

LÄKEMEDELSRESTER I FISK FRÅN VÄNERN, VÄTTERN OCH MÄLAREN

*Hannes Waldetoft, Bahare Esfahani och Magnus Karlsson
IVL Svenska miljöinstitutet*



Titel	Läkemedelsrester i fisk från Vänern, Vättern och Mälaren
Författare	Hannes Waldetoft, Bahare Esfahani och Magnus Karlsson, IVL Svenska miljöinstitutet
Datum	Juni 2021
Kontakt	info@malaren.org
Webbplats	www.malaren.org

Innehållsförteckning

Förord	4
Sammanfattning	5
Summary	7
Inledning	9
Bakgrund	10
Läkemedelsrester i vatten från de stora sjöarna	10
Litteraturgenomgång av förekommande halter i fisk och beskrivna effekter	11
Experimentella fiskförsök	21
Metodik	23
Studieområde och fiskinsamling	23
Provberedning	23
Kemiska analyser	24
Extraktion av läkemedel och antibiotika ur fisklever	25
Extraktion av hormoner ur fisklever	25
Extraktion av läkemedel, antibiotika och hormoner ur fiskgalla	25
Analys av läkemedel och antibiotika.....	26
Utvärdering av läkemedel och antibiotika.....	26
Analys av hormoner	26
Utvärdering av hormoner	27
Resultat	28
Morfometri	28
Uppmätta halter	28
Diskussion	31
Referenser	34

Förord

Denna rapport är ett resultat av en provtagningskampanj genomförd under augusti-oktober 2020. Rapporten innehåller även en litteraturgenomgång av andra undersökningar av läkemedelsrester i fisk, både nationellt och internationellt.

Arbetet har utförts i samarbete med IVL och har finansierats av vattenvårdsförbunden för Mälaren, Vänern och Vättern och med stöd av Havs- och vattenmyndigheten (HaV). Ett stort tack riktas till de yrkes- och sportfiskare som har hjälpt till med insamling av fisk från Mälaren och Vättern, Medins och Calluna som har samlat in fisk från Vänern samt till IVL för genomförande av analyser och rapportskrivning.

Ingrid Hägermark, Mälarens vattenvårdsförbund
Sara Peilot, Vänerns vattenvårdsförbund
Friederike Ermold, Vätternvårdsförbundet

Sammanfattning

Läkemedelsanvändningen är utbredd, vilket tillsammans med det faktum att de flesta reningsverk inte är konstruerade för att avskilja läkemedelsrester i inkommande spillvatten leder till utsläpp av läkemedel i vattenmiljön. Koncentrationer av flertalet läkemedel har nyligen påvisats i ytvatten i Vänern, Vättern och Mälaren, och en litteraturgenomgång har gett vid handen att läkemedelsrester förekommer i vildfångad fisk. Generellt sett har halter av läkemedel i fisk kunnat påvisas framför allt i vattendrag som är recipienter till reningsverk. Normalt förekommande halter är i spannet ej detekterbara till låga ng/g. Litteraturen över halter i fisk från större insjöar är knapphändig. I recipienter med låg spädning av reningsverkens utgående vatten förefaller det inte vara ovanligt med relativt höga koncentrationer av läkemedelsrester, i en storleksordning som potentiellt skulle kunna leda till negativa effekter i fisken.

Denna studie är en uppföljning till de nyligen utförda mätningarna av läkemedel i ytvatten i Vänern, Vättern och Mälaren, som istället inriktat sig på förekomst av läkemedel i fisk från dessa sjöar. Abborre, som är en vanligt förekommande och dessutom relativt stationär art, valdes som undersökningsorganism. Från Vättern undersöktes dessutom röding, vilket är en art som rör sig över större områden. Proverna undersöktes avseende förekomst av 24 läkemedel, 15 antibiotika och 3 hormoner.

Resultaten visade på låga halter läkemedel och antibiotika i fisken. Inget läkemedel eller antibiotika fanns i detekterbar halt i något av proverna. Hormoner kunde dock påvisas i flertalet av proverna. I abborren från Gränna (Vättern) fanns det naturliga hormonet östron samt det syntetiska hormonet 17α -etinylostradiol som spårvärde (mellan detektionsgräns och kvantifieringsgräns), i en halt någonstans mellan 3,5 och 12 ng/g vv. I samtliga prover från Mälaren fanns kvantifierbara halter av de naturliga hormonerna östron och 17β -östradiol, men inte av 17α -etinylostradiol. Dessa låg i spannet 5 till 49 ng/g vv, med maximum uppmätt i provet från Västeråsfjärden. I Vänern fanns östron och 17β -östradiol som spårvärde, någonstans mellan 1,6 och 5,4 ng/g vv i provet från Torsö. Vid övriga lokaler i Vänern kunde inga hormoner detekteras. Sammantaget förekom alltså högst halter av hormoner i fisken från Mälaren. Det går dock inte att uttala sig om huruvida de uppmätta halterna är tillräckliga för att kunna leda till endokrina störningar i fisken.

I de nyligen utförda vattenmätningarna visade sig Mälaren ha sammantaget högst koncentrationer läkemedelsrester, något som alltså inte var fallet i fisken. Det kan naturligtvis vara så att en skillnad finns i fiskens halter mellan sjöarna, men denna kunde i så fall inte upptäckas eftersom samtliga prover hade halter av läkemedel och antibiotika under analysmetodens detektionsgräns. Några skillnader i koncentrationer av hormon noterades inte i sjöarnas ytvatten, så de högre hormonhalterna i fisken från Mälaren kan inte förklaras utifrån haltskillnader i ytvatten. Med tanke på att Mälaren mottar utgående avloppsvatten från ett större antal

personekvivalenter, samt har en mindre vattenvolym än de andra sjöarna, förefaller det dock rimligt att hormonerna i fisk från Mälaren skulle kunna vara högre av denna anledning.

Summary

Pharmaceuticals are widely used, which in combination with the fact that most wastewater treatment plants (WWTPs) were not constructed to remove pharmaceutical residues leads to emissions to the aquatic environment. Concentrations of several pharmaceuticals have recently been found in surface waters in the large lakes of Sweden: Lake Vänern, Lake Vättern and Lake Mälaren, and a literature review has shown that pharmaceuticals have been found in wild fish. Quantifiable concentrations of pharmaceuticals in fish are most often found in streams and rivers that are WWTP recipients. Frequently found levels in fish ranges from not detectable to low (ng/g). No literature regarding pharmaceuticals in fish from larger lakes in other areas was found.

In recipients with a low dilution of WWTP effluent water, relatively high concentrations of pharmaceutical residues can be present, at concentrations that potentially can have a negative impact on fish.

The present study is a follow-up to the measurements of pharmaceuticals in surface waters from the large lakes but has instead focused on the prevalence of pharmaceuticals in fish from these lakes. Perch, a common and relatively stationary species, was chosen as the target organism. From Lake Vättern, the less stationary char (*Salvelinus alpinus*) was studied as well. All samples were analyzed for prevalence of 24 pharmaceuticals, 15 antibiotics and 3 hormones.

The results showed low levels of pharmaceuticals and antibiotics in the fish. No pharmaceutical or antibiotic could be found at a detectable level in any of the samples. On the contrary, hormones could be found in several samples. In the perch from Gränna (Lake Vättern), the natural hormone estrone and the synthetic 17α -ethinylestradiol were found at trace levels (between limit of detection and quantification), somewhere between 3,5 and 12 ng/g ww. In all samples from Lake Mälaren, there were quantifiable levels of the natural hormones estrone and 17β -estrone, but not of 17α -ethinylestradiol. These ranged between 5 and 49 ng/g ww, with the maximum in the sample from Västerås-fjärden Bay. In Lake Vänern, trace levels between 1,6 and 5,4 ng/g ww of estrone and 17β -estrone was found in the sample from Torsö. The other samples from Lake Vänern had none detectable levels. In general, the highest levels of hormones were found in the fish from Lake Mälaren. Based only on these measurements of hormones, it cannot be concluded if they have an endocrine-disrupting effect.

In the recent water concentration measurements, Lake Mälaren was found to have the highest cumulative concentration of pharmaceuticals, a finding that was not the case in these measurements in fish. However, a possible lake-wise difference could be present, but since all levels were below the detection limit, if existing, it could not be found. At this point, the higher levels of hormones in fish from Lake Mälaren in this study

cannot be explained by a corresponding difference in surface water concentration. However, regarding the fact that Lake Mälaren receives effluent water from more population equivalents and has a lower water volume than the other lakes, it seems plausible that fish from Lake Mälaren holds the highest levels of hormones.

Inledning

I takt med att läkemedelsförskrivningen generellt ökat i samhället och det faktum att avlopps-reningsverk hitintills inte varit konstruerade för att avskilja läkemedelsrester i inkommande spillvatten har farhågor rests att förekomsten av läkemedel i akvatiska ekosystem är ett potentiellt miljöproblem. Det finns experimentella studier som pekar mot att exponering för läkemedelsrester kan förorsaka negativa effekter (Kellner et al., 2015; Näslund et al., 2017). Det har även gjorts observationer i fält som pekar mot att det i recipienter med begränsade utspädningsförhållanden förekommer koncentrationer av läkemedel i ytvatten av sådan storlek att de skulle kunna leda till negativa effekter i fisken (Viktor et al., 2021). Sedan början av 2000-talet har det även genomförts ett antal undersökningar av förekomsten av läkemedel i olika vävnader och organ i fisk i olika vattenmiljöer (Remberger et al., 2009; Woldegeorgis et al., 2007; Brooks et al., 2005; Huerta et al., 2018). Det har visat sig att det framförallt nedströms reningsverk kan förekomma detekterbara halter (Brooks et al., 2005; Huerta et al., 2018).

