

Undersøgelse af forekomst af
antibiotika og kobber i forbindelse
med marin akvakultur i tre amter

Uffe Wilken
Terramare

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

FORORD	3
SAMMENFATNING OG KONKLUSIONER	5
SUMMARY AND CONCLUSIONS	7
1 LITTERATURSØGNING	11
2 BESKRIVELSE OG ANVENDELSE AF STOFFERNE	13
3 UNDERSØGELSESONRÅDER	15
3.1 STORSTRØMS AMT	15
3.2 RINGKJØBING AMT	16
3.3 SØNDERJYLLANDS AMT	17
4 FELTARBEJDE	19
4.1 STORSTRØMS AMT	19
4.2 RINGKJØBING AMT	19
4.3 SØNDERJYLLANDS AMT	20
5 METODER	21
5.1 OXOLINSYRE	21
5.2 TRIMETHOPRIM, SULFADIAZIN	21
5.3 KOBBER	21
6 RESULTATER	23
6.1 OXOLINSYRE	23
6.2 TRIBRISSEN	26
6.3 KOBBER	28
7 DISKUSSION	31
7.1 OXOLINSYRE	31
7.2 TRIMETHOPRIM	33
7.3 SULFADIAZIN	33
7.4 TOKSIKOLOGISKE EFFEKTER AF OXOLINSYRE, TRIMETHOPRIM OG SULFADIAZIN	34
7.5 KOBBER	34
8 KONKLUSION OG PERSPEKTIVERING	37
9 REFERENCER	39

Forord

Storstrøms Amt havde i 1999 syv havbrug. Med den stigende opmærksomhed på både miljøfremmede stoffer og antibiotika ønskede amtet at kende