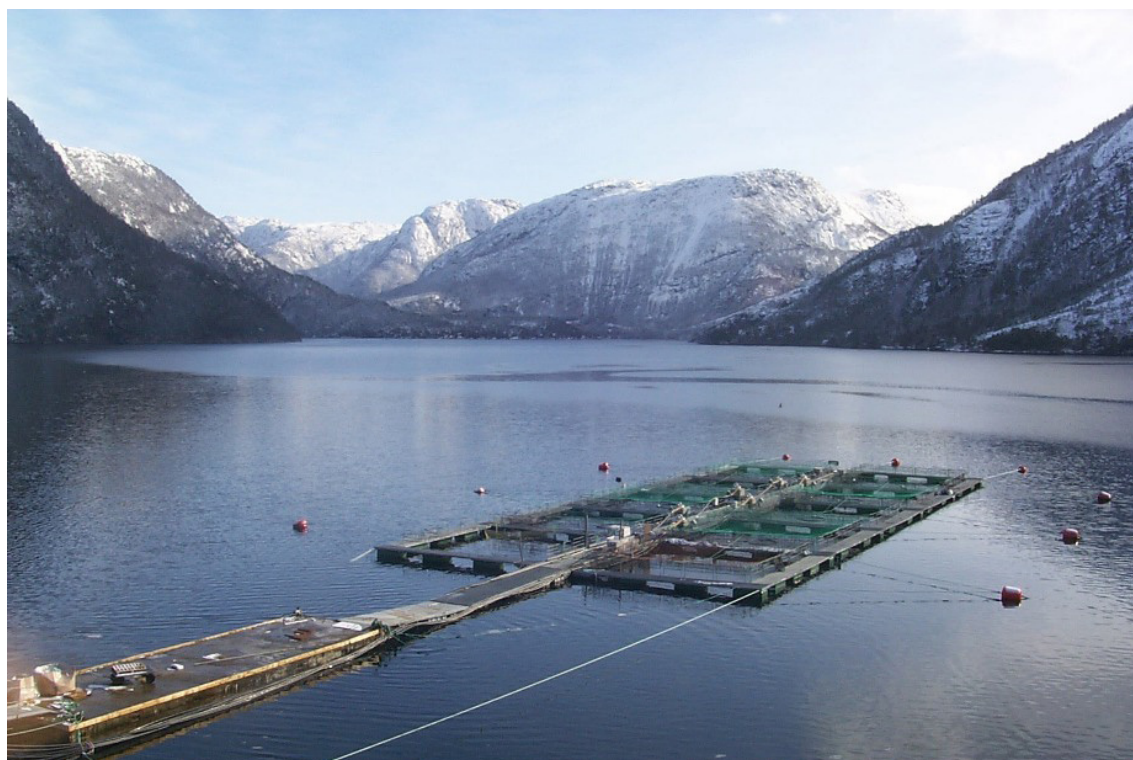


Flubenzuroner i fiskeoppdrett - miljøaspekter og restkonsentrasjoner i behandlet fisk

Ole Samuelson, Tore Tjensvoll, Rita Hannisdal, Ann-Lisbeth Agnalt og Bjørn Tore Lunestad



N I F E S
NASJONALT INSTITUTT
FOR ERNÆRINGS- OG
SJØMATFORSKNING



HAVFORSKNINGSINSTITUTTET
INSTITUTE OF MARINE RESEARCH

SLUTTRAPPORT

Flubenzuroner i fiskeoppdrett - miljøaspekter og restkonsentrasjoner i behandlet fisk

Av

Ole Samuelsen^{1*}, Tore Tjensvoll², Rita Hannisdal²,
Ann-Lisbeth Agnalt¹ og Bjørn Tore Lunestad^{2*}



¹ Havforskningsinstituttet (HI), Postboks 1870, Nordnes, 5817 Bergen

² Nasjonalt institutt for ernærings- og sjømatforskning (NIFES), Strandgaten 229, Postboks 2029 Nordnes, N-5817 Bergen.

* Kontaktpersoner HI: ole.samuelsen@imr.no/94489082 og NIFES: blu@nifes.no/97596245

Bergen, januar 2013



N I F E S
NASJONALT INSTITUTT
FOR ERNÆRINGS- OG
SJØMATFORSKNING



HAVFORSKNINGSINSTITUTTET
INSTITUTE OF MARINE RESEARCH

Innholdsfortegnelse

Sammen drag.....	5
Bakgrunn.....	7
Analysemetodikk.....	7
Feltundersøkelse for teflubenzuron i Matre.....	9
Bakgrunn.....	9
Bunnkartlegging med Olex.....	9
Prøveinnsamling.....	10
Sediment og vannprøver.....	10
Innsamling av villfauna.....	11
Resultater og diskusjon.....	13
Effekt på hummeryngel.....	21
Bakgrunn.....	21
Opptak og utskilling.....	21
Eksponeringsforsøk.....	21
Resultater og diskusjon.....	22
Opptak og utskilling.....	22
Dødelighet ved skallskifte.....	23
Seinskader.....	25
Rester av lusemidler i oppdrettsfisk.....	27
Konklusjoner.....	28
Litteratur.....	30
Appendix.....	31

Sammendrag

Undersøkelsene som beskrives i denne rapporten omhandler nivåer av lusemidler i gruppen flubenzuroner (diflu- og teflubenzuron) i oppdrettsfisk. Videre er det undersøkt spredning av teflubenzuron til sedimenter og ulike grupper av villfaunaorganismer etter bruk av stoffet ved oppdrett av laks. Det er også utført eksponeringsforsøk med teflubenzuron på hummeryngel under kontrollerte betingelser.

I rapporteringsperioden er det undersøkt 80 enkeltprøver av laks fra kommersielle anlegg som behandlet med enten diflu- eller teflubenzuron og uttatt ved utgangen av tilbakeholdelsestiden, på henholdsvis 105 døgngader for diflubenzuron eller 96 døgngader for teflubenzuron. Ingen av disse prøvene hadde konsentrasjoner over gjeldende verdier for tillatt restkonsentrasjonen (MRL) i laksefisk til konsum, på 500 ng/g for teflubenzuron og 1000 ng/g for diflubenzuron. Høyeste påviste enkeltkonsentrasjon var på 38,1 ng/g teflubenzuron. Disse resultatene bekrefter tidligere funn fra overvåkningsprogrammer som NIFES har utført på oppdrag fra Mattilsynet.

Konsentrasjonen i sedimentet under et anlegg som behandlet med teflubenzuron varierte mellom 0,2 og 40,6 µg/g våtvekt ved første prøvetaking (8 februar), og var høyere enn i tidligere publiserte undersøkelser. Konsentrasjonen i prøvene fra 10 mai varierte fra 2,4 til 38,2 µg/g våtvekt, altså tilnærmet likt det som ble funnet i februar mens konsentrasjonen i prøvene tatt 11 oktober var lavere og varierte fra 0,5 til 16,4 µg/g våtvekt. Teflubenzuron er derfor tilstedet i sedimentet under anlegget i lengre tid. Sedimentfeller viste seg å være den beste teknikken for å kartlegge spredningen av medikamentet via organiske partikler. Medisinholdig organisk materiale kunne spores 1000 m fra anlegget, men den totale mengden av medisin per m² var liten.

Det er undersøkt til sammen 374 prøver av villfauna fra et område i varierende avstand fra anlegget som behandlet fisken med teflubenzuron. Prøvene er tatt i tre omganger, under behandling (134 prøver), mellom 92 og 113 dager etter avsluttet behandling (38 prøver) og i perioden mellom 235 og 249 dager etter avsluttet behandling (202 prøver).

Resultater for bestemmelser av teflubenzuron i prøver av villfauna ved første prøvetakning (under medisinerings), viste at stoffet kunne påvises i konsentrasjoner over LOD (5 ng/g) i totalt 71 av 134 undersøkte enkeltprøver (53 %), fordelt på 24 av de 28 undersøkte artene. Dersom en ser bort fra børstemark, var høyeste påviste enkeltkonsentrasjon på 1 354,4 ng/g våtvekt i en prøve av sei. Det er ikke kjent om også fisk med høyere konsentrasjoner vil kunne opptre. ADI verdier beskriver akseptabelt daglig inntak av fremmedstoffer. For teflubenzuron har EU (EMEA) satt en ADI verdi på 0,01 mg/kg kroppsvekt/dag. For å komme over ADI verdien vil en person på 60 kg, måtte spise over 443 g sei med en konsentrasjon av stoffet på 1354,4 ng/g i løpet av et døgn. Dette er under forutsetning av at denne seien var eneste kilde for teflubenzuron. Imidlertid er teflubenzuron også i bruk som insektsmiddel i landbruket, der gjeldende MRL verdi for ulike vegetabilier varierer fra 200 til 1 000 ng/g, og nylig foreslåtte MRL verdier for slike produkter varierer fra 500 til 1 500

ng/g (EFSA, 2012). Det er overveiende sannsynlig at landbruksprodukter bidrar til matvarebåren eksponering for teflubenzuron.

Selv om konsum av sei i et volum som ville gi teflubenzuron i verdier over ADI vil være å anse som uvanlig, er enhver utilsiktet forekomst av legemidler i sjømatorganismer som ikke er målorganisme for behandlingen, uheldig. Hensiktsmessige tiltak for å hindre at sjømatorganismer med restkonsentrasjoner blir konsumert bør derfor vurderes.

Hos krepsdyr hadde prøver av brunmat høyere konsentrasjon av teflubenzuron sammenlignet med klokjøtt fra samme individ.

Prøvene av villfisk tatt under behandling viser få prøver uten påvisning av teflubenzuron. Det kunne ikke påvises teflubenzuron i villfisk ved de to neste prøvetakningene.

Ved siste runde av prøvetakning (mellom 235 og 249 dager etter avsluttet behandling), kunne det påvises høye konsentrasjoner av teflubenzuron i børstemark, og lavere konsentrasjoner i reker, brunmat fra taskekrabbe, trollhummer og sjøkreps.

Prøvene av krepsdyr fra første prøvetaking viser at enkeltindivider inneholder konsentrasjoner som sannsynligvis ville gitt effekt ved et umiddelbart forestående skallskifte. Imidlertid, dersom en forutsetter at eliminasjonshastigheten er tilnærmet lik den som ble funnet i hummer, og at ytterligere eksponering for medikamentet er liten, vil effekten være redusert i løpet av et par uker. Skallskiftefrekvens er en annen viktig faktor å ta hensyn til.

