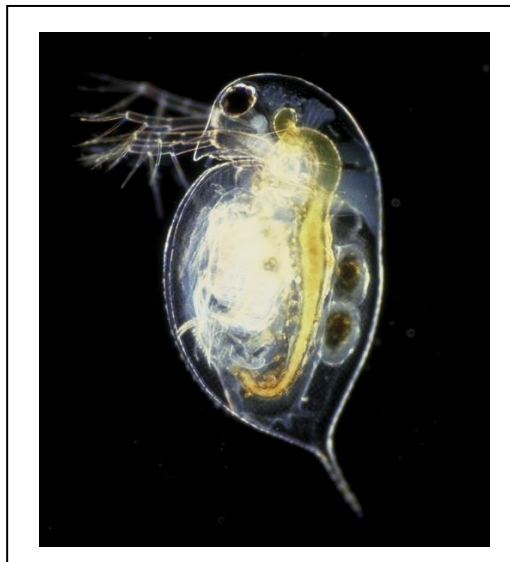




Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

# Ivermektins påverkan på organismer i vatten och sediment

*Frans Grape Engström*



---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2010: 23

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2010

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## Ivermektins påverkan på organismer i vatten och sediment

The effect of ivermectin on organisms in water and sediment

*Frans Grape Engström*

**Handledare:**

Gunnar Carlsson, Erik Ullerås & Stefan Örn, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, avd. för patologi, farmakologi och toxikologi

**Examinator:**

Désirée S. Jansson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** VM0068

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2010

**Omslagsbild:** Paul Hebert, *Daphnia pulex*, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.0030219>

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2010: 23  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** ivermectin, akut toxicitet, kronisk toxicitet, akvatiska miljöer, sediment, *D. magna*

**Key words:** ivermectin, acute toxicity, chronic toxicity, aquatic environments, sediment, *D. magna*

# INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<b>SAMMANFATTNING</b>	<b>1</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>2</b>
<b>ORDFÖRKLARINGAR</b>	<b>3</b>
<b>INLEDNING</b>	<b>3</b>
<b>BAKGRUND</b>	<b>4</b>
IVERMEKTIN	4
KEMISK-FYSIKALISKA EGENSKAPER HOS IVERMEKTIN	4
TOXICITET FÖR JORD- OCH FAECESLEVANDE ARTER	4
<b>MATERIAL OCH METODER</b>	<b>5</b>
<b>LITTERATURÖVERSIKT</b>	<b>5</b>
AKUT TOXICITET PÅ VATTENLEVANDE DJUR	5
KRONISK TOXICITET PÅ VATTENLEVANDE DJUR	5
AKKUMULERING AV IVERMEKTIN I SEDIMENT	6
AKUT TOXICITET PÅ SEDIMENTLEVANDE DJUR	7
KRONISK TOXICITET PÅ SEDIMENTLEVANDE DJUR	7
UPPMÄTTA HALTER I MILJÖN	8
<b>DISKUSSION</b>	<b>9</b>
ÄR <i>DAPHNIA MAGNA</i> SÄRSKILT KÄNSLIG FÖR IVERMEKTIN?	9
ÄR SEDIMENTLEVANDE ARTER I RISKZONEN?	9
HALTER I SVENSKA VATTEN	10
TOXICITETSSTUDIER KONTRA UPPMÄTTA HALTER	10
VATTENLEVANDE ARTER	11
SEDIMENTLEVANDE ARTER	11
SPRIDNING TILL AKVATISKA MILJÖER	11
SLUTSATSER	12
TACK TILL:	12
<b>LITTERATURFÖRTECKNING</b>	<b>12</b>

## **SAMMANFATTNING**

Endektociden ivermektin används i stor omfattning inom veterinärmedicinen. Läkemedlet metaboliseras i låg grad och kommer ut som verksamt ämne i faeces och utövar sina effekter på andra än målorganismerna, bl.a. faeceslevande arter. Eftersom vissa vattenlevande organismer uppvisar en särskild känslighet kommer denna litteraturstudie att fokusera på ivermektins toxicitet på organismer i akvatisk miljö och huruvida dessa kan vara i fara i svenska vatten.

*Daphnia magna* är den art som visat sig känsligast och effekter har setts på nivåer så låga som 0,001 ng/l. Ivermektin verkar vara särskilt toxiskt för cladoceraner, den ordning som *D. magna* tillhör. Om läkemedlet hamnar i vatten tas det snabbt upp i sediment och kvarstår där i både fri och bunden form i relativt lång tid. Känsligheten hos sedimentlevande organismer varierar, men för vissa är läkemedlet mycket toxiskt.

De mätningar som gjorts i Sverige har inte varit adekvata för substansen ivermektin och det går inte att bortse från att halterna i svenska akvatiska miljöer kan vara toxiska för dess fauna. Noggrannare mätningar bör göras i svenska vatten och fler studier på organismer som kan tänkas utsättas för rester av ivermektin.

## SUMMARY

The endectocide ivermectin is a widely used pharmaceutical within veterinary medicine. It is metabolized to a low extent and is excreted in the feces as an active substance. There it can exert its effects on others than the target-organisms, e.g. dung-dwelling species. This literature review will focus on the effect ivermectin has on organisms in aquatic environments since some of these have exhibited a particularly high sensitivity towards the substance. It will also investigate whether or not the pharmaceutical has been detected in Swedish waters and, if so, if these levels pose a threat to aquatic organisms.

