

Risicanalys: Faror och risker med p-piller bestående av Ethinylestradiol (EE2) och Estradiol (E2) i Helge å

CAROLINA GRANDIN 2015
MVE M02 EXAMENSARBETE FÖR KANDIDATEXAMEN 15 HP
MILJÖVETENSKAP | LUNDS UNIVERSITET



Carolina Grandin

MVEM02 Examensarbete för kandidatexamen 15 hp, Lunds universitet

Intern handledare: Lina Nikoleris, Biologi & CEC,
Lunds universitet

CEC - Centrum för miljö- och klimatforskning
Lunds universitet
Lund 2015



LUNDS
UNIVERSITET

Abstract

During the 90's intersex individuals was found among fish downstream sewage treatment plants, this was found to be due to estrogens in the water. Today we know that one of the largest contributors of the effects on fish is 17 α -ethinylestradiol (EE2). EE2 is a synthetic estrogen used in contraceptive pills and is one of the most used pharmaceuticals in the world. In addition to intersex EE2 also generates elevated levels of vitellogenin, altered gene expression and behavior change. These effects are also produced by estradiol (E2), a natural estrogen. The effects are induced at sub-ng/l with slightly higher concentrations for E2 compared to EE2, therefore E2 is consider more environmental friendly compared to EE2.

In this study the two substances E2 and EE2 were compared and determined if they represent any risk to a river in Scania (Helge river) through an environmental risk assessment. The environmental risk assessment was performed by the guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use mead by European Medicines Agency. To determine if E2 is more environmental friendly compared to EE2, the dose of EE2 was changed towards E2.

This study shows that E2 and EE2 today do not represent a risk for Helge River. It mainly depends on the high dilution of Helge River and the many industries connected to the sewage treatment plant. The result shows that E2 is not more environmental friendly compared to EE2 in contraceptives, due to the higher amount E2 (1-3 mg) in the pills compared to EE2 (20-30 μ g). The most cost-effective solution to the negative effects on aquatic organisms due to EE2 and E2 is to not prescribe contraceptive consisting of estrogen. The alternative is to rebuild the treatment plants to remove the estrogens from the wastewater but it is more expensive.

Innehållsförteckning

Abstract	3
Innehållsförteckning	5
1. Inledning	7
1.1 <i>P-piller</i>	9
1.2 <i>Problematiken</i>	10
1.3 <i>Syfte</i>	11
2. Metod och Metodik	13
2.1 <i>Farobedömning</i>	13
2.1.1 Fallstudie beskrivning	14
2.2 <i>Riskhantering</i>	15
2.2.2 Den förväntade miljökoncentrationen (PEC)	15
2.2.3 Den uppskattade nolleffektkoncentrationen (PNEC)	17
2.2.4 Riskkvot (RQ)	18
3. Resultat	19
4. Diskussion	23
5. Slutsats	27
6. Tack	29
Bilaga 1	35
Bilaga 2	37

1. Inledning

Under 90-talet upptäckte man i Storbritannien att fiskar nära reningsverk var tvåkönade, det innebär att hanar hade börjat utveckla äggceller i testiklarna (Jobling et al., 1995). Det har konstaterats att tvåkönighet hos fiskar orsakas av att de exponeras för östrogena ämnen (Metcalf et al., 2001; Sumpter & Jobling, 1995; Purdom et al., 1994). Det är främst det syntetiska hormonet, 17 α -ethinylestradiol (EE2) som orsakar effekten (Metcalf et al., 2001). EE2 är det vanligaste östrogena hormonet som används i p-piller (Läkemedelsverket, 2014). Efter att tvåkönighet blev känt har man även konstaterat att EE2 orsakar fler negativa effekter (Nikoleris et al., 2016; Hallgren et al., 2014; Gräns et al., 2010; Bayley et al., 1999; Larsson et al., 1999). Det gjorde att man lanserade ett nytt p-piller i Sverige som inte innehåller EE2 utan biogent estradiol (E2) (Läkemedelsverket, 2014). Det orsakar samma negativa effekter i naturen som EE2 men det är mindre potent, så halterna behöver vara högre för att orsaka samma effekter.

Studier bekräftade sedan att tvåkönighet hos en rad olika hanfiskar uppstår när de exponeras för E2 och EE2 (Hirakawa et al., 2012; Jobling et al., 2002; Metcalf et al., 2001). Hos japansk medaka (*Oryzias latipes*) uppstod tvåkönighet när de exponerades för 10 ng/l E2 och 0,1 ng/l EE2. När koncentrationerna ökade till 1000 ng/l övergick hanfiskarna helt till honfiskar (Metcalf et al., 2001). Harris et al. (2011) visade att trots att mört (*Rutilus rutilus*) var tvåkönade kunde de föröka sig men reproduktionsförmågan var nedsatt med upp till 76 %.

En annan effekt av att hanfiskar exponeras för EE2 och E2 är att de börjar producera vitellogenin (vtg). Vtg är ett ägguleprotein, som främst är till för att producera romkorn (Routledge et al., 1998), normalt är halten vtg enbart detekterbar hos könsmogna honfiskar (Jürgens et al., 2002). Dos- och effektsamband mellan EE2/E2 och vtg är konstaterat, och därför används halter av vtg i hanfiskar som en biomarkör för exponering av östrogen. Förhöjda halter av vtg har även hittats i fisk nedanför svenska reningsverk där koncentrationen i flodvattnet överstiger 4,5 ng/l EE2 (Larsson et al., 1999). Tröskelvärde för förhöjda halter för E2 låg mellan 1 och 10 ng/L för regnbågslax (*Oncorhynchus mykiss*) och något högre för mört (Routledge et al., 1998).

När regnbågslax exponerades påverkades aryl hydrocarbon receptor (AhR) och östrogen receptor (ER)¹. AhR reglerar mängden P450 (CYP1A) i kroppen (Gräns et al., 2010). P450 ingår i fas 1 i metabolismen som bryter ner organiska föroreningar i kroppen. P450 gör att lipofila föroreningar blir mer vattenlösliga, vilket medför att de lättare kan utsöndras från kroppen (Walker et al., 2012). P450 nivåerna minskade med 40 % i regnbågslaxen när de exponerades för EE2, därför antas EE2 vara en antagonist till AhR. Vtg produceras hos hanfiskar vid exponering av EE2 och E2, då ER reglerar vtg mängden i kroppen (Jürgens et al., 2002), anses EE2 och E2 vara en ER antagonist (Gräns et al., 2010).

I studier där guppy (*Poecilia reticulata*) exponeras för EE2 konstaterades det att uppvaktningsbeteendet ändrades och att reproduktionsförmågan minskade (Kristensen et al., 2005; Bayley et al., 1999). Det har konstaterades att guldfiskhanar (*Carassius auratus*) som exponerats för E2 fick allvarliga effekter på reproduktionsbeteende och fysiologi (Bjerselius et al., 2001).

Det är sannolikt att ovan nämnda effekter i slutändan påverkar populationsdynamiken vilket leder till att fiskpopulation kollapsar och försvinner (Kidd et al. 2007). För att säkerställa att djur och växter inte tar skada av miljöfarliga ämnen har man tagit fram så kallade, nolleffektkoncentrationer (PNEC) (Tabell 1). PNEC-värdet är den koncentrationen av ett ämne som anses acceptabel i miljön då denna koncentration inte påverkar organismer nämnvärt (Walker et al., 2012). På grund av de negativa effekterna som EE2 och E2 orsakar samt de låga PNEC-värdena (Tabell 1) har de hamnat på EU:s lista för ämnen som ska övervakas (Europa Kommissionen, 2015).

Tabell 1. PNEC-värden för EE2 och E2.

PNEC E2 [ng/l]	PNEC EE2 [ng/l]	Referens
2	0,1	Caldwell et al., 2012
1	0,1	Environment Agency, 2004
0,4	0,035	Europa Kommissionen, 2015

¹ En receptor är en enskild eller grupper av celler vars uppgift är att fånga upp och överföra signalersubstanser, det kan ske både på cellens yta eller inom den. Då olika celler har olika receptorer kan endast vissa celler ta emot en viss signal. Det beror på att receptorerna har en tredimensionell struktur, som en viss typ av signalsubstans (agonist) passar i. Vissa ämnen fungerar som blockerare av receptorer (antagonister) då de har en struktur som liknar agonisten och kan därför binda till receptorn (NE, 2016).

