

Sakrapport

Rester av läkemedel och östrogena hormoner i blod från utter

Överenskommelse: 2219-16-032 – Del 2

Anna Roos, Katarina Loso och Johan Fång
2024

Rapport 5:2024

Enheten för miljöanalys och -forskning
Box 50007
10405 Stockholm



Mätningar av läkemedelsrester och östrogena hormoner i blod från uttrar

<p>Rapportförfattare Anna Roos, Katarina Loso och Johan Fång</p>	<p>Utgivare Enheten för miljöanalys och -forskning Naturhistoriska riksmuseet Postadress Box 50007, 104 05 Stockholm Telefon 08-51954000</p>
<p>Rapporttitel och undertitel Mätningar av läkemedelsrester och östrogena hormoner i blod från uttrar. Överenskommelse Nr 2219-16-032 – Del 2</p>	<p>Beställare Naturvårdsverket 106 48 Stockholm Finansiering 5321</p>
<p>Nyckelord för plats Limniska miljöer, Sverige</p>	
<p>Nyckelord för ämne Uttrar, blod, läkemedelsrester, östrogena hormoner.</p>	
<p>Tidpunkt för insamling av underlagsdata 2008-2016</p>	
<p>Sammanfattning</p> <p>Denna rapport är den andra delen av två i en pilotstudie om läkemedelsrester i uttrar. I den första delen ville vi undersöka om det gick att analysera rester av läkemedel i urin och blod från uttrar, samt att utvärdera vilken matris som är mest lämplig för ändamålet.</p> <p>I denna studie har blod från 30 uttrar analyserats, varav tio av dem återfanns i nära anslutning till reningsverk för avloppsvatten, och 20 st från minst 2 km från avloppsreningsverk.</p> <p>Alla uttrar hade läkemedelsrester i blodet. Många gånger <LOQ, dvs inte i kvantifierbar halt, men bara att det finns i blodet på vilda uttrar indikerar att det är omfattande förekommande. Det förelåg ingen uppenbar skillnad mellan uttrar som påträffat nära avloppsreningsverk jämfört med de från "bakgrundsområden".</p> <p>Paracetamol fanns i 28 av 30 blodprover och var det vanligaste förekommande läkemedlet i denna studie. Halterna av läkemedelsrester i denna delstudie är i ungefär samma nivåer som de från pilotstudien, med undandag för Risperidone som återfanns i ett homogenat på fem uttrar i hela 250 ng/g i pilotstudien. I denna delstudie var högsta halten Risperidon 2,4 ng/g. Norefidrin återfanns inte alls i blodproverna från denna studie, men uppemot 12 ng/g i uttrar i pilotstudien. Det narkotikaklassade medlet Tramadol återfanns i halter uppemot 36 ng/g i denna studie.</p> <p>De naturliga östrogenhormonerna, östron och östradiol, fanns i alla uttrar utom en oavsett kön eller åldersgrupp. Det syntetiska östrogenet etinylestradiol återfanns i fem uttrar, i halter mellan 0,58-2,6 ng/g.</p>	

Innehållsförteckning

Innehållsförteckning	4
1. Bakgrund	5
2. Material	6
3. Analysmetod.....	8
Upparbetning läkemedel	8
Instrument blod	8
Upparbetning hormoner	8
Instrument hormoner	9
4. Analysresultat.....	9
Läkemedel	9
Hormoner	11
5. Sammanfattning/Diskussion.....	12
7. Referenser.....	14
Appendix	15

1. Bakgrund

Enligt Jaktlagen §25 och Jaktförordningen §33, 36 ska man rapportera till polisen eller direkt till Naturhistoriska riksmuseet (NRM, tel 08-5195 4000) om man hittar en död utter. Polisen skickar kroppen till NRM i Stockholm, eller till Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) i Uppsala. När SVA har obducerat uttern skickas kroppen vidare till NRM. Antalet döda uttrar från norra Sverige som inkommer till NRM har stadigt ökat ända sedan början av 1990-talet och drygt tio år senare även från södra Sverige. Numera inkommer utter från i stort sett hela landet i ökande antal. Det innebär att urvalet av individer till olika miljögiftsrelaterade projekt har ökat markant de senaste åren och att man därmed kan studera miljögiftsbelastningen i utter från hela landet samt använda utter som hjälp till att finna förorenade områden. Det är även möjligt att göra 60 år långa tidsstudier på miljögifter i utter, något som torde vara unikt i världen.