*Daphnia magna* is the species that has so far been shown to be the most sensitive with signs of effects on concentrations as low as 0.001 ng/l. The order cladocerans, to which *D. magna* belongs, seems to be especially sensitive to ivermectin. If the substance ends up in water it rapidly sorbs to sediment and can persist there for a long time, both as free and as bound substance. The toxicity towards sediment-dwelling organisms varies but for some it is highly toxic.

The investigations conducted in Sweden were not appropriate for ivermectin and one cannot disregard that the pharmaceutical could exist at levels toxic for organisms in water and sediment. New investigations optimized for ivermectin ought to be done in Swedish waters and more toxicological studies on organisms that might be exposed to ivermectin.

## ORDFÖRKLARINGAR

Cladoceraner = små kräftdjur, även kallade vattenloppor

DT<sub>50</sub> = anger tiden då 50% av en substans försvunnit från ett medium

K<sub>oc</sub> = ett ämnes benägenhet att binda till organiska partiklar

LC<sub>50</sub> = den koncentration av ämnet som dödar 50% av organismerna

LOEC = Lowest Observed Effect Concentration, den lägsta koncentration där en effekt observerats. Vilken effekt man syftar på beror på testet.

LOQ = "limit of quantification", en analysmetods lägsta kvantifierbara nivå

NOEC = No observed Effect Concentration, den högsta koncentration där ingen effekt observerats. Vilken effekt man syftar på beror på testet.

Nominell koncentration = en uträknad koncentration som fås genom t.ex. spädning. Den uppmätta koncentrationen kan vara högre eller lägre än den nominella.

## INLEDNING

Ivermektin är ett flitigt använt antiparasitärt medel på våra husdjur och ämnets höga effektivitet mot både endo- och ektoparasiter samt dess låga toxicitet för däggdjur har bidragit till läkemedlets framgång sedan det lanserades 1981. Ivermektin används även i stor utsträckning inom humanmedicinen för att bota onchocerciasis, även kallat "river blindness", en vanligt förekommande parasitsjukdom i tropiska områden (Omura, 2008).

Några år efter lanserandet uppmärksammades vissa negativa effekter med substansen ivermektin. Studier visade att den genomgick en låg grad av metabolism och passerade ut som verksam substans i avföringen och halterna i faeces var toxiska för vissa leddjur som levde i faeces. Substansen verkade alltså inte uteslutande på parasiterande rundmaskar och leddjur, utan även på andra arter förekommande i miljön (Omura, 2008).

Eftersom dessa negativa effekter observerats genomgick ivermektin ett antal toxikologiska tester. Olika arter testades och något anmärkningsvärt var den extremt höga toxiciteten hos ett vattenlevande djur, *Daphnia magna*, en hinnkräfta inom ordningen cladoceraner. Detta väckte mitt intresse och jag ställde mig frågan om andra vattenlevande arter uppvisade samma känslighet mot ivermektin. Med tanke på ivermektinets höga affinitet till organiska partiklar kan man också fråga sig hur läkemedlet påverkar arter som lever i sediment, något som innehåller mycket organiskt material. Har mätningar gjorts i svenska vatten, och hur höga är halterna i så fall?

Det här självständiga arbetet kommer alltså att riktas in på olika arter i vatten- och sedimentmiljö som liknar endektocidens målorganismer och som kan tänkas drabbas av skador ifall ivermektin hamnar i akvatiska miljöer. Det kommer också att ta upp eventuella uppmätta halter i miljön och jämföra dessa med undersökta toxicitetstester.

## **Bakgrund**

### ***Ivermektin***

Ivermektin är en endektocid tillhörande de makrocycliska laktonerna. Substansen är verksamt mot många av de parasiter som besvärar våra husdjur, bl.a. nematoder, kvalster och löss (FASS, 2010). Läkemedlet är ett semisyntetiskt derivat av avermektin, en fermentationsprodukt som produceras av bakterien *Streptomyces avermitilis*. Effekterna kommer sig av att ivermektin binder till jonkanaler, som normalt binder glutamat och  $\gamma$ -aminosmörtsyra (GABA) hos parasiten och potentierar effekten av dessa. Resultatet blir hyperpolarisering av neuroner som leder till paralytisk och slutligen död hos parasiten. Ivermektin används till nötkreatur, ren, svin, häst och får och finns i ett antal olika beredningar (Pour-on, injektionsvätska, oral gel, tabletter o.s.v.) (FASS, 2010).

Ivermektin metaboliseras i liten grad hos det behandlade djuret och passerar ut nästan uteslutande i faeces. Halten av ometaboliserad och således verksamt substans beror på bl.a. djurslag, administreringsätt och individ. Andelen av den ursprungliga dosen i faeces vid subkutan injektion har uppmätts till 62% hos nötkreatur, 30% hos gris och 90% hos häst (González Canga *et al.*, 2009). Herd *et al.* (1996) behandlade nötkreatur med subkutan injektion, topikalt och med intraruminala långverkande inlägg. Nivåerna i faeces vid subkutan injektion nådde sin maxkoncentration på 0,2 mg/kg efter 3 dagar. Vid topikal administrering nåddes maxkoncentrationer på 2,8 mg/kg efter 2 dagar, och vid behandling med inlägg nåddes en koncentration av 0,5 mg/kg efter 24 dagar.