Det er dokumentert en stor effekt på hummeryngel (dødelighet og senskader) ved konsum av en dose legemiddel tilsvarende en diett på medisinholdige pellet og fekalier i en uke. Bestemmelse av medikamentkonsentrasjonen i hummer som døde og overlevde skallskifte gir en indikasjon på hvilket konsentrasjonsområde som gir økt sjanse for overlevelse. Snittkonsentrasjonen i de første 12 individer som overlevde skallskifte var 152 ng/g men dødelighet ble også registrert ved langt lavere konsentrasjoner. Senskader som stive antenner, deformert klo og manglende gjellelokk ble observert på en del medisinerende individer som overlevde skallskifte. Senskader på hummer i forbindelse med bruk av flubenzuron er ikke tidligere beskrevet i litteraturen.

Bakgrunn

Bruken av lakselusmidler, og i særlig grad flubenzuronene, har vært gjenstand for betydelig oppmerksomhet. Det har vært fokusert både på miljøeffekter og sjømattrygghet, og et udekket behov for dokumentasjon både for mulige miljøeffekter og utfordringer knyttet til konsum av villlevende sjømatorganismer etter bruk av oralt administrerte lusemidler. For å undersøke dette, har Fiskeri og kystdepartementet bevilget ekstra-ordinære midler. Denne rapporten beskriver et fellesprosjekt mellom HI og NIFES for undersøkelser av spredningen av lakselusmidler i klassen flubenzuroner til villfauna og sediment rundt oppdrettsanlegg.

I utgangspunktet var det planlagt at alle prøver skulle innhentes i forbindelse med behandling med diflubenzuron eller teflubenzuron i et kommersielt anlegg. Høsten 2011, var det imidlertid ingen anlegg i Norge som brukte noen av disse to stoffene, og det ble derfor ikke mulig å utføre prøvetakning slik en opprinnelig hadde tenkt. En ytterligere kompliserende faktor har vært anlegg der begge flubenzuronene er benyttet med kort mellomrom. Dette ville gi vansker med å tolke analysesvarene, og slike anlegg ble derfor utelukket fra prosjektet.

Ved avlusning av HI sitt oppdrettsanlegg på Solheim (Matre) ble det imidlertid benyttet teflubenzuron og prosjektet kunne dermed gjennomføres. Dette anlegget har ikke tidligere benyttet flubenzuroner.

Forbruket av flubenzuroner til behandling av oppdrettsfisk har variert mye. Etter å ha vært ute av bruk gjennom mange år, ble diflu- og teflubenzuron reintrodusert i 2009 grunnet problemer med nedsatt følsomhet hos målorganismen for andre aktuelle lusemidler. Flubenzuronene var blant de viktigste stoffene til behandling mot fiskelus i 2009 og 2010. Tilgjengelig statistikk viser at det i 2009 ble brukt til sammen 3 441 kg flubenzuroner, mens tilsvarende tall for 2010 var på 2 919 kg. I 2011 avtok bruken sterkt og var dette året på 730 kg. Oppdatert statistikk frem til og med 2011 finnes på www.fhi.no.

Diflu- og teflubenzuron er begge vurdert av European Medicines Agency (EMA) for behandling av laksefisk (salmonider). I denne vurderingen inngår også sjømattrygghet, og begge stoffer har fått en høyeste tillatt restkonsentrasjon i produkter for konsum (MRL, Maximum Residue Limit). Gjeldende MRL verdi for diflubenzuron i en prøve av muskel med skinn i naturlige proporsjoner hos laksefisk er 1 000 ng/g (ppb), mens tilsvarende verdi for teflubenzuron hos laksefisk er 500 ng/g. For å sikre at behandlet fisk ikke har konsentrasjoner over etablerte MRL verdier, er det innført en tilbakeholdelsestid. Denne definerer korteste aksepterte tid mellom avsluttet behandling og slakting av fisken. For diflubenzuron er denne på 105 døgngrader (vanntemperatur multiplisert med døgn), mens for teflubenzuron er tilsvarende verdi på 96 døgngrader.

Analysemetodikk

Alle analyser av oppdrettsfisk og villfauna ble utført ved NIFES, mens analyser av sediment og vannprøver ble utført ved HI.

Diflubenzuron og teflubenzuron i biota ble analysert ved hjelp av metodikk som bygger på en akkrediterte analysemetoder etablert ved NIFES for laks. Som en del av dette prosjektet ble disse metodene tilpasset krepsdyr, fisk og bløtdyr. Begge forbindelsene analyseres vha høytrykksvæskekromatografi koblet med massespektrometri (HPLC-MS) og metodene er robuste med hensyn på viktige analytiske parametre som; selektivitet, sensitivitet, presisjon, nøyaktighet, linearitet og gjenvinning. Metodene har en deteksjons-grense, Limit Of Detection (LOD) på 5 ng/g og 10 ng/g, og kan benyttes kvantitativt med en Limit Of Quantitation (LOQ) ved nivåer over 15 ng/g og 20 ng/g, for henholdsvis teflubenzuron og diflubenzuron. De akkrediterte metodene har et lineært måleområde mellom 15 til 75 ng/g for teflubenzuron og 20 til 75 ng/g for diflubenzuron, og en måle-usikkerhet på 25 til 33 %. Erfaringer tilsier at metodene også er robuste overfor andre typer analysematriser (f.eks hummer, kreps og hvitfisk). Når teflubenzuron skal bestemmes blir diflubenzuron brukt som intern standard mens teflubenzuron blir brukt som intern standard når diflubenzuron blir analysert. I første trinn i analysen kvernes/homogeniseres prøvematerialet og tilsettes intern standard. Begge metodene innebærer ekstraksjon med aceton, vask av acetonekstrakt med heptan etterfulgt av opprensing på kolonne (ASPEC). Etter inndamping analyseres prøvene vha LC-MS(ESI-) i SIM-mode (379/359 og 309/289 for henholdsvis teflubenzuron og diflubenzuron) og konsentrasjon av analytt kan bestemmes i forhold til mengde intern standard tilsett. Alle prøvesekvenser settes opp i en fast rekkefølge hvor hver sekvens inneholder kontrollprøver, metodeblanke prøver og prøver til kontrollkurve (5 stk).

Opparbeidelse og analyse av sedimentprøvene ble gjort på HI som beskrevet i Selvik et al. (2001). Opparbeidelse av vannprøvene ble gjort som beskrevet i Klif-rapport 1086/2011 og analysert som beskrevet i Selvik et al. (2001).

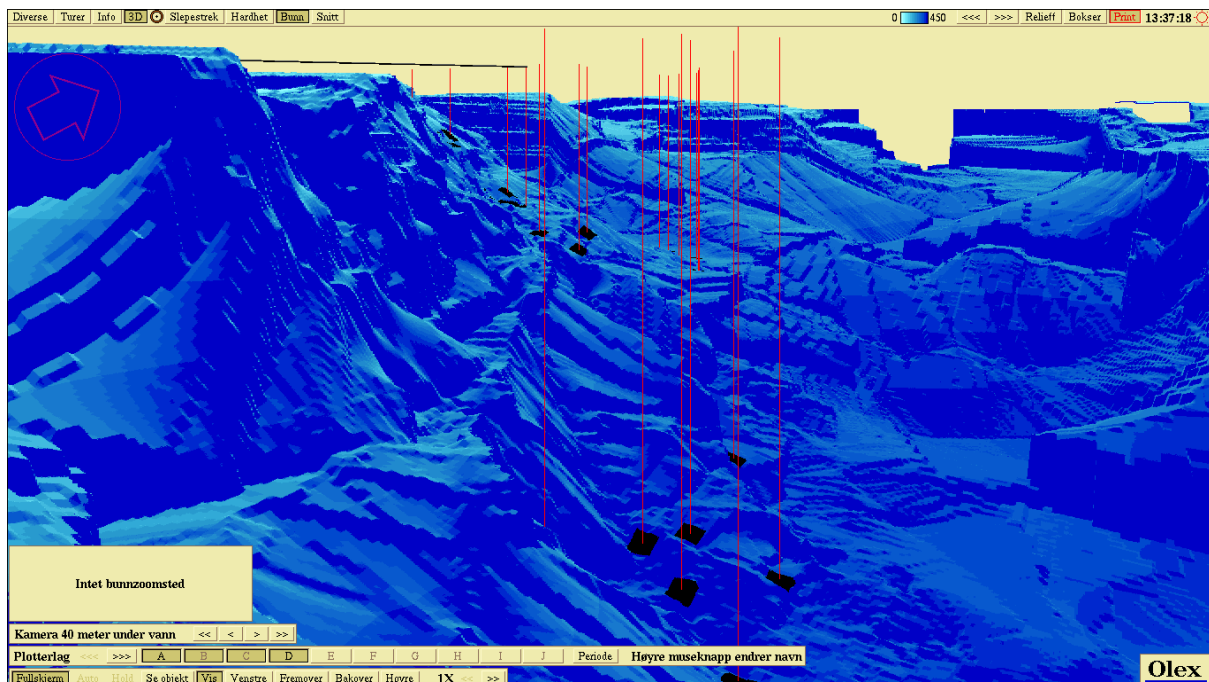
Feltundersøkelse for teflubenzuron i Matre

Bakgrunn

I begynnelsen av februar 2012 ble fisken ved Havforskningsinstituttets sitt anlegg på Solheim (Matre, Hordaland) behandlet med teflubenzuron i syv dager, fra 2 til 8 februar. Målet mot de største kommersielle anleggene er produksjonen ved Solheim liten. Det ble brukt medisineret fôr og en dose på 10 mg/kg fisk per dag, i henhold til vanlig dosering for stoffet. Anlegget inneholdt rundt 58 000 laks med en gjennomsnittsvekt på rundt 2 kg. Det totale forbruket av teflubenzuron var på 8 kg. I løpet av medisineringen og inntil 2 uker etter, ble det samlet inn prøver av vann, sediment, villfisk og krepsdyr. For å undersøke spredningen av svevepartikler ble det plassert ut både sedimentfeller og blåskjell. Strømmålere registrerte strømhastighet og retning under forsøket. I tillegg ble det tatt 30 prøver av oppdrettsfisken ved utgangen av tilbakeholdelsestiden på 96 døgngrader (vanntemperatur multiplisert med døgn) for analyse av rester av teflubenzuron.

Bunnkartlegging med Olex

Det var ønskelig å få gjennomført en bunnkartlegging for å bruke opplysningen i planlegging av mulige steder for å ta bunnprøver og fiskeplasser for krepsdyr. Registreringene ble gjennomført 30. og 31. januar 2012. Området rundt oppdrettsanlegget var karakterisert av bratte stup og skråninger ned til 200 og 300 m. Lenger ute i fjorden gikk dypet ned til 400 – 500 m. I Figur 1 er det vist en 3 dimensjonalt Olex bilde for nærområdet. Av aktuelle prøvelokaliteter er det et svakt skrånende område på ca. 200 m dyp, sør-øst for anlegget. Lenger utover i fjorden er det svært bratt/stup ned til ca. 300 m dyp, hvor det flater videre ut mot fjordbunnen. Utover fjorden blir det gradvis dypere ned mot 4-500 m.