Uttern är relativt stationär och därför kan man anta att halter i utter återspeglar miljögiftsbelastningen i miljön där den lever. Dessutom blir den inte så gammal (i snitt 4-6 år) så de gifter som analyseras i utter speglar en ganska färsk förorening. Därmed är uttern en utmärkt representant för att studera miljögiftsbelastning från framför allt den limniska miljön. På museet finns nu prover från över 2 800 uttrar i miljöprovbanken och antalet prover ökar med ca 230 uttrar/år. Museet sparar olika organ, som päls, muskel, lever, njure, hjärna etc i fryst tillstånd för nutida och framtida forskning om bland annat miljögifter. Sedan några år tillbaka har vi, då det är möjligt, även samlat blod och urin i syfte att kunna analysera bland annat läkemedelsrester och möjliggöra denna studie.

De flesta uttrar som inkommer till museet har dött av mänsklig aktivitet (trafik eller fiske) och är i god kondition. Flertalet vuxna honor visar tecken på nylig reproduktion [1], något som var mycket ovanligt för ett par decennier sedan. Däremot har merparten av hanarna (ca 70 %) minst en cysta på sädesledarna, något som kan härkomma från exponering av östrogen eller östrogenliknande substanser i fosterstadiet [2]. Därför är det av intresse att analysera östrogena hormoner i utter som östron, östradiol (som i vardagligt tal brukar kallas östrogen) och etinylestradiol. Östrogener är biologiskt aktiva hormoner som bildas i binjurebark, testiklar, äggstockar och moderkakan hos människor och djur [3]. Östradiol och östron är de viktigaste av de östrogena hormonerna, och finns hos båda könen. Etinylestradiol är ett syntetiskt hormon, som används i flera läkemedel bland annat preventilmedel, medicin mot bröst- och protatacanser samt dagen-efter piller.

Läkemedel är biologiskt aktiva ämnen, som är skapade för att ge en effekt till människor och djur med en medicinsk åkomma. Inte minst eftersom de är biologiskt aktiva substanser är det något som man inte vill hitta i naturen. Trots det har läkemedelsrester i miljön blivit ett ökande problem i många områden. Oftast analyseras vatten, sediment, musslor och fisk. Extremt få studier är baserade på däggdjur. Uttrar lever ofta i människors nära omgivning och äter samma fiskarter och kräftor som vi. Därför var vi intresserade att se om det fanns spår av läkemedel i vilda uttrar från Sverige. En viktig källa till läkemedel och hormoner i miljön är avloppsreningsverk [3].

I en tidigare pilotstudie har blod och urin från utter analyserats med avseende på läkemedel [4]. Då visade det sig att det hittades fler läkemedel i urin jämfört med blod. Eftersom de flesta uttrar som påträffas döda inte har så mycket urin, ville vi även analysera blod som är lättare att samla in. I pilotstudien återfanns läkemedel i samtliga blod- och urinprover, en del i extremt höga halter t.ex. Risperidon, ett läkemedel mot bl.a. schizofreni och bipolära sjukdomar. Målet för denna studie är att jämföra halter i blod från 10 uttrar från områden nära reningsverk för

avloppsvatten och 20 uttrar funna längre ifrån reningsverken. De uttrar som har hittats på ett längre avstånd från avloppsreningsverken har inte påträffats i helt oförstörd miljö, utan inom ett avstånd på minst två km från reningsverk och kan därmed ha födosökt i närheten av avloppsreningsverken.

2. Material

Sammanlagt har blod från 30 individuella uttrar analyserats för 30 olika läkemedel, från antidepressiva medel, blodtrycksmedicin till astma och hungernedsättande medel. Tjugo av uttrarna påträffades minst två km från ett avloppsreningsverk ("bakgrundsområde") och tio uttrar närmare avloppsreningsverk. Eftersom uttrar påträffas döda där det finns människor, och där det finns människor finns avloppsreningsverk, så var det svårt att välja ut uttrar som hittats på längre avstånd från avloppsvattensreningsverk än så. Tjugofyra av uttrarna dog i trafiken, fem dog som bifångst i fiskerdskap och en hittades död där dödsorsaken var någon form av trauma, som troligen även det var trafikrelaterat. Tabell 1 visar data över uttrarna i studien, var de kommer från, samt hur många läkemedel som har återfunnits i respektive utter.

