



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Utgör miljöförekomsten av diklofenak och ibuprofen en risk för vattenlevande organismer?

Lisa Eriksson

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2010: 73

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Utgör miljöförekomsten av diklofenak och ibuprofen en risk för vattenlevande organismer?

Does the environmental presence of diclofenac and ibuprofen pose a risk to aquatic organisms?

Lisa Eriksson

Handledare:

Gunnar Carlsson, Erik Ullerås och Stefan Örn, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

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: -

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2010: 73
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

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

Nyckelord: Diklofenak, ibuprofen, vattenlevande organismer, riskutvärdering, antiinflammatoriska läkemedel, miljö, reningsverk

Key words: Diclofenac, ibuprofen, aquatic organisms, risk assessment, antiinflammatory drugs, environment, sewage treatment plants

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Läkemedel	3
Diklofenak och ibuprofen.....	3
Material och metoder	5
Litteraturöversikt	5
Akut toxicitet.....	5
Kronisk toxicitet.....	6
Diskussion	6
Referenslista	8

SAMMANFATTNING

Läkemedel är substanser som är framställda med avsikten att ge en viss önskvärd effekt i en avsedd målorganism. I kroppen verkar de på specifika målproteiner, vilka kan finnas även hos andra organismer. Dock kan proteinerna hos dessa finnas i annan kvantitet eller ha en annorlunda fysiologisk funktion än hos målorganismen, och det kan därför vara svårt att förutse vilken effekt ett läkemedel får.

Diklofenak och ibuprofen är två antiinflammatoriska läkemedel som båda tillhör gruppen NSAID, non steroid anti-inflammatory drugs. Dessa preparat verkar genom att hämma bildningen av prostaglandiner, vilket gör att de även är antipyretiska och smärtstillande. Båda läkemedlen säljs receptfritt samt i stora kvantiteter, och höga halter kommer därmed ut i avloppssystemen. I reningsverken bryts de ner i varierande grad, ibuprofen nästan helt men diklofenak i relativt liten grad. Denna litteraturstudie kommer att behandla toxiska effekter av diklofenak och ibuprofen på vattenlevande organismer, eftersom det är via avloppsvatten till vattendrag de största utsläppen av läkemedelsrester sker.

Vid akuta toxicitetstester av dessa två läkemedel har det visat sig att kräftdjur är känsliga för diklofenak i koncentrationer på 40-70 mg/l, medan det krävs koncentrationer på över 100 mg/l för att ibuprofen skall vara akut toxiskt. För kronisk toxicitet har effekter observerats vid koncentrationer på 20-40 mg/l. Fisk har visat sig vara känslig för kronisk exponering av diklofenak i halter så låga som 5µg/l. Diklofenak har även visat sig kunna bioackumulera i flera olika organ hos fisk, framför allt lever och gälar.

I studier där effekter av olika läkemedelsblandningar undersöktes visade det sig att en blandning av flera NSAID-preparat gav toxiska effekter vid lägre koncentrationer än när substanserna prövades var för sig. Blandningens toxicitet var även högre än vad som förväntats efter beräkningar baserade på de enskilda läkemedlens toxicitet.

Med bakgrund av dessa fakta utgör sannolikt ibuprofen ensamt inte någon risk för den akvatiska miljön, men det kan tillsammans med andra NSAID ge oförutsägbara effekter. Diklofenak har visat sig vara mer toxiskt, och kommer även ut i naturen i större mängder. Att det dessutom bioackumuleras i fisk talar för att diklofenak utgör en risk för vattenlevande organismer.

SUMMARY

Pharmaceuticals are substances which are produced with the intention to give a certain desirable effect in a specific target organism. In the body they exert their effect on various target proteins, which may exist in other unintended organisms as well. However, these target proteins may exist in different quantities, or have a different physiological function than in the target organism, and therefore it can be difficult to predict the effect of a medicinal product.

Diclofenac and ibuprofen are two anti-inflammatory medicines, which both belong to the group non-steroidal anti-inflammatory drugs. These compounds operate by inhibiting the formation of prostaglandins, meaning that they are also antipyretic and pain relieving. Both drugs are sold over-the-counter and also in large quantities, leading to high levels entering the sewage systems. In wastewater treatment plants they are broken down to varying degrees, ibuprofen almost completely but diclofenac to a relatively small degree. This literature review will deal with toxic effects of diclofenac and ibuprofen on aquatic organisms, since it is through the sewage system to the watercourse pharmaceuticals are mainly discharged.