### ***Kemisk-fysikaliska egenskaper hos ivermektin***

Ett ämnes kemisk-fysikaliska egenskaper är viktiga att ha kunskap om när det gäller potentiell ekotoxicitet. Ivermektin är en hydrofob substans med en låg vattenlöslighet på 4 mg/l. Substansen har även visat sig ha en hög  $K_{oc}$  på mellan 12600 – 15700, vilket betyder att den binder hårt till organiska partiklar (Hellström & Kreuger, 2005). Ivermektin har tidigare rapporterats vara känslig för solljus då det bryts ned genom fotolys. Halley *et al.* (1989) rapporterade en halveringstid i vatten på <0,5 dagar p.g.a. fotolys. I jord och faeces har siffran för halveringstid varierat mellan veckor till månader beroende på faktorer som solljus, aerob/anaerob miljö och temperatur. De metaboliter som man identifierat har visat sig vara avsevärt mindre toxiska för testade arter.

### ***Toxicitet för jord- och faeceslevande arter***

Det har gjorts många studier som visar på ivermektins toxicitet för leddjur som lever i faeces och jord. Sammantaget kan sägas att känsligheten för ivermektin varierar mellan arter och livsstadie, men det finns indikationer på att faeces från behandlade djur är toxiskt för många leddjur som har hela eller delar av sin livscykel i dyngan, speciellt larvstadiet. Detta påverkar också nedbrytningen av faeces genom att denna förlängs och det finns risker för att odlingsbara marker eller betesmarker kan förlora sitt värde (Edwards *et al.*, 2001).



## MATERIAL OCH METODER

Jag har använt mig av databaser för att hitta information kring ämnet, fr.a. *Web of knowledge* och *PubMed*. Sökord som använts innefattar: ivermectin, veterinary medicinals, veterinary pharmaceuticals, daphnids, waterliving, aquatic, sediment organisms. *Sciencedirect* har även använts för att hitta vetenskapliga artikler.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Akut toxicitet på vattenlevande djur

Något anmärkningsvärt som har visat sig med ivermektin är dess mycket höga toxicitet för vissa vattenlevande organismer. Garric *et al.*(2007) gjorde studier på *Daphnia magna*, en hinnkräfta som är mycket känslig för ivermektin, och kunde i studien påvisa en LC<sub>50</sub> (48 h) på så låga koncentrationer som 1,2 ng/l (medelvärde låg på 5,7 ng/l). Det är betydligt lägre än vad som setts i tidigare tester där LC<sub>50</sub> legat på 25 ng/l (Halley *et al.*,1989).

Lopes *et al.*(2009) använde sig av samma tester som Garric, men under 21 dagar. Här involverade testerna även en japansk stam av *D. magna* och en annan art inom cladoceranerna, *Ceriodaphnia dubia*. Överlevnaden föll starkt vid 0,01 ng/l för den europeiska stammen och vid 0,1 ng/l för den japanska och *C. dubia*. Studier på akut toxicitet har också gjorts på pungräkor (*Neomysis integer*) och LC<sub>50</sub> (96 h) sågs vid 70 ng/l (Davies *et al.*, 1997).

I en studie där man använde sig av s.k. mesokosmer, seminaturliga utomhusdammar där en naturlig flora och fauna fått etablera sig, sågs inom tio dagar en minskning av det totala antalet cladoceraner (den ordning *D. magna* tillhör) samt en minskning av artrikedomen hos dessa vid den nominella koncentrationen 30 ng/l (uppmätt koncentration 5 ng/l). Hos *Ostracoda* (musselkräfta) sågs akuta effekter efter 10 dagar i koncentrationen 1000 ng/l, men dessa hade återhämtat sig vid studiens slut dag 265 (Sanderson *et al.*, 2007).

Schweitzer *et al.*(2009) tittade närmare på ett tänkbart scenario där faeces från nötkreatur spikat med ivermektin deponeras direkt i ett vatten-sedimentsystem och blev liggande i 51 dagar. De tittade på överlevnad och biomassa hos *D. magna*. De undersökte också ivermektins effekter på överlevnad, längd och vikt hos larver till fjädermyggan *Chironomus riparius*, samt hur många av dessa som utvecklades till myggor och kom upp ovanför ytan. Mygglarverna tillfördes i två omgångar eftersom den första omgången beräknades utvecklas till myggor under studiens gång. Om en total dödlighet sågs återintroducerades individer för att simulera immigration av en ny population.

Total dödlighet sågs hos *D. magna* i den högsta koncentrationen (200 µg IVM/kg dynga) vid fyra kontrolltillfällen. Då hade en ny population tillsatts efter varje kontrolltillfälle. I den näst lägsta koncentrationen (40 µg/kg faeces) dog alla *D. magna* inom 9 dagar, men efter tillsättning av en ny population efter dag 10 överlevde de till testets slut och kunde reproducera sig.

### Kronisk toxicitet på vattenlevande djur

Studierna som berör ivermektins akuta toxicitet har varit fler än de som behandlar ämnets eventuella kroniska effekt, vilken som med många andra ämnen kan tänkas ske i lägre halter.

Sådana studier har gjorts, bl.a. på *D. magna*, och visat att ivermektins påverkan på tillväxt och reproduktion sker på mycket låga nivåer. LOEC avseende reproduktion och tillväxt sattes till 0,001 ng/l i ett test som varade 21 dagar. NOEC låg på 0,0003 ng/l. Anmärkningsvärt är också att på de koncentrationer som låg över NOEC sågs en mycket hög andel hanliga hinnkräftor. Ingen av de hinnkräftor som utsattes för koncentrationerna 0,1 och 1 ng/l överlevde studiens duration utan dog mellan dag 6 och dag 9 (Garric *et al.*, 2007).