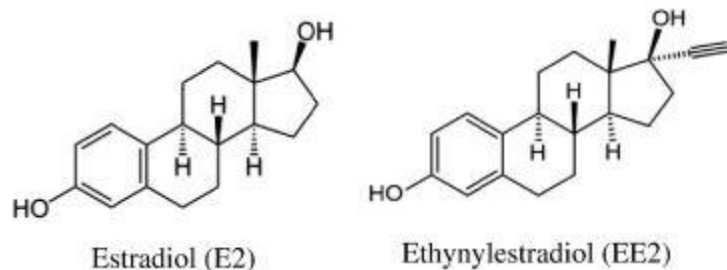
1.1 P-piller

P-piller lanserades på 1960-talet med syfte att förhindra oönskad graviditet och tillhör gruppen kombinerade hormonella preventivmedel som innehåller de kvinnliga könshormonerna östrogen och gestagen (Sitruk-Ware et al., 2013). I Sverige står kombinerade hormonella preventivmedel för ca 45 % av all användning av preventivmedel. Bland kombinerade hormonella preventivmedel ingår även p-plåster och p-ring (Läkemedelsverket, 2014). De kombinerade hormonella preventivmedlen anses högeffektiva, det vill säga att vid rätt användning ger de ett väldigt bra skydd. De hämmar ägglossning och påverkar livmoderhals sekretet och slemhinnan i livmodern så att graviditet förhindras (Sitruk-Ware et al., 2013). Mängden östrogen och gestagen som finns i tablettarna varierar mellan olika tillverkare. De förtärs i 21 eller 24 dagar för att sedan ersättas med ett sockerpiller i sju respektive fyra dagar (FASS, 2016; Läkemedelsverket, 2014).

EE2 är syntetiskt tillverkat och är ett derivat från det naturliga hormonet E2. EE2 och E2 har liknande kemisk struktur (Fig. 1), molekylvikt och Log K_{ow} . Det som skiljer ämnen från varandra är ångtrycket och vattenlösligheten (Tabell 2) (Aris et al., 2014). Skillnader i dessa egenskaper och konfiguration medför att EE2 har runt dubbelt så hög inbindningsgrad till vertebraters ER än E2 (Segner et al., 2003). Bindningsförmågan kan variera mellan olika ryggradsdjursarter exempelvis kan EE2 binda fem gånger starkare till vissa fiskarters ER jämfört med andra (Aris et al., 2014). Skillnaderna gör också EE2 mer motståndskraftig mot biologisk nedbrytning jämfört med E2 (Aris et al., 2014). Laboratorieförsök har visat att halveringstiden för EE2 är 17 dagar i flodvatten medan för E2 är den endast 1,2 dagar. Nedbrytningen av EE2 avstannar nästan helt när flodvattnet är steriliserat, vilket gjort att man dragit slutsatsen att nedbrytningen är beroende av mikroorganismer (Jürgens et al., 2002). Det är dessa skillnader mellan EE2 och E2 som gör att PNEC är lägre för EE2 än E2 (Tabell 1). Därför anses p-piller som innehåller aktiva ämnet E2 mer miljövänligt än p-piller som innehåller EE2.

Tabell 2. De kemiska egenskaperna molekylvikt, vattenlöslighet, ångtryck och Log K_{ow} för EE2 och E2, samt molekylformelen (Aris et al., 2014).

Ämne	Formel	Molekylvikt	Vattenlöslighet (mg/l vid 20 °C)	Ångtryck (mm Hg)	Log K_{ow}
E2	$C_{18}H_{24}O_2$	272.4	13	2.3×10^{-10}	3.94
EE2	$C_{20}H_{24}O_2$	296.4	4.8	4.5×10^{-11}	4.14



Figur 1. Den kemiska strukturen för E2 och EE2, det som skiljer ämnena åt är att EE2 har en etynyl-grupp bundet till sig i 17:de kolet, vilket saknas i E2 (Aris et al. 2014).

1.2 Problematiken

Problemet orsakas av två faktorer, utsöndring och reningsverk. När vi förtär läkemedel används bara en del av den aktiva substansen i kroppen och resten utsöndras. För p-piller med EE2 som aktiv substans utsöndras 40 % av ämnet via urin och galla (Johnson & Williams, 2004). I kroppen konjugeras E2 och EE2 främst till glukuronid och sulfatkonjugat vilket gör dem mer vattenlösliga och inaktiva som hormoner (Jürgens et al., 2002). När avloppsvattnet har tagit sig till reningsverken hittas ämnena dock i sin okonjugerade form. Det antas att mikrobiella processer i avlopp och reningsverkssystem de-konjugerar tillbaka metaboliterna till E2 och EE2 (Jürgens et al., 2002; Johnson & Sumpter, 2001). Reningsverken har ingen process för att rena avloppsvattnet från läkemedel utan främst från kväve och fosfor (Naturvårdsverket, 2016). Det innebär att EE2 och E2 kommer ut i vattendrag (Zorita et al., 2009; Larsson et al., 1999; Ternes et al., 1999;). Studier har detekterat låga koncentrationer (ng/l) av EE2 och E2 nedströms reningsverk i flera länder, inklusive Sverige (Johnson et al., 2005; Larsson et al., 1999; Ternes et al., 1999). Trots att reningsverken inte är konstruerade att rena vattnet från läkemedel så eliminerar de en del EE2 och E2. Reningseffektiviteten för EE2 och E2 varierar mellan olika reningsverk (Tabell 3). Det beror på att reningseffektiviteten påverkas av flera variabler, vilken reningsteknik som används, uppehållstid för vattnet i verket, temperatur, ljusintensitet samt fysiokemiska egenskaperna hos läkemedlet (Cao et al., 2010; Zorita et al., 2009; Johnson et al., 2005).

Tabell 3. Olika studiers reningseffektivitet [%] av ämnena E2 och EE2 i reningsverk.

Reningseffektivitet [%] E2	Reningseffektivitet [%] EE2	Referens
85	87	Baronti et al. (2000)
81,7	85,5	Johnson & Williams (2004)
0 - 90	0 - 90	Johnson & Sumpter (2001)
Höst >99 Sommar 7->99	Höst >99 Sommar 7->99	Nasu et al. (2000)
76	76	Ternes et al. (1999)
Sommar; höst >90 Vinter; vår -50 - -400	Sommar; höst 100 Vinter: vår 74	Yafeng et al. (2012)

Då EE2 används i nästan alla kombinerade p-piller är det ett av de vanligaste använda läkemedel i världen (Aris et al., 2014). Larsson et al. visade redan 1999 att EE2 och E2 existerar i våra svenska vattendrag. Därför är det viktigt att veta hur mycket som hamnar i reningsverk, vilken reningseffektivitet reningsverken har på dessa ämnen, hur höga koncentrationerna är i miljön och om de utgör någon fara för levande organismer.

1.3 Syfte

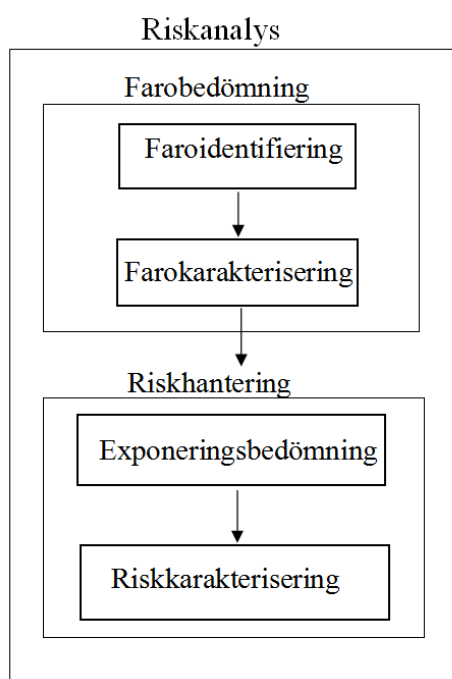
En miljörisikanalys bidrar med kunskap från olika fält som binds samman för att fungera som underlag för beslutsfattare. Riskanalyser är ett bra verktyg som på ett strukturerat och metodiskt sätt tar reda på vilka risker läkemedel och andra miljögifter utgör i vår omgivning (Öberg, 2009). Syftet med studien är därför att med hjälp av en riskanalys jämföra och beskriva de eventuella risker som finns med p-piller som innehåller de aktiva ämnena EE2 eller E2. För att avgöra om E2 utgör en mindre risk än EE2 för akvatiska organismer och om en utfasning och ersättning av p-piller som innehåller EE2 kommer innebära en mindre belastning på miljön. Ett ytterligare syfte är att predicera om EE2 och E2 utgör någon risk i Helge å, som används som modell för svenska vattendrag. Rapporten skulle då kunna fungera som incitament till att fasa ut p-piller bestående av EE2.