Figur 1. 3D Olex bilde av fjordsidene rundt sjøanlegget på Solheim, Masfjorden.

Prøveinnsamling

Sediment og vannprøver

Sedimentprøver ble samlet inn med grabb (8. februar) rundt anlegget i avstand 0-15m og ca 100, 400 og 800 m fra anlegget (Figur 2). På grunn av bunnforholdene med bratte skråninger var prøvetakingen komplisert.

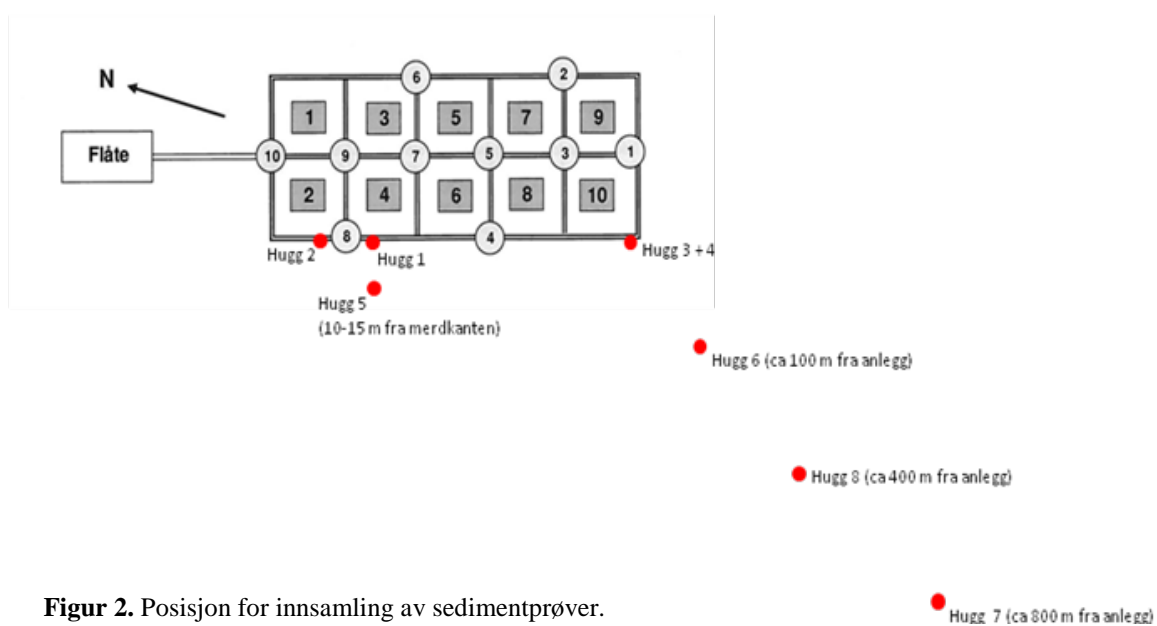
Sedimentprøver ble også samlet inn ved anlegget 10. mai og 11. oktober fra omtrentlig samme posisjoner som Hugg 1 til 4 i Figur 2. Siden anlegget hadde ligget brakk siden begynnelsen av mai var det lite organisk materiale i flere av prøvene fra tredje innsamling (11. oktober).

Børstemark ble vasket og silt ut fra sedimentprøvene ved alle 3 prøvetakingene og analysert sammen med andre prøver av villfauna. Antallet børstemark i sedimentprøvene var mindre ved tredje innsamling enn ved de to foregående.

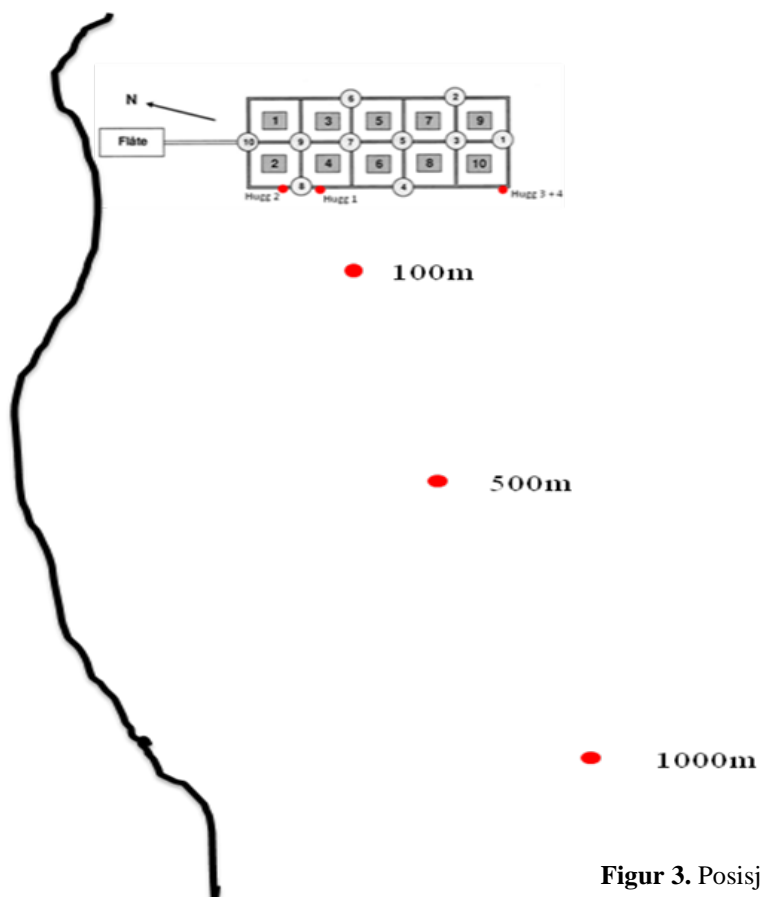
Sedimentfeller ble satt ut på 4 stasjoner i avstanden 0, 100, 500 og 1000 m fra anlegget og på 2 ulike dyp, 10 m fra bunnen og 50 m fra overflaten (Figur 3). Fellene ble satt ut onsdag 1 februar og tømt 8 og 23 februar.

Poser med blåskjell ble satt ut 8 februar på samme posisjon som sedimentfellene og samlet inn 23. februar.

Vannprøver ble samlet inn 8. februar vest for anlegget (avstand ca 50 til 100 m) kl 11, 13, 15 og 16 fra 3 ulike dyp (10, 20 og 50 m fra overflaten). Overflatestrømmen gikk hovedsakelig i vestlig retning. Føring av fisken fant sted kl 12.



Figur 2. Posisjon for innsamling av sedimentprøver.



Figur 3. Posisjon til sedimentfeller og blåskjellprøver.

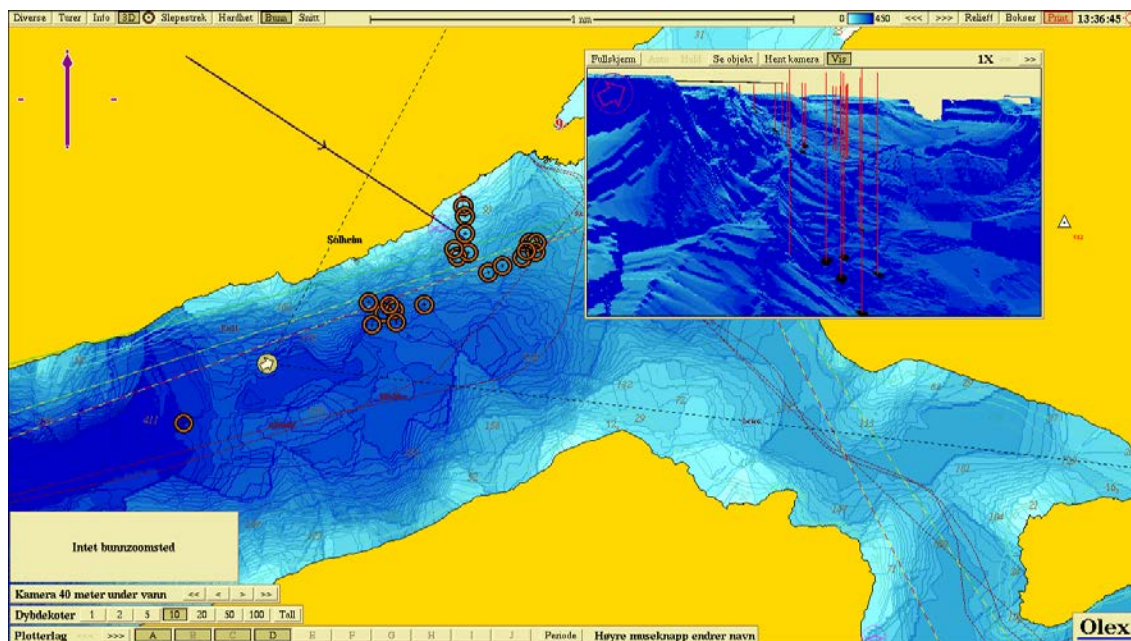
Innsamling av villfauna

Krepsdyr

Første innsamling av krepsdyr ble gjennomført i perioden 8. til 12. februar med 4 reketeiner (Nova Scotia type), 3 reketeiner fra HI, og 10 krepseteiner fordelt på 2 lenker. To reketeiner (NS) og 1 reketeine (HI) ble satt på 320 til 350 m dyp sørvest for sjøanlegget, mens krepseteinerne og resten av reketeine ble satt på 200 til 230 m sørøst for anlegget. Det ble fisket i alt 3 netter. De aktuelle områdene er gitt på kopi av Olexkartet, Figur 4. Fangstene var svært små, og totalfangsten er gitt i Tabell 1.

Tabell 1. Fangst i reke – og krepseteiner ved sjøanlegg på Solheim, Masfjorden, Hordaland, februar 2012.