Alla uttrarna har även analyserats med avseende på östrogena hormoner: östron, östradiol samt etinylestradiol.

Tabell 1. Lista över de uttrar som analyserats för läkemedel och hormoner, uppdelade på provnummer. Även antal läkemedel i varje utter indikeras i tabellen.

	Accnr	Döds- orsak	Längd (cm)	Vikt (kg)	Kön	Ålders- grupp	År	Lokal	Län	Antal läkemedel
"Bak- grund"	A2008/05430	TD	108,0	8,3	Hane	Adult	2008	V 45 vid älven vid Stenselet, Storuman	Västerbottens	7
	A2010/05073	TD	98,5	3,7	Hona	Adult	2009	Tjappsåire, Arvidsjaur	Norrbottnens	4
	A2010/05469	TD	94,0	4,1	Hane	Subadult	2010	Källan, Transtrand, Sälen	Dalarnas	4
	A2011/05237	TD	111,0	8,1	Hane	Adult	2011	E14 250 m Ö OKQ8 Mörsil	Jämtlands	7
	A2011/05336	TD	95,0	4,6	Hona	Adult	2011	Lv 321, Galhammarvägen 19, Svenstavik, intill bybäcken vid utlopp till Storsjön	Jämtlands	6
	A2011/05384	DR	94,5	4,6	Hona	Adult	2011	Gårdvik, Svärdsjö, Falun	Dalarnas	7
	A2011/05598	FD	93,4	4,1	Hane	Subadult	2011	Ottsjö, Föllinge	Jämtlands	3
	A2012/05080	TD	99,5	5,5	Hane	Subadult	2011	Väg 526 vid Bastusel, Arvidsjaur	Norrbottnens	6
	A2013/05075	TD	94,0	3,7	Hona	subadult	2012	Lybäck, Stugun, Ragunda	Jämtlands	1
	A2013/05077	TD	107,0	7,5	Hane	Adult	2013	Kvitsele (Stavas ibland Kvissle), vägen mot Mattmar, Mörsil	Jämtlands	7
	A2013/05095	TD	107,5	6,8	Hane	Adult	2012	Under viadukt Forsås, Näsåker, Sollefteå	Västernorrlands	5
	A2014/05708	TD	95,4	4,6	Hona	Adult	2012	1 mil N Enebacken, Lycksele kommun. Vormträsk, 5 km S Lv 365	Västerbottens	4
	A2014/05747	TD	94,0	5,9	Hona	Adult	2014	I höjd med rastplatsen vid sjön Antvarden, ca 50 m söder om infarten till Karlslund.	Östergötlands	4
	A2015/05298	TD	93,0	5,3	Hona	Adult	2015	Lv 131 ca 7 km N Österbymo i höjd med Gunnarstorpågölen	Östergötlands	5
	A2015/05377	TD	105,0	7,1	Hane	Subadult	2014	Lv 373 där vägen korsar Åbyälvs, Piteå, Önusberg	Norrbottnens	11
	A2015/05633	DR	96,0	5,3	Hane	Subadult	2015	Fiskdamm 2-3 km öst om Bygdsiljum, Skellefteå	Västerbottens	3
	A2015/05722	TD	103,8	6,1	Hane	Subadult	2015	E12, Kattisavan, Lycksele	Västerbottens	5
	A2016/05258	TD	99,4	5,8	Hane	Adult	2015	Stugu Kraftverk, Östersund, Stugun	Jämtlands	4
A2016/05259	TD	108,5	8,3	Hane	adult	2015	Mattmar, E14	Jämtlands	10	
A2015/05729	DR	109,3	10,5	Hane	Subadult	2015	Hjälmarens, vid Björksundet.	Örebro	4	
"Nära"	A2015/05363	TD	114,0	7,3	Hane	Adult	2015	Vimmerby Reningsverk, trol påkörd, avlivad av polisens eftersöksjägare.	Kalmar	5
	A2010/05546	DR	115,5	8,4	Hane	Adult	2010	Långgrammen, ca 1 Km NO Hallingebergs kyrka, Västervik	Kalmar	5
	A2014/05175	TD	116,0	9,9	Hane	Adult	2014	Nynäshamn, väg 73 avfart Nynäshamn N. korsningen till infarten till avloppsvatten- reningsverket	Stockholms	2
	A2014/05739	TD	112,0	9,9	Hane	Adult	2014	Mellan Valla och Sköldinge, utmed RV 55, den låg vid väggkanten.	Södermanlands	7
	A2016/05494	TD	109,7	9,2	Hane	Adult	2014	Smedsbyvägen, Börjeslandet, Luleå	Norrbottnens	10
	A2016/05090	TD	95,0	5,2	Hona	adult	2015	Lv 307 mellan Bergsjö och Hassela. Vid milstolpe i Ede	Gävleborgs	3
	A2016/05298	TD	110,6	9,4	Hane	adult	2016	Maglasätevägen, Höör	Skånes	2
	A2016/05459	TD	108,5	8,2	Hane	Adult	2016	Tabergsdal, Taberg	Jönköpings	
	A2016/05542	DR	96,4	5,2	Hona	Subadult	2016	Svartån, Västerås	Västmanlands	7
A2016/05684	TD		9,0	Hane	Adult	2016	Södra Grytsjön, Kyrkhult, Väg 119.	Blekinge	10	