Acute toxicity testing of these two drugs have shown that crustaceans is sensitive to diclofenac in concentrations of 40-70 mg/litre, while concentrations exceeding 100 mg/litre is required for ibuprofen to be acutely toxic. Ibuprofen is chronically toxic to crustaceans in concentrations of 20-40 mg/litre. Fish have been shown to be sensitive to chronic exposure of diclofenac at levels as low as 5µg/litre, and diclofenac also bio-accumulated in various organs, mainly gills and liver.

Studies considering the effects of various pharmaceutical mixtures have revealed that a mixture of several non-steroidal anti-inflammatory drugs gave toxic effects at lower concentrations than when the substances were tested individually. The toxicity was even higher than what was calculated on beforehand

In the light of these facts, ibuprofen alone probably does not pose a risk to the aquatic environment, but in combination with other NSAID it may cause unpredictable effects. Diclofenac has been found to be more toxic, and is released into the environment in larger quantities. Another important feature of diclofenac is that it bio-accumulates in fish, why diclofenac most probably poses a risk to aquatic organisms.

INLEDNING

Läkemedel

Ett läkemedel är en substans, eller kombination av substanser, som är avsedd att förebygga eller behandla sjukdom hos antingen människor eller djur. De kan också användas för att ställa diagnos eller för att korrigera fysiologiska funktioner i kroppen (Läkemedelsverket, 2009). För att kunna göra detta är de flesta läkemedel framtagna för att verka på vissa specifika målproteiner i den organism de är avsedda för. Många av dessa proteiner förekommer, och har samma funktioner, hos flera olika arter. Därför kan ett läkemedel förväntas ha liknande effekt hos just dessa arter.

Att kombinera flera läkemedel kan ge upphov till olika typer av problem. Exempelvis kan de vara designade för att verka på samma målprotein, och kommer då att "slåss" om bindningsplatserna, vilket påverkar styrkan av deras effekter. Det kan också vara så att de metaboliseras av samma enzym, och därför kommer att brytas ned långsammare och ge effekt under en längre tid än vad som är önskvärt. I ett läkemedels produktresumé finns listat vilka andra läkemedel det inte bör kombineras med, just för att skydda patienter mot negativa effekter. Men när det gäller nedbrytning i och utsläpp från reningsverk tas ingen hänsyn till detta, varför okontrollerade kombinationer av läkemedel släpps ut i våra vattendrag.

Vad händer med en organism som får i sig ett läkemedel men inte har det avsedda målproteinet, eller om organismen uttrycker proteinet, men det fyller en annan fysiologisk funktion? Ett intressant exempel observerades i Indien och Pakistan i början av 2000-talet, då gampopulationen började minska drastiskt. Av 259 obducerade gamar hade 85 % uppenbar visceral gikt, vilket hos fåglar oftast är ett tecken på njurskada. Njurskadorna hos dessa fåglar visade sig vara en följd av att de utfodrats med död tamboskap, vilka tidigare behandlats med det antiinflammatoriska läkemedlet diklofenak (Oaks *et al.*, 2004).

Läkemedel som har relativt milda effekter hos sin målorganism kan alltså vara fatala för andra organismer. Med bakgrund av detta har jag intresserat mig för vilken påverkan på naturens ekosystem vårt användande av läkemedel har. Eftersom diklofenak är ett preparat som säljs receptfritt och har visat sig vara dödligt för andra arter än människa (Oaks *et al.*, 2004), fångade det mitt intresse. Jag frågade mig samtidigt om även andra antiinflammatoriska läkemedel, exempelvis ibuprofen, kunde tänkas vara toxiska eftersom de i stort har samma verkningsmekanism. P.g.a. att de största utsläppen av läkemedelsrester sker via avloppsvatten till vattendrag (LIF, 2009), intresserade jag mig för effekterna på vattenlevande organismer. Denna litteraturöversikt kommer därför att presentera studier som gjorts i ämnet, följt av en diskussion kring de redovisade resultaten.