Frageställningar:

- Är E2 p-piller mer miljövänliga än EE2 p-piller?
- Går det att minska de negativa effekterna på akvatiska organismer genom att byta ut EE2 p-piller mot E2?
- Utgör E2 och EE2 p-piller en risk i Helge å?

2. Metod och Metodik

Riskanalysen genomfördes efter European Medicines Agency (EMA) riktlinjer för miljöriskbedömningar för läkemedel. Arbetsgången har följt riskanalytisk metod (Öberg, 2009) (Fig. 2).



Figur 2. Illustration av den riskanalytiska metodens arbetsgång, går från faroidentifiering till riskkarakterisering.

2.1 Farobedömning

Först gjordes en farobedömning vars syfte är att ta fram nödvändig bakgrund och fakta. I faroidentifieringen identifieras farorna med EE2 och E2. I

farokarakteriseringen jämförs och beskrivs farorna samt information om recipient och utsläppskälla tas fram. Farobedömningen görs främst med hjälp av en litteraturstudie, farorna med EE2 och E2 är redan välbeskrivna. För att få bakgrunds information om p-piller så gjordes en sökning på Läkemedelsverket och FASS. Farobedömningen i riskanalysen begränsades till direkta effekter av EE2 och E2 på akvatiska organismer, bottenfaunan exkluderades. Indirekta effekter på terrestra ekosystem, i form av effekter på organismer som äter akvatiska organismer till exempel rovfåglar, kom således också exkluderas från studien.

EE2 och E2 bryts ner till metaboliter exempelvis E1 som också har östrogena effekter, men dessa ingår inte i studien. Metabolitprocessen är svår att få med i riskanalysen eftersom PNEC-värdena varierar mellan metaboliterna. För att kunna göra en jämförelse mellan EE2 och E2 har endast E2 bidraget från p-piller tagits med. E2 som utsöndras naturligt från både män och kvinnor har exkluderats från studien.

2.1.1 Fallstudie beskrivning

Utsläppskälla

I Kristianstads kommun finns det flera reningsverk där det största är Centrala reningsverket inne i Kristianstad (Kristianstads kommun, 2015), riskanalysen utgår från att detta är utsläppskällan. Det Centrala reningsverket är dimensionerat för 205 000 person ekvivalenter (pers. kom. Alma Djokovic). Reningsverket utnyttjar dock inte sin fulla kapacitet då den totala belastningen 2015 var 116 000 person ekvivalenter (pers. kom. Alma Djokovic). Det finns flera stora industrier i kommunen till exempel Scan, Skånemejeriet och Absolut Company (Kristianstads kommun, 2015), Deras belastning var 75 700 person ekvivalenter och privatpersoner för 40 300 person ekvivalenter (pers. kom. Alma Djokovic). Det är ca 53 000 privatpersoner inkopplade till reningsverket (Kristianstads kommun, 2015). Det totala flödet genom reningsverket var 2015 ca 8 843 000 m³, medelvärdet på dygnsflödet var ca 25 000 m³/dag men det kan variera mellan ca 45 000 till 15 000 m³/dag under året (pers. kom. Alma Djokovic). Reningsverket använder sig av reningstekniken aktivt slam tillsammans med biologisk nedbrytning. Vattnet släpps sedan ut i Hammarsjön (Kristianstads kommun, 2015; Zorita et al., 2009).

Recipient

Helge å är en av södra Sveriges största åar och har ett avrinningsområde på 4 725 km². Ån är ca 190 km lång och har sin början kring Rydaholm och sjön Femlingen i Kronobergs län, rinner sedan igenom Kristianstad och ut i Hanöbukten. Källvattnet till Helge å rinner genom ett skogslandskap vilket gör ån

relativt sur, humusrik och näringsfattig vilket resulterar i brunifiering. Nedströms vid Torsebro rinner ån genom jordbrukslandskap och då övergår vattnet till att vara mer näringsrikt och basiskt (Helgeåns vattenråd, 2011; Vattenriket Kristianstad, 2016). I Torsebro har vattenföringen mäts varje dag sedan 1 januari 1908, mätpunkten ligger ca 5 km över Hammarsjö (SMHI, 2016).

I december 2000 antogs vattendirektivet, där all vattenplanering och vattenvård i EU regleras. Det skapades för att skydda och bevara Europas vatten genom att arbeta mer samordnat och kraftfullt. Syftet med direktivet är att säkerställa god vatten kvalitet i alla EU länder, både ekologiskt och kemiskt (Länsstyrelsen Skåne, 2016). Hammarsjön och Vramån som är nära utloppet av Helge å ligger precis nedanför Kristianstad. Den kemiska statusen där uppnår inte god kvalitet då kvicksilver och polybromerade difenyletrar (PBDE) koncentrationerna är för höga (VISS Länsstyrelsen, 2016).

2.2 Riskhantering

En exponeringsbedömning utför när man inte har mycket information om läkemedelskonsumtionen och är till för att ge en uppskattning av exponeringen i recipienten genom att använda ett flertal standard värden (EMA, 2006). I Sverige har vi bra statistik om läkemedelskonsumtionen och därför exkluderades exponeringsbedömningen från studien. Riskkaraktiseringen gjordes med hjälp av riskkvoten (RQ) där den förväntade miljökoncentrationen (PEC) divideras med den uppskattade nolleffekt-koncentrationen (PNEC) (Ekvation 4). Alla parametrar i ekvationen fördes in som sannolikhetsfördelningar för att inkludera osäkerheter och naturligvariation i bedömningen. Alla beräkningar och simuleringar gjordes i @Risk. När RQ beräkningen utförs med sannolikhetsfördelningar får man sannolikheten att en händelse kommer inträffa (Öberg, 2009). Om RQ överstiger 1 signalerar det att exponeringen uppnår en oacceptabel risknivå och att åtgärder bör vidtas. En ökad RQ innebär en ökad risk.

2.2.2 Den förväntade miljökoncentrationen (PEC)

PEC räknas fram genom ekvationen:

$$PEC = \frac{U_{lokal} * F_{stp\ vatten}}{Avloppsvatten * Kapacitet * Faktor * Utspädning} \quad (1)$$

Tabell 5. Beskriver parametrarna, förkortningarna och enheterna som används i PEC ekvationen.

Parameter	Förkortning	Enhet
Input		
Mängd avloppsvatten per invånare och dag	Avloppsvatten	[l/invånare * dag]
Kapacitet för reningsverket	Kapacitet	invånare
Fraktion av utsläpps som hamnar i ytvattnet	Fstp vatten	[--]
Utspädningfaktor	Utspädning	[--]
Faktor som tar hänsyn till bindandet till andra material	Faktor	[--]
Lokalt utsläpp till avloppsvatten till den relevanta recipienten	Ulokal	[µg/dag]
Output		
Lokalt ytvatten koncentration	PEC	[µg/l]

Ulokal räknades ut med ekvationen:

$$Ulokal = DDD \text{ Kristianstad} * Dos * Utsöndring \quad (2)$$

Där

$$DDD \text{ Krist.} = ((DDD \text{ Skåne} / Dagar * \text{år}^{-1}) / Inv. \text{Skåne}) * Inv. \text{Krist.} \quad (3)$$

Ulokal räknades inte ut efter EMAs modell, den bygger på att man inte har så mycket information om läkemedelskonsumtionen och innehåller därför flertalet antaganden. Istället användes Ekvation 2 och 3. I Sverige finns det en databas för läkemedelsanvändningen, i form av definierad dygnsdos (DDD). DDD talar om hur många dygns doser som är utskrivna i en viss region eller ett land under 1 år, för p-piller 1 tablett/dygn ger 365 DDD/person och år. DDD används tillsammans med ATC-klassificeringssystemet, ATC-koden talar om vilken mängd aktiv substans läkemedlet innehåller exempel 1 mg. Att använda dessa data förbättrar riskanalysen, därför användes ekvation 2 istället. För att komma så nära det riktiga värdet på *DDD Kristianstad* användes DDD för Skåne och inte DDD för hela Sverige eftersom ett mindre område ger mindre osäkerheter. Antalet *DDD Skåne* (Socialstyrelsen, 2016) sattes som triangulära fördelningar där DDD sattes som mest troliga, minimum och maximum sattes som 15 % under och över detta värde (Bilaga 1). Detta för att lägga till att ibland råkas en tablett glömmas tas, man reser bort och har folk på besök som äter p-piller. Vilket läkemedel som man mest skriver ut kan variera mellan städer/kommuner och det skulle kunna finnas

personer som slutar med p-piller fast de har mer utskrivet. *Dosen* EE2 och E2 i de olika tablettorna gjordes via ATC-koden (FASS). *Invånare i Skåne* (Utveckling Skåne, 2016) sattes som triangulärfördelning ($\pm 15\%$) för att det tillkommer turister främst under sommaren samt att människor reser bort. Till *inv. Kristianstad* användes antalet privatpersoner kopplade till reningsverket. Fördelningen sattes som uniform mellan 40 300 och 54 000 i enhet med siffrorna från Kristianstads kommun (2016) och Alma Djokovic (pers. kom.). Skillnaden mellan värdena skulle kunna bero på att de förbrukar mindre vatten per person eller att det är flera sommarstugor inkopplade, på grund av denna osäkerhet sattes fördelningen som uniform.