3. Analysmetod

Blod har tagits i samband med obduktion och sparats i miljöprovbanken (-25° C) och sedan provtagits för analys.

Upparbetning läkemedel

Metoden för att analysera läkemedel är baserad på en metod för att undersöka ett humant blodprov för förekomsten av läkemedel [5]. Blod (3 g) vägdes in ett polypropylenrör (14 mL) och spikades med isotopmärkt internstandardmix; [¹³C₆]-diclofenac, [¹³C₆]-hydroklorotiazid, [¹³C¹⁵N]-karbamazepin, [²D₈]-ciprofloxacin och [²D₃]-ibuprofen (50 µL, 2 µg/mL styck). Proven jämviktades över natt i kyl. Sedan tillsattes acetonitril/metanol (8:2, 6 mL) till proven varpå de agiterades mekaniskt (30 sekunder). Proven placerades därefter i en frys (-20°C, 15 min) och centrifugerades i en "swing-out" centrifug (3750 rpm, 15 min). Supernatanten dekanterades till ett nytt polypropylenrör (14 mL) och indunstades till 0,1 mL med hjälp av kvävgas och värme (ca 40°C). Därefter återlöstes proven i metanol/vatten (1:1, 1 mL) genom agitering (5 min) och ultraljudsbad (5 min), varpå proven åter placerades i frys (-20° C, 15 min). Proven centrifugerades (3000 rpm, 5 min) och dekanterades därefter till eppendorfrör för att centrifugeras (14000 rpm, 10 min). I ett sista steg överfördes proven till vial och injicerades på HPLC/MS/MS.

Instrument blod

Bestämning av läkemedel utfördes på en binär vätskekromatograf (UFLC) system utrustad med en autoinjektor (Shimadzu, Kyotu, Japan), kopplad till en API 4000 trippelkvadrupol (MS/MS) (Applied Biosystems, Foster City, USA) med ett elektroprayjonisering interface (ESI) i både positiv- och negativt mod. Den kromatografiska separationen genomfördes med gradienteluering på en Xbridge (Waters Corporation, Milford, USA) C18-kolonn (50 x 3 mm, 5-mikron partikelstorlek) vid 35°C och ett flöde på 0,3 mL/min. Den mobila fasen bestod av 10 mM ättiksyra i vatten (mobilfas A) och metanol (mobilfas B). Gradienten påbörjades med 100% mobilfas A och 0% av mobilfas B. Andelen mobilfas B ökades linjärt till 95% under 11 minuter och hölls konstant vid 95% i 5 minuter.

Upparbetning hormoner

Den enzymatiska hydrolysen baserades på arbetet av Budzinski *et al.* 2006 [6] och fastfasextraktionen (SPE) anpassad från en "Application note" av Agilent (2010) [7].