Dato	Dypvannsreke	Trollhummer	Sjøkreps	Svarthå	Brosme	Slimål
10.02.2012	5	7	2	5	2	1
11.02.2012	3	4	3		3	2
12.02.2012	5		3	1		
Totalt	13	11	7	6	5	3



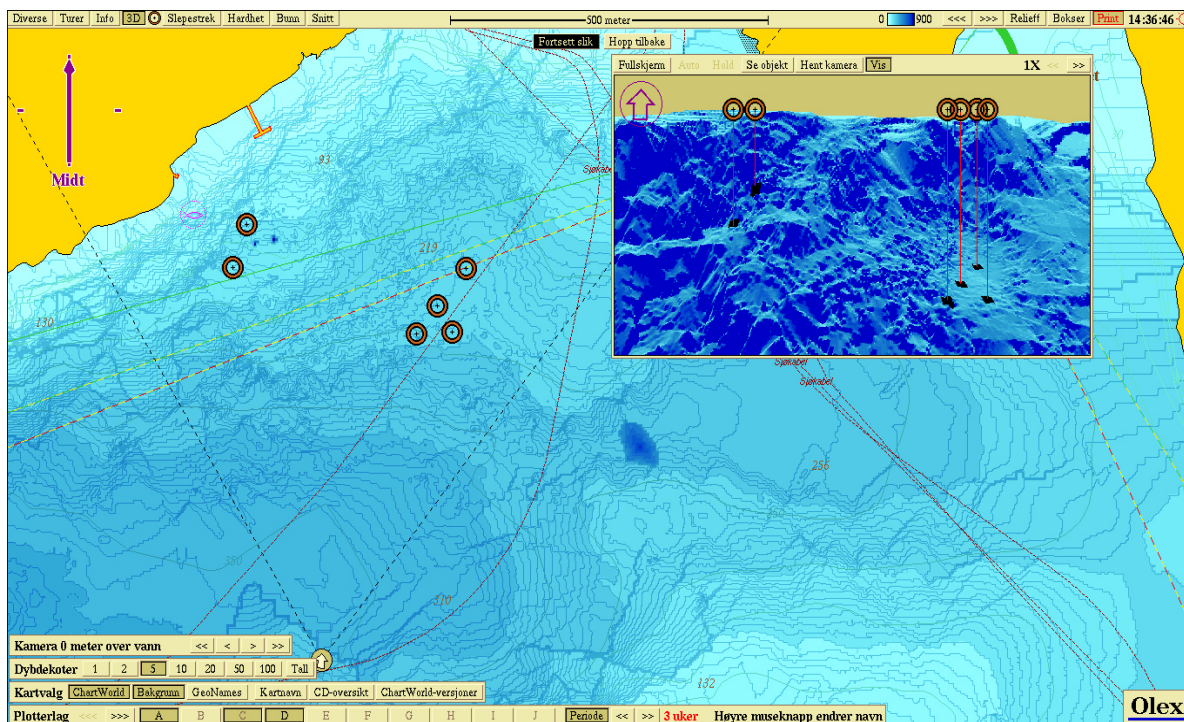
Figur 4. Bunnkonturer og 3D modell av prøve og fiskeområdene ved sjøanlegg på Solheim, Masfjorden, februar 2012. Stasjonene er markert med rød sirkler og streker. Det østlige området ligger på ca. 200 m dyp, mens det vestlige ligger på 300 – 350 m.

Andre innsamling ble gjennomført 29. mai til 1. juni i samme områdene rundt anlegget og ved to referansestasjoner (Matresfjorden og Hauglandsvågen). Fangsten ved anlegget var liten, 3 trollhummer, 1 slimål og 3 brosmer mens det fra de to referansestasjonene ble fanget totalt 12 sjøkreps.

Tredje innsamling ble gjennomført i perioden 30. september til 7. oktober. Det var ønskelig å sette ut teiner så nært anlegget som mulig. Det ble derfor brukt tid på å få bedre topografisk kart i nærområdet opp mot sjøanlegget som grunnlag for setting av teiner. Detaljert rapport om forøyingene til anlegget (Matre havbruksstasjonen) ble lagt til grunn og aktuelle fiskeområder identifisert. Som vist på Figur 5 går det en forholdsvis slak skråning – hylle sørvestover fra enden av anlegget. Innerst er dypet på ca. 110 m og går nedover til ca. 170 m, hvor det videre går stupbratt ned mot bunnen i fjorden. På denne ryggen var det også felt med forholdsvis bløt bunn (hardhet 20 – 30 %). Dette området ble kalt ”Indre lokalitet”. Det andre fiskeområdet ligger sydøst for anlegget og her ble det også fisket både i februar og litt i juni. Denne lokaliteten er her kalt ”Ytre lokalitet”. Den representerer en slags ”sidedal” til hovedfjorden med dyp svakt skrånende fra 190 nedover til ca. 250 m hvor det går bratt ned til fjordbunnen. Hardhet på bunnen i dette området varierte fra 5 - 30 %.

Tabell 2. Fangst i reke – og krepseteiner ved sjøanlegg på Solheim, oktober 2012..

Lokalitet	Dypvannsreke	Trollhummer	Sjøkreps	Svarthå	Brosme	Slimål
”Indre område”	1	3			4	
”Ytre område”	9	13	21	1	11	
Totalt	10	16	21	1	15	



Figur 5. Bunnkonturer og 3D modell av prøve og fiskeområdene ved sjøanlegget på Solheim, Masfjorden, oktober 2012. Stasjonene er markert med røde sirkler og streker. Kamera er plassert rett sør for anlegget og er markert som sirkel med pil.

Villfisk

Villfisk ble fanget i garn og teiner på varierende dyp og i en avstand fra 100 til 300 m fra anlegget.

Til sammen er det undersøkt 374 prøver av villfaunaorganismer innhentet i varierende avstand fra anlegget som behandlet med teflubenzuron. Prøvene er tatt i tre omganger, fra 6. til 17. februar (134 prøver/28 arter), 29. mai til 1. juni (38 prøver/fem arter) og i perioden 30. september til 10. oktober (202 prøver/24 arter).

I prøvematerialet var det to arter av leddormer, tre arter av bløtdyr, fem arter av krepsdyr og 25 arter av fisk.

Resultater og diskusjon

Sedimentprøver

De fleste sedimentprøvene tatt rundt anlegget (Hugg 2 - 5) i første innsamling (8. februar) inneholdt rester av teflubenzuron, mens ingen av prøvene tatt fra 100 til 800 m hadde påvisbare mengder (Tabell 3). Deteksjonsgrensen for analysemetoden som ble brukt var 50 ng/g. Disse prøvene, bortsett fra Hugg 5, hadde et høyere nivå av medisinrester enn registrert i tidligere undersøkelser (Klif rapport 1086/2011, Selvik et al 2001). Også prøvene tatt ved andre (10. mai) og tredje innsamling (11. oktober) inneholdt rester av teflubenzuron. Konsentrasjonen i prøvene fra 10. mai varierte fra 2,4 til 38,2 µg/g våtvekt, altså tilnærmet likt det som ble funnet i februar mens konsentrasjonen i prøvene tatt 11. oktober var

betydelig lavere og varierte fra 0,5 til 16,4 µg/g våtvekt. Anlegget har ligget brakk siden mai og det organiske innholdet i sedimentprøvene tatt i oktober var mindre enn i februar og mai. Tidligere forsøk har vist at teflubenzuron er svært stabilt i organiske sediment og nedbrytning og resuspensjon av organisk materiale kan derfor være med og forklare nedgangen i konsentrasjonen av legemiddel fra mai til oktober. Konsentrasjonene er likevel i hele perioden høyere i flere enkeltmålinger enn den anbefalte Environmental Quality Standard (EQS) verdien på 10 µg/g (tørrvekt) satt av Scottish Environmental protection Agency (SEPA) og gjengitt i Klif-rapporten.

Tabell 3. Innhold av medisinerester i sedimentprøver. Der det var nok prøvemateriale ble paralleller fra samme prøve analysert og merket med nummer og nummer +A.

Prøve navn	Konsentrasjon i µg/g våtvekt (ppm)
Hugg 1	Mindre enn LOD
Hugg 1A	Mindre enn LOD
Hugg 2	40,6
Hugg 3	15,2
Hugg 3A	18,0
Hugg 4	1,1
Hugg 4A	9,9
Hugg 5	0,2
Hugg 5A	0,2
Hugg 6	mindre enn LOD
Hugg 6A	mindre enn LOD
Hugg 7	mindre enn LOD
Hugg 7A	mindre enn LOD
Hugg 7*	mindre enn LOD
Hugg 8	mindre enn LOD
Hugg 8A	mindre enn LOD

* = brunt organisk lag på toppen av et leiresediment. LOD = Limit Of Detection.

Mens spredningen, basert på grabbprøver av bunnsediment (Tabell 3) er liten, viser prøvene fra sedimentfellene at spredningen av medisinholdig organisk materiale kan detekteres også 1000 m fra anlegget (Tabell 4). Sedimentfellene har et areal på 78,5 cm² og dermed vil en prøve som for eksempel inneholder 0,95 µg tilsvare en tilført mengde av legemiddel på 121 µg/m² per uke.

Blåskjellprøvene (Tabell 5) bekrefter bare delvis resultatene fra sedimentfellene. Blåskjell tar opp partikulært materiale og resultatene viser at det er mulig å detektere spredning av medisinholdige partikler 100 m fra anlegget på begge dyp og ved selve anlegget. Ved en avstand på 500 og 1000 m fra anlegget var det ikke mulig å finne medisinerester i skjellene på noen av dypene. Tettheten av medisinholdige svevepartikler i vannet ved stasjonene 500 og 1000 m har derfor ikke vært stor nok til å gi prøver med påvisbart innhold.

Tabell 4. Konsentrasjon av teflubenzuron i organisk materiale samlet i sedimentfellene. I fellene ved anlegget var sedimentasjonen stor slik at resultatene kunne oppgis i $\mu\text{g/g}$ sediment (våtvekt) mens mengden i de resterende fellene var så liten at de var vanskelige å veie men ble estimert til omkring 30 -100 mg organisk materiale per felle og der 100 m-prøvene inneholdt mest materiale.

	08.02.12	16.02.12	23.02.12
Anlegg			
Topp	1850 $\mu\text{g/g}$	2396,5 $\mu\text{g/g}$	2,9 $\mu\text{g/g}$
Bunn	295 $\mu\text{g/g}$	942 $\mu\text{g/g}$	2,2 $\mu\text{g/g}$
100 m			
Topp	19,8 μg	63,4 μg	4,9 μg
Bunn	15,8 μg	47,0 μg	3,8 μg
500 m			
Topp	0,15 μg	0,95 μg	0,43 μg
Bunn	0,09 μg	0,96 μg	2,46 μg
1000 m			
Topp	0,23 μg	0,85 μg	0,65 $\mu\text{g/g}$
Bunn	0,16 μg	0,26 μg	0,39 μg

Tabell 5. Konsentrasjon av teflubenzuron i blåskjellprøver plassert i ulike avstander fra anlegget. Prøvene er tatt 10 m fra bunnen og 50 m fra overflaten

Avstand fra anlegget (m)	Avstand (m)	Konsentrasjon i ng/g
0	10	72,6
0	50	30,1
100	10	6,9
100	50	18,6
500 og 100	10	0
500 og 100	50	0

Under og i en periode etter medisinerings tilføres sedimentet teflubenzuron bundet til organiske partikler. Konsentrasjonen var høyest like under anlegget men små mengder spres med strømmen over et betydelig større område. Dette bekrefter konklusjonen fra Klif-rapporten om at flubenzuron spres med partikulært materiale.

På 50 m dyp viste strømmålerne at strømmen gikk hovedsakelig ut fjorden men var veldig svak. Ved anlegget er retningen sørlig dvs ut fra land men går mot land igjen ved stasjonen 500 m fra anlegget og videre ut fra land ved 1000 m (Se Figurer i Appendix).