Diklofenak och ibuprofen

Diklofenak och ibuprofen är båda s.k. NSAIDs, Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs. De är svaga syror och fungerar antiinflammatoriskt, antipyretiskt och smärtstillande. De verkar genom att hämma enzymet cyklooxygenas (COX), vilket reducerar bildningen av prostaglandiner. Prostaglandiner har flera funktioner i kroppen, exempelvis reglerar de blodflödet genom njurarna och slem- och saltsyraproduktionen i magsäcken.

Att gamar är så känsliga för diklofenak tros bero på att den aviära njurens blodförsörjning är annorlunda än däggdjursnjurens, och diklofenak tycks hämma blodflödet till njurbarken (Meteyer *et al.*, 2005). Även däggdjur kan vara känsliga för NSAID-preparat. Hos människa kan NSAIDs ge upphov till olika typer av biverkningar, exempelvis magsår. Hundar kan framför allt få gastrointestinala biverkningar, medan njurarna är känsligast hos katter. Risken för oönskade effekter ökar med ökad dosstorlek och förlängd behandlingstid. Samtidig behandling med olika NSAIDs bör undvikas eftersom detta också ökar biverkningsrisken (LIF, 2009). År 2002 såldes i Sverige 3960 kg diklofenak, och motsvarande siffra för ibuprofen var 68 200 kg (Carlsson *et al.*, 2005).

Halter i miljön

Liksom de flesta läkemedel utsöndras både diklofenak och ibuprofen dels i fri form och dels som konjugat, till största delen i urin och resten i faeces (LIF, 2009). Detta medför att substanserna hamnar i avloppssystemen, och en del ämnen bryts lätt ned i reningsverken, medan andra knappt bryts ner alls (LUL, 2005). De läkemedelsrester som inte bryts ned fullständigt i reningsverken läcker kontinuerligt ut i vattendrag och kan därför antas verka som persistenta ämnen i naturen trots att de där kan vara nedbrytbara (Ferrari *et al.*, 2003). Både diklofenak och ibuprofen har klassats som miljöfarliga, och det anses också att de är ej lättnedbrytbara i miljön (Läkemedelsverket, 2004).

Mätningar av halter av läkemedelsrester i avloppsvatten har gjorts vid flera tillfällen på olika platser i Sverige. I Uppsala gjordes provtagningar under hösten 2005, dels i avloppsvatten från Akademiska Sjukhuset, och dels i inkommande och utgående vatten från det kommunala reningsverket (LUL, 2005). I Kristianstad mätte Zorita *et al.* (2009) läkemedelsrester i avloppsvatten från hushåll, från sjukhus samt till och från ett reningsverk. Bendz *et al.* (2005) tog prover från ett reningsverk i Lund, vilket hade sitt utlopp i Höje å. De tog även prover från ån, dels uppströms och dels nedströms reningsverket. En sammanställning av de uppmätta haltarna presenteras i tabell 1.

Tabell 1.

Sammanställning av uppmätta halter av diklofenak och ibuprofen ($\mu\text{g/l}$) i avloppsvatten från olika mätningplatser i Sverige

	Diklofenak	Ibuprofen
Från Akademiska sjukhuset, Uppsala	0,67	15
Till reningsverk, Uppsala	0,41	14
Från reningsverk, Uppsala	0,35	0,017
Höje å, uppströms	-	0,01
Till reningsverk, Lund	0,16	3,6
Från reningsverk, Lund	0,12	0,15
Höje å, nedströms (4 km)	0,01	0,08
Från hushåll, Kristianstad	0,70	14
Från sjukhus, Kristianstad	0,38	8,8
Till reningsverk, Kristianstad	0,23	6,9
Från reningsverk, Kristianstad	0,49	0,048

*Från LUL (2005) , Zorita *et al.*, (2009) och Bendz *et al.*, (2005).*

MATERIAL OCH METODER

När jag sökte litteratur i ämnet använde jag mig framför allt av databasen Science Direct, men jag sökte även i Web of Knowledge och PubMed. Först använde jag mig av ganska breda sökningar med sökorden (ecotoxicity AND pharmaceuticals AND sewage). Därefter försökte jag göra sökningarna smalare och sökte på ((anti-inflammatory OR NSAID) and (sewage OR wastewater) AND ecotoxicity). Bland de träffar jag fick på sökningarna valde jag ut de artiklar som var nyast, men framför allt valde jag artiklar med geografisk anknytning. Slutligen letade jag efter artiklar angivna i referenslistorna på de artiklar jag hittat och valt att använda mig av.