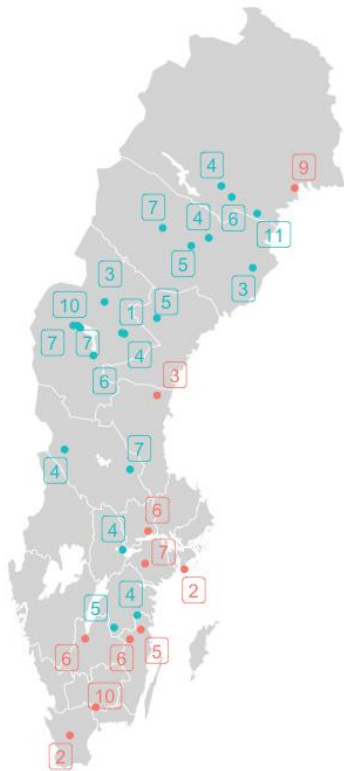
Helblod (ca 5–10 g) från utter vägdes i provrör av polypropen (PP) (50 ml) och späddes med natriumacetatbuffert (14 ml, 0,02 M, pH 5). Interna standarder, [2D5]β-östradiol (100 µL, 118 ng/ml) och [2D4]-α-etinylestradiol (100 µL, 7,75 ng/ml), tillsattes till proverna. Den enzymatiska hydrolysen utfördes med hjälp av en vattensuspension av β-glukuronidas från *Helix pomatia* H-3AF (30 µL, Sigma-Aldrich) och inkuberades vid 55 °C i 3 timmar. Inkubationen följdes av en tillsats av citronsyra (0,5 g) och ultraljudsbehandling (5 min). Proverna frystes därefter (-20° C, 40 min) och centrifugerades (4000 RPM, 10 min). Supernatanten extraherades med hjälp av en Bond Elut Nexus (60 mg) SPE-cylinderampull som hade förrengjorts med en blandning av etylacetat och hexan (4:1, 3 ml) och ett vakuumgrenrör. Proverna eluerades med en blandning av etylacetat och hexan (4:1, 3 ml) och indunstade till torrhet innan de löstes upp igen i vatten/metanol (1:1, 0,5 ml), överfördes till ett Eppendorffrör (PP, 1,5 ml) och centrifugerades (10 000, tio minuter). Supernatanten överfördes till en injektionsvial av glas och injicerades på HPLC-MS/HRMS.

Instrument hormoner

Identifiering och kvantifiering utfördes med hjälp av en HPLC ansluten till en Q Exactive massanalytator (Thermo) med ett elektropraygränssnitt i negativt läge. Analyterna separerades på en omvänd faskolonn (Accuore C18, 50 × 2,1 mm, 2,6 µm partikelstorlek) med ett flöde på 0,3 ml/min. Mobila faser A) Ammoniumfluorid i milliQ vatten (1 mM) och B) metanol/acetonitril (1:1). Gradienten börjar vid 5 % B. Delen av B ökades linjärt efter 1 minut till 95 % under 11 minuter och hölls konstant på 95 % B i 5 minuter [5-8].

4. Analysresultat

Resultaten redovisas i ng/g färskvikt. I Appendix Tabell 1 visas LOD (Level of detection) och LOQ (Level of quantification) för de olika analyterna (ng/g färskvikt i blod).



Figur 1. Blå cirklar representerar utter från "bakgrundsområde" och röda cirklar utter som påträffats inom 2 km från ett reningsverk för avloppsvatten. Siffrorna indikerar hur många läkemedel som påträffats i respektive utter.

Läkemedel

Alla uttrar hade rester av läkemedel i blodet, från en till elva olika läkemedel/utter (Se Tabell 1 och Figur 1). I snitt påträffades 5-6 olika läkemedel i varje utter. Många gånger återfanns läkemedel <LOQ (under level of quantification), dvs de fanns i blodprovet men gick inte att kvantifiera. Det verkar inte vara någon skillnad mellan de som påträffades nära avloppsreningsverk och de från "bakgrundsområden".

Sju läkemedel av trettio återfanns inte i något prov: Diazepam, Furosemid, Hydrochlorothiazid, Norephedrin, Sertralin, Terbutaline och Zolpidem. Övriga återfanns i minst en utter.