I 21-dagars studien av Lopes *et al.*(2009) dog alla *D. magna* av den europeiska stammen vid en koncentration på 0,01 ng/l. Klonen var densamma som Garric använt sig av. Den japanska stammen visade sig vara något mer motståndskraftig mot ivermektin, men ingen överlevde 0,1 ng/l. 50% av *C. dubia* överlevde koncentrationer på 1 ng/l. LOEC och NOEC avseende reproduktion och tillväxt på den europeiska stammen rapporterade av Garric *et al.*(2007) bekräftades av denna studie på den japanska stammen. För *C. dubia* hamnade LOEC på 0,01 ng/l och NOEC på 0,001 ng/l. Den japanska stammen var dock något mer motståndskraftig mot ivermektin än den europeiska i fråga om hur länge de överlevde och att de var kapabla att föröka sig i låg grad.

Vilket nämndes i slutet av stycket om akut toxicitet för vattenlevande organismer i Schweitzer's studie (2009) dog alla *D. magna* i den högsta koncentrationen, även efter återintroduktion. I den näst högsta koncentrationen (40 µg/kg faeces) överlevde de återintroduktion efter dag 9 och kunde reproducera sig. Det totala antalet skilde sig dock signifikant jämfört med kontrollerna vid de senare kontrolltillfällena.

Sanderson *et al.*(2007) såg även tecken på kroniska skador i sina mesokosmstudier. Artrikedomen hos cladocerander och copepoder (hoppkräftor), tillhörande kräftdjuren, minskade signifikant mellan dagarna 10 och 97 vid nominella koncentrationer på 30 ng/l och halten i vatten låg då under 1 ng/l, vilket var detektionsgränsen. Vid slutet av studien hade cladoceranerna återhämtat sig jämfört med kontrollerna med undantag för en familj, *Chydorus*.

### **Ackumulering av ivermektin i sediment**

Till följd av läkemedlets höga  $K_{oc}$  finns risk för upplagring i sediment och eventuellt påverkan på organismer som lever där. Flera studier har gjorts som påvisar ivermektins långa persistens i sediment (Davies *et al.*, 1998; Prasse *et al.*, 2009; Sandersson *et al.*, 2007).

I en laboratoriestudie undersöktes ivermektins fördelning mellan vatten och sediment, samt dess persistens i de två medierna. Där visades att redan inom det första dygnet var 75% av den administrerade dosen belägen i sedimentet. I samma studie undersöktes också eventuella nedbrytningsprodukter och i vilken mån ivermektin binds till organiska partiklar. Vid 188 dagar sågs att en tredjedel av ivermektinet fanns kvar i fri form, en tredjedel var bundet till organiska partiklar och resterande var metaboliter av ivermektin. Det fria och det bundna ivermektinet hittades i sedimentet, medan ungefär hälften av transformationsprodukterna befann sig i vattenfasen.  $DT_{50}$  för hela systemet beräknades till 127 dagar (Prasse *et al.*, 2009).

Att ivermektins  $DT_{50}$  i sediment ligger på över hundra dagar bekräftas av Davies *et al.* (1998). De såg att 30% av substansen brutits ned inom 100 dagar och  $DT_{50}$  måste således vara >100 dagar. I samma studie undersöktes hur toxiciteten av ivermektin förändras under tiden och toxiciteten hade efter 100 dagar minskat med 50%. Detta gjordes genom att testa akut toxicitet på *C. volutator* (slammärsla) med ivermektininnehållande sediment som fått stå under minst

hundra dagar. Resultaten jämfördes sedan med resultat från toxicitetstester som gjorts där ivermektin var nytillsatt.

I försöket som Sanderson *et al.*(2007) gjorde i mesokosmer sågs en snabb minskning av ivermektin i vattenfasen efter man tillsatt det. En ackumulering i sedimentet sågs under de 3-4 första veckorna i den högsta koncentrationen (1000 ng/l) och därefter stabiliserades nivån på ca 20 - 30 µg/kg. Stabiliseringen i sedimentet sågs vid alla koncentrationer, men på lägre nivåer. DT<sub>50</sub> för sedimentet kunde inte räknas ut p.g.a. att ingen minskning sågs. I samma försök sågs en längre DT<sub>50</sub> i vatten än vad som tidigare rapporterats. Medelvärde låg på 4 dagar (jämfört med <0,5 dagar, Halley *et al.*(1989)).

### **Akut toxicitet på sedimentlevande djur**

Davies *et al.* (1998) testade som tidigare nämnts den akuta toxiciteten på slammärlan *C. volutator*, ett kräftdjur som lever i sediment. De såg att LC<sub>50</sub> (10 d) låg på 100 µg/kg och NOEC, avseende dödligheten, låg på 20 µg/kg. Sjöstjärnan *Asterias rubens* var betydligt mindre känslig med ett LC<sub>50</sub> (10 d) på 18400 µg/kg. I ett annat 10 dagars försök på *C. volutator* sattes LC<sub>50</sub> till 21,9 µg/kg (Allen *et al.*, 2007). Testerna utfördes likadant, men sammansättningen av sedimentet skilde sig åt vilket kan vara orsaken till skillnaden.