Vattenvårdsförbunden i Mälaren, Vänern och Vättern har under senare år gemensamt undersökt förekomsten av läkemedel och andra organiska föreningar i sjöarnas vattenmassor (Malnes et al., 2021). Resultaten visade att läkemedel från flera olika terapeutiska grupper (β -blockerare, smärtstillande, psykofarmaka m.fl) är vanligt förekommande i de tre sjöarnas ytvatten. Som en uppföljning av denna studie har IVL Svenska Miljöinstitutet (IVL) erhållit uppdraget att undersöka den eventuella förekomsten av detekterbara nivåer av läkemedel i fisk från de tre sjöarna. Som indikatorart valdes den allmänt förekommande och förhållandevis stationära arten abborre (*Perca fluviatilis*). I Vättern analyserades även av den för sjön karaktäristiska arten röding (*Salvelinus alpinus*). Arbetet redovisas i föreliggande rapport som är tudelad. Först följer en genomgång av den vetenskapliga litteraturen över förekommande halter i fisk och beskrivna effekter därav. Därefter redovisas och diskuteras uppmätta halter av läkemedel inkluderande antibiotika och hormoner i den provtagna fisken som inhämtats från olika delar av sjöarna.

Bakgrund

Läkemedelsrester i vatten från de stora sjöarna

Baserat på provtagningar utförda mellan sommaren 2019 och sommaren 2020 genomfördes en kartläggning av förekomsten av miljöföroreningar i de tre största svenska sjöarna: Vänern, Vättern och Mälaren (Malnes et al, 2021). Kartläggningen undersökte ytvatten i själva sjöarna, samt tillrinande vattendrag och utlopp. Av sammanlagt 114 undersökta ämnen var 73 läkemedel. Bland dessa fanns vanligt förekommande läkemedel inom flera terapeutiska grupper: smärtstillande, beta-blockerare, antidepressiva, antipsykotiska, antibiotika, med flera. Även hormoner analyserades.

Resultaten visade på att flertalet läkemedel är vanligt förekommande i de undersökta sjöarnas ytvatten och tillhörande vattendrag. I Vänern noterades följande läkemedel i samtliga prover från sjön och vattendragen: metoprolol (beta-blockerare), karbamazepin (antiepileptika), lamotrigin (antiepileptika), bicalutamid (antiandrogen), fexofenadin (antihistamin), koffein (stimulant) och desvenlafaxin (antidepressiv).

I Vättern förekom följande ämnen i samtliga prover från sjön samt vattendragen: nikotin (stimulant), metoprolol, karbamazepin, cetirizin (antihistamin), lamotrigin, metmorfin (antidiabetika), bicalutamid, koffein och desvenlafaxin.

I Mälaren förekom följande ämnen i samtliga prover från sjön samt vattendragen: karbamazepin, fexofenadin, koffein, lidokain (lokalanestetika) och desvenlafaxin.

Överlag var antalet detekterade ämnen högre i vattendragen än ute i sjöarna. Exempelvis i Vättern var detektionsfrekvensen minst 50% för 63 ämnen i vattendragen, medan motsvarande antal i sjön var 25. I Vänern noterades de högsta kumulativa koncentrationerna (ackumulerat över terapeutiska grupper) i recipienter till utgående vatten från reningsverk. I Mälaren hade provplatser närmare tätbebyggda områden högre koncentration av beta-blockerare, antidepressiva, analgetika och diuretika jämfört med mindre urbaniserade områden.

Studien provtog också på olika djup (0,5 och 30 meter) i sjöarna för att undersöka eventuella gradienter i koncentrationer. Ingen tydlig djupfördelning kunde påvisas. De olika ämnesgrupperna förekom i ungefärligen samma koncentration oavsett djup. I Vättern verkade det dock som att diuretika förekom i högre koncentrationer på högre djup, samt att inflammatoriska förekom i högre koncentrationer i ytproverna.

En jämförelse av de kumulativa koncentrationerna (ackumulerade per terapeutisk grupp) visade att dessa var högst i Mälaren, med ca 2-8 ggr högre koncentrationer än i Vänern. Sjön med lägst kumulativa koncentrationer var Vättern. I tillrinnande vattendrag samt in och utgående avloppsvatten kunde inte skillnader i kumulativa koncentrationer mellan sjöarna noteras.

För ämnena ciprofloxacin, diklofenak, 17- α -etinylostradiol och 17- β -östradiol finns miljö kvalitets-normer framtagna. Normen för 17- β -östradiol överskreds vid flera tillfällen och platser. Överlag var det svårt att jämföra koncentrationen av hormoner mot miljö kvalitetsnormen då kvantifierings-gränsen överskred denna.

Litteraturgenomgång av förekommande halter i fisk och beskrivna effekter

En litteratursammanställning över läkemedelsrester i fisk har genomförts (**tab.1**). Studier innehållande haltmätningar av läkemedelsrester i vildfångad fisk var av intresse. Tabellen innehåller ett urval av ett antal vanligen sålda och undersökta ämnen.

Den övervägande majoriteten av de studier som hittats har undersökt fisk från vattendrag som är recipienter till reningsverk. Vieno et al, (2017) redovisar dock mätningar i fisk från olika delområden i Östersjön. Subedi et al (2011;2012) innehåller bland annat mätningar i braxen från Belauersjön (Schleswig-Holstein, Tyskland). Denna sjö mottar dock inte vatten från något reningsverk, och den har en area på endast 1,13 km². I litteraturgenomgången har några studier om förekomst av läkemedelsrester i fisk från större insjöar har inte hittats.

Värdena i tabellen är antingen angivna som medelvärde \pm SD, medelvärde \pm 95%-CL, (min-max) eller maximum. Syftet har varit att redovisa ungefärligen i vilken storleksordning läkemedlen förekommer i fisk. För en tydligare genomgång av fångstplatser, antal prov med kvantifierbar/detekterbar halt, metodik etc. hänvisas läsaren till originalpublikationerna. I vissa studier redovisades halten endast för de prover som haft kvantifierbar sådan. Det betyder att minimihalten är angiven som den lägsta halten i de prover som haft kvantifierbar halt. I vissa studier har alla prover medtagits, varför minimum kan vara angivet som "nd= no detect". I Karlsson & Viktor, (2014) är koncentrationen angivna som ng/galla. Det innebär mängden läkemedel är uppmätt i ett gallprov av ej bestämd mängd. Detekterbara koncentrationer ger då en fingervisning om att läkemedelsrester förekommit, men den exakta koncentrationen är oklar. Vissa halter är angivna på våtviktsbasis (vv) och vissa som torrsubstans (ts). Mellan dessa skiljer det vanligtvis ca en faktor fyra, med högre halt om den räknas som torrsubstans.

Sammanställningen visar på att det inte sällan förekommer detekterbara halter av läkemedelsrester i fiskens muskel, blodplasma, lever, galla och hjärna. Storleksordningen på halterna ligger nästan genomgående i spannet ej detekterbar till låga ng/g. De psykofarmaka som här redovisas har funnits i spannet ej detekterbar till dryga tiotalet ng/g. Beta-blockerarna metoprolol och propranolol återfanns i spannet ej detekterbar till strax under 1 ng/g. För antibiotikan noteras högre halter i Liu et al, (2018). Den studien undersökte halter i fisk fångad utanför Gula flodens mynning (Kina). Sulfamethoxazole uppmättes dock i dryga 50 ng/g vv i flundra från den svenska västkusten, och ciprofloxacin uppmättes i en halt strax under 10 ng/g vv i torsk fångad utanför Kalmar och Göteborg (Vieno et al, 2017). De smärtstillande ämnena återfanns mestadels i icke detekterbar till låga ng/g. I Karlsson & Viktor, (2014) uppmättes Ibuprofen i 38 ng/g galla i ett prov, men denna halt tolkas försiktigt i och med att en inte helt bestämd mängd galla analyserades. Samtliga undersökta hormoner (östron, 17 β -östradiol och 17 α -etinylostradiol) uppmättes i spannet ej detekterbar till några enstaka ng/g.

Tabell 1. Sammanställning av läkemedelsrester i fisk. Avser ett urval av vanligt förekommande läkemedel. nd=no detect, MDL=statistiskt härledd kvantifieringsgräns, LOD=detektionsgräns och LOQ=kvantifieringsgräns. Koncentration angett som (x-y) avser min- och maxvärdet, (x (y)) avser medel(x) och maximum(y). Endast ett värde innebär maximum. $x\pm y$ avser medel(x) och standardavvikelse(y). I de fall en svensk översättning av en art inte funnits har det latinska namnet angivits. WWTP=wastewater treatment plant/avloppsreningsverk.