Vannprøver

Som resultatene viser (Tabell 6), var det svært små konsentrasjoner i vannprøvene og liten variasjon over tid. Dette tyder på at den vannløselige fraksjonen av utslippet er liten og at størsteparten av legemiddelet er partikkelbundet. Vi var derfor ikke i stand til å verifisere resultatene fra Klif-rapporten som registrerte konsentrasjoner i vannprøver på opp mot 300 ng/L. Alle målingene i denne undersøkelsen var under EQS verdien for teflubenzuron i vann på 6 ng/L (Referert i Klif-rapporten).

Tabell 6. Konsentrasjonen av teflubenzuron i vannprøver tatt 8 februar ved anlegget.

Prøve	konsentrasjon i ng/L
10 m kl 11.15	0,5 ng/L
20 m	1,7 ng/L
50 m	0,5 ng/L
10 m kl 13.15	0,8 ng/L
20 m	0,2 ng/L
50 m	0,8 ng/L
10 m kl 15.00	0,8 ng/L
20 m	0,8 ng/L
50 m	2,1 ng/L
10 m kl 16.00	2,2 ng/L
20 m	1,2 ng/L
50 m	0,7 ng/L

Prøver av villfauna

Resultater for bestemmelser av teflubenzuron i prøver av villfauna innhentet i behandlingsperioden (første innsamling) ved Solheim, Masfjorden, er presentert i Tabell 7. Resultatene viser at stoffet kunne påvises i konsentrasjoner over LOD (5 ng/g) i totalt 71 av 134 (53 %) undersøkte enkeltprøver, fordelt på 24 av 28 de undersøkte arter. Dersom en ser bort fra børstemark, var høyeste påviste enkeltkonsentrasjon på 1 354,4 ng/g våtvekt i en prøve av sei. Denne verdien er mer enn det doble av MRL verdien som gjelder for laksefisk. ADI verdier beskriver akseptabelt daglig inntak av fremmedstoffer. For teflubenzuron har EU (EMEA) satt en ADI verdi på 0,01 mg/kg kroppsvekt/dag. For å komme over ADI verdien vil en person på 60 kg, måtte spise over 443 g sei med en konsentrasjon av stoffet på 1354,4 ng/g i løpet av et døgn. Dette er under forutsetning av at denne seien var eneste kilde for teflubenzuron. Imidlertid er teflubenzuron også i bruk som insektmiddel i landbruket, der gjeldende MRL verdi for ulike vegetabilier varierer fra 200 til 1 000 ng/g, og nylig foreslåtte MRL verdier for slike produkter varierer fra 500 til 1 500 ng/g (EFSA, 2012). Det er overveiende sannsynlig at landbruksprodukter bidrar til matvarebåren eksponering for teflubenzuron. Selv om konsum av sei i et volum som ville gi teflubenzuron i verdier over ADI verdien er å anse som uvanlig, er enhver utilsiktet forekomst av legemidler i sjømatorganismer som ikke er under behandling uheldig. Hensiktsmessige tiltak for å hindre at sjømatorganismer med restkonsentrasjoner blir konsumert bør derfor vurderes.

Hos krepsdyr hadde prøver av brunmat fire til 13 ganger høyere konsentrasjon av teflubenzuron sammenlignet med klokjøtt fra samme individ.

Resultatene viser at enkeltindivider av sei, reke, sjøkreps og trollkrabbe inneholder så høye konsentrasjoner av medikamentet at det er sannsynlig at disse har konsumert medisinholdige pellets eller fekalier. Den høye konsentrasjonen i børstemark gjenspeiler at disse lever i og av sediment som inneholdt medisinrester. I majoriteten av prøvene (Tabell 7) er konsentrasjonene små men siden det er et fåtall av prøvene som er uten påvisbare rester er spredningen til villfauna betydelig. Konsum av kontaminerte skalldyr, børstemark og eventuelt zooplankton er trolig årsaken til mange av fiskeprøvene med innhold av teflubenzuron. Hyse hadde høyere konsentrasjoner enn andre fiskearter, bortsett fra sei, noe som kan gjenspeile at en del av dietten består av børstemark.

Prøver av pelagiske arter med innhold av teflubenzuron, som sild og hestemakrell som er planktonspisere, indikerer konsum av medisinholdig plankton eller inntak direkte av medisinholdige svevepartikler. Konsentrasjonene som er funnet i villfauna i denne undersøkelsen er for flere arter høyere enn funnene rapportert i Klif-Rapporten (no. 1086/2011).

Andre innsamling (Tabell 8) viser at konsentrasjonen i børstemark er meget høy men siden alle individene var levende ser det ikke ut til at teflubenzuron er spesielt toksisk for børstemark. Sjøkrepsene som ble analysert var fra to referanseområder og skulle derfor ikke inneholde teflubenzuron, noe som også var tilfelle. Trollhummer fanget ved anlegget inneholdt bare små mengder mens prøvene av brosme og slimål var negative.

Tredje innsamling (Tabell 9) viser en nedgang i konsentrasjonen i børstemark som kan ha sammenheng med reduserte konsentrasjoner i sedimentet. Fremdeles er det detekterbare mengder av teflubenzuron i alle arter av krepsdyr selv om konsentrasjonene er betydelig reduserte i forhold til første prøvetaking.

Et større antall prøver fra mange ulike fiskearter ble analysert uten at det ble påvist rester av teflubenzuron.

Unntatt for vannprøvene, har våre analyser påvist noe høyere konsentrasjoner i både biota og abiota sammenlignet med Klif-rapporten.

Tabell 7. Resultater for 134 bestemmelser av prøver av villfauna innhentet i behandlingsperioden ved Solheim, Masfjorden, Hordaland, februar 2012. Prøver under LOD er satt til 0 ng/g i tabellen.

Antall prøver	Art	Medianverdi ng/g	Snitt-kons. ng/g	Høyeste kons. ng/g	Prøver under LOD (5 ng/g)
1	Kongsnegl (<i>Buccinum undatum</i>), u/skall	0	0	0	1
1	Kamskjell (<i>Pectinidae</i>), u/skall	597,1	597,1	597,1	0
8	Blåskjell (<i>Mytilus edulis</i>), u/skall	3,5	16,5	72,4	4
1	Påfuglmark (<i>Sabella</i> sp.)	170,6	170,6	170,6	0
2	Børstemark (klasse Polychaeta)	827,1	827,1	1247,9	0
12	Reker (<i>Pandalus borealis</i>) hvitmat u/skall	3,2	24,6	200,4	7
5	Trollhummer (<i>Munida</i> sp.) hel u/skall	27,7	101,1	393,4	2
5	Sjøkreps (<i>Nephrops norvegicus</i>) klokjøtt	22,6	23,4	57,2	2
5	Sjøkreps (<i>Nephrops norvegicus</i>) brunmat	55,8	98,9	319,2	0
1	Trollkrabbe (<i>Lithodes maja</i>) klokjøtt	62,1	62,1	62,1	0
1	Trollkrabbe (<i>Lithodes maja</i>) brunmat	864,6	864,6	864,6	0
3	Slimål (<i>Myxine glutinosa</i>)	0	0	0	3
3	Havmus (<i>Chimera monstrosa</i>)	9,2	8,6	10,4	0
3	Svarthå (<i>Etmopterus spinax</i>)	0	6,8	20,5	2
3	Pigghå (<i>Squalus acanthias</i>)	5,7	26,4	69,0	1
15	Lyr (<i>Pollachius pollachius</i>)	4,0	13,1	76,6	8
20	Sei (<i>Pollachius virens</i>)	6,8	149,2	1354,4	8
15	Hyse (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	8,0	30,0	157,9	5
3	Lange (<i>Molva molva</i>)	1,6	1,2	1,9	3
1	Kolmule (<i>Micromesistius poutassou</i>)	14,1	14,1	14,1	0
4	Brosme (<i>Brosme brosme</i>)	3,2	3,2	6,5	2
1	Hvitting (<i>Merlangius merlangus</i>)	38,4	38,4	38,4	0
10	Torsk (<i>Gadus morhua</i>)	2,0	6,1	34,4	8
1	Sypike (<i>Trisopterus minutus</i>)	22,5	22,5	22,5	0
2	Rødspette (<i>Pleuronectes platessa</i>)	3,7	3,7		2
1	Skрубbe (<i>Platichthys flesus</i>)	1,6	1,6	6,1	1
1	Laks (<i>Salmo salar</i>)	0	0	0	1
2	Sild (<i>Clupea harengus</i>)	4,6	4,6	5,4	1
3	Hestmakrell (<i>Trachurus trachurus</i>)	13,6	15,4	31,7	1
1	Berggyllt (<i>Labrus bergylta</i>)	0	0	0	1
134					63/134

Tabell 8. Resultater for 36 bestemmelser av prøver av villfauna innhentet 10 mai (børstemark) og i perioden 29 mai til 1. juni, noe som tilsvarer mellom 92 og 113 dager etter avsluttet behandling. Prøvene av trollhummer og brosme er fra anlegget mens prøvene av sjøkreps er hentet fra 2 kontrollstasjoner i Matresfjorden og Hauglandsvågen. Prøver under LOD er satt til 0 ng/g i tabellen.

Antall prøver	Art	Medianverdi ng/g	Snittkons. ng/g	Høyeste kons. ng/g	Prøver under LOD (5 ng/g)
7	Børstemark (klasse Polychaeta)	3 935,1	4 479,0	8 353,0	0
12	Sjøkreps (Nephrops norvegicus) klokjøtt	0	0	0	12
12	Sjøkreps (Nephrops norvegicus) brunmat	0	0	0	12
3	Trollhummer (Munida) hel	0	2,0	6,0	2
3	Brosme (Brosme brosme)	0	0	0	3
1	Slimål	0	0	0	1
38					30/38

Tabell 9. Resultater for 202 bestemmelser av prøver av villfauna innhentet i perioden 30. september og 14 oktober, noe som tilsvarer mellom 235 og 249 dager etter avsluttet behandling.