I samma studie gjordes tester på sandmaskar (*Arenicola marina*) och en LC<sub>50</sub> (10 dagar) på 14,8 µg/kg kunde ses. De tittade även på subletala effekter under 10 dagars studien i form av antalet högar som sandmaskarna producerade, vilket anses som en bra jämförelse med hur mycket de äter. Antalet högar minskade med ökande ivermektinkoncentrationer och en LOEC på 4,0 µg/kg samt en NOEC på 2,0 µg/kg kunde bestämmas.

I försöket av Schweitzer *et al.* (2009) visade larver till *C. riparius* i den första omgången en signifikant nedgång på överlevnad, längd, vikt och antalet larver som utvecklades till myggor i den högsta koncentrationen (200 µg/kg dynga, uppmätt konc.: 1,9 µg/kg sediment).

### **Kronisk toxicitet på sedimentlevande djur**

Allen *et al.* (2007) försökte även utveckla ett långtidstest för att utvärdera ämnens kroniska effekter på sedimentlevande organismer. De använde sig av *A. marina* och förlängde testet till 100 dagar. Förutom att titta på dödlighet och antalet högar vägde de även högarna som skapats. De observerade att känsligheten för ivermektin ökade med tiden och ett LC<sub>50</sub> (100 dagar) på 6,8 µg/kg erhöles. Antalet högar minskade i alla koncentrationer (0,5 – 8 µg/kg) och de kunde fastställa ett nytt LOEC på 0,5 µg/kg, vilket var den lägst testade koncentrationen. Dessa värden gäller alltså för tester som utförts under 100 dagar. För vikten på högarna hittades ingen signifikant skillnad jämfört med kontroller. I långtidstester på *C. volutator* sågs ingen signifikant skillnad avseende ökad sensitivitet i förhållande till tiden jämfört med kontrollerna.

Sanderson *et al.* (2007) såg de starkaste effekterna hos sina tester på en art av cladoceraner, *Chydorus*, samt på dagsländor (*Ephemeroptera*). Båda dessa organismer lever nära sedimentet. I kontrollmesokosmer dominerade *Chydorus* sp. medan dominansen skiftade mot mer pelagiska och litorala arter i de behandlade mesokosmerna. Det totala antalet *Chydorus* minskade i den högsta och hade inte återhämtat sig följande vår när studien avslutades. Ivermektinhalterna i vattnet var då under detektionsgränsen på 1 ng/l. Dagsländornas,

*Ephemeroptera*, totala antal minskade och hade inte återhämtat sig följande vår i den högsta koncentrationen (konc. i sediment: 20-30 µg/kg).

I den andra omgången mygglarver som tillsattes Schweitzers studie (2009) sågs även där ett signifikant lägre antal larver som utvecklades till myggor i den högsta koncentrationen (200 µg/kg dynga, uppmätt konc: 1 - 4,1 µg/kg sediment).

Tabell 1: LC<sub>50</sub>, LOEC och NOEC för vatten- och sedimentlevande arter. I vatten anges värden i ng/l, i sediment µg/kg

Vattenlevande org.	LC <sub>50</sub> (ng/l)	LOEC(ng/l)	NOEC(ng/l)	Källa
<i>D. magna</i>	5,7(48h)	0,001(21d)	0,0003(21d)	(Garric <i>et al.</i> , 2007)
<i>D. magna</i>	-	0,001(21d)	0,0003(21d)	(Lopes <i>et al.</i> , 2009)
<i>D. magna</i>	25(48h)	-	-	(Halley <i>et al.</i> , 1989)
<i>C. dubia</i>	-	0,01(21d)	0,001(21d)	(Lopes <i>et al.</i> , 2009)
<i>N. integer</i>	70(96h)	-	-	(Davies <i>et al.</i> , 1997)

Sedimentlevande org.	LC <sub>50</sub> (ug/kg)	LOEC(ug/kg)	NOEC(ug/kg)	Källa
<i>C. volutator</i>	100(10d)	-	20(10d)	(Davies <i>et al.</i> , 1998)
<i>C. volutator</i>	21,9(10d)	-	-	(Allen <i>et al.</i> , 2007)
<i>A. marina</i>	14,8(10d)	4,0(10d)	2,0(10d)	(Allen <i>et al.</i> , 2007)
<i>A. marina</i>	6,8(100d)	0,5(100d)	<0,5(100d)	(Allen <i>et al.</i> , 2007)
<i>A. rubens</i>	18400(10d)	-	-	(Davies <i>et al.</i> , 1998)

### Uppmätta halter i miljön

Sternbeck *et al.* (2007) kunde inte påvisa ivermektin vare sig i vatten eller sediment i den screening de gjorde 2007. Prover togs från olika områden som kunde tänkas vara exponerade för höga halter av ivermektin, t.ex. vattensamlingar som ligger i nära anslutning till större gårdar där substansen använts. Ett problem med ivermektin är att ämnet är svårt att analysera p.g.a. sina kemisk-fysikaliska egenskaper. Den analytiska rapporteringsgränsen låg i rapporten på 100 ng/l i vatten och 100 µg/kg i sediment, och detektionsgränsen låg på 3-5 gånger lägre nivåer. I analysen togs inte eventuella metaboliter eller bunden substans i beaktande. Inga ivermektinhalter på nivåer över rapporteringsgränsen kunde alltså påvisas och man såg heller inga spår av ivermektin (utslag över detektionsgränsen).