Ämne	Art	Matris	Halt	Enhet	Provpunkt	Referens
β-blockerare						
Metoprolol	<i>Lepomis sp.</i>	muskel	nd	ng/gts	nedströms WWTP	Ramirez et al, 2007
	ej angiven	muskel	nd	ng/gts	nedströms WWTP	Huerta et al, 2018
	abborre	muskel	<LOQ	ng/gvv	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
	multe	lever	<LOD	ng/gts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
	multe	muskel	0,7	ng/gts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
	svart smörbult	muskel	nd	ng/gts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
Propranolol	<i>Lepomis sp.</i>	muskel	nd	ng/gts	nedströms WWTP	Ramirez et al, 2007

	svartabborre	muskel	0,4 (0,4)	ng /g ts	nedströms WWTP	Huerta et al, 2018
	<i>Lepomis megalotis</i>	blod- plasma	nd	µg /L	nedströms WWTP	Du et al, 2014
	multe	lever	nd	ng /g ts	kustlagun	Moreno- Gonzales et al, 2016
	multe	muskel	0,5	ng /g ts	kustlagun	Moreno- Gonzales et al, 2016
	svart smörbult	muskel	nd	ng /g ts	kustlagun	Moreno- Gonzales et al, 2016
	abborre	galla	<LO D	ng /g alla	insjö/kustom- råde	Karlsson & Viktor, 2014
	abborre	galla	<LO D	ng /g alla	insjö	Viktor et al, 2014
	Psyko- farmaka					
	Ci- talopram	vit sugkarp	0,07 ±0, 08	ng /g ts	nedströms WWTP	Schultz et al, 2010
	svartabborre, gul abborre, vit sugkarp	muskel	1,2 (2,2)	ng /g ts	nedströms WWTP	Huerta et al, 2018
	abborre	-	<0, 3 - <0, 5	ng /g vv	urban, referens och nedströms WWTP	Woldegior- gis et al, 2007
	abborre	muskel	<LO Q	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
	guldfisk	blod- plasma	0,04 - 0,16	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017
	karp	blod- plasma	nd	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017
	tjurhaj	blod- plasma	0,40 ± 0,06	ng /m l	referens och nedströms WWTP	Gelsleich- ter & Szabo, 2013
	multe	lever	nd	ng /g ts	kustlagun	Moreno- Gonzales et al, 2016
	multe	muskel	-	ng /g ts	kustlagun	Moreno- Gonzales et al, 2016
	svart smörbult	muskel	-	ng /g ts	kustlagun	Moreno- Gonzales et al, 2016

Diazepam	braxen	muskel	nd	ng /g vv	insjö och flod	Subedi et al, 2011
	róbaló	muskel	1,9 (1,9)	ng /g ts	nedströms WWTP	Huerta et al, 2018
	abborre	-	<LO D	ng /g vv	urban, referens samt nedströms WWTP	Woldegiorgis et al, 2007
	guldfisk	blod-plasma	nd	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017
	karp	blod-plasma	nd	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017
	<i>Pleuronichthys verticalis</i>	lever	23-110	ng /g vv	Kustområde	Maruya et al, 2012
	multe	lever	nd	ng /g ts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
	multe	muskel	1,8	ng /g ts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
	svart smörbult	muskel	3,5	ng /g ts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
Fluoxetin	vit sugkarp	hjärna	0,6 ± 0,6	ng /g ts	nedströms WWTP	Schultz et al, 2010
	dvärgmal, Dorosoma Cepedianum, vitabborre	hel fisk	nd-1,02	ng /g vv	hamnområde	Chu & Metcalfe, 2007
	<i>Lepomis sp.</i>	muskel	nd	ng /g vv	nedströms WWTP	Ramirez et al, 2007
	**	hjärna	1,58 ± 0,74	ng /g ts	nedströms WWTP	Brooks et al, 2005
	**	lever	1,35 ± 0,65	ng /g ts	nedströms WWTP	Brooks et al, 2005
	**	muskel	0,11 ± 0,03	ng /g ts	nedströms WWTP	Brooks et al, 2005
	abborre	-	<LO D	ng /g vv	urban, referens samt nedströms WWTP	Woldegiorgis et al, 2007
	abborre	muskel	<LO D-6,7	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
	<i>Lepomis megalotis</i>	blod-plasma	nd	µg /L	nedströms WWTP	Du et al, 2014
	guldfisk	blod-plasma	0,15 - 0,40	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017

	karp	blod-plasma	nd	ng /g v	sumpmark	Muir et al, 2017
	tjurhaj	blod-plasma	nd	ng /m l	referens och nedströms WWTP	Gelsleichter & Szabo, 2013
	ål	ej angiven	4,0	ng /g v	Askeröfjorden och Kattegatt	Vieno et al, 2017
Oxazepam	abborre	-	<LO D	ng /g v	urban, referens samt nedströms WWTP	Woldegiorgis et al, 2007
	abborre	muskel	<LO Q-9,6	ng /g v	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
	abborre	muskel	0,39 -13	ng /g v	Fyrisån	Brodin et al, 2013
	abborre	galla	0,18 -5,4	ng /g alla	insjö/kustområde	Karlsson & Viktor, 2014
	abborre	galla	0,25 -0,39	ng /g alla	insjö	Viktor et al, 2014
	abborre	galla	0,1-0,5	ng /g v	Käppala och Gällnö	Vieno et al, 2017
	ål	ej angiven	7,0	ng /g v	Askeröfjorden och Kattegatt	Vieno et al, 2017
Sertralin	vit sugkarp	hjärna	1,5 ±0,5	ng /g ts	nedströms WWTP	Schultz et al, 2010
	Lepomis sp.	Muskel	nd	ng /g v	nedströms WWTP	Ramirez et al, 2007
	**	hjärna	4,27 ± 1,4	ng /g ts	nedströms WWTP	Brooks et al, 2005
	**	lever	3,59 ± 1,67	ng /g ts	nedströms WWTP	Brooks et al, 2005
	**	muskel	0,34 ± 0,09	ng /g ts	nedströms WWTP	Brooks et al, 2005
	vit sugkarp	muskel	17,1 (17,1)	ng /g ts	nedströms WWTP	Huerta et al, 2018
	abborre	-	<LO D	ng /g v	urban, referens och nedströms WWTP	Woldegiorgis et al, 2007
	abborre	muskel	<LO Q-14	ng /g v	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011

	<i>Lepomis megalotis</i>	blod-plasma	nd	µg /L	nedströms WWTP	Du et al, 2014
	guldfisk	blod-plasma	0,04 - 0,11	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017
	karp	blod-plasma	0,04 - 0,13	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017
	tjurhaj	blod-plasma	0,48 ± 0,10	ng /ml	referens och nedströms WWTP	Gelsleichter & Szabo, 2013
	multe	lever	nd	ng /g ts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
	multe	muskel	nd	ng /g ts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
	svart smörbult	muskel	nd	ng /g ts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
	abborre	galla	<LOD-0,70	ng /g alla	insjö/kustområde	Karlsson & Viktor, 2014
	abborre	galla	<LOD	ng /g alla	insjö	Viktor et al, 2014
	abborre	galla	0,7	ng /g vv	utanför Käppalaverket	Vieno et al, 2017
	Smärtstillande					
Diclofenac	vit sugkarp	muskel	0,7	ng /g ts	nedströms WWTP	Huerta et al, 2018
	abborre	muskel, lever och galla	<LOD	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Remberger et al, 2009
	abborre	muskel	<LOQ	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
	<i>Lepomis megalotis</i>	blod-plasma	nd	µg /L	nedströms WWTP	Du et al, 2014
	multe	lever	2,2	ng /g ts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
	multe	muskel	1,3	ng /g ts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016
	svart smörbult	muskel	nd	ng /g ts	kustlagun	Moreno-Gonzales et al, 2016

	abborre	galla	2,4	ng /g alla	insjö/kustområde	Karlsson & Viktor, 2014
	abborre	galla	1,9-7,1	ng /g alla	insjö	Viktor et al, 2014
	abborre	galla	0,5-5,2	ng /g vv	utanför Käppala.	Vieno et al, 2017
Ibuprofen	<i>Lepomis sp.</i>	muskel	nd	ng /g vv	nedströms WWTP	Ramirez et al, 2007
	abborre	muskel, lever och galla	<LOD	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Remberger et al, 2009
	abborre	muskel	<LOQ	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
	guldfisk	blod-plasma	nd	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017
	karp	blod-plasma	4,67 - 4,67	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017
	abborre	galla	1,6-38	ng /g alla	insjö/kustområde	Karlsson & Viktor, 2014
	abborre	galla	<LOD	ng /g alla	insjö	Viktor et al, 2014
	abborre	galla	2,4	ng /g vv	utanför Käppalaverket	Vieno et al, 2017
Paracetamol	abborre	muskel, lever och galla	<LOD	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Remberger et al, 2009
	abborre	muskel	<LOQ	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
Övriga						
Caffeine	abborre	-	<LOD	ng /g vv	urban, referens samt nedströms WWTP	Woldegiorgis et al, 2007
	<i>Lepomis megalotis</i>	blod-plasma	nd	µg /L	nedströms WWTP	Du et al, 2014
	guldfisk	blod-plasma	1,47 - 1,57	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017
	karp	blod-plasma	1,58 - 5,05	ng /g vv	sumpmark	Muir et al, 2017

	multe	muskel	1,6 ± 0,5	ng /g ts	flodmynning (kommersiellt fiskeområde)	Álvares- Muños et al, 2015
	multe	muskel	3,3 ± 0,9	ng /g ts	flodmynning (nedströms WWTP)	Álvares- Muños et al, 2015
	flundra	muskel	26,5 ± 2,4	ng /g ts	flodmynning	Álvares- Muños et al, 2015
Carba- mazepin	<i>Lepomis sp.</i>	muskel	0,83 - 1,44	ng /g vv	nedströms WWTP	Ramirez et al, 2007
	braxen	muskel	nd	ng /g vv	insjö och flod	Subedi et al, 2011
	svartabborre, öring- abborre, gul ab- borre, vit sugkarp	muskel	3,0 (8,2)	ng /g ts	nedströms WWTP	Huerta et al, 2018
	abborre	muskel	<LO Q	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
	braxen	muskel	<LO D	ng /g vv	flod	Subedi et al, 2012
	<i>Lepomis megalotis</i>	blod- plasma	4,1 ± 3,8	µg /L	nedströms WWTP	Du et al, 2014
	multe	lever	2,6	ng /g ts	kustlagun	Moreno- Gonzales et al, 2016
	multe	muskel	6,3	ng /g ts	kustlagun	Moreno- Gonzales et al, 2016
	svart smörbult	muskel	0,4	ng /g ts	kustlagun	Moreno- Gonzales et al, 2016
	abborre	galla	<LO D	ng /g alla	insjö/kustom- råde	Karlsson & Viktor, 2014
	abborre	galla	<LO D	ng /g alla	insjö	Viktor et al, 2014
antibio- tika						
Ci- profloxa- cin	abborre	muskel	<LO Q	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
	*	gälar	10	ng /g ts	havsbukt	Liu et al, 2018
	*	muskel	6,4	ng /g ts	havsbukt	Liu et al, 2018