Johnson & Williams (2004) utsöndringsmodell av EE2 och E2 användes. Utsöndringen av biogent E2 antogs vara detsamma, eftersom ämnena är så pass lika varandra. *Utsöndrings* fördelning sattes som triangulära, där minimum sattes som 0,01, maximum som 1 och mest troliga som 0,4. Anledningen till det stora intervallet är att det är individuellt hur mycket man utsöndrar och halten varierar var i menscykeln personen befinner sig (Johnson & Williams, 2004).

$F_{stp\ vatten}$ är en omvänd reningseffektivitet (%) i reningsverket, den används för att få reda på hur mycket av ämnet som lämnar reningsverket. $F_{stp\ vatten}$ sattes som triangulär fördelning, maximum 1, mest troligt 0,2 och minimum 0,01

Mängd *avloppsvatten* per person räknades ut genom att göra om vattenflödet, $m^3/dygn$, triangulär fördelning: 15 000, 24 000, 45 000, till antal liter/dygn, som dividerades med antal personer kopplade till reningsverket.

Utspädningen räknades ut genom att hämta *vattenföringen* i Helge å (SMHI, 2016). Mät punkt Torsebro, dagsföringen från 1970-01-01 till 2015-08-19 anpassades till lämplig fördelning. Anledningen till att data inte användes från 1908 är att klimatet och markanvändningen runt ån har ändrats. *Utflöde reningsverk* sattes som triangulär fördelning, där minimum sattes som 15 000 m^3/dag , maximum 45 000 m^3/dag och medelvärdet användes som mest troliga, 24 000 m^3/dag . *Vattenföringen* i Helge å adderades med *utflöde reningsverk*, vilket dividerades med *utflöde reningsverk* för att få utspädningsfaktorn.

Kapaciteten på reningsverket sattes som en triangulär fördelning, där max kapaciteten, 205 000 personekvivalenter, sattes som max och 2015 förbrukning som mest troliga och minimum, 116 000 personekvivalenter.

2.2.3 Den uppskattade nolleffekt-koncentrationen (PNEC)

PNEC-värden för EE2 och E2, togs från EU:s vattendirektiv rekommendationer (Europa Kommissionen, 2015), Environment Agency (2004) och Caldwell et al. (2012), fördelningen sattes som en uniform, mellan värdena som dessa fastställt (Tabell 3).

2.2.4 Riskkvot (RQ)

$$RQ = \frac{PEC}{PNEC} \quad (4)$$

För PEC och PNEC användes deras framräknade sannolikhetsfördelningar. Sedan kördes ekvationen genom en Monte-Carlo simulering med 1000 slumpade värden. RQ togs fram med ekvation 4. Med en Monte-Carlo simulering tar programmet ett slumpstal från varje angivet fördelning och använder dessa slumpstal för att räkna ut ekvationen, det upprepas 1000 gånger för att få en så bra bild som möjligt om hur verkligheten ser ut (Öberg, 2009). Andelen värden över 1 är sannolikheten att EE2 eller E2 utgör en risk i Helge å.

En känslighetsanalys gjordes för både EE2 och E2 RQ-ekvationer för att kunna ta reda på vilka variabler i ekvationen som tillför mest osäkerhet till riskkvoten. Därefter förbättrades reningseffektiviteten för E2. Mer information om denna variabel inhämtades för att förbättra riskanalysen och därmed minska osäkerheterna. Därefter räknades en ny RQ fram.

För att avgöra om E2 utgör en mindre risk för akvatiska organismer i Helge å än EE2, så adderades antalet DDD för EE2. Dessa dividerades med 2 och fördelades lika mellan de två olika E2 p-pillren och därefter gjordes en ny RQ beräkning.

Sverige är med i EU och Helge å ingår i EU:s vattendirektiv, därför gjordes även en RQ beräkning på endast deras rekommendationer.

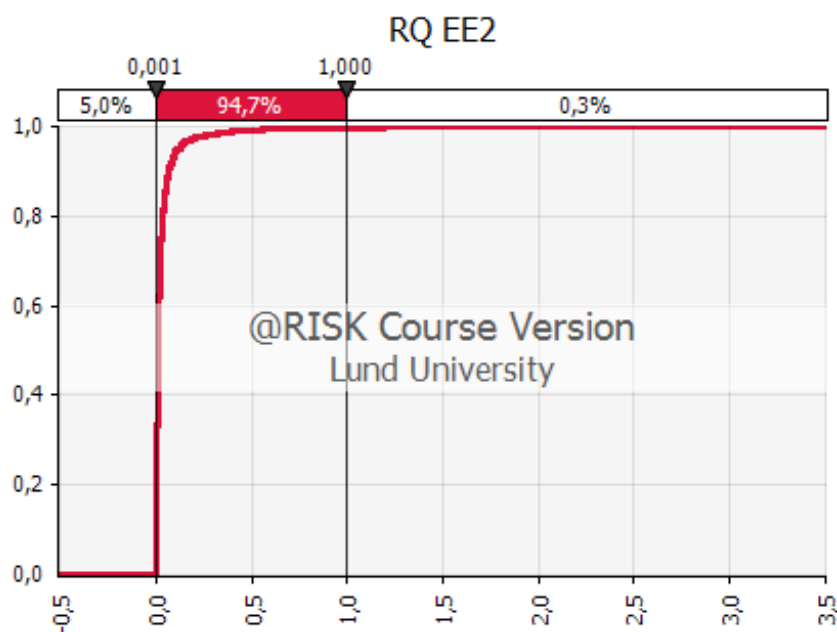
För att ta reda på vad som ett värde måste ändras till för att ämnena ska utgöra en risk så gjordes en Goal seek i @Risk.

3. Resultat

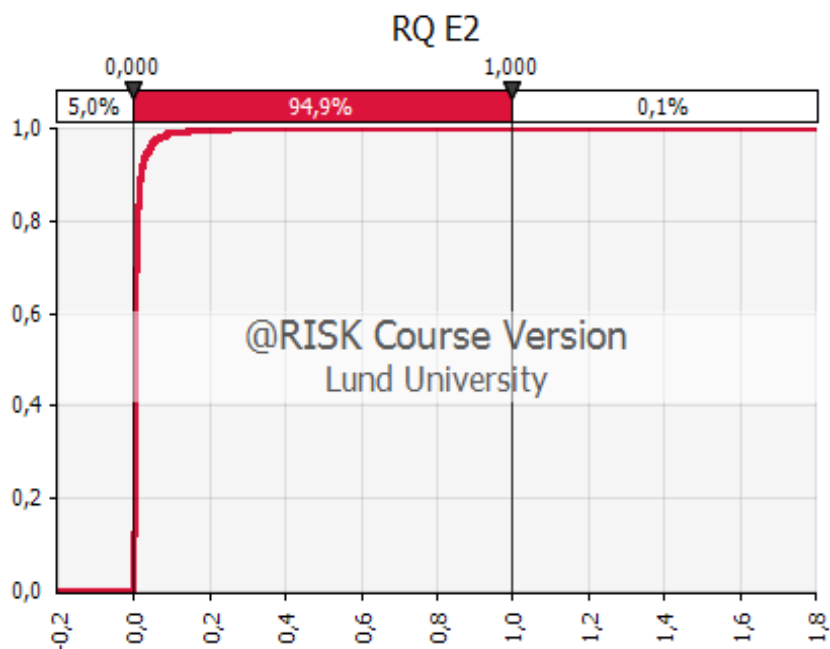
EE2 utgör en minimal risk för Helge å då det mest troliga RQ är 0,012 (Tabell 5), det gör att sannolikheten att RQ överstiger 1 är 0,3 % (Fig. 3). E2 utgör en ännu mindre risk än EE2 med ett RQ på 0,003 (Tabell 5) och sannolikheten att RQ överstiger 1 är 0,1 % (Fig. 4).