## DISKUSSION

### Är *Daphnia magna* särskilt känslig för ivermektin?

Att ivermektin är toxiskt för ryggradslösa djur är kanske inte förvånande med tanke på endektocidens verkningsmekanism. Dess extremt höga toxicitet för vissa vattenlevande organismer är dock en anledning till oro. Frågan kan ställas om detta beror på att de djur som testats är extra känsliga för ivermektin och om resultaten då blir missvisande avseende ekotoxiciteten. Lopes *et al.* (2009) visade att känsligheten hos olika stammar av *D. magna*, den känsligaste organismen hittills studerad, varierade något, men studien kunde inte visa att den stam som använts i tidigare försök varit extremt mottagliga av någon anledning. Även *C. dubia*, en annan art tillhörande familjen daphnider, var mycket känslig för ivermektin, dock inte på samma låga nivåer som *D. magna*.

Den lägre känsligheten från Halley *et al.* (1989) kan ha berott att nominella koncentrationer användes istället för uppmätta som i studien av Garric *et al.* (2007). Pungträkan, *N. integer*, visade sig vara relativt känslig den med, men den låg ändå på betydligt högre nivåer (70 ng/l) än *D. magna* (Davies *et al.*, 1997). Man kan ponera att cladoceranerna som släkte är väldigt känsliga och detta bekräftades av Sanderson *et al.* (2007). Studierna utfördes utomhus i seminaturliga miljöer och akuta till kroniska effekter kunde påvisas hos cladoceranerna avseende både totala antalet och artrikedomen ända nere i lägsta nominella koncentrationen, 30 ng/l. De återhämtade sig dock till följande vår.

En intressant detalj som framkom genom studierna var att påverkan på vattenlevande organismer kan komma från sedimentet. Många vattenlevande organismer har en ofrånömlig närhet till sedimentet och kan få i sig toxiska ämnen genom intag av eller kontakt med uppslammat sediment.

I Sandersons studie (2007) sågs en minskning av *Chydorus* sp., ett kräftdjur med just dessa karakteristika. Dessa hade i slutet av studien inte återhämtat sig och det kan betyda att även om ivermektin försvinner fort från vattenfasen och endast påverkar djur i ytvatten temporärt kan man inte utesluta att arter närmare sedimentet inte tar skada på längre sikt. I Schweitzers studie (2009) kunde inte ivermektin påvisas i vattnet (LOQ = 1 ng/l), men *D. magna* dog ändå inom 10 dagar i de två högsta koncentrationerna. Detta styrker hypotesen att sedimentpartiklar i vattnet kan skada vattenlevande djur via intag av eller kontakt med partiklarna.

De vattenlevande djuren är naturligtvis mångtaliga och består av betydligt fler arter än de ovan nämnda. Toxicitetsstudier med ivermektin har dock inte gjorts på så många arter, och på de som gjorts har resultaten varit varierande. Vilken effekt ivermektin har på olika ekosystem är därför svårt att bedöma, men cladoceranerna verkar vara en grupp som är väldigt känsliga för läkemedlet.

### Är sedimentlevande arter i riskzonen?

Vissa av de sedimentlevande organismerna som testats är marina (*A. marina*, *A. rubens*, *C. volutator*). De hittas således inte i sötvattenmiljöer som t.ex. åar, bäckar och sjöar i Sverige. Det är ändå av intresse att utröna hur känsliga de är för ivermektin eftersom liknande arter kanske finns i sötvatten. Bland dessa marina arter visade sig sandmasken *A. marina* vara mest känslig (Allen *et al.*, 2007). Sandmasken är i väldigt nära förbindelse med sediment då den

gräver sig ner och äter det organiska material som finns där. Den kan således vara väldigt utsatt för ivermektin, både i fri form och bundet till organiska partiklar. Även märkräftan *C. volutator* var känslig mot ivermektin, men känsligheten ökade inte när man förlängde testet till 100 dagar (Allen *et al.*, 2007).

Sjöstjärnan *A. rubens* är en predator som äter sedimentlevande organismer och den visade sig vara relativt okänslig mot ivermektin i sediment (Davies *et al.*, 1998). Sjöstjärnor tillhör heller inte släktena artropoder eller nematoder, och uppvisar kanske därför inte samma känslighet. Studier på marina sedimentlevande organismer har gjorts fr.a. för att ivermektin har föreslagits som behandling mot parasiter hos odlad fisk. Detta har dock ansetts som olämpligt då nivåerna i sediment under fiskodlingarna kan bli toxiska för sedimentlevande organismer.

*Ephemeroptera* och *C. riparius* hittas båda i sötvatten. I Schweitzers studie (2009) sågs signifikanta skillnader jämfört med kontrollerna på antalet larver från *C. riparius* som utvecklades till fjädermyggor, både i den första omgången som tillsattes och i den andra. Hos den första omgången sågs också skillnader på larvernas överlevnad, längd och vikt. Intressant med detta test var att ivermektin inte hällades direkt i, som i de andra studierna, utan ivermektininnehållande faeces applicerades direkt i vattnet med sediment i botten. De testade arterna är naturligtvis också här bara en bråkdel av de arter som finns i sediment och extrapolering till verkligheten är svår att göra.