	*	njure	50	ng /g ts	havsbukt	Liu et al, 2018
	*	lever	45	ng /g ts	havsbukt	Liu et al, 2018
	torsk	ej angiven	7,0-8,5	ng /g vv	Östersjön	Vieno et al, 2017
Sulfamet hoxazol	<i>Lepomis sp.</i>	Muskel	nd	ng /g vv	nedströms WWTP	Ramirez et al, 2007
	abborre	muskel	<LO Q-13	ng /g vv	referens och nedströms WWTP	Kaj et al, 2011
	<i>Lepomis megalotis</i>	blod-plasma	nd	µg /L	nedströms WWTP	Du et al, 2014
	*	gälar	110	ng /g ts	havsbukt	Liu et al, 2018
	*	muskel	40	ng /g ts	havsbukt	Liu et al, 2018
	*	njure	89	ng /g ts	havsbukt	Liu et al, 2018
	*	lever	85	ng /g ts	havsbukt	Liu et al, 2018
	flundra	ej angiven	51	ng /g vv	Askeröfjorden och Kattegatt	Vieno et al, 2017
Hormoner						
17β-östradiol (E2)	lax, havsabborre, sjötunga	muskel	0,81 -1,6	ng /g ts	köpt i matbutik	Azzouz et al, 2011
	multe	muskel	<M DL	ng /g ts	flodmynning (kommersiellt fiskeområde)	Álvares-Muños et al, 2015
	multe	muskel	<M DL	ng /g ts	flodmynning (nedströms WWTP)	Álvares-Muños et al, 2015
	flundra	muskel	<M DL	ng /g ts	flodmynning	Álvares-Muños et al, 2015
17α-etinylöstradiol (EE2)	tjurhaj	blod-plasma	2,32 ± 1,45	ng /m l	referens och nedströms WWTP	Gelsleichter & Szabo, 2013
	multe	muskel	<M DL	ng /g ts	flodmynning (kommersiellt fiskeområde)	Álvares-Muños et al, 2015
	multe	muskel	<M DL	ng /g ts	flodmynning (nedströms WWTP)	Álvares-Muños et al, 2015

	flundra	muskel	<M DL	ng /g ts	flodmynning	Álvares- Muños et al, 2015
Östron (E1)	lax, havsabborre, sjötunga	muskel	0,52 -1,3	ng /g ts	köpt i matbutik	Azzouz et al, 2011
	multe	muskel	<M DL	ng /g ts	flodmynning (kommersiellt fiskeområde)	Álvares- Muños et al, 2015
	multe	muskel	<M DL	ng /g ts	flodmynning (nedströms WWTP)	Álvares- Muños et al, 2015
	flundra	muskel	<M DL	ng /g ts	flodmynning	Álvares- Muños et al, 2015

**Acanthogobius hasta*, *Platycephalus indicus*, *Cymoglossus robustus*, *Konosirus punctatus*, *Liza haematocheilus*, *Lateolabrax maculatus* och *Pampus argenteus*. ** blågälad solabborre, prickig dvärgmal och svart solabborre.

För vissa av läkemedlen har studier av effekter på fisk gjorts. I en studie av hur abborre påverkades av olika doser oxazepam noterades beteendestörningar redan vid doser (här 1,8 µg/L) som inte är ovanliga i ytvatten som är recipienter till reningsverk (Brodin et al, 2013). Beteendestörningarna innefattade ökad aktivitet och minskad socialisering. En uppföljande fältstudie av samma forskargrupp exponerade vilt levande abborre för höga koncentrationer oxazepam för att se om beteendeförändring uppstod (Klaminder et al., in prep). Till skillnad från resultaten i lab-försöket syntes inga effekter i fältstudien.

Beteendestörningar syntes också då storspigg (*Gasterosteus aculeatus*) exponerades för citalopram i koncentrationerna 0,15 och 1,5 µg/L (Kellner et al, 2015). Störningarna var ändrat födobeteende. Antalet attacker på bytesorganismer minskade signifikant hos den exponerade fisken. Resultaten i Fahlman et al (2020) visade på att vanligen studerade beteendemönster av fisk i lab-miljö inte nödvändigtvis förutsäger hur fisken betar sig i sin naturliga miljö.

En studie av njur-histologi i storspigg visade på att doser av diklofenak redan i storleksordningen låga µg/L ger histologiska förändringar (Näslund et al, 2017). Studien fann också att dos-responsmönstret var tydligt vid ökande koncentrationer.

I Cervený et al, 2021 jämfördes koncentrationer av flertalet läkemedel i blod av sötvattensfisk från England, Tjeckien och Tyskland, mot motsvarande koncentration i människor som genomgår behandling med respektive läkemedel. Resultaten visade på att flertalet läkemedel, särskilt sådana som påverkar det centrala nervsystemet, förekom i sådan koncentration i fiskens blodplasma att det förväntas leda till farmakologisk påverkan i fisken. Några läkemedel som särskilt utmärkte sig var flupentixol, haloperidol och risperidon. De undersökta arterna var braxen (*Abramis brama*), mört (*Rutilus rutilus*) och färna (*Squalius cephalus*).

Experimentella fiskförsök

I detta avsnitt ges en kort beskrivning av tidigare genomförda studier då fisk exponerats för utgående vatten från kommunala reningsverk (Grabicova et al., 2014; Gunnarsson et al., 2009; Lundström et al., 2010; Pohl et al., 2018). Både Gunnarsson et al (2009) och Lundström et al (2010) genomfördes i samband med att sex olika reningstekniker av avloppsvatten testades vid reningsverket i Hammarby sjöstad.

I samtliga studier har fisk (fiskembryon i Lundström et al., 2010) exponerats för höga koncentrationer avloppsvatten. I Grabicova et al., 2014 exponerades regnbågslox (*Oncorhynchus mykiss*) under 13 dagar för 100% koncentrerat utgående vatten från Ryaverken i Göteborg. Efterföljande analys undersökte halter av citalopram, fluoxetin, sertralin och venlafaxin i matriserna lever, hjärna, blodplasma och muskel. I kontrollgruppen, som levt i kranvatten, kunde inga läkemedel detekteras i någon av matriserna. I den exponerade fisken detekterades inte fluoxetin i någon av matriserna, och i muskel detekterades inget läkemedel. Hjärna och lever var de matriserna med högst detektionsfrekvens. Högst halter citalopram och venlafaxin var i levern, med halter på 12 ± 5 ng/g (18/20) respektive 21 ± 11 ng/g (20/20). I hjärna uppmättes den högsta halten sertralin på $9,4 \pm 3,8$ ng/g (13/20). Parenteser anger detektionsfrekvensen.

Gunnarsson et al (2009) jämförde genuttryck relaterade till förekomst av östrogenlika ämnen och morfologiska index (konditionsfaktor, leversomatiskt index, hjärtsomatiskt index och gonadsomatiskt index) i regnbågslox som levt i sex olika typer av avloppsvatten, bland annat ozonbehandlat. På grund av tillfälligt ökad klorhalt i kranvattnet dog dock en betydande andel av fiskarna i kontrollgruppen, och klorets påverkan på genuttryck och morfologiska index var okänt, varför inga jämförelser kunde göras mot kontrollgruppen.

I Lundström et al., 2010 undersöktes bland annat embryotoxicitet hos embryon av zebrafisk (*Danio rerio*). De parametrar som mättes i embryoförsöket var; ögonens utveckling, spontan rörelse, cirkulation, ödem, hjärtslag, pigmentation, otoliternas utveckling, hjärtfrekvens och mortalitet. Hälften av replikaten exponerades under 144 timmar (istället för 48), och dessa undersöktes avseende ryggradsdeformation, kläckning och kläckningstid. Kläckningstiden förlängdes signifikant för vattentyperna (C) och (Cs) jämfört med referensgruppen. Den övergripande slutsatsen i studien vara att det inte förelåg några betydande biologiska effekter mellan de olika typerna av avloppsvatten.

I Pohl et al., 2018, testades, vid ett reningsverk i Knivsta kommun, ozonrenings förmåga att oxidera läkemedelsrester samt dess påverkan på fiskhälsa. Ettårig zebrafisk exponerades för ordinarie utgående vatten, ordinarie+ozon samt med kolfilterat kranvatten (kontrollgrupp). Dessutom

mättes koncentrationer av läkemedel i utgående vatten från ordinarie reningssprocess samt efter ozonbehandlingen.

En uppsättning biomarkörer mättes i fisken. Vid lekförsök studerades fekunditet (äggproduktion) och toxicitet mot embryo/ungel från avkomma från exponerade föräldrafiskar. Larvernas och de vuxna individernas rörelse studerades genom att mäta den sträcka de förflyttade sig. En histopatologisk undersökning gjordes av gonaderna. Leverprover analyserades för specifika biomarkörer som ger utslag när fisken exponeras för östrogenliknande ämnen och aromater. Induktion av VTG-2, Er α som indikerar en endokrin störning och CYP1A1 som är kopplad till avgiftningssystemet P 450 i levern.

Mätningarna av koncentrationen läkemedelsrester visade på att ozonbehandlingen i snitt reducerade läkemedlen med 77% jämfört med ordinarie rening. Av de 24 läkemedel som fanns i detekterbar koncentration i ordinarie vatten, minskade koncentrationen av 13 av dessa till ej detekterbar nivå. Studiens målvärde på 80% reduktion nåddes inte, vilket argumenterades bero på en förhållandevis låg ozon dos i förhållande till mängden organiskt material i avloppsvattnet.