Tabell 5. Visar de framräknade PEC, PNEC och RQ i riskanalysen för ämnena EE2, E2 och då EE2 p-pillren är utbyta mot E2.

Ämne	PEC [$\mu\text{g/l}$]	PNEC [$\mu\text{g/l}$]	RQ
EE2	0,0000008	0,0000675	0,0119835
E2	0,0000030	0,0012000	0,0025007
Endast E2	0,0000754	0,0012000	0,0418880

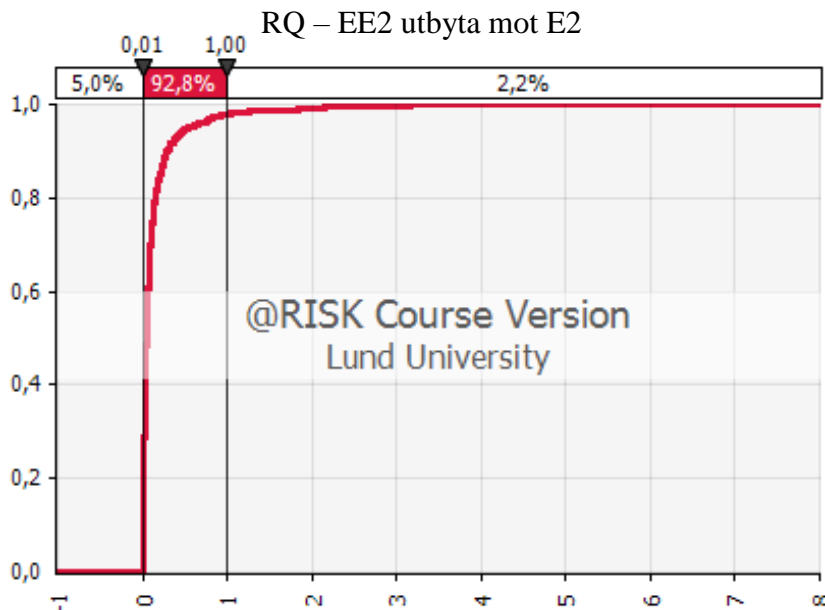


Figur 3. Illustrerar den kumulativa fördelningen av risken för EE2 i Helge å. Sannolikheten att RQ överstiger 1 är 0,3 %, vilket betyder att sannolikheten att EE2 utgör en risk är liten. På y-axeln är enheten procent och på x-axeln avläses värdet på RQ.



Figur 4. Illustrerar den kumulativa fördelningen av RQ för E2. Sannolikheten att RQ överstiger 1 är 0,1 %, vilket betyder att sannolikheten att E2 utgör en risk är liten. På y-axeln är enheten procent och på x-axeln avläses värdet på RQ.

Känslighetsanalysen på EE2 och E2 visade att *vattenföringen* från Helge å hade störst påverkan, därefter kom $F_{stp\ vatten}$ och *utsöndringen* följt av *PNEC*.

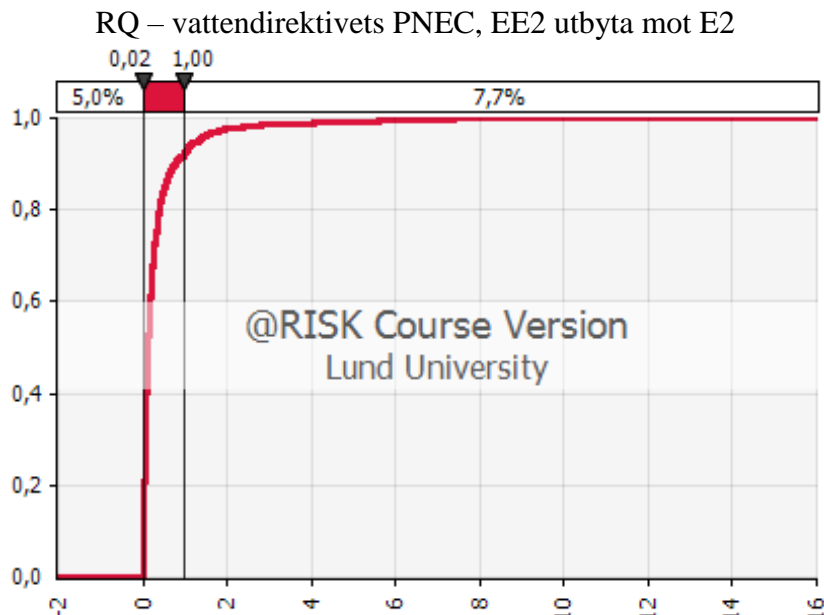


Figur 5. Den kumulativa fördelningen av RQ i Helge å om alla p-piller istället skulle innehålla det biogena E2 som aktivt ämne. Sannolikheten att RQ överstiger 1 är 2,2 %, vilket betyder att sannolikheten att EE2 utgör en risk är liten. På y-axeln är enheten procent och på x-axeln avläses värdet på RQ.

När PNEC sattes till vattendirektivets riktlinjer i riskanalys ökade RQ något för alla tre simuleringar (Tabell 5 och Tabell 6). Sannolikheten att EE2 utgör en risk ökade till 0,6 %, E2 blev oförändrad på 0,1 % och för utbytt EE2 ökade från 2,2 % (Fig. 5) till 7,7 % (Fig. 6).

Tabell 6. Visar den framräknade PEC och RQ värdena för EE2, E2 samt när EE2 p-pillren är utbyta mot E2, då PNEC är satt till vattendirektivets rekommendationer för EE2 och E2.

Ämne	PEC [$\mu\text{g/l}$]	PNEC [$\mu\text{g/l}$]	RQ
EE2	0,0000008	0,0000350	0,0231109
E2	0,0000030	0,0004000	0,0075021
Endast E2	0,0000754	0,0004000	0,1256640



Figur 6. Den kumulativa fördelningen av RQ i Helge å om alla p-piller istället skulle innehålla det biogena E2 som aktivt ämne. Endast EU:s PNEC-värde på 0,4 ng/l i enhet med vattendirektivs rekommendationer användes. Sannolikheten att RQ överstiger 1 är 7,7 %, vilket betyder att sannolikheten att EE2 utgör en risk är liten. På y-axeln är enheten procent och på x-axeln avläses värdet på RQ.

I känslighetsanalysen där alla DDD av EE2 var utbytta till E2 ser man att även här är vattenföringen från Helge å är störst därefter $F_{stp\ vatten}$, $utsöndring$ och utflöde reningsverk.

4. Diskussion

Resultatet från riskanalysen tyder på att varken EE2 eller E2 i dagsläget utgör en risk för Helge å (Tabell 5) till skillnad från Manickum, & John (2014) riskanalys. Eftersom riskanalysen enbart tagit med mängden EE2 från p-piller är den totala mängden EE2 som kommer ut i Helge å högre än det framräknade PEC värdet på $8 \cdot 10^{-4}$ ng/l, då EE2 även finns i p-plåster och p-ringar (Läkemedelsverket, 2016). Manickum, & John (2014) studie gjordes på ett vattendrag med liknade storlek som Helge å men deras PEC-värde låg på 2 ng/l, vilket är betydligt högre än denna studies. Risken för E2 och EE2 i Helge å är förmodligen underskattad i modellen eftersom endast utsläpp från Centrala Reningsverket har tagits med, men det finns flera andra reningsverk som har sina utlopp i Helge å (Kristianstads kommun, 2015). Det sammantagna utsläppet från alla reningsverk skulle möjligtvis kunna utgöra en risk, men för att kunna avgöra det krävs fler beräkningar.

Anledningen till att E2 gav den minsta risken i Helge å (Tabell 5) är att det är betydligt färre som använder p-piller som innehåller biogent E2 än EE2 (Bilaga 1). Att E2 är ett naturligt hormon som bryts ner snabbare än EE2 stämmer överens med Manickum, & John (2014) resultat. Det krävs högre koncentrationer av E2 än EE2 för att orsaka samma negativa effekter hos akvatiska organismer (Metcalf et al., 2001; Routledge et al., 1998). Det gör att hormonet E2 är mer miljövänligt än EE2. Däremot visar studien inte att p-piller bestående av biogent E2 är miljövänligare än de innehållande EE2. Enligt analysen hade EE2 en risk på 0,3 % (Fig. 3) vilket kan jämföras med om alla EE2 p-piller var ersatta med E2 då risken steg till 2,2 % (Fig. 5). Det förstärktes i analysen där endast vattendirektivets PNEC-värden användes. Risken för de ersatta EE2 p-pillren steg upp till 7,7 % (Fig. 6), medan risken för EE2 nästan var oförändrad (0,6 %). Det är den högre mängden E2 i tableterna jämfört med EE2 (FASS, 2016; Läkemedelsverket, 2016) som gör att E2 utgör en större risk för akvatiska organismer än EE2.