Antall prøver	Art	Medianverdi ng/g	Snittkons. ng/g	Høyeste kons. ng/g	Prøver under LOD (5 ng/g)
2	Børstemark (klasse Polychaeata)	1673,0	1673,0*)	2630,0*)	0
10	Reker (<i>Pandalus borealis</i>) hvitmat u/skall	0	7,5	16,1	6
1	Taskekrabbe (<i>Cancer pagurus</i>) klokjøtt	0	0	0	1
1	Taskekrabbe (<i>Cancer pagurus</i>) brunmat	20,6	20,6	20,6	0
16	Trollhummer (<i>Munida</i> sp.) hel u/skall	0	1,3	7,5	12
20	Sjøkreps (<i>Nephrops norvegicus</i>) klokjøtt	0	1,5	2,4	16
20	Sjøkreps (<i>Nephrops norvegicus</i>) brunmat	5,7	12,0	45,2	5
12	Havmus (<i>Chimera monstrosa</i>)	0	0	0	12
4	Svarthå (<i>Etmopterus spinax</i>)	0	0	0	4
1	Hågjel (<i>Galeus melastomus</i>)	0	0	0	1
2	Blåstål (<i>Labrus bimaculatus</i>)	0	0	0	2
3	Blålange (<i>Molva dipterygia</i>)	0	0	0	3
14	Lyr (<i>Pollachius pollachius</i>)	0	0	0	14
13	Sei (<i>Pollachius virens</i>)	0	0	0	13
23	Hyse (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	0	0	0	23
39	Brosme (<i>Brosme brosme</i>)	0	0	0	39
1	Lysning (<i>Merluccius merluccius</i>)	0	0	0	1
3	Torsk (<i>Gadus morhua</i>)	0	0	0	3
3	Sypike (<i>Trisopterus minutus</i>)	0	0	0	3
1	Rødspette (<i>Pleuronectes platessa</i>)	0	0	0	1
4	Skrubbe (<i>Platichthys flesus</i>)	0	0	0	4
1	Lomre (<i>Microstomus kitt</i>)	0	0	0	1
1	Sild (<i>Clupea harengus</i>)	0	0	0	1
2	Makrell (<i>Scomber scombrus</i>)	0	0	0	2
4	Hestmakrell (<i>Trachurus trachurus</i>)	0	0	0	4
1	Berggylt (<i>Labrus bergylta</i>)	0	0	0	1
202					172/202

*) Konsentrasjonene for børstemark ved analyse ved denne prøvetakningen er basert på tørrvekt, og regnet om til våtvekt i tabellen her. Det er estimert et tørrstoffinnhold på 10 %. Alle andre verdier i tabellen er innveid i våt tilstand. Prøver under LOD er satt til 0 ng/g i tabellen.

Effekt på hummeryngel

Bakgrunn

Det er lite data tilgjengelig om effekten av oralt administrerte lusemidler på viktige non-target arter av krepsdyr som krabber, sjøkreps, reker og hummer. I dette prosjektet ønsket vi derfor å studere mulige effekter ved å administrere teflubenzuron i kjente doser til hummeryngel. Hummeryngel ble valgt som modellorganisme siden kunnskapen om denne arten var størst i forhold til appetitt, overlevelse og skallskiftefrekvens i fangenskap. Ved å bestemme mengden av medikamentet i alle døde hummer og de første som overlevde skallskifte var målet å få kunnskap om hvilke konsentrasjonsområde som kan gi overlevelse.

Siden kitinsyntesehemmere har effekt ved skallskifte, er det viktig å ha kunnskap om hvor mye av medikamentet som tas opp og hvor fort medikamentet skiller ut. Data om opptak og utskilling av medikamenter er også viktige faktorer i forhold til mattrygghet.

Opptak og utskilling

Teflubenzuron ble administrert oralt via fôr i en dose på ca 20 µg/g til 42 hummeryngel. Det ble tatt 6 prøver av hummeryngel på dag 1, 3, 6, 10, 15 og 20 etter medisinerings og som ble analysert for medisinrester. Basert på disse resultatene ble det regnet ut en halveringstid for teflubenzuron i hummer og en gjennomsnitts maksimumskonsentrasjon ved inntak av den bestemte dosen. Individ som ikke hadde spist opp maten ble ekskludert fra studiet.

Eksponeringsforsøk

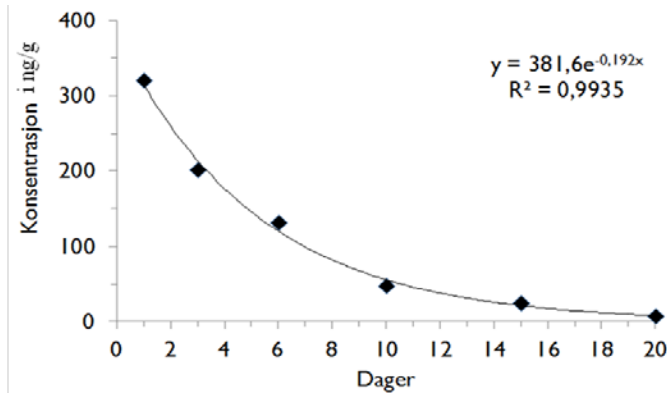
Det ble brukt 8 grupper, hver på 40 hummer (totalt 320) i eksponeringsforsøket. To grupper fikk vanlig fôr uten medisin (kontrollgrupper) mens tre grupper fikk en dose på 10 µg/g og tre grupper fikk en dose på 20 µg/g daglig i syv dager. Etter medisinerings ble yngelen føret på vanlig måte. Generell mortalitet, mortalitet ved skallskifte, skallskiftefrekvens, unormalt skallskifte og vekst ble registrert. Studiet varte til alle individene hadde skiftet skall. Alle dyr som døde i forbindelse med skallskifte og de 6 første dyrene med vellykket skallskifte fra begge doser ble analysert for medisinrester.

Prøver av ytterlige 6 hummer fra hver dosering ble tatt en dag etter avsluttet medisinerings og analysert for medisinrester.

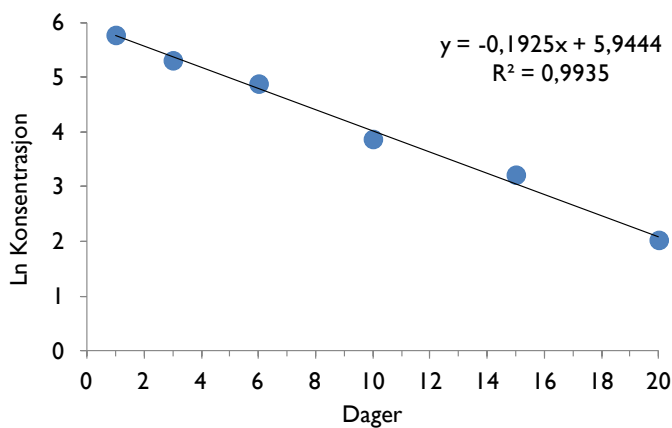
Resultater og diskusjon

Opptak og utskilling

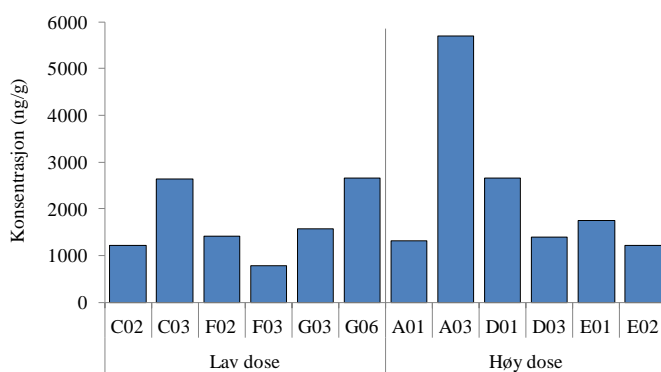
Ved å bruke et semi-logaritmisk plot kan en bestemme både eliminasjonshastighet (halveringstid) og konsentrasjonen (C_0) av medikamentet ved t_0 . I dette studiet ble det beregnet en halveringstid på 3.6 døgn og ved konsum av en dose på 20 $\mu\text{g/g}$ oppnås en gjennomsnitt C_0 verdi på 382 ng/g .



Figur 6 viser snittkonsentrasjonen av teflubenzuron i hummeryngel over tid ($n=6$).



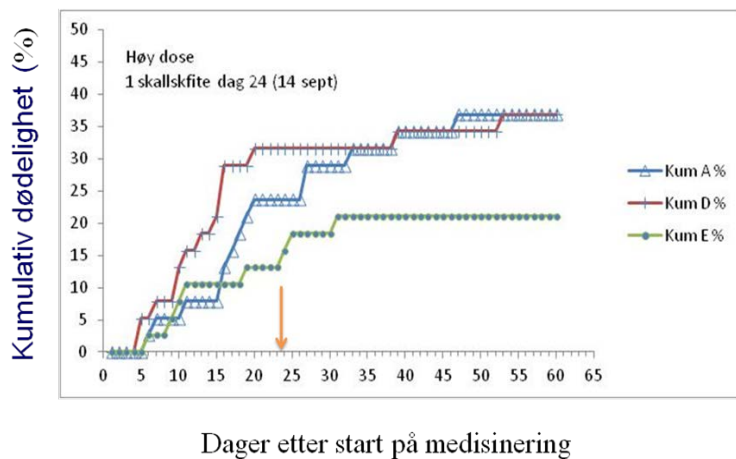
Figur 7. Plot av ln konsentrasjon av teflubenzuron mot tid ($n=6$).



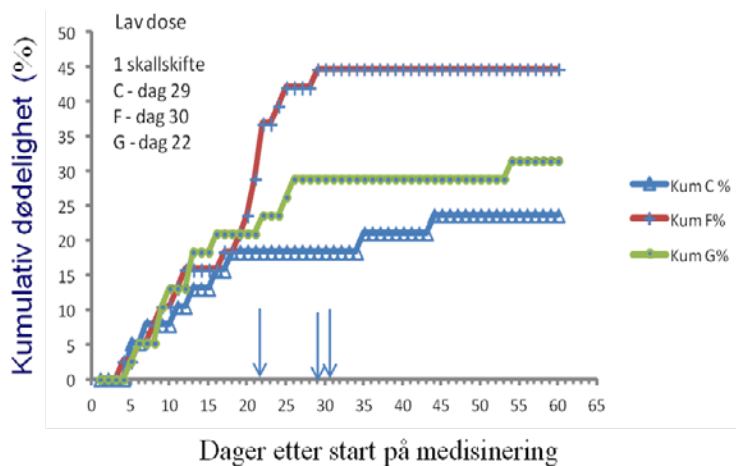
Figur 8. Konsentrasjon av medikamentet i 6 hummer fra hver dose en dag etter avsluttet medisinerings.

En dag etter avsluttet medisinerings ble det tatt 6 prøver fra hver dosering som ble analysert for medisinrester (Figur 8). Figuren viser at, ved å ekskludere prøve A03, var det ingen signifikant forskjell i snittkonsentrasjonen mellom gruppene. Stor variasjon i forsøk som dette der en er avhengig av individenes appetitt over tid og ikke har full kontroll med inntaket er derimot ikke uvanlig. Mangelen på signifikant forskjell mellom gruppene kan også være en medvirkende årsak til at det var liten forskjell i dødeligheten mellom dosene (se neste avsnitt).

Dødelighet ved skallskifte



Figur 9. Kumulativ dødelighet etter 7 dagers medisinerings med 20 µg/g. I alle tre gruppene (A, D, E) ble første vellykkede skallskifte registrert på dag 24.