Amlodipin, Naproxen och Ranitidin återfanns endast i ett prov vardera (i tre olika uttrar). Övriga läkemedel återfanns i 2-27 av provererna.

Högst antal läkemedel (11 st) hade en utter från Piteå, inklusive mätbara halter av Carbamazepine, Diclofenac, Paracetamol, Ramipril, Ranitidine, Risperidon, Tramadol och Venlafaxin. En utter från Mattmar, Jämtland och en utter från Södra Grytsjön, Blekinge hade tio olika läkemedel i sig.

Den utter som hade minst antal läkemedel i blodet hade "endast" ett, det var en utter från Raglunda, Jämtland (0,79 ng/g Paracetamol). En annan utter som påträffades i Nynäshamn, vid infarten till reningsverket, hade "bara" två läkemedel (Omeprazol och Paracetamol i låga halter, <LOQ). Ytterligare en utter hade "endast" två läkemedel i sig, den kom från Höör, Skåne (0,34 ng/g Diclofenac och 2,6 ng/g Paracetamol).

Paracetamol var det vanligaste återfunna läkemedlet och fanns i över 90 % av proverna av uttrarna nära avloppsreningsverk respektive "bakgrundsområde", i halter mellan 0,45-27 ng/g).

Bisoprolol, en betablockerare, återfanns i ungefär hälften av alla uttrar.

Det smärtstillande läkemedlet diclofenac (som bland annat finns i Voltaren) återfanns i över hälften av alla uttrar i båda grupperna, varav den högsta halten hade en utter från ett "bakgrundsområde". Blodtrycksmedlet Ramipril fanns i hälften av uttrarna från "bakgrundsområden" och 30 % av uttrarna nära avloppsreningsverk. Risperidon, ett läkemedel mot bland annat schizofreni och bipolär sjukdom, återfanns i cirka hälften av alla uttrarna i halter uppemot 2,4 ng/g.

Sju uttrar hade mätbara halter av det morfinklassade läkemedlet Tramadol. Högst halt hade en subadult utter från Piteå, Norrbotten (hela 36 ng/g). Näst högst halt hade en vuxnen hona som bifågades i en kräftbur i Svartån, Västerås (25 ng/g). Tredje högsta halten hade en subadult hona utter från Mattmyr, Jämtland (8,7 ng/g).

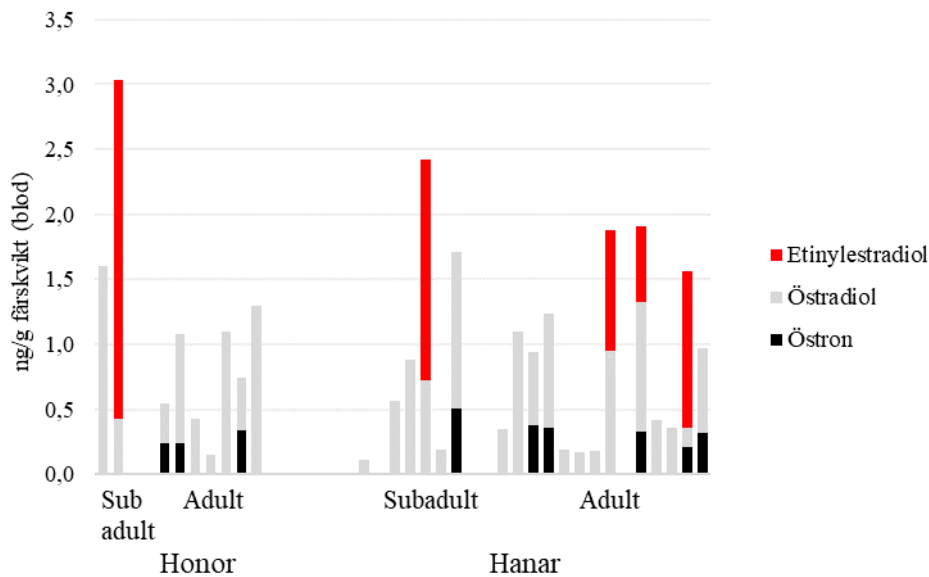
Tabell 2. Resultat från 30 blodprover. Antal prover som hade detekterbara halter av ett visst läkemedel visas, liksom min och max koncentration. Rött = minst 50 % av proverna och orange = 30-50 % av proverna har detekterbara halter av läkemedlet.