### **Halter i svenska vatten**

I screeningen som genomfördes av Sternbeck *et al.* (2007) hittades inga rests substanser av ivermektin i koncentrationer över den analytiska rapporteringsgränsen vare sig i ytvatten (100 ng/l), sediment (100 µg/l), gödsel (100 µg/l) eller jord (100 µg/l). I sediment, gödsel och jord angavs siffrorna i torr vikt. I litteraturgenomgången ovan är alla koncentrationer nämnda i färsk, d.v.s. blöt vikt. Detta innebär att den analytiska rapporterings- och detektionsgränsen kan sänkas något då substansen blir mer utspädd vid färsk vikt. Detektionsgränsen låg på 3-5 gånger lägre nivåer än rapporteringsgränsen.

Det betyder alltså att man med säkerhet kan säga att inget ivermektin påvisats i halter över 100 ng/l i vatten, eller 100 µg/kg i sediment. Man har heller inte fått något utslag på koncentrationer över detektionsgränsen, d.v.s. som lägst 20 ng/l i vatten eller 20 µg/kg i sediment. Var den exakta detektionsgränsen låg på för analysen av ivermektin nämndes inte. Alla ämnen utom ivermektin hade NOEC- och EC<sub>50</sub>-nivåer på flertalet tiopotenser över rapporterings- och detektionsgränserna.

De flesta provtagningar skedde bara en gång och av de sex gårdar som var med i urvalet var det bara en som använde sig av ivermektin. Det går därmed inte att säga att halterna inte kan vara högre vid andra tillfällen eller vid andra gårdar eller vattendrag. Analysen gjordes dessutom endast på fritt ivermektin och huruvida bundet ivermektin finns i sedimentet framgår således inte.

### **Toxicitetsstudier kontra uppmätta halter**

Om man utgår från Sternbecks resultat (2009) och ponerar att nivåerna ligger under detektionsgränsen på minst 20 ng/l för vatten och något mindre än 20 µg/kg i sediment, vad skulle det innebära för de arter som tagits upp i litteraturgenomgången?

### **Vattenlevande arter**

Cladoceranerna med *D. magna* i spetsen är de artropoder som hittills visat sig känsligast för ivermektin och skulle ta akut skada av en vattenkoncentration nära 20 ng/l. *D. magna* hade en NOEC på 0,0003 ng/l och koncentrationer över 0,001 ng/l har i laboratoriemiljö visat sig vara den lägsta koncentration där effekter på reproduktion och tillväxt kan ses (Garric *et al.*, 2007; Lopes *et al.*, 2009). Kroniska effekter ses alltså på extremt låga nivåer. Att cladoceranerna är känsliga som släkte, d.v.s. inte enbart *D. magna*, visade Sanderson *et al.* (2007). Akuta effekter sågs på dessa vid koncentrationer på 5 ng/l. Kroniska effekter på cladoceraners och copepoders artrikedom sågs vid koncentrationer under 1 ng/l. På grund av att de mätningar som gjorts i Sverige har haft för höga detektionsgränser kan vi inte utesluta att en risk finns för vissa vattenlevande djur.

### **Sedimentlevande arter**

*A. marina* uppvisade en hög känslighet och skulle klart kunna påverkas akut och kroniskt av koncentrationer under 20 µg/kg. Under längre duration ökade känsligheten och ett LOEC på 0,5 µg/kg måste betecknas som extremt lågt (Allen *et al.*, 2007). *C. volutator* hade en 50% dödlighet vid koncentrationer på 21,9 µg/kg, vilket ligger nära den lägsta detektionsgränsen. Den visade dock inte på en ökad känslighet vid en längre duration. Nivåer betydligt under 20 µg/kg torde således inte skada *C. volutator*, men nivåer nära 20 µg/kg kanske dessa kan ta skada av.

Hos de sötvattenlevande *C. riparius* sågs akuta effekter på överlevnad, längd och vikt vid koncentrationen 1,9 µg/kg på den första omgången larver som tillsattes. Kroniska effekter sågs i form av mindre antal larver som utvecklades till myggor. Koncentrationen i sedimentet låg då på 1-4,1 µg/kg (Schweitzer *et al.*, 2009). Kroniska effekter sågs på dagsländan *Ephemeroptera* och denna art hade ännu inte återhämtat sig följande vår. Halterna låg då under 1 ng/l. Även här finner vi alltså att vi inte kan utesluta att det finns en risk för skador på vissa arter i miljön, baserat på att detektionsgränserna låg för högt i de mätningar som gjorts.

### **Spridning till akvatiska miljöer**

Ivermektin kan hamna i akvatiska miljöer via olika vägar. Topikalt administrerat ivermektin genom att det helt enkelt rinner av behandlade djur ner i vatten. Parenteralt administrerat ivermektin kan hamna där genom att avföringen deponeras direkt i vattnet. Det kan också hamna i vattenmiljöer genom spridning av gödsel som innehåller ivermektin, om gödslet hamnar i vattensamlingar.

Hur mycket ivermektin som kan följa med avrinningsvatten från t.ex. beten eller gödslade åkrar är osäkert. Substansen sägs vara praktiskt taget immobil genom sitt höga  $K_{oc}$ , sin låga vattenlöslighet och sina lipofila egenskaper, men koncentrationer i avrinningsvatten på 1 – 4 µg/l har rapporterats i andra länder (Hellström & Kreuger, 2005). Vad som heller inte är utrett är hur tillgängligt bundet ivermektinet är för t.ex. sedimentlevande organismer som kan få i sig detta genom intag av organiskt material.