Biomarkörerna i exponerad fisk visade på att gulesäcksproteinet VTG-2 (vitellogenin) ökade i fisken exponerad för ozonbehandlat avloppsvatten. Detta kan bero på att ozoneringen lett till avkonjugering/ omvandling av hormoner eller hormonliknande substanser vilket skapat ett avloppsvatten med mer potent östrogen effekt på fisk.

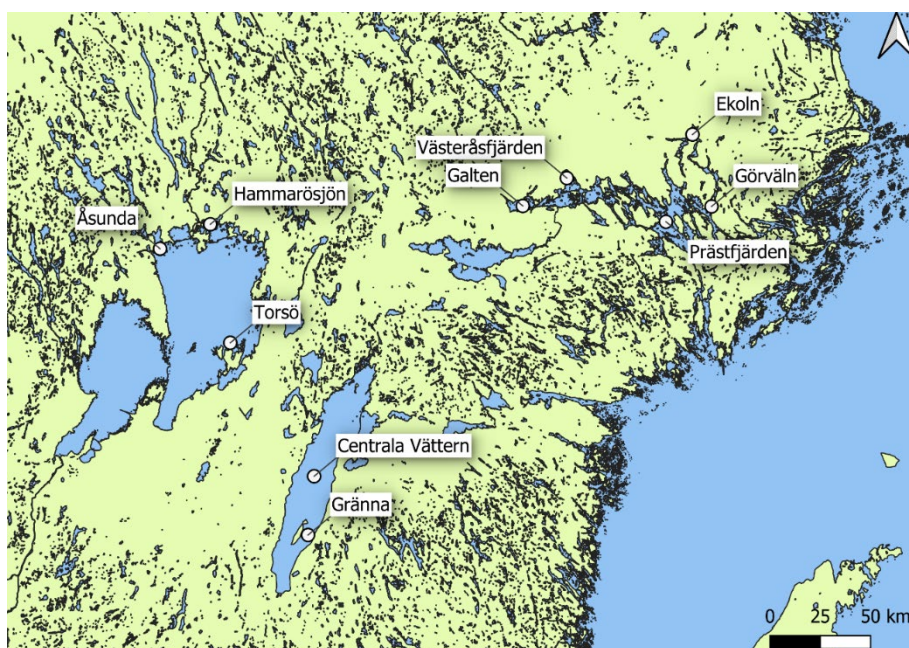
Viktor et al (2021) exponerade öringsmolt för utgående vatten, kolfiltrerat utgående vatten, samt ozonerat utgående vatten som fått passera sandfilter. Resultaten visade på att det ordinarie avgående vattnet inte innehåller koncentrationer av hormoner eller hormonliknande ämnen i sådan koncentration att de lett till östrogena effekter i fisken. Biomarkören för detta, gulesäcksproteinet vitellogenin, uppmättes inte i förhöjda nivåer i fisken blod för något av de olika vattentyperna. Analys av ordinarie utgående vatten kunde inte påvisa förekomst av någon av hormonerna östron, 17 β -östradiol eller 17 α -etinylostradiol.

Resultaten visade dock på förekomst av ämnen med potentiellt subletal påverkan. Detta visade sig vid undersökning av blodparametrarna hemoglobin och hematokrit. Fiskens gallvätska undersöktes även för förekomst av flertalet läkemedel. Inget av de undersökta läkemedlen kunde detekteras i gallan från fisken exponerad för de utvidgade reningstegen (kolfiltrerat och ozonerat). Däremot kunde diklofenak, ibuprofen och naproxen detekteras i gallan från fisken exponerad för ordinarie utgående vatten. Diclofenak återfanns i särskilt hög halt.

Metodik

Studieområde och fiskinsamling

Insamling av fisk utfördes under september och oktober månad av yrkesfiskare och konsulter utsedda av vattenvårdsförbunden. Målsättningen var att från varje lokal erhålla femton abborrindivider inom storleksintervallet 20-25 cm, vilket också lyckades vid flertalet av fiske-lokalerna. Fisken frystes skyndsamt hel och ourtagen efter fångst och transporterades därefter till IVL:s fisktoxikologiska laboratorium i Stockholm. Aktuella fångstområden framgår av Figur 1. I Mälaren insamlades fisk från fem delbassänger och i Vänern från tre lokaler i Värmlandssjön. I Vättern förelåg problem att få tag i abborre. Abborre erhöles från en lokal i Gränna medan röding insamlades i centrala delar av sjön utanför Hjo. Röding är en pelagisk art som rör sig över delar av sjön och det man mäter speglar således ett större område än själva fångstlokalen.



Figur 1. Karta med fiskestationer i Vänern, Vättern och Mälaren.

Provberedning

Det var ursprungligen avsett att de kemiska analyserna skulle utföras på gallvätska från fiskens gallblåsor. Gallan är en del av fiskens avgiftningssystem varifrån det sker en utsöndring av kroppfrämmande ämnen som inte ackumuleras i fiskens vävnader. Sannolikt har en relativt stor andel av de läkemedelsrester som påträffas i naturen sådana egenskaper att de kan utsöndras av fisken snarare än bioackumuleras. Det visade sig emellertid efter långsam upptining av fisken i laboratoriet att gallblåsorna i

abborre var sprängda. Detta har förmodligen skett under fryslagringen. Därför beslutades att preparera fram vävnad från den till gallblåsan angränsade levern. Levern utgör också en del av fiskens avgiftningssystem. I samband med beredningen togs även tillvara de mängder av gallvätska som alltså gick att samla ihop och fick följa med levern till den påföljande homogeniseringen. Gallblåsorna hos den undersökta rödingen var emellertid intakta varför ett prov på renodlad gallvätska kunde analyseras i den matrisen. Från varje lokal bereddes ett samlingsprov bestående av levervävnad/gallvätska från fem individer. Kvarvarande fiskmaterial har sparats i frys för eventuella kompletterande framtida analyser av andra organ eller vävnader i fisken. Innan dissekering mättes och protokollfördes fiskarna totala längd och vikt.

Kemiska analyser

Kemiska analyser utfördes för haltbestämning av 24 läkemedel, 15 antibiotika, 2 naturligt förekommande kvinnliga könshormoner (östron och 17β -östradiol) och ett syntetiskt (17α -etinylostradiol) i fisklever och galla (tab.2). Samtliga analyser utfördes på IVL:s laboratorium i Stockholm. Av dessa ämnen klassas diklofenac, ciprofloxacin, 17α -etinylostradiol och 17β -östradiol enligt vattendirektivet som SFÄ (särskilt förorenande ämnen). För dessa finns miljökvalitetsnormer för koncentration i ytvatten (HVMFS 2019:25).

Tabell 2. Analyserade läkemedel, antibiotika och hormoner i fisklever och galla.

Analyter				
	Amlodipine	Diclofenac	Metoprolol	Ranitidine
	Atenolol	Fluoxetine	Naproxen	Risperidone
	Bisoprolol	Furosemide	Oxazepam	Sertralin
Läkemedel	Caffeine*	Hydrochlorothiazide	Paracetamol	Simvastatin
	Carbamazepine	Ibuprofen	Propranolol	Terbutaline
	Citalopram	Ketoprofen	Ramipril	Warfarin
	Benzylpenicillin	Doxycycline	Metronidazole	Sulfamethoxazole
Antibiotika	Ciprofloxacin	Erythromycin	Moxifloxacin	Tetracycline
	Clarithromycin	Fusidic acid	Norfloxacin	Trimethoprim
	Clindamycin	Linezolid	Rifampicin	
Hormoner	Östron	17α -Etinylöstradiol	17β -Östradiol	

*koffein är en stimulant

Extraktion av läkemedel och antibiotika ur fisklever

Fisklever vägdes upp (0,5g) och 100ng internstandardblandning för läkemedel och antibiotika innehållandes d7-Atenolol, d8-Ciprofloxacina, ¹³C¹⁵N-Karbamazepin, d7-Metoprolol-(isopropyl) ¹³C⁶-Diklofenak, ¹³C⁶-Hydroklortiazid och d3-Ibuprofen tillsattes. Provet extraherades med 5ml acetonitril i två omgångar. Hexan tillsattes till extraktet som vaggades i 5min följt av centrifugering i 10min vid 3500rpm för att avlägsna fett. Den undre organfasen överfördes till ett nytt rör och indunstades till torrhet under kvävgas vid 40°C. Provet återlöstes i 50% metanollösning med 0.1% Na₂EDTA och centrifugerades i 5min vid 14 000 rpm. Supernatanten överfördes sedan till vial för analys.

Extraktion av hormoner ur fisklever

Fisklever vägdes upp (0,25g) och 10 ng internstandardblandning för hormoner innehållandes ¹³C⁶-Östradiol och ¹³C⁶-Etinylöstradiol tillsattes till provet. Analyterna extraherades först med hjälp av mikrovågsextraktion med 15ml metanol vid 110°C i 25min. Därefter surgjordes med saltsyra (pH <4) och metanol tillsattes motsvarande 3% av porvolymen. Provet applicerades sedan på fastfaskolonn (500mg 6cc, Isoelute ENV+, Biotage) för en andra extraktion. Kolonnen konditionerades med metyltert-butyleter, metanol samt surt vatten (pH <4) och sköljdes därefter med metanol: vatten (4:6), vatten samt ammoniumhydroxid: metanol: vatten (2:10:88). Analyterna eluerades sedan med 12ml metanol: metyltert-butyleter (1:9) och indunstades till torrhet under kvävgas vid 40°C. Provet återlöstes i 4ml etylacetat: metanol (8:2) och rengjordes på fastfaskolonn (200mg PSA, Biotage) som konditionerats med etylacetat följt av etylacetat: metanol (8:2). Det renade extraktet indunstades till torrhet under kvävgas vid 40°C och återlöstes i 1.5ml 50% metanollösning och centrifugerades i 5min med 14 000 rpm. Supernatanten överfördes sedan till vial för analys.