Enligt känslighetsanalysen är det vattenföringen i Helge å som påverkar riskanalysen mest, vilket är förväntat då vattenföringen i mätpunkten Torsebro varierar mellan 0-252 m³/s under året (SMHI, 2016). Förändringen beror på naturlig variation och inte på osäkerhet i modellen, därför kan inte denna parameter förbättras. Eftersom vattenföringen är som lägst vid sensommarn är det vid den tidpunkten på året som EE2 och E2 skulle kunna överstiga PNEC-värdena

och utgöra en risk för Helge å, eftersom utspädningen blir som minst. Helge å är Skånes största å (Vattenriket Kristianstad, 2016) och har en större vattenföring jämfört med andra åar i Skåne. Helge å har i och med det den högsta utspädningsfaktorn. Det gör att risken från analysen inte går att generalisera för alla Skånes åar, utan enbart för åar av liknade storlek som har snarlik befolkningensmängd som Kristianstad. Under sommarmånaderna kan backflöde förekomma och havsvatten tränger in i Hammarsjön (Vattenriket Kristianstad, 2016). Det skulle kunna innebära att främst EE2 kan nå väldigt höga koncentrationer, eftersom vattenföringen skulle kunna ta med sig EE2 tillbaka in i ån då halveringstiden är ca 17 dagar i flodvatten (Jürgens et al., 2002). På andra och tredje plats i känslighetsanalysen kom parametrarna *utsöndring* och $F_{stp\ vatten}$. Det råder osäkerhet kring utsöndringen då den är beroende av ålder, var i menscykeln man befinner sig och individen (Johnson & Williams, 2004), därför är denna parameter svår att förbättra. Parametern $F_{stp\ vatten}$ är omvänd reningseffektivitet i reningsverket och kan endast förbättras om man kommer fram till exakt hur bra just Centrala reningsverket är på att rena vattnet från E2 och EE2. För att ta reda på det krävs mätinstrument som kan mäta väldigt låga koncentrationer (ng/l), vilket brukar saknas i reningsverken (Johnson & Williams, 2004). Därför är riskmodeller ett bra hjälpmedel för att en uppfattning om koncentrationer och risker i vattendrag, dock är verkligheten mer komplex än vad som går att få med i modeller.

Resultatet från Goal seek indikerar att EE2 skulle utgöra en risk i Helge å om vattenmängden per person minskade till 250 l/person, trots att utspädningsfaktorn från Helge å är över 110 (Bilaga 2). Den genomsnittliga privatpersonens dagsförbrukning står för ca 160 l/person (Sydvatten, 2016). Det indikerar att mängden EE2 vi konsumerar kan vara tillräckligt hög för att orsaka risk i de flesta vattendrag.

Reningsverket i Kristianstad utnyttjar i dagsläget inte sin fulla kapacitet. Beroende på om det i huvudsak är privatpersoner eller industri som kopplas in i framtiden kan riskanalysen komma att ändras. Om fler industrier kopplas till reningsverket minskar risken, men ska man koppla in fler privatpersoner ökar risken.

E2 används även i hormonell ersättningsterapi (FASS, 2016) vars utsläpp inte tagits med i studien. Koncentrationen av E2 är därför sannolikt högre än vad modellen tog fram, därför skulle E2 potentiellt kunna utgöra en risk för Helge å. E2 bryts ner till E1 vilket också är ett naturligt östrogen som har hormonstörande effekter på organismer, en beräkning är att det tar ca 2 veckor för E2 att förlora sina östrogena effekter (Manickum, & John, 2014; Johnson & Williams, 2004). E1 och dess påverkan har inte tagits i studien, vilket gör att risken för negativa effekter på akvatiska organismer i modellen underskattas. Eftersom Shore and Shemish (2003) kommit fram till att E2 och E1 utgör ca 50 % av östrogenerna

som kommer till reningsverken, men i denna studie står E2 endast för ca 7 % av östrogenerna som kommer till reningsverket.

Nedbrytningen av EE2 är beroende av mikroorganismer (Jürgens et al., 2002), och förmodligen gäller det även för E2. En studie visade att E2-halterna ökade med ca 400 % och EE2 med 50 % jämfört med vad som kom in i reningsverket under vintern (Yafeng et al., 2012). Under vinterhalvåret sjunker temperaturen i Sverige (SMHI, 2016) troligen så pass mycket att aktiviteten hos mikroorganismerna beräknas vara väldigt låga alternativt avstanna helt i perioder. Detta kan leda till att det under vinter tid kan vara höga halter av östrogenerna i Helge å, främst EE2 som har en betydligt längre halveringstid än E2 (Jürgens et al., 2002). Detta är inte inräknat i modellen. Det är även under denna period som flödet och utspädningsfaktorn i Helge å är som störst, men det är inte självklart att det räcker för att reducera risken. Vilket även Manickum, & John (2014) diskuterar i deras studie.

Slutet av Helge å är väldigt näringsrikt då den rinner genom jordbruksmark (Helgeåns vattenråd, 2011; Vattenriket Kristianstad, 2016). Nedbrytningen av EE2 och E2 skulle därför kunna antas vara snabbare då mikroorganismerna kan öka till en större population (Walker et al., 2012). Det skulle betyda att risken för EE2 och E2 skulle minska. Samtidigt går det också att argumentera för motsatsen. Nedbrytningen går saktare högre upp där ån är näringsfattig och sur och den skulle därför skulle kunna föra med sig höga koncentrationer av främst EE2 på grund av den längre halveringstiden, men även E2, nedströms. Eftersom nedbrytningen av E2 och EE2 troligtvis är beroende av mikroorganismer (Jürgens et al., 2002).

Riskerna med att använda p-piller är att fiskar blir tvåkönade, får förändrat genuttryck, förhöjda nivåer av vtg och beteendeförändringar (Saaristo et al., 2010; Lange et al., 2008; Schubert et al., 2008; Liney et al., 2005). Detta leder sannolikt till att fiskpopulation kollapsar och försvinner (Kidd et al. 2007). Det skulle leda till en samhällsekonomisk förlust, inte bra i form av förlust av biologisk mångfald utan även förluster i form av rekreation och fiskenäringen.

Helge å uppfyller inte god kemisk status då kvicksilver och PBDE koncentrationerna är för höga (VISS länsstyrelsen, 2016). Det skulle kunna ge upphov till cocktail effekter, då kvicksilver är giftigt för djur och miljö. Kvicksilver är farligast i formen metylkvicksilver som bioackumuleras i näringskedjan (Naturvårdsverket, 2016a). Om EE2 fungerar som en antagonist till AhR hos fiskar som Gräns et al. (2010) föreslår har fiskarna nedsatt P450 funktion och svårare att metabolisera organiska miljögifter, som metylkvicksilver. Därför skulle man kanske kunna se effekter av kvicksilvret i fiskarna vid lägre koncentrationer än normalt. EE2 fungerar då som synergist till metylkvicksilver. Det vill säga att effekterna av EE2 och metylkvicksilver blir giftigare än när man adderar effekterna var för sig.

Läkemedelsanvändningen och utsläpp av dessa via reningsverk ökar (Lishman et al., 2006), vilket förhöjer risken att cocktaileffekter uppstår. Det är därför viktigt att vi följer de gränsvärden och rekommendationer som EU beslutar om för att minimera risken att oönskade cocktaileffekter uppstår. Östrogener i vattendrag existerar på alla kontinenter (Manickum, & John, 2014; Yafeng et al., 2012; Schubert et al., 2008; Liney et al., 2005; Ternes et al., 1999; Routledge et al., 1998). Mängden vi utsöndrar naturligt kan vi inte göra något åt, men vi kan påverka den extra mängd E2 och EE2 som kommer till våra vattendrag från preventivmedel. För att motverka att effekterna och riskerna av E2 och EE2 för fiskar blir för höga skulle man kunna använda sig av hormonfria preventivmedel istället för de traditionella preventivmedlen bestående av hormoner. På detta sätt jobbar man förebyggande mot miljöproblemet med östrogener i vattendrag, vilket oftast är den mest kostnadseffektiva lösningen på problem (Brorson & Almgren, 2014). Då problemet även orsakas av att reningsverken inte konstruerade för att rena avloppsvattnet från läkemedel (Naturvårdsverket, 2016). Skulle en annan lösning vara att bygga om reningsverken. De skulle byggas om så att de renar vattnet från alla läkemedelsrester. Det skulle medföra minimal mänsklig påverkan på vattendragen och risken för cocktail effekter skulle reduceras. Det är en åtgärdslösning vilket är dyrare än de förebyggande åtgärderna (Brorson & Almgren, 2014).