Huvudsakligt användningsområde	Analyt	Nära (n=10)		"Bakgrund" (n=20)	
		%	min-max	%	min-max
Antidepressiv	Citalopram	10	<LOD-0,8	15	<LOD-0,5
Antidepressiv	Sertraline	0		0	
Antidepressiv	Venlafaxin	10	<LOD-0,031	15	<LOD-0,23
Oro/ångest	Diazepam	0		0	
Oro/ångest	Fluoxetine	20	<LOD-<LOQ	20	<LOD-0,32
Oro/ångest	Omeprazol	20	<LOD-<LOQ	15	<LOD-<LOQ
Oro/ångest	Oxazepam	40	<LOD-<LOQ	20	<LOD
Schizofreni	Risperidone	50	<LOD-2,4	45	<LOD-0,42
Anti-inflammatorisk	Diclofenac	80	<LOD-0,49	55	<LOD-1,6
Anti-inflammatorisk	Ketoprofen	0		10	<LOD-0,5
Anti-inflammatorisk + smärtlindring	Ibuprofen	10	<LOD-0,44	15	<LOD-0,53
Anti-inflammatorisk + smärtlindring	Naproxen	10	<LOD-<LOQ	0	
Smärtlindring	Paracetamol	90	<LOD-2,9	95	<LOD-9,4
Smärtlindring	Tramadol	40	<LOD-25	15	<LOD-36
Astma	Terbutaline	0		0	
Blodförtunnande	Warfarin	0		25	<LOD
Blodtryck	Amlodipine	0		5	<LOD-0,12
Blodtryck	Atenolol	10	<LOD	15	<LOD-0,18
Blodtryck	Bisoprolol	50	<LOD-1,2	45	<LOD-1,2
Blodtryck	Hydrochlorothiazide	0		0	
Blodtryck	Metoprolol	10	<LOD	10	<LOD
Blodtryck	Propranolol*	0		0	
Blodtryck	Ramipril	30	<LOD	50	<LOD-3,4
Bantning, avsvällning	Norephidrin	0		0	
Epilepsi	Carbamazepine	30	<LOD-2,0	25	<LOD-1,6
Kolesterol	Simvastatin	20	<LOD-0,11	30	<LOD-0,29
Magsyra	Ranitidine	0		5	<LOD-0,12
Sömn	Zolpidem	0		0	
Vätskedrivande	Furosemide	0		0	
	Caffeine	30	<LOD-1,3	10	<LOD-1,6

Hormoner

Östradiol återfanns i alla uttrar i halter om <LOQ (i en utter) -1,6 ng/g färskvikt med ett undantag för en subadult hane. Östron fanns i nio uttrar i halter mellan 0,2-0,5 ng/g färskvikt.

Etinylestradiol fanns i 16% av uttrarna, både i hanar och honor i halter mellan 0,58-2,6 ng/g färskvikt. (Figur 2).



Figur 2. Tre olika östrogena hormoner återfunna i uttrar (ng/g färskvikt i blod).

5. Sammanfattning/Diskussion

Samtliga uttrar i studien hade läkemedelsrester i blodet. I många fall låg halterna <LOD men över >LOQ, dvs inte kvantifierbart, men bara att det finns i blodet på vilda uttrar indikerar att det är omfattande förekommande. Paracetamol fanns i 28 av 30 blodprover och var det vanligaste förekommande läkemedlet i denna studie. Halterna i denna delstudie liknar de från pilotstudien, med undantag för Risperidon som återfanns i ett homogenat på fem uttrar i hela 250 ng/g i pilotstudien. I denna delstudie var högsta halten Risperidon 2,4 ng/g. Norefidrin återfanns inte alls i blodproverna från denna studie, men uppemot 12 ng/g i uttrar i pilotstudien. Det narkotikaklassade medlet Tramadol återfanns i halter uppemot 36 ng/g i denna studie, högst halt hade en uttrar från Piteå.