Extraktion av läkemedel, antibiotika och hormoner ur fiskgalla

Fiskgalla vägdes upp (0.5g) och 100ng internstandardblandning för läkemedel och antibiotika innehållandes d7-Atenolol, d8-Ciprofloxacina, ¹³C¹⁵N-Karbamazepin, d7-Metoprolol-(isopropyl) ¹³C⁶-Diklofenak, ¹³C⁶-Hydroklortiazid och d3-Ibuprofen tillsattes samt 10ng internstandardblandning för hormoner innehållandes ¹³C⁶-Östradiol och ¹³C⁶-Etinylöstradiol. Gallan löstes upp med 1ml diklormetan och därefter tillsattes 0.5ml mättad saltlösning (NaCl). Extraktionen skedde i två omgångar då 4ml diklormetan tillsattes till provet följt av skakning på skakbord i 15min och centrifugering vid 3000 rpm i 5min. Den undre organfasen överfördes till ett nytt rör och indunstades till torrhet under kvävgas vid

40°C. Provet återlöstes i 50% metanollösning och centrifugerades i 5min vid 14 000 rpm. Supernatanten överfördes sedan till vial för analys.

Analys av läkemedel och antibiotika

Analysen utfördes på ett binärt vätskekromatografisystem (UFLC-HPLC) från Shimadzu, med autoinjektor kopplat till en API-4000 trippelkvadrupol masspektrometer (MS/MS) med elektroprayjonisering (ESI) i både positivt och negativt läge. Analysen skedde i multiple ion monitoring mode (MRM) med nominal massnoggrannhet.

Den kromatografiska separationen för läkemedel och antibiotikaanalys genomfördes på en C18 X-Bridge kolonn (3.0 x 50 mm, 2.5 µm) vid 35 °C med ett flöde på 0.3ml/min.

Mobilfaserna för läkemedelsanalys bestod av 0.1% ättiksyra i vatten (A) samt metanol (B). Gradienten som användes var en linjär gradient från 0–90% B under 10min följt av en plåtå vid 90% B i 10min innan en snabb återgång till 100% A som hölls i 2min.

Mobilfaserna för antibiotikaanalys bestod av 0.1% myrsyra och 0.04% ammonium i vatten (A) samt acetonitril: metanol (8:2) (B). Gradienten som användes var en linjär gradient från 10–89% B under 5min som hölls kvar i 4min innan en snabb ökning till 95% B med en avlastande plåtå vid 95% B under 3min följt av en snabb återgång till 10%B som hölls i 3min.

Utvärdering av läkemedel och antibiotika

Återvinningen av läkemedel samt antibiotika uppskattades från lever och galla prover spikade med 100ng läkemedel och antibiotikaämnen, som upparbetades och analyserades tillsammans med proverna. Detektionsgräns (LOD) samt kvantifieringsgräns (LOQ) uppskattades från 3 gånger respektive 10gånger signalnivån av blankprov och kompenserades även för återvinningen för varje ämne. De uppskattade koncentrationerna av ämnen i proverna kompenserades för återvinning efter blanksubtraktion. Kromatogrammen granskades visuellt för att avgöra om tydliga analyttoppar som urskilt sig från brusnivån (LOD) kunde observeras för att anses kvantifierbara.

Analys av hormoner

Analysen utfördes på ett binärt Ultimate 3000 ultra high performance vätskekromatografisystem (UHPLC) från Thermo Fisher Scientific, med autoinjektor kopplat till en Q-Exactive Orbitrap högresolutions-masspektrometer (HRMS) med elektroprayjonisering (ESI) i negativt läge. Analysen skedde i single ion monitoring mode (SIM) med en mass-resolution på 70 000.

Den kromatografiska separationen genomfördes på en C18 Acucore kolonn (2.1 x 50 mm, 2.6 µm) vid 45 °C med ett flöde på 0.3ml/min.

Mobilfaserna bestod av 1mM ammoniumfluorid i vatten (A) samt acetonitril: metanol (1:1) (B). Gradienten som användes var en linjär gradient från 5–95% B under 10min och en plåtå vid 95% B i 5min följt av en snabb återgång till 5% B och en avlutande utjämningsperiod på 4,5 min.

Utvärdering av hormoner

Återvinningen av hormonämnen uppskattades från lever och galla prover spikade med 100ng läkemedel och antibiotikaämnen, som upparbetades och analyserades tillsammans med proverna. Detektionsgräns (LOD) samt kvantifieringsgräns (LOQ) uppskattades från lägsta kalibreringspunkten. De uppskattade koncentrationerna av ämnen i proverna kompenserades för återvinning efter blanksubtraktion. Kromatogrammen granskades visuellt för att avgöra om tydliga analyttoppar som urskilt sig från brusnivån (LOD) kunde observeras för att anses kvantifierbara.

Resultat

Morfometri

Nedan (**tab.3**) redovisas längd, vikt och antalet individer per samlingsprov för den fisk som analyserats avseende läkemedelsrester. Abborren från Gränna avviker storleksmässigt mot abborren från övriga lokaler, med högre vikt och längd. Medelvärden angivna i fetstilt och min- och maxvärden inom parentes.

Tabell 3. Medellängd, medelvikt och min- och maxvärden (parentes). "n" = antal individer. Medelvärden angivna i fetstilt.

	Fångstplats	Art	Längd (cm)	Vikt (g)	n
Vänern	Hammarö	Abborre	22,3 (20,5-23,5)	123 (100-148)	5
	Torsö	Abborre	21,16 (20,5-22,3)	112 (102-135)	5
	Åsunda	Abborre	24,9 (22,5-27)	183 (134-247)	5
Vättern	Centrala Vättern	Röding	53 (50-56)	1 410 (1 330-1 490)	4
	Gränna	Abborre	31,5 (30,5-32,5)	402 (374-426)	5
Mälaren	Ekoln	Abborre	23,9 (22,5-25,5)	157 (107-204)	5
	Galten	Abborre	24,08 (23,2-25,0)	172 (156-190)	5
	Görväln	Abborre	24,9 (23,0-26,5)	196 (157-226)	5
	Prästfjärden	Abborre	26,5 (26,0-27,0)	267 (234-279)	5
	Västeråsfjärden	Abborre	25,2 (23,5-27,5)	222 (179-291)	5

Uppmätta halter

Alla prover hade halter av läkemedel och antibiotika under analysmetodens detektionsgräns (**tab.4**). Några läkemedelsrester eller rester av antibiotika i röding från Vättern och abborre från Vänern, Vättern och Mälaren kunde alltså inte påvisas.

Förekomst av östrogena hormoner kunde däremot påvisas (**tab.5**). Samtliga prover från Mälaren hade kvantifierbar halt av östron. 17 β -östradiol detekterades vid lokalerna Görväln, Prästfjärden och Västeråsfjärden. Högst halter var det i abborren från Västeråsfjärden, med östron på 49 ng/g vv och 17 β -östradiol på 37 ng/g vv.

17 α -etinylostradiol fanns inte i kvantifierbar halt vid någon lokal. Abborren från Gränna hade dock en halt över detektionsgränsen men under kvantifieringsgränsen (mellan 3,5 och 12 ng/g vv). I abborren från Torsö var halten av östron och 17 β -östradiol någonstans mellan 1,6 och 5,4 ng/ vv. Övriga prover från Vänern hade halter under detektionsgränsen.

Ett mindre antal antibiotika kunde varken påvisas eller uteslutas på grund av dålig återvinning i den kemiska analysen.

Tabell 4. Halter av läkemedel och antibiotika i röding (galla) och abborre (lever) från Vänern, Vättern och Mälaren. Ämnenas engelska namn är angivna.

	Röding Vättern	Abborre Vänern*	Abborre Vättern*	Abborre Mälaren*
Läkemedel	galla (ng/g vv)	lever (ng/g vv)	lever (ng/g vv)	lever (ng/g vv)
Amlodipine	<0,98	<0,98	<0,98	<0,98
Atenolol	<2,3	<2,3	<2,3	<2,3
Bisoprolol	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Caffeine	<19	<19	<19	<19
Carbamazepine	<3,5	<3,5	<3,5	<3,5
Citalopram	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Diclofenac	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Fluoxetine	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Furosemide	<10	<10	<10	<10
Hydrochlorothiazide	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Ibuprofen	<4,7	<4,7	<4,7	<4,7
Ketoprofen	<23	<23	<23	<23
Metoprolol	<2,9	<2,9	<2,9	<2,9
Naproxen	<4,1	<4,1	<4,1	<4,1
Oxazepam	<10	<10	<10	<10
Paracetamol	<19	<19	<19	<19
Propranolol	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
Ramipril	<4	<4	<4	<4
Ranitidine	<9,1	<9,1	<9,1	<9,1
Risperidone	<1	<1	<1	<1
Sertralin	<6,2	<6,2	<6,2	<6,2
Simvastatin	<7,6	<7,6	<7,6	<7,6
Terbutaline	<6,4	<6,4	<6,4	<6,4
Warfarin	<6	<6	<6	<6
Antibiotika				
Amoxicillin	---	<2,8	<2,8	<2,8
Ampicillin	---	<4,5	<4,5	<4,5
Benzylpenicillin	---	---	---	---
Ciprofloxacin	<2,1	<8	<8	<8
Clarithromycin	<1	<2,5	<2,5	<2,5
Clindamycin	<1,5	<2,1	<2,1	<2,1
Doxycycline	---	---	---	---
Erythromycin	<2,8	---	---	---
Fusidic acid	<2,8	<11	<11	<11
Linezolid	<1,3	<0,97	<0,97	<0,97

Metronidazole	<1,1	<0,88	<0,88	<0,88
Moxifloxacin	<0,52	---	---	---
Norfloxacin	<1,5	<28	<28	<28
Rifampicin	<1,1	<3	<3	<3
Sulfamethoxazole	<2,1	<12	<12	<12
Tetracycline	---	<16	<16	<16
Trimethoprim	<0,76	<0,9	<0,9	<0,9

*Gäller samtliga prover från respektive sjö. "---" Ämnet kan inte utvärderas pga dålig återvinning, det går alltså inte att påvisa eller utesluta förekomst av denna analyt.