5. Slutsats

I denna studie har det inte gått att påvisa att biogena E2 p-piller är miljövänligare än p-piller med EE2, trots dess marknadsföring. Resultatet indikerar snarare att EE2 skulle vara mer miljövänligt på grund av den lägre risk jämfört med samma mängd E2. Det beror på att halterna av E2 (1-3mg) är så pass mycket högre än i EE2 (20-30 μ) i tablettorna. För att vara säker på att preventivmedel inte orsakar negativa effekter i miljön kan en lösning vara att fokusera på hormonfria preventivmedel. Det skulle vara den mest kostnadseffektiva lösningen på problemet med östrogener i vattendrag. Det andra alternativet är att bygga om reningsverken så att de inte bara renar vattnet från kväve och fosfor utan även från läkemedelsrester, det är dock ett betydligt dyrare alternativ.

6. Tack

Jag skulle vilja tacka min handledare Lina Nikoleris för hjälp och goda råd. Tack även till Alma Djokovic på C4-teknik som gav mig bra och exakta värden till riskanalysen.

REFERENSER

- Alma Djokovic. C4-teknik. Personlig kommunikation. 2016-04-11.
- Aris, A. Z., Shamsuddin, A. S., Praveena, S. M. 2014. Review: Occurrence of 17 α -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. *Environment International*. 69, pp. 104–119.
- Baronti, C., Curini, R., G. D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., Samperi, R., 2000. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. *Environmental Science & Technology*. 34, pp. 5059–5066.
- Bayley, M., Nielsen, J. R., Baatrup, E. 1999. Guppy sexual behavior as an effect biomarker of estrogen mimics. *Ecotoxicology and environmental safety*. 43(1), pp. 68–73.
- Bjerselius, R., Lundstedt-Enkel, K., Olsén, H., Mayer, I., Dimberg, K. 2001. Male goldfish reproductive behaviour and physiology are severely affected by exogenous exposure to 17 β -estradiol. *Aquatic toxicology*. 53(2), pp. 139–152.
- Brorson, T. & Almgren, R. 2014. ISO 14001 för små och medelstora företag. Utgåva 5. SIS Förlag AB. Stockholm.
- Caldwell, D. J., Mastrocco, F., Anderson, P. D., Lange, R., Sumpter, J. P. 2012. Predicted-no-effect concentrations for the steroid estrogens estrone, 17 beta-estradiol, estriol, and 17 alpha-ethinylestradiol. *Environmental toxicology and chemistry*. 31(6), pp. 1396–1406.
- Cao, J. L., Shi, J. H., Han, R., Li, Y. X., Yang, Z. F. 2010. Seasonal variations in the occurrence and distribution of estrogens and pharmaceuticals in the Zhangweinyun River System. *Chinese Science Bulletin*. 55, pp. 3138–3144.
- Environment Agency. 2004. Proposed Predicted-No-Effect-Concentrations (PNECs) for natural and synthetic steroid oestrogens in Surface Waters. P2-T04/1. R&D Technical Report, Bristol, UK.
- Europa Kommissionen. 2015. [http://europa.eu/rapid/press-release_IP-12-88_sv.htm]. Hämtad 2016-04-18.
- FASS. 2016. [<http://www.fass.se/LIF/startpage>]. Hämtad 2016-04-18.
- Gräns, J., Wassmur, B., Celander, M. C. 2010. One-way inhibiting cross-talk between arylhydrocarbon receptor (AhR) and estrogen receptor (ER) signaling in primary cultures of rainbow trout hepatocytes. *Aquatic Toxicology*. 100(3), pp. 263–270.
- Hallgren, P., Nicolle, A., Hansson, L-A., Brönmark, C., Nikoleris, L., Hyder, M., Persson, A. 2014. Synthetic estrogen directly affects fish biomass and may indirectly disrupt aquatic food webs. *Environmental toxicology and chemistry*. 33(4), pp. 930–936.
- Harris, C. A., Hamilton, P. B., Runnalls, T. J., Vinciotti, V., Henshaw, A., Hodgson, D., Coe, T. S., Jobling, S., Tyler, C. R., Sumpter, J. P. 2011. The consequences of feminization in breeding groups of wild fish. *Environmental Health Perspectives*. 119(3), pp. 306–311.
- Helgeåns Vattenråd. 2011. Utredning om bildande av Helgeånsvattenråd. Naturvårdsinjengörernas AB. [http://helgean.se/?page_id=70]. Hämtad 2016-04-13.

- Hirakawa, I., Miyagawa, S., Katsu, Y., Kagami, Y., Tatarazako, N., Kobayashi, T., Kusano, T., Mizutani, Y., Ogino, Y., Takeuchi, T., Ohta, Y., Iguchi, T. 2012. Gene expression profiles in the testis associated with testis-ova in adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 α -ethynylestradiol. *Chemosphere*. 87, pp. 668–674.
- Jobling, S., Coey, S., Whitmore, J. G., Kime, D. E., Van Look, K. J., McAllister B. G. 2002. Wild intersex roach have reduced fertility. *Biology of Reproduction*. 67 pp. 515–24.
- Johnson, A.C. & Sumpter, J. P. 2001. Removal of endocrine-disrupting chemicals in activated sludge treatment works. *Environmental Science & Technology*. 35, pp. 4697–703.
- Johnson, A. C. & Williams, R. J. 2004. A model to estimate influent and effluent concentrations of estradiol, estrone, and ethinylestradiol at sewage treatment works. *Environmental Science & Technology*. 38, pp. 3649–3658.
- Jürgens, M. D., Holthaus, K. I. E., Johnson, A. C., Smith, J. J. L., Hetheridge, M., Williams, R. J. 2002. The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in English rivers. *Environmental toxicology and chemistry*. 21, pp. 480–488.
- Lange, A., Katsu, Y., Ichikawa, R., Paull, G. C., Chidgey, L. L., Coe, T. S., Iguchi, T., Tyler, C. R. 2008. Altered Sexual Development in Roach (*Rutilus rutilus*) Exposed to environmental concentrations of the pharmaceutical 17 α -ethinylestradiol and associated expression dynamics of aromatases and estrogen receptors. *Toxicological Sciences*. 106(1), pp. 113–123.
- Larsson, D. G. J., Adolfsson-Erici, M., Parkkonen, J., Pettersson, M., Berg, A. H., Olsson, P. -E., Förlin, L. 1999. Ethinylestradiol — an undesired fish contraceptive? *Aquatic Toxicology*. 45(2–3), pp. 91–97.
- Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., Flick, R. W. 2007. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*. 104 21, pp. 8897–8901.
- Liney, K. E., Jobling, S., Shears, J. A., Simpson, P., Tyler, C. R. 2005. Assessing the Sensitivity of Different Life Stages for Sexual Disruption in Roach (*Rutilus rutilus*) Exposed to Effluents from Wastewater Treatment Works. *Environmental Health Perspectives*. 113(10), pp. 1299-1307.
- Lishman, L., Smyth, S. A., Sarafin, K., Kleywegt, S., Toito, J., Peart, T., Lee, B., Servos, M., Beland, M., Seto, P. 2006. Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada. *Science of the Total Environment*. 367(2-3), pp. 544-558.
- Kristensen, T., Baatrup, E., Bayley, M. 2005. 17 α -ethinylestradiol reduces the competitive reproductive fitness of the male guppy (*Poecilia reticulata*). *Biology of reproduction*. 72(1), pp. 150–156.
- Kristianstad kommun. 2015. Slam bli till bränsle. [<http://www.kristianstad.se/sv/Kristianstads-kommun/Miljo-klimat/Biogas/Produktion-av-biogas/Biogas-fran-reningsverket/>]. Hämtad 2016-04-20.