Alla uttrarna har även analyserats med avseende på östrogena hormoner: östron, östradiol samt etinylestradiol. Östron och östradiol bildas naturligt medan etinylestradiol är syntetiskt framställt och ingår i läkemedel så som vissa preventivmedel. Även östradiol framställs syntetiskt och ingår i en del läkemedel. Det är med andra ord svårt att säga om det uppmätta östradiolet är syntetiskt eller naturligt producerat, vilket i och för sig spelar mindre roll för det exponerade djuret ifråga. För att yttrelicare komplicera saker så kan östron och östadiol omvandlas tillvarandra *in vivo*.

Naturliga östrogenhormoner fanns i alla uttrar oavsett kön eller åldersgrupp med ett undantag. Det syntetiska estradiol återfanns i fem uttrar, i halter mellan 0,58-2,6 ng/g.

Det är svårt att säga något om denna cocktail av läkemedel i uttrarna har någon negativ effekt eller inte. Att uttrar har flera olika läkemedel i sig kan ge synergistiska effekter som är svåra att utvärdera. Ett extra påslag av östrogena hormoner i vatten och i födan kan potentiellt påverka reproduktionen hos uttrar och andra djur liksom ökad risk för cancer, sänka allmäntillståndet och djurens allmänna hälsostatus [9].

7. Referenser

1. Roos A., Bäcklin B-M., Helander B., Riget F, and Eriksson U. (2012) Improved reproductive success in otters (*Lutra lutra*), grey seals (*Halichoerus grypus*) and sea eagles (*Haliaeetus albicilla*) from Sweden in relation to concentrations of organochlorine contaminants. *Environmental Pollution* 170: 268-275.
2. Roos AM and Ågren EO (2013) High Prevalence of Proposed Müllerian Duct Remnant Cysts on the Spermatic Duct in Wild Eurasian Otters (*Lutra lutra*) from Sweden. *PLoS One* 8: 1-5.
3. Adeel M, Song, X., Wang, Y., Francis, D., and Yang, Y. (2017) Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environment International* 99: 107-119.
4. Roos A., Loso, K. and Fång, J. (2017) Mätningar av läkemedelsrester i blod och urin från utter. Sakrapport till Naturvårdsverket. Naturhistoriska riksmuseet. 8 p.
5. Vincenti M., Cavanna D., Gerace E., Pirro V., Petrarulo M., et al. (2013) Fast screening of 88 pharmaceutical drugs and metabolites in whole blood by ultrahigh-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405: 863-879.
6. Budzinski H., Devier., M.H., Labadie., P. and Togola, A. (2006) Analysis of hormonal steroids in fish plasma and bile by coupling solid-phase extraction to GC/MS *Anal Bioanal Chemistry* 386.
7. Agilent Technologies Inc. (2010) Ethinyl estradiol in human plasma as TMS derivatives. Application Note. <https://www.agilent.com/cs/library/applications/A01881.pdf>
8. Gros M., Petrović M. and Barceló D. (2006) Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70: 678-690.
9. Wojnarowski K, Podobiński, P., Cholewińska, P., Smoliński, J., and Dorobisz, K. (2021) Impact of Estrogens Present in Environment on Health and Welfare of Animals. *Animals* 11: 2152.

Appendix

Appendix Tabell 1. LOD (Level of detection) och LOQ (Level of quantification) för de olika analyterna (ng/g färskvikt i blod).

Analyt	LOD	LOQ
Amlodipine	0,03	0,09
Atenolol	0,05	0,17
Bisoprolol	0,05	0,17
Coffeine	0,20	0,67
Carbamazepine	0,02	0,08
Citalopram	0,01	0,04
Diazepam	0,02	0,08
Diclofenac	0,05	0,17
Fluoxetine	0,02	0,06
Furosemide	0,15	0,50
Hydrochlorothiazide	0,10	0,33
Ibuprofen	0,02	0,07
Ketoprofen	0,09	0,30
Metoprolol	0,10	0,32
Naproxen	0,07	0,24
Norephidrine	0,11	0,37
Omeprazol	0,06	0,20
Oxazepam	0,03	0,09
Paracetamol	0,13	0,45
Ramipril	0,10	0,33
Ranitidine	0,11	0,37
Risperidon	0,05	0,16
Sertraline	0,03	0,11
Simvastatin	0,09	0,29
Terbutaline	0,24	0,81
Tramadol	0,01	0,05
Warfarin	0,05	0,18
Venlafaxin	0,01	0,03
Zolpidem	0,01	0,03