Tabell 5. Halter (ng/g vv) av hormoner i röding (galla) och abborre (lever) från Vänern, Vättern och Mälaren.

(ng/g vv)	Lokal	östron	17 β -östradiol	17 α -etinylöstradiol	LOD	LOQ
Vänern	Hammarösjön	<1,9	<1,9	<1,9	1,9	6,5
	Torsö	**	**	<1,6	1,6	5,4
	Åsunda	<2,0	<2,0	<2,0	2,0	6,6
Vättern	Centrala Vättern*	<1,0	<1,0	<1,0	1,0	3,3
	Gränna	**	<3,5	**	3,5	12,0
Mälaren	Ekoln	10	**	<1,5	1,5	5,1
	Galten	7	**	<1,7	1,7	5,5
	Görvåln	17	7	<1,8	1,8	5,9
	Prästfjärden	9	8	<2,0	2,0	6,6
	Västeråsfjärden	49	37	<1,9	1,9	6,3

** ämnet kan detekteras men ej kvantifieras, halten är någonstans mellan detektionsgränsen (LOD) och kvantifieringsgränsen (LOQ). *Galla från röding, övriga prover är lever i abborre.

Diskussion

I Malnes et al (2021) detekterades flertalet läkemedel i ytvatten och kringliggande vattendrag till Väneren, Vättern och Mälaren. De generella mönstren i den studien var högre koncentrationer i recipienter till reningsverk samt högre koncentration i Mälarens vatten jämfört med Väneren och Vättern. I föreliggande studie insamlades röding från Vättern och abborre från flertalet lokaler i de tre sjöarna. Abborren är en stationär art, det vill säga att den inte rör sig över större områden, vilket gör att den relativt väl speglar miljöförhållandena vid fångstplatsen. I denna studie var dock samtliga undersökta läkemedel och antibiotika under analysmetodens detektionsgräns, varför någon korrelation mellan koncentrationer i vatten och halter i fisk inte kunnat påvisats. Högre halter i fisken eller känsligare analysmetoder kanske hade kunnat påvisa en korrelation.

Kvantifierbar halt av hormoner fanns i fiskproverna från Mälaren, inte Väneren och Vättern. I provet från Gränna fanns dock östron och det syntetiska hormonet 17α -etinylostradiol som spårvärde (någonstans mellan detektionsgräns och kvantifieringsgräns), medan 17β -östradiol inte kunde detekteras. Detta är något förvånande i och med att de naturliga hormonerna vanligtvis förekommer i högre koncentrationer än de syntetiska. Även i provet från Torsö (Väneren) förekom spårvärden av hormon (östron och 17β -östradiol). I Malnes et al, (2021) syntes inte högre ytvattenkoncentrationer av hormoner Mälaren jämfört med de andra sjöarna, liksom de högre hormonhalter i fisk som här noterades i Mälaren. I Malnes et al (2021) noterades inte heller förhöjd ytvattenkoncentration vid Västeråsfjärden (Mälaren), som var den lokal i Mälaren i föreliggande undersökning med högst halter i fisk. Något samband mellan halter av hormoner i fisk och koncentrationer i ytvatten som förklarar varför fisken i Mälaren visat på högre hormonhalter än i Väneren och Vättern kan således inte påvisas. Haltfördelningen av hormoner mellan sjöarna går också stick i stäv med teorin om biologisk utspädning, dvs att en given mängd föroreningar fördelar sig på tillgänglig biomassa och att halterna därav blir lägre i ett näringsrikt system med stor biomassa, liksom Mälaren och högre i näringsfattiga system liksom Vättern. Däremot är en plausibel förklaring, utifrån relationen mellan belastning och vattenmängd, att Mälaren, vars kringliggande reningsverk har fler anslutna personekvivalenter i förhållande till sjöns vattenvolym än vad Väneren och Vättern har leder till högre halter i fisken. Denna förklaring stöds dock emellertid inte av mätningarna av 17β -östradiol i sjöarnas ytvatten.

Det går inte att utifrån dessa data uttala sig om huruvida de koncentrationer av hormoner som påvisats i fisken från Mälaren är tillräckliga för att leda till negativa effekter. Frågan om endokrina störningar är komplex, då det förekommer såväl naturliga som syntetiska hormoner och hormonlika ämnen som är olika potenta och som kan metaboliseras till en mängd strukturer. Det är därför vanskligt att uttala sig om vilken halt av specifika hormoner som leder till en störning. Ofta mäts halter av

gulesäcksproteinet vitellogenin i blodplasma för att påvisa endokrina störningar, vilket inte har gjorts i föreliggande undersökning.

Generellt sett är det svårt att uttala sig om förväntade skillnader i halter av läkemedelsrester i fisk mellan olika vattenområden, arter och vävnader i fisken. Olika arter skiljer sig mycket åt i morfologi och beteende, och frågan om i vilken utsträckning ämnena bioackumulerar och ansamlas i olika vävnader och organ är till stor del okänd (Cervený et al., 2021). Du et al. (2014) fann att den huvudsakliga upptagsvägen av carbamazepin och difenhydramin i fisk är direkt från vattnet via gälarna, inte via födan.

Hur läkemedlen fördelar sig mellan olika vävnader varierar också beroende på läkemedlets olika egenskaper. Selektiva serotoninåterupptagshämmare (SSRI) visades fördelas främst till lever och hjärna jämfört med plasma och muskel (Brooks et al., 2005; Grabicova et al., 2014; Ramirez et al., 2007). Antibiotika visades i huvudsak ansamlas i muskel och lever, jämfört med gälar och njure (Liu et al., 2018).

I den litteraturgenomgång som genomförts (**Tab.1**) framkom detekterbara/kvantifierbara halter av läkemedel och antibiotika i fisk, vanligast i storleksordningen låga ng/g. De studier som hittades undersökte i huvudsak halter i fisk från recipienter till reningsverk, eller vid flodmynningar vars floder är recipienter till reningsverk. Litteratur om läkemedelsrester i fisk från större insjöar hittades inte, varför resultaten i denna rapport inte kan jämföras mot liknande studier i andra större sjöar.

Med tanke på att halterna i fisk som ofta fångats i floder och åar som är recipienter till reningsverk vanligtvis är i storleksordningen låga ng/g, så är det inte särskilt förvånande att inga läkemedel kunde detekteras i denna undersökning från de tre största svenska sjöarna, där spädningen är hög. Däremot har halter av clotrimazol, codein, felopidin, ketokonazole, sulfamethoxazole och tamoxifen uppmätts till mellan 50 och 80 ng/g v v i flundra från Askeröfjorden norr om Göteborg (Vieno et al., 2017) som är ett kustområde med betydande spädning. I analyspaketet i föreliggande studie var det endast sulfamethoxazole av dessa som ingick. Halten av detta ämne var lägre än detektionsgränsen (2,0 ng/g v v) i galla i röding från Vättern och lägre än detektionsgränsen (12 ng/g v v) i samtliga prover av abborrlever.

I Brodin et al (2013) märktes beteendestörningar i abborre som exponerats för en ekologiskt relevant koncentration oxazepam. Halten i abborre som exponerats för koncentrationen 1800 ng/L överlappade till viss del halten i abborre från Fyrisån, som uppmättes i spannet 0,39-13 ng/g v v (muskel). Detektionsgränsen för oxazepam i föreliggande studie var 10 ng/g v v och alla prover (av lever och galla) var under denna gräns. Koncentrationen oxazepam i Fyrisåns vatten uppmättes till 580 ng/L i Brodin et al., 2013, medan den i Malnes et al., 2021 uppmättes i snitt till 2,7 ng/L i sjöarna och 14 ng/L i associerade vattendrag, vilket är en skillnad på minst en faktor 40. I Brodin et al (2013) mättes halter i muskel, vilka

generellt sett är betydligt lägre än de i lever och galla. Däremot, som nämdes i avsnittet om experimentella fiskförsök, kunde resultaten i Brodin et al (2013) inte valideras i en uppföljande fältstudie.

I Näslund et al (2017) visades exponering av diclofenac i 4600 ng/L leda till histologiska förändringar i storspigg. Någon nedre gräns för när ingen effekt uppvisades fastställdes dock inte. I Malnes et al., 2021 uppmättes i snitt diclofenac i 6,3 ng/L i sjöarna och 32 ng/L i associerade vattendrag. Huruvida koncentrationer i sådan storleksordning kan leda till effekter är oklart. Koncentrationer diclofenac i låga tusental ng/L i reningsverkens avgående vatten är vanligt förekommande (se tex Viktor et al., 2021), men i de stora sjöarna är reningsverkens utgående vatten kraftigt utspädd. Däremot kan effekten av NSAIDs (non steroidala antiinflammatoriska läkemedel), den grupp som diclofenac ingår i, samt andra terapeutiska grupper, behövas studeras additivt i och med deras likartade verkningsmekanismer.

Sammantaget kunde dessa haltmätningar av läkemedel, antibiotika och hormoner i röding och abborre endast påvisa förekomst av hormoner, inte läkemedel och antibiotika. Det går inte att uttala sig om huruvida hormonhalterna är tillräckliga för att leda till endokrina störningar. Jämförelse mot nyligen utförda mätningar i ytvatten från Vänern, Vättern och Mälaren kunde inte påvisa någon korrelation mellan halter i fisk och koncentration i ytvatten av vare sig läkemedel, antibiotika eller hormoner.