## Slutsatser

I FASS står att läsa att ”om defekation sker i mindre vattendrag finns en viss risk att koncentrationen når en nivå som är toxisk för känsliga vattenlevande organismer”. Frågan är då om koncentrationerna i svenska vatten är så pass höga att denna risk är reell. Med tanke på hur känsliga vissa av de testade arterna är för ivermektin och läkemedlets långa persistens i sediment anser jag att nya mätningar med analyser som är mer utformade för ivermektin bör göras för att utröna om koncentrationerna i svenska vattenmiljöer utgör ett hot mot dess fauna. Därtill anser jag att mer studier rörande ivermektins toxicitet på vatten- och sedimentlevande arter bör genomföras. Detta för att se om andra viktiga arter kan uppvisa samma känslighet som vissa av de testade.

## Tack till:

Jag vill tacka handledarna Gunnar Carlsson, Stefan Örn och Erik Ullerås för deras stöd till mig. Jag vill även rikta min uppskattning till mina gruppmedlemmar Lisa Eriksson och Isabella Silins för deras sympati och uppmuntrande deltagande under arbetsprocessen.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Allen, Y.T., Thain, J. E., Haworth, S. & Barry, J. (2007). Development and application of long-term sublethal whole sediment tests with *Arenicola marina* and *Corophium volutator* using Ivermectin as the test compound. *Environmental Pollution*, 146(1), 92-99.
- Davies, I.M., McHenry, J.G. & Rae, G.H. (1997). Environmental risk from dissolved ivermectin to marine organisms. *Aquaculture*, 158(3-4), 263-275.
- Davies, I.M., Gillibrand, P. A., McHenry, J. G. & Rae, G. H. (1998) Environmental risk of ivermectin to sediment dwelling organisms. *Aquaculture*, 163(1-2), 29-46.
- Edwards, C. A., Atiyeh, R. M. & Römbke, J. (2001) Environmental impact of avermectins. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 171, 111-137.
- FASS, Fass.se om djurläkemedel. [online] (2009-11-02) Tillgänglig:  
[http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produk\\_t.jsp?NplID=19860314000046&DocTypeID=4&UserTypeID=1#upp](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produk_t.jsp?NplID=19860314000046&DocTypeID=4&UserTypeID=1#upp) [2010-03-22]
- Garric, J., Vollat, B., Duis, K., Péry, A., Junker, T., Ramil, M., Fink, G. & Ternes, T. A. (2007) Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran *Daphnia magna* and the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Chemosphere*, 69, 903-910.
- González Canga, A., Sahagún Prieto, A. M., Diez Liébana, M. J., Fernández Martínez, N., Sierra Vega, M. & García Vieitez, J. J. (2009) The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *The veterinary Journal*, 179(1), 25-37.
- Halley, B. A., Jacob, T. A., & Lu, A. Y. H. (1989) The environmental impact of the use of ivermectin: environmental effects and fate. *Chemosphere*, 18(7-8), 1543-1563.
- Hellström, A. & Kreuger, J. [online] (2005-10-11) Tillgänglig:  
<http://info1.ma.slu.se/IMA/Publikationer/internserie/2005-23.pdf> [2010-03-22]
- Herd, R.P., Sams, R.A. & Ashcraft, S.M. (1996) Persistence of ivermectin in plasma and faeces following treatment of cows with ivermectin sustained-release, pour-on or injectable formulations. *International Journal for Parasitology*, 26(10), 1087-1093.



- Lopes, C., Charles, S., Vollat, B. & Garric, J. (2009) Toxicity of ivermectin on cladocerans: Comparison of toxic effects on *Daphnia* and *Ceriodaphnia* species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(10), 2160-2166.
- Omura, S. (2008) Ivermectin: 25 years and still going strong. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31(2), 91-98.
- Prasse, C., Löffler, D. & Ternes, T.A., (2009) Environmental fate of the anthelmintic ivermectin in an aerobic sediment/water system. *Chemosphere*, 77(10), 1321-1325.
- Sanderson, H., Laird, B., Pope, L., Brain, R., Wilson, C., Johnson, D., Bryning, G., Peregrine, A. S., Boxall, A. & Solomon, K. (2007) Assessment of the environmental fate and effects of ivermectin in aquatic mesocosms. *Aquatic toxicology*, 85, 229-240.
- Schweitzer, N., Fink, G., Ternes, T. A. & Duis, K., Effects of ivermectin-spiked cattle dung on a water-sediment system with the aquatic invertebrates *Daphnia magna* and *Chironomus riparius*. *Aquatic Toxicology*, doi: 10.1016/j.aquatox.2009.12.017
- Sternbeck, J., Österås, A. H., Josefsson, K., Andreasson, F. & Kreuger, J. [online] (2007-05-31)  
Tillgänglig:  
[http://www.naturvardsverket.se/upload/02\\_tillstandet\\_i\\_miljon/Miljoovervakning/rapporter/miljogift/slutrapport\\_vet\\_med\\_070531\\_sign.pdf](http://www.naturvardsverket.se/upload/02_tillstandet_i_miljon/Miljoovervakning/rapporter/miljogift/slutrapport_vet_med_070531_sign.pdf) [2010-03-22]
- Thain, J.E., Davies, I. M., Rae, G. H. & Allen, Y. T. (1997) Acute toxicity of ivermectin to the lugworm *Arenicola marina*. *Aquaculture*, 159(1-2), 47-52.