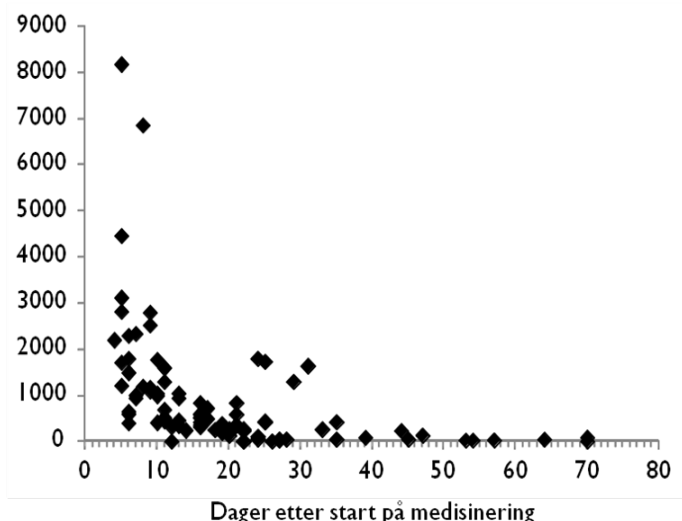


Figur 10. Kumulativ dødelighet etter 7 dagers medisinerings med 10 µg/g. Første vellykkede skallskifte var dag 22 i gruppe G, dag 29 i gruppe C og dag 30 i gruppe F.

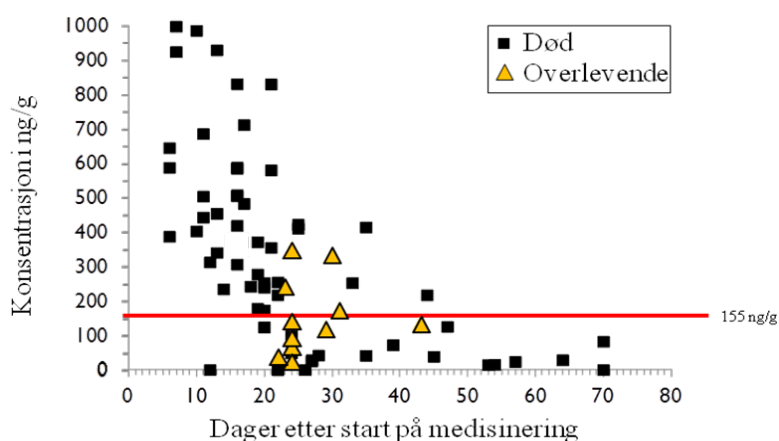
Som en ser av figurene 9 og 10 er det noe variasjon i dødeligheten mellom gruppene mens gruppe F var høyest med 45 %. Det var derimot ingen signifikant forskjell i dødelighet mellom høy og lav dose (snittverdi mellom de tre gruppene). Det ble ikke registrert dødelighet i forbindelse med skallskifte i noen av kontrollgruppene.

Figur 11 viser konsentrasjonen av teflubenzuron i alle individene som døde i forbindelse med skallskifte.

Figur 12 viser at enkeltindivider overlevde skallskifte med en høy konsentrasjon av teflubenzuron, der 7 av 12 individer hadde konsentrasjoner over 100 ng/g og opp til 350 ng/g mens andre individer døde ved konsentrasjoner som var betydelig lavere, ned til 14,3 ng/g. Den store variasjonen gjør det derfor vanskelig å kunne angi en grenseverdi/grenseområde for effekt/ikke effekt.



Figur 11. Konsentrasjon av teflubenzuron i alle individene som døde i forbindelse med skallskifte.



Figur 12. Konsentrasjon av teflubenzuron i de første 2 individene fra hver gruppe som overlevde skallskifte. Gjennomsnittskonsentrasjonen i de første 12 overlevende individene var 152 ng/g.

De høyeste konsentrasjonene av teflubenzuron ble bare funnet i sedimentprøver tett ved anlegget så sjansen for at krepsdyr kan bli eksponert for store doser teflubenzuron i form av forspill og store fekalier vil sannsynligvis være begrenset til et mindre område rundt anlegget. Spredningen av medisinholdige lettere partikler var derimot stor og siden flubenzuron er meget stabile i organiske sedimenter kan en ikke se bort fra at krepsdyr i et visst område rundt anlegget kan bli eksponert for små doser legemiddel over lengre tid.

Første innsamling (Tabell 7) viser at enkeltindivider av både reker og trollhummer (muskel) og brunmat av sjøkreps og trollkrabbe inneholder høye konsentrasjoner av medisinrester. Disse konsentrasjonene ville sannsynligvis gi effekt ved et umiddelbart forestående skallskifte. Imidlertid, dersom en forutsetter at det ikke er stor forskjell på eliminasjonshastighet av medikamentet mellom ulike arter av krepsdyr vil konsentrasjonen i løpet av to uker være redusert med over 90 % dersom individet ikke eksponeres ytterligere. Videre må også skallskiftet frekvens tas med i betraktningen og som kan være mer enn 1 år for eldre individer av for eksempel hummer og sjøkreps. Det er imidlertid overraskende at en finner dødelighet i hummeryngel så lenge som 50-70 dager etter medisineringsen (Figur 12) og der konsentrasjonene av legemiddel i disse er veldig små. I syv av individene var konsentrasjon mindre enn 30 ng/g og med laveste konsentrasjon på 14,3 ng/g. I Tabell 9 finnes tilsvarende

konsentrasjoner i både reke, taskekrabbe og sjøkreps (brunmat) og som indikerer en kronisk eksponering for små doser teflubenzuron over lengre tid. Det finnes ingen data om effekten av kronisk langtidseksponering for små doser teflubenzuron på de artene av krepsdyr som er undersøkt i denne studien og for hummeryngel.

Seinskader

Ved avslutning av eksperimentet 23. november 2011 ble det registrert at en del av den overlevende yngelen hadde utviklet deformiteter. Dette ble ikke observert blant kontroll yngelen, og vi konkluderte dermed at dette er seinskader som er oppstått som følge av inntak av teflubenzuron. Seinskadene varierte fra deformert klo (ofte knusekloen) til stive gangbein og antenner (Tabell 5, Figur 12). Noen dyr hadde utviklet flere typer seinskader som for eksempel både manglende halevifte og stive gangbein. Totalt var det 13 yngel fra lavdose eksponeringen og 14 yngel fra høydose eksponering som hadde utviklet en eller flere typer seinskader. Total dødelighet registrert ved avslutning varierte fra 26,5 til 50,0 % for lav dose og fra 25,0 til 44,1 % for høy dose (Figur 13). Blant overlevende hummeryngel i kar F hvor dødeligheten var høyest ble det ikke registrert deformiteter. I karene med lav dødelighet (Kar C og E) ble det derimot funnet vesentlig høyere andel yngel med deformiteter. Total dødelighet var i snitt 37,2 % (doser slått sammen) og andel seinskader var i snitt 17 %. Dette medfører at den totale effekten av teflubenzuron på hummeryngel var ca. 50 %, i løpet av eksperiment perioden på 70 dager.

Tabell 5. Oppsummering av type seinskader (deformiteter) observert ved avslutning 23. september 2011 (dag 63). Noen hummeryngel hadde flere typer seinskader. Ingen kontroll yngel hadde utviklet disse typer seinskader.

Type seinskade	Lav dose	Høy dose
Stive antenner	2	2
Deformert klo	2	2
Stive gangbein	2	5
Minst ene haleviften mangler	5	4
Abdomen med unormal knekk	3	3
Carapax oppblåst/oppvulmet	3	4
	13	14



Stive antenner



Forkalkede gangbein

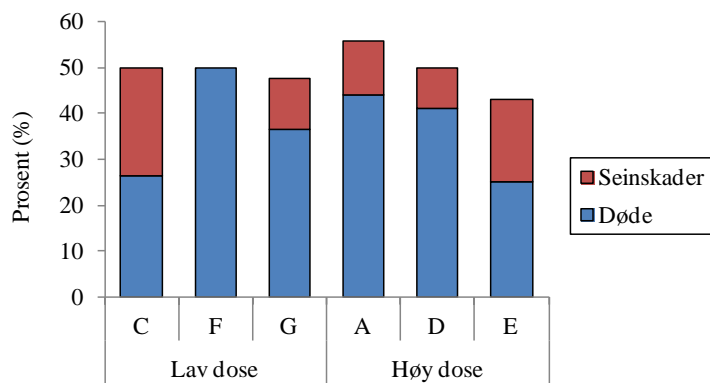


Deformert klo



Åpne gjeller

Figur 12. Eksempler på observerte senskader.



Figur 13. Prosent dødelighet ved avsluttet eksperiment 23. september (dag 63) i de ulike kar gitt lav og høy dose teflubenzuron i føret. Prosent av overlevende yngel som hadde utviklet seinskader er også angitt for hvert kar og for hver dose.

Rester av lusemidler i oppdrettsfisk

I hele rapporteringsperioden er det undersøkt 80 enkeltprøver av oppdrettslaks for rester av diflubenzuron eller teflubenzuron. Diflu- og teflubenzuron har MRL verdier for muskel med skinn hos laksefisk på h.h.v. 1000 ng/g (ppb) og 500 ng/g. For å sikre at behandlet fisk ikke har konsentrasjoner over etablerte MRL verdier, er det innført en tilbakeholdelsestid. Denne definerer korteste aksepterte tid mellom avsluttet behandling og slakting av fisken. For diflubenzuron er denne på 105 døgngader (vanntemperatur multiplisert med døgñ), mens for teflubenzuron er tilsvarende verdi på 96 døgngader.

I 2010 og i løpet av første halvdel av 2011, ble det tatt ut prøver fra fisk som enten var behandlet med diflu- eller teflubenzuron. Alle prøver ble hentet ved utgangen av tilbakeholdelsestiden, på henholdsvis 105 døgngader for diflubenzuron eller 96 døgngader for teflubenzuron. Fra hver av fiskene ble en prøve bestående av muskel og skinn i naturlige proporsjoner undersøkt, slik gjeldende EU regelverk spesifiserer (Commission Regulation (EU) No 37/2010).

Til sammen 40 prøver fra fire lokaliteter ble undersøkt for diflubenzuron. Av disse var 30 fra laks og 10 fra ørret. Av disse 40 prøvene, hadde 27 en konsentrasjon på under 10,0 ng/g (LOD), 12 en konsentrasjon på mellom 10,0 og 20,0 ng/g, og en var på 20,6 ng/g.

Det ble også tatt ut 10 prøver av laks fra en lokalitet som hadde benyttet teflubenzuron. Alle prøver viste konsentrasjoner under 5,0 ng/g (LOD).

Ved feltforsøket i Matre i februar 2012 ble det torsdag 23 februar tatt prøver av 30 laks fra anlegget fordelt på 10 fisk fra 3 ulike mærer. Temperaturen i sjøen var i den perioden på rundt 7°C og med en tilbakeholdelsestid på 96 døgngader for dette medikamentet (tilsvarende 13.7 døgñ ved 7°C) var tilbakeholdelsestiden akkurat gått ut på tidspunktet for prøvetakingen. Snittkonsentrasjonen for teflubenzuron i disse prøvene var 8,0 ng/g, 14 prøver hadde konsentrasjoner under 5,0 ng/g (LOD) og høyeste enkeltkonsentrasjon var 38,1 ng/g.