LITTERATURÖVERSIKT

Toxicitetstester av ämnen kan göras med avseende på akut eller kronisk toxicitet. Akut toxicitet definieras som de skadliga effekter som på så kort tid som dagar ses hos en organism då den exponeras för ämnet i fråga. Med kronisk toxicitet menas istället de effekter som ses efter lång tids exponering, d.v.s. veckor eller månader. Hinnkräftan *Daphnia magna* används ofta som försöksdjur vid denna typ av experiment.

Akut toxicitet

I akuta toxicitetstester med *D. Magna* används ofta immobiliseringstest, där slutpunkten är orörlighet efter 48 timmar, varpå koncentrationen som orsakar 50 % av effekten (EC₅₀) räknas ut.

När Cleuvers (2004) testade diklofenak för akut toxicitet på *D. magna* er nåddes ett EC₅₀-värde på 68 mg/l. I en annan studie utfördes samma akuta immobiliseringstest med diklofenak på *D. magna* två gånger, och EC₅₀-värden på 40 mg/l respektive 45 mg/l fastställdes (Haap *et al.* 2008).

Samma test för akut toxicitet på *D. magna* har även utförts med ibuprofen, med resultaten EC₅₀=108 mg/l (Cleuvers, 2004) och EC₅₀=101 mg/l (Cleuvers, 2005). Även Heckmann *et al.* (2007) fick efter samma test resultatet EC₅₀=108 mg/l.

Kombinationseffekter

För att undersöka om toxiciteten förändras när flera liknande ämnen tillförs samtidigt användes en blandning av diklofenak och ibuprofen i ett toxikologiskt test med *D. magna*. Innan försöket beräknades den förväntade sammanlagda toxiciteten utifrån ämnernas enskilda toxicitet. Resultatet blev att den verkliga uppmätta toxiciteten för blandningen var högre än den förväntade (Cleuvers, 2004). I ett annat försök med samma syfte användes en blandning av diklofenak, ibuprofen, naproxen och acetylsalicylsyra. Först testades toxiciteten för ämnena ett och ett för att fastställa deras individuella EC-värden, och därefter beräknades den förväntade toxiciteten för blandningen. När blandningen sedan provades noterades att toxiciteten vid koncentrationerna EC₅, EC₁₀, och EC₂₀ var lägre än förväntat, och låg på ungefär samma nivå som de enskilda ämnena när de testades var för sig. Vid de större koncentrationerna EC₅₀ och EC₈₀ var dock toxiciteten högre än för de enskilda ämnena, och den översteg även det beräknade värdet (Cleuvers, 2005).

Kronisk toxicitet

I ett försök för att mäta kronisk toxicitet av ibuprofen exponerades hinnkräftor för koncentrationer från 20 till 80 mg/l i tolv dagar. Flera olika slutpunkter användes för försöken, exempelvis tillväxt, reproduktion och överlevnad. Störst effekt sågs på reproduktionen, i form av försenad könsmognad och minskad fekunditet. Vid 40 mg/l noterades en signifikant försening av första reproduktiva dag, och den totala reproduktionen minskade signifikant redan från lägsta koncentrationen (20 mg/l). Vid 80 mg/l hade reproduktionen helt upphört (Heckmann *et al.* 2007).