- Läkemedelsverket. 2000. DDD - en mätenhet för studier av läkemedelsanvändning. [<https://lakemedelsverket.se/Alla-nyheter/NYHETER---2000/DDD---en-matenhet-for-studier-av-lakemedelsanvandning/>]. Hämtad 2016-04-18.
- Läkemedelsverket. 2014. Information från Läkemedelsverket. Årgång 25. Nr 2. [lakemedelsverket/2014/Information_fran_Lakemedelsverket_nr_2_2014.pdf] Hämtad 2016-04-14.
- Länsstyrelsen Skåne. 2016. Vattendirektivet och den nya vattenförvaltningen. [http://www.lansstyrelsen.se/skane/Sv/miljo-och-klimat/vatten_och/vattenanvandning/vattenforvaltning/Pages/index.aspx]. Hämtad 2016-04-13.
- Manickum, T. & John, W. 2014. Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disrupting compounds at the wastewater treatment works in Pietermaritzburg (South Africa). *Science of the Total Environment*. 468–469, pp. 584–597.
- Nasu, M., Goto, M., Kato, H., Oshima, Y., Tanaka, H. 2000. Study on endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants. *Water science and technology*. 43(2), pp. 101–108.
- Naturvårdsverket. 2016. Rening av avloppsvatten i Sverige, Avloppsvatten. ISBN 978-91-620-8629-9.
- Naturvårdsverket. 2016a. Fakta om Kvicksilver. [<http://www.naturvardsverket.se/Sa-mar-miljon/Manniska/Miljogifter/Metaller/Kvicksilver-Hg/>]. Hämtad 2016-05-16.
- NE. 2016. Receptor. Arne Melander. [<http://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/lang/receptor>]. Hämtad 2016-04-19.
- Nikoleris, L., Hultin, C. L., Hallgren, P., Hansson, M. C. 2016. 17 α -ethinylestradiol (EE2) treatment of wild roach (*Rutilus rutilus*) during early-life development disrupts expression of genes directly involved in the feedback cycle of estrogen. *Comparative biochemistry and physiology, part C*. 180, pp. 56-64.
- Purdom, C. E., Hardiman, P. A., Bye, V. J., Eno, N. C., Tyler, C. R., Sumpter, J. P. 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Journal of Chemical Ecology*. 8, pp. 275–285.
- Routledge, E. J., Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G. C., Waldock, M., Sumpter, J. P. 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluents. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environmental Science & Technology*. 32, pp. 1559–1565.
- Saaristo, M., Craft, J. A., Lehtonen, K. K., Lindström, K. 2010. Exposure to 17 α -ethinyl estradiol impairs courtship and aggressive behaviour of male sand gobies (*Pomatoschistus minutus*). *Chemosphere* 79, pp. 541–546.
- Schubert, S., Peter, A., Burki, R., Schönenberger, R., Suter, M. J. -F., Segner, H., Burkhardt, Holm, P. 2008. Sensitivity of brown trout reproduction to long-term estrogenic exposure. *Aquatic Toxicology* 90, pp. 65–72.
- Segner, H., Navas, J. M., Schäfers, C., Wenzel, A. 2003. Potencies of estrogenic compounds in in vitro screening assays and in life cycle tests with zebrafish in vivo. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 54, pp. 315–322.
- Shore, L. S. & Shemish, M. 2003. Naturally produced steroid hormones and their release into the environment. *Pure Appl Chem*, 75, pp. 1859–1871.

- Sitruk-Ware, R., Anita Nath, A., Mishell Jr, D. R. 2013. Review: Contraception technology: past, present and future. *Contraception*. 87, pp. 319–330.
- SMHI. 2016. Vattenwebb. [<http://vattenwebb.smhi.se/station/>]. Hämtad 2016-04-25.
- Socialstyrelsen. 2016. [<http://www.socialstyrelsen.se/statistik/statistikdatabas/lakemedel>]. Hämtad 2016-04-18.
- Sumpter, J. P. & Jobling, S. 1995. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environmental Toxicology & Chemistry*. 21, pp. 1692–1698.
- Sydvatten. 2016. Vattenförbrukning. [<http://sydvatten.se/vattenforbrukning/>] Hämtad 2016-05-23.
- Ternes, T. A., Stumpf, M., Mueller, J., Haberer, K., Wilken, R. -D., Servos, M. 1999. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants—I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Science of the Total Environment*. 225, pp. 81–90.
- Utveckling Skåne. 2016. Hur går det i Skåne. Befolkning. [<http://utveckling.skane.se/digitala-rapporter/huga/befolkning/>]. Hämtad 2016-04-19.
- Vattenriket Kristianstad. 2016. Helge å. [<http://www.vattenriket.kristianstad.se/helgea/helgea.php>]. Hämtad 2016-04-13.
- VISS Länsstyrelsen. 2016. Helge å: Vramsån - Hammarsjön. [<http://www.viss.lansstyrelsen.se/Waters.aspx?waterEUID=SE620276-140087>]. Hämtad 2016-04-14.
- Walker, C. H., Sibly, R. M., Hopkin, S. P., Peakall, D. B. 2012. Principles of ecotoxicology. Fourth edition. CRC Press. Boca Raton.
- Yafeng, N., Zhimin, Q., Heqing, Z., Weiwei, B. 2012. Fate and seasonal variation of endocrine-disrupting chemicals in a sewage treatment plant with A/A/O process. *Technology for Sustainable Water Environment, Separation and Purification Technology*. 84, pp. 9–15.
- Zorita S., Mårtensson, L., Mathiasson L. 2009. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Science of the Total Environment*. 407, pp. 2760–2770.
- Öberg, T. 2009. Miljöriskanalis. Studentlitteratur AB. Lund.

Bilaga 1

Tabell 7. Innehåller ämnena och deras ATC-kod, hur många DDD som är utskrivna i Skåne samt hur stor dos tablettarna innehåller av den aktiva substansen, antingen EE2 eller E2. I riskanalysen sattes DDD Skåne som triangulära fördelningar, där det i tabellen är det mest troliga och sedan sattes minimum och maximum 15 % över och under detta värde.

ATC-kod	Ämnen	DDD Skåne	µg/tablett
G03AA05	Noretisteron och etinylestradiol	550 032	35
G03AA07	Levonorgestrel och etinylestradiol	6 306 860	30
G03AA09	Desogestrel och etinylestradiol	398 160	20
G03AA11	Norgestimat och etinylestradiol	1 339 968	35
G03AA12	Drospirenon och etinylestradiol	3 011 428	30
G03AB03	Levonorgestrel och etinylestradiol	869 652	30
G03AB04	Noretisteron och etinylestradiol	398 468	35
G03AA14	Nomegestrol och estradiol	569 352	1500
G03AB08	Dienogest och estradiol	364 476	1000-3000

Bilaga 2

Tabell 8. Variablerna som användes i riskanalysen, vilken fördelning och vilka värden varje variabel hade. *Summan av DDD för EE2 och E2 (Bilaga 1). ** Är medelvärdet av fördelningen på variabeln, har räknats ut med fördelningar.

Parameter	Fördelning	Värden	Referens
Vattenföring [m ³ /s]	Gamma	0; 36,5; 252	SMHI, 2016
Dagar/år	Triangulär	365; 365; 366	
Inv. Skåne	Triangulär	1107777; 1303627; 149857	Regionfakta Skåne, 2016
Inv. Kristianstad	Uniform	40300; 54000	Kristianstad, 2015; pers. kom. Alma Djokovic
DDD EE2	Triangulär	14247283*	Socialstyrelsen, 2016
DDD E2	Triangulär	933828*	Socialstyrelsen, 2016
Utsöndring	Triangulär	0,01; 0,4; 1	Johnson & Williams, 2004
Kapacitet STP	Triangulär	115000; 1160001; 205000	Pers. kom. Alma Djokovic
Avloppsvatten [l/dag]	Triangulär	15000000; 24000000; 45000000	Pers. kom. Alma Djokovic
Utflyde reningsverk [m/s]	Triangulär	0,32407**	Pers. kom. Alma Djokovic
Fstp vatten	Triangulär	0; 0,2; 1	Omvänd reningseffektivitet [%]
Utspädning		113,781**	Pers. kom. Alma Djokovic; SMHI, 2006
Avlopp [l/pers.]		593,849**	Pers. kom. Alma Djokovic
PNEC EE2	Uniform	0,000035; 0,0001	Europa Kommissionen, 2015; Environment Agency, 2004; Caldwell et al., 2012
PNEC EE2 WFD	--	0,000035	Europa Kommissionen, 2015
PNEC E2	Uniform	0,0004; 0,002	Europa Kommissionen, 2015; Environment Agency, 2004; Caldwell et al., 2012
PNEC E2 WFD	--	0,0004	Europa Kommissionen, 2015



LUNDS
UNIVERSITET

WWW.CEC.LU.SE
WWW.LU.SE

Lunds universitet

Miljövetenskaplig utbildning
Centrum för miljö- och
klimatforskning
Ekologihuset
223 62 Lund