Konklusjoner

Basert på undersøkelsene i denne rapporten, er det ikke behov for å anbefale revisjon av tilbakeholdelsestiden, på henholdsvis 105 døgngader for diflubenzuron eller 96 døgngader for teflubenzuron. Disse ser ut til å være tilstrekkelige for å sikre at behandlet fisk har restkonsentrasjoner av flubenzuronene langt under gjeldende MRL verdier. Dette bekrefter funn fra lange analyseserier i tidligere overvåkningsprogrammer for legemidler i oppdrettsfisk.

Resultater for bestemmelser av teflubenzuron i prøver av villfauna ved første prøvetakning (under medisinerings), viste at stoffet kunne påvises i konsentrasjoner over LOD (5 ng/g) i totalt 71 av 134 (53 %) undersøkte enkeltprøver, fordelt på 24 av de 28 undersøkte artene. Dersom en ser bort fra børstemark, var høyeste påviste konsentrasjon på 1 354,4 ng/g våtvekt i en prøve av sei. Det er ikke kjent om også fisk med høyere konsentrasjoner vil kunne opptre. ADI verdier beskriver akseptabelt daglig inntak av fremmedstoffer. For teflubenzuron har EU (EMA) satt en ADI verdi på 0,01 mg/kg kroppsvekt/dag. For å komme over ADI verdien vil en person på 60 kg, måtte spise over 443 g sei med en konsentrasjon av stoffet på 1354,4 ng/g i løpet av et døgn. Dette er under forutsetning av at denne seien var eneste kilde for teflubenzuron. Imidlertid er teflubenzuron også i bruk som insektmiddel i landbruket, der gjeldende MRL verdi for ulike vegetabilier varierer fra 200 til 1 000 ng/g, og nylig foreslåtte MRL verdier for slike produkter varierer fra 500 til 1 500 ng/g (EFSA, 2012). Det er overveiende sannsynlig at landbruksprodukter bidrar til matvarebåren eksponering for teflubenzuron. Selv om konsum av sei i et volum som ville gi teflubenzuron i verdier over ADI vil være å anse som uvanlig, er enhver utilsiktet forekomst av legemidler i sjømatorganismer uheldig. Hensiktsmessige tiltak for å hindre at viltlevende sjømatorganismer med restkonsentrasjoner blir konsumert, bør derfor vurderes.

Ved en tilnærmet lik eliminasjonshastighet av teflubenzuron i sei og laks vil konsentrasjonen i sei med utgangspunkt i den maksimale konsentrasjonen målt i dette studiet være under MRL verdien ca en uke etter eksponering.

Ved siste runde av prøvetakning (mellom 235 og 249 dager etter avsluttet behandling) hadde ingen av fiskeprøvene påvisbart innhold av teflubenzuron. Spredning av teflubenzuron til villfisk i detekterbare mengder via konsumering av børstemark ser derfor ikke ut til å være utbredt.

Konsentrasjonen av teflubenzuron i sedimentprøvene tatt ved anlegget varierte men enkelte prøver hadde høyere konsentrasjoner enn beskrevet av Selvik et al 2002 og i Klif-rapporten. Etter 8 måneder kunne en fremdeles finne teflubenzuron i sedimentprøver tatt ved anlegget men konsentrasjonene var betydelig reduserte. Små mengder teflubenzuron kunne spores opp til 1000m fra anlegget under og like etter medisinerings

På tross av høye konsentrasjoner av teflubenzuron i børstemark var det ikke tegn til utstrakt dødelighet.

Eksperimentell eksponering av hummeryngel for teflubenzuron i konsentrasjoner en kan finne i fekalier og spillfôr gav dødelighet (20 til 45 %) sammenlignet med kontrollgruppen. I tillegg ble det registrert senskader, som deformerte klør, forkalkede gangbein, stive antenne og åpne gjeller, hos overlevende yngel. Totaleffekten (dødelighet + senskader) var i størrelsesorden 50 % i alle grupper av eksponerte hummeryngel. Senskader fra teflubenzuron på hummeryngel er ikke tidligere rapportert. Stor individuell variasjon i toleransen/tålegrensen overfor medikamentet gjør det imidlertid vanskelig å kunne angi en mer nøyaktig grenseverdi/grenseområde for effekt/ikke effekt.

Under forutsetning at følsomheten for teflubenzuron er på samme nivå i andre krepsdyr som i hummeryngel er det sannsynlig at konsentrasjoner som ble målt i enkeltindivider ved første innsamling vil gi effekt ved et forestående skallskifte.

Resultatene indikerer videre at krepsdyr med tilholdssted i nærheten av anlegget eksponeres for mindre mengder teflubenzuron over en lengre tidsperiode. Det er imidlertid vanskelig, basert på den kunnskap som er tilgjengelig, å uttale seg om hvilke effekter de forhold som er beskrevet i rapporten vil ha for krepsdyr som oppholder seg i nærheten av et oppdrettsanlegg som har brukt teflubenzuron.

Det er derfor et behov for å framskaffe ny kunnskap knyttet til langtidseksponering av krepsdyr med lave konsentrasjoner av teflubenzuron og andre oralt administrerte insektisider.

Videre bør lignende undersøkelser som beskrevet i denne rapporten gjennomføres for diflubenzuron og emamektin. Det vil også være interessant å undersøke om størrelsen på anlegg har innvirkning på spredning av lusemidler.

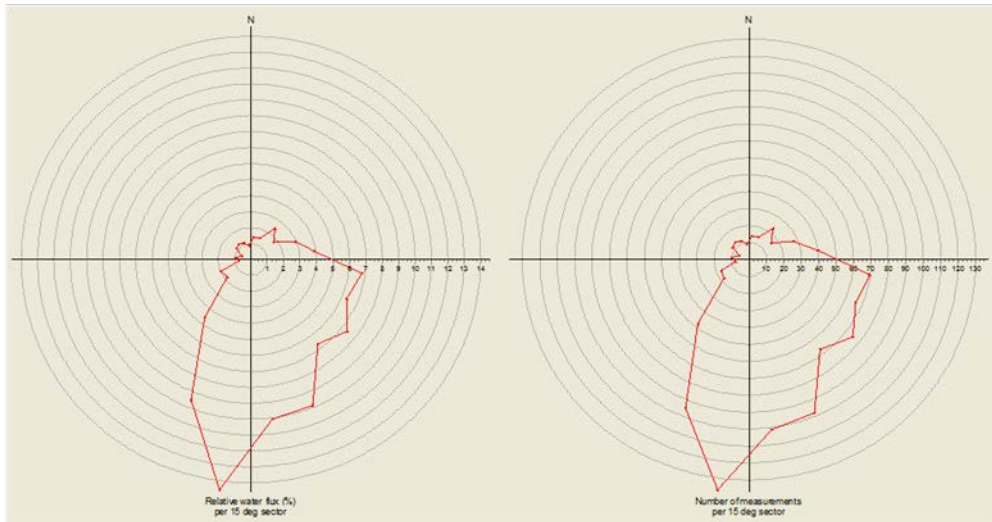
Litteratur

- Commission Regulation (EU) No 37/2010) of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin.
- EFSA, 2012. European Food Safety Authority; Reasoned opinion on the modification of the existing MRLs for teflubenzuron in various fruiting vegetables. EFSA Journal 2012;10(3):2633. [27 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2633. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal
- EMA, 1998. Diflubenzurone, summary report (1), EMA/MRL/486/98-Final, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. <http://www.emea.europa.eu/pdfs/vet/mrls/048698en.pdf>
- EMA, 1997. Teflubenzurone, summary report (1), EMA/MRL/221/97-Final, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- Environmental screening of veterinary medicines used in aquaculture. Rapport nr. 1086/2011. Klima og forurensningsdirektoratet.
- A. Selvik, P. K. Hanssen, A. Ervik and O. B. Samuelsen, 2002, The stability and persistence of Diflubenzuron in marine sediments studied under laboratory conditions and the dispersion to the sediment under a fish farm following medication. *The Science of the Total Environment*, 285, 237-245

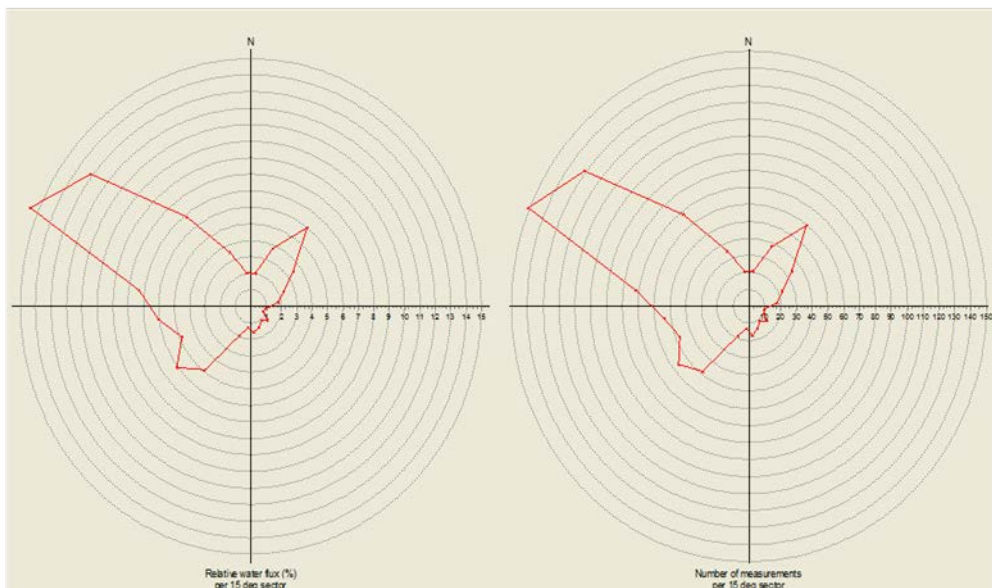
Appendix

Strømstyrke og retning ved 50 m dyp ved sedimentfellene.

Current speed and direction at the fish farm
Mean : 1.0 cm s⁻¹ (less than the detection limit of current meter)
Min 0 cm s⁻¹
Max 3.4 cm s⁻¹



Current speed and direction at 500 m from fish farm
Mean : 1.0 cm s⁻¹ (less than the detection limit of current meter)
Min 0 cm s⁻¹
Max 3.8 cm s⁻¹



Current speed and direction at 1000 m from fish farm
Mean : 0.9 cm s⁻¹ (less than the detection limit of currentmeter)
Min 0 cm s⁻¹
Max 1.8 cm s⁻¹