Vid ett försök för att undersöka kronisk toxicitet av diklofenak exponerades regnbåge för 1, 5, 20, 100 respektive 500 µg/l i 28 dagar. Till skillnad mot kontrollgruppen kunde histopatologiska skador på njurar och gälar observeras vid alla koncentrationer ≥ 5 µg/l, varför NOEC för diklofenak på regnbåge fastställdes till 1 µg/l. De histopatologiska undersökningarna av njurarna visade kraftig hyalin degeneration samt ansamling av proteinlikt material i tubulilumen. I tubuliepitelet sågs vakuolisering och enstaka nekroser, och en tydlig proliferation av det renala interstitiet noterades också. I gälarna sågs bl.a. inflammation och fokal proliferation av interlamellära celler. Utöver de histopatologiska förändringarna kunde även en koncentrationsberoende ackumulering av diklofenak ses i muskler, gälar, njure och lever. Störst mängd diklofenak ansamlades i levern, där den uppmätta halten hos de fiskar som exponerats för 500 µg/l var nästan 6 µg/g vävnad (Schwaiger *et al.* 2004).

DISKUSSION

Vid toxikologiska tester av diklofenak har det framkommit att den kroniska toxiciteten inte oväntat är högre än den akuta (Ferrari *et al.*, 2003). Det har också visat sig att diklofenak är den NSAID som har högst akut toxicitet (Fent *et al.* 2006). Om försöksdjuren exponerats för en kombination av olika NSAID har lägre koncentrationer observerats ge toxiska effekter än om ämnena tillförts ett och ett (Cleuvers, 2004 och 2005).

Vad gäller effekter av läkemedel i miljön anser jag att resultaten från de kroniska toxicitetstesterna är av större relevans än motsvarande från akuta tester, detta p.g.a. att djur och växter i naturen exponeras under hela sin livstid. Resultaten från studierna jag läst visade att de halter av diklofenak och ibuprofen som återfinns i vattendrag inte är så höga att de är skadliga för vattenlevande organismer. Inte heller om de i vattendrag uppmätta koncentrationerna av de båda substanserna vägs samman uppnås några skadliga koncentrationer. Cleuvers resultat (2004, 2005) tyder på att oförutsedda effekter kan uppstå när organismer utsätts för en blandning av olika preparat, vilket är ofta är fallet i miljön.

I vattnet som lämnade reningsverket i Lund var halten diklofenak 0,12 µg/l, och hade fyra km nedströms i Höje å minskat till 0,01 µg/l, en koncentration som är betydligt lägre än vad som visats vara toxiskt, både för fisk och för hinnkräfta. Denna koncentrationsminskning berodde framför allt på att avloppsvattnet späddes ut när det släpptes ut i ån. För att få veta om en reell minskning av läkemedlen ägde rum räknade Bendz *et al.* om siffrorna till att gälla en hypotetisk situation helt utan utspädning. Det framkom då att ingen nedbrytning av vare sig

diklofenak eller ibuprofen skett 300 meter medströms reningsverket. Fyra kilometer nedströms hade en betydande minskning skett, enligt författarna framför allt p.g.a. nedbrytning (Bendz *et al.* 2005). Med tanke på att Schwaiger *et al.* (2004) visade att diklofenak lagras upp i flera olika organ hos fiskar, anser jag att bioackumulering i olika organismer också kan vara en orsak till koncentrationsminskningen.

Eftersom en stor majoritet av de läkemedel som läcker ut i naturen är utformade för att verka på människor är det svårt att förutsäga deras effekter i andra organismer. NSAID påverkar som tidigare nämnts bildningen av prostaglandiner. Dessa hormoner har inte bara upptäckts hos människa och andra ryggradsdjur som fiskar, fåglar och amfibier, utan även hos några ryggradslösa djur samt vissa växter. Ingen litteratur som visar förekomst av prostaglandiner hos *D. magna* finns dock tillgänglig, varför resultaten från de toxicitetstester som utförts på hinnkräftor inte kan anses vara specifika för NSAID-preparat (Cleuvers, 2005). För att kunna dra en slutsats om dessa preparats specifika toxicitet behövs fler studier av deras effekter på arter som har prostaglandiner.

Mängden ibuprofen i avloppsvatten är betydligt större än mängden diklofenak, men det bryts ned i så stor utsträckning i reningsverken att jag inte anser att ibuprofen utgör någon egentlig risk i den akvatiska miljön. Trots detta vill jag inte helt avfärda risken med ibuprofen, dels p.g.a. de oförutsedda resultaten från blandningsstudierna, och dels för att ibuprofen trots allt klassats som miljöfarligt och inte lätt bryts ned i miljön (Läkemedelsverket, 2004).

