* 37(6):1142-9.

Västra Götalandsregionen 2008. Läkemedels miljöpåverkan: Kartläggning av läkemedelsrester i Västra Götaland. 11 sidor samt tre bilagor. Rapport nedladdad 2015-08-24 från <http://www.filmivast.se/upload/L%C3%A4kemedel/L%C3%A4kemedel%20i%20regionen/Rapport%20-%20Kartl%C3%A4ggning%20av%20l%C3%A4kemedelsrester%20i%20V%C3%A4stra%20G%C3%B6taland.pdf>

Zeilinger JI, Steger-Hartmann T, Maser E, Goller S, Vonk R, Länge R. 2009. Effects of synthetic gestagens on fish reproduction. *Environ Toxicol Chem*. 28(12):2663-70.

Ågerstrand M, Breitholtz M, Rudén C. 2011. Comparison of four different methods for reliability evaluation of ecotoxicity data - A case study of non-standard test data used in environmental risk assessments of pharmaceutical substances. *Environmental Sciences Europe* 23:17.