Referenser

ÁLVAREZ-MUÑOZ, D., RODRÍGUEZ-MOZAZ, S., MAULVAULT, A. L., TEDIOSI, A., FERNÁNDEZ-TEJEDOR, M., VAN DEN HEUVEL, F., KOTTERMAN, M., MARQUES, A. & BARCELÓ, D. 2015. Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in macroalgae, bivalves, and fish from coastal areas in Europe. *Environmental Research*, 143, 56-64.

AZZOUZ, A., SOUHAIL, B. & BALLESTEROS, E. 2011. Determination of residual pharmaceuticals in edible animal tissues by continuous solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta*, 84, 820-828.

BJÖRLENIUS, B., RIPSZÁM, M., HAGLUND, P., LINDBERG, R. H., TYSKLIND, M. & FICK, J. 2018. Pharmaceutical residues are widespread in Baltic Sea coastal and offshore waters—Screening for pharmaceuticals and modelling of environmental concentrations of carbamazepine. *Science of the Total Environment*, 633, 1496-1509.

BRODIN, T., FICK, J., JONSSON, M. & KLAMINDER, J. 2013. Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations. *Science*, 339, 814-815.

BROOKS, B. W., CHAMBLISS, C. K., STANLEY, J. K., RAMIREZ, A., BANKS, K. E., JOHNSON, R. D. & LEWIS, R. J. 2005. Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 24, 464-469.

CERVENY, D., GRABIC, R., GRABICOVÁ, K., RANDÁK, T., LARSSON, D. J., JOHNSON, A. C., JÜRGENS, M. D., TYSKLIND, M., LINDBERG, R. H. & FICK, J. 2021. Neuroactive drugs and other pharmaceuticals found in blood plasma of wild European fish. *Environment International*, 146, 106188.

CHU, S. & METCALFE, C. D. 2007. Analysis of paroxetine, fluoxetine and norfluoxetine in fish tissues using pressurized liquid extraction, mixed mode solid phase extraction cleanup and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1163, 112-118.

DU, B., HADDAD, S. P., LUEK, A., SCOTT, W. C., SAARI, G. N., KRISTOFKO, L. A., CONNORS, K. A., RASH, C., RASMUSSEN, J. B. & CHAMBLISS, C. K. 2014. Bioaccumulation and trophic dilution of human pharmaceuticals across trophic positions of an effluent-dependent wadeable stream. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369, 20140058.

FAHLMAN, J., HELLSTRÖM, G., JONSSON, M., VEENSTRA, A. & KLAMINDER, J. 2020. Six common behavioral traits and their relevance for perch performance in natural lakes. *Science of The Total Environment*, 732, 139101.

GELSLEICHTER, J. & SZABO, N. J. 2013. Uptake of human pharmaceuticals in bull sharks (*Carcharhinus leucas*) inhabiting a wastewater-impacted river. *Science of the total environment*, 456, 196-201.

GRABICOVA, K., LINDBERG, R. H., ÖSTMAN, M., GRABIC, R., RANDAK, T., LARSSON, D. J. & FICK, J. 2014. Tissue-specific bio-concentration of antidepressants in fish exposed to effluent from a municipal sewage treatment plant. *Science of the Total Environment*, 488, 46-50.

GUNNARSSON, L., ADOLFSSON-ERICI, M., BJÖRLENIUS, B., RUTGERSSON, C., FÖRLIN, L. & LARSSON, D. 2009. Comparison of six different sewage treatment processes—reduction of estrogenic substances and effects on gene expression in exposed male fish. *Science of the total environment*, 407, 5235-5242.

HUERTA, B., RODRIGUEZ-MOZAZ, S., LAZORCHAK, J., BARCELO, D., BATT, A., WATHEN, J. & STAHL, L. 2018. Presence of pharmaceuticals in fish collected from urban rivers in the US EPA 2008–2009 National Rivers and Streams Assessment. *Science of The Total Environment*, 634, 542-549.

HVMFS, 2019. Havs- och vattenmyndighetens föreskrifter om klassificering och miljö kvalitetsnormer avseende ytvatten, HVMFS 2019:25.

KAJ, L., BRORSTRÖM-LUNDÉN, E., FICK, J. & LINDBERG, R. H. 2011. Results from the Swedish National Screening Programme 2010. Subreport 3. Pharmaceuticals. IVL rapport B2014.

KARLSSON, M. & VIKTOR, T. 2014. Miljöstörande ämnen i fisk från Stockholmsregionen 2013. IVL rapport B2214.

KELLNER, M., PORSERYD, T., PORSCH-HÄLLSTRÖM, I., HANSEN, S. H. & OLSÉN, K. H. 2015. Environmentally relevant concentrations of citalopram partially inhibit feeding in the three-spine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Aquatic Toxicology*, 158, 165-170.

LIU, S., BEKELE, T.-G., ZHAO, H., CAI, X. & CHEN, J. 2018. Bioaccumulation and tissue distribution of antibiotics in wild marine fish from Laizhou Bay, North China. *Science of the Total Environment*, 631, 1398-1405.

LUNDSTRÖM, E., ADOLFSSON-ERICI, M., ALSBERG, T., BJÖRLENIUS, B., EKLUND, B., LAVÉN, M. & BREITHOLTZ, M. 2010. Characterization of additional sewage treatment technologies: Ecotoxicological effects and levels of selected pharmaceuticals, hormones and

endocrine disruptors. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73, 1612-1619.

MALNES, D., GOLOVKO, O., KÖHLER, S. & AHRENS, L. 2021. Förekomst av organiska miljöföroreningar i svenska ytvatten: kartläggning av Sveriges tre största sjöar, tillrinnande vattendrag och utlopp.

MARUYA, K. A., VIDAL-DORSCH, D. E., BAY, S. M., KWON, J. W., XIA, K. & ARMBRUST, K. L. 2012. Organic contaminants of emerging concern in sediments and flatfish collected near outfalls discharging treated wastewater effluent to the Southern California Bight. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31, 2683-2688.

MORENO-GONZÁLEZ, R., RODRÍGUEZ-MOZAZ, S., HUERTA, B., BARCELÓ, D. & LEÓN, V. 2016. Do pharmaceuticals bioaccumulate in marine molluscs and fish from a coastal lagoon? *Environmental research*, 146, 282-298.

MUIR, D., SIMMONS, D., WANG, X., PEART, T., VILLELLA, M., MILLER, J. & SHERRY, J. 2017. Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care product chemicals in fish exposed to wastewater effluent in an urban wetland. *Scientific reports*, 7, 1-11.

NÄSLUND, J., FICK, J., ASKER, N., EKMAN, E., LARSSON, D. J. & NORRGREN, L. 2017. Diclofenac affects kidney histology in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) at low µg/L concentrations. *Aquatic Toxicology*, 189, 87-96.

POHL, J., BJÖRLENIUS, B., BRODIN, T., CARLSSON, G., FICK, J., LARSSON, D. J., NORRGREN, L. & ÖRN, S. 2018. Effects of ozonated sewage effluent on reproduction and behavioral endpoints in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 200, 93-101.

RAMIREZ, A. J., MOTTALEB, M. A., BROOKS, B. W. & CHAMBLISS, C. K. 2007. Analysis of pharmaceuticals in fish using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical chemistry*, 79, 3155-3163.

REMBERGER, M., WIKLUND, P., WOLDEGIORGIS, A., VIKTOR, T., KAJ, L. & BRORSTRÖM-LUNDÉN, E. 2009. Anti-inflammatory and analgesic drugs in WWTP influent and effluent streams and the occurrence in the aquatic environment. IVL rapport B1810.

SCHULTZ, M. M., FURLONG, E. T., KOLPIN, D. W., WERNER, S. L., SCHOENFUSS, H. L., BARBER, L. B., BLAZER, V. S., NORRIS, D. O. & VAJDA, A. M. 2010. Antidepressant pharmaceuticals in two US effluent-impacted streams: occurrence and fate in water and sediment, and selective uptake in fish neural tissue. *Environmental science & technology*, 44, 1918-1925.

- SUBEDI, B., DU, B., CHAMBLISS, C. K., KOSCHORRECK, J., RUDEL, H., QUACK, M., BROOKS, B. W. & USENKO, S. 2012. Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in German fish tissue: a national study. *Environmental science & technology*, 46, 9047-9054.
- SUBEDI, B., MOTTALEB, M. A., CHAMBLISS, C. K. & USENKO, S. 2011. Simultaneous analysis of select pharmaceuticals and personal care products in fish tissue using pressurized liquid extraction combined with silica gel cleanup. *Journal of Chromatography A*, 1218, 6278-6284.
- VIENO, N., HALLGREN, P., WALLBERG, P., PYHÄLÄ, M., ZANDARYAA, S. & COMMISSION, B. M. E. P. 2017. Pharmaceuticals in the aquatic environment of the Baltic Sea region: a status report, UNESCO Publishing.
- VIKTOR, T., ANDERSSON, L., ADEOYE BELLO, M., ESFAHANE, B., WALDETOFT, H. & KARLSSON, M. 2021. Läkemedel i Vitsån - Undersökning av koncentrationer i recipienten och fiskförsök med avloppsvatten från Fors reningsverk. IVL rapport C578.
- VIKTOR, T., SJÖHOLM, L. & KARLSSON, M. 2014. Metaller och organiska ämnen i fisk och stormussla från Västeråsfjärden. IVL rapport U4768.
- WOLDEGIORGIS, A., GREEN, J., REMBERGER, M., KAJ, L., BRORSTRÖM-LUNDÉN, E., DYE, C. & SCHLABACH, M. 2007. Results from the Swedish screening 2006. Sub report 4: Pharmaceuticals. IVL rapport B1751.