Den påvisade bioackumuleringen samt den relativt höga kroniska toxiciteten hos fisk gör att jag anser att diklofenak är direkt farligt för vattenlevande organismer. Den låga nedbrytningsgraden av diklofenak i reningsverk, det faktum att diklofenak inte är lätt nedbrytbart i naturen, samt att även detta läkemedel visat toxiska effekter vid oförutsett låga koncentrationer i blandningsstudier, gör att jag även vill påstå att det föreligger en reell risk för skador av diklofenak på vattenlevande organismer.

Jag anser även att fler och mer omfattande studier avseende läkemedelsblandningar bör genomföras. Detta eftersom akvatiska organismer i naturen i princip aldrig exponeras för enstaka läkemedel, utan för blandningar av olika slag.

Sammanfattningsvis har jag av denna litteraturstudie dragit slutsatserna att diklofenak i miljön utgör en risk för vattenlevande organismer, men att ibuprofen inte gör det. Dock kan oförutsedda effekter äga rum vid samtidig exponering för dessa två läkemedel, varför jag anser att risken med ibuprofen ändå bör tas i beaktande.

REFERENSLISTA

- Bendz, D., Paxéus, N., Ginn, T.R. & Loge, F.J., (2005). Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Høje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials*, 122 (2005) 195-204.
- Carlsson, C., Johansson A-K., Alvan, G., Bergman, K. & Khüler T., (2006). Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Science of The Total Environment*, 364(1-3), 67-87.
- Cleuvers, M., (2004). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters*, 142 (3), 185-194.
- Cleuvers, M., (2005). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59 (3) 309-315.
- Fent, K., Weston & A.A., Caminada, D., (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76 (2006), 122-159
- Ferrari, B. Paxéus, N., Lo Giudice, R., Pollio A. & Garric, J., (2003). Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrac acid, and diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55(3), 359-370.
- Haap, T., Triebskorn, R. & Köhler, H., (2008). Acute effects of diclofenac and DMSO to *Daphnia magna*: Immobilisation and hsp70-induction. *Chemosphere*, 73(3), 353-359.
- Heckmann, L., Callaghan, A., Hooper, H.L., Connon, R., Hutchinson, T.H., Maund, S.J. & Sibly, R.M., (2007). Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology Letters*, 172(3), 137-145.
- LIF, FASS® VET. 2009. Ozgraf, Olsztyn, Polen (2008)
- LUL (2005), Kartläggning av läkemedelsrester i avlopps- och dricksvatten. Provtagning vid Akademiska sjukhuset, Uppsala och Lasarettet i Enköping hösten 2005. [online] (2006-06-09) Tillgänglig: <http://www.lul.se/upload/miljo/rapport%20provtagningsresultat.pdf> [2010-03-22]
- Läkemedelsverket (2004), Miljöpåverkan från läkemedel samt kosmetiska och hygieniska produkter. [online] (2009-03-19). Tillgänglig: http://www.lakemedelsverket.se/upload/om-lakemedelsverket/publikationer/040824_miljoupdraget-rapport.pdf [2010-03-22]
- Läkemedelsverket (2009), Läkemedel - Läkemedelsverket - godkännanden och tillsyn av läkemedel, mediciner, naturläkemedel, kosmetika och medicintekniska produkter. [online] (2009-10-28). Tillgänglig: <http://www.lakemedelsverket.se/malgrupp/Allmanhet/Lakemedel/> [2010-03-23]
- Meteyer, C.U., Rideout, B.A., Gilbert, M., Shivaprasad, H.L. & Oaks, J.L., (2005). Pathology and proposed pathophysiology of diclofenac poisoning in free-living and experimentally exposed oriental white-backed vultures (Gyps Bengalisis). *Journal of Wildlife diseases*, 41 (4), 707-716.
- Oaks, J.L., Gilbert, M., Virani, M.Z., Watson, R.T., Meteyer, C.U., Rideout, B.A., Shivaprasad, H.L., Ahmed, S., Chaudry, M.J.I., Arshad, M., Mahmood, S., Ali, A. & Khan, A.A., (2004). Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*, 427 (6975), 630-633.
- Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H. & Negele, R. D., (2004). Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 68 (2004) 141-150.
- 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 (2009) 2760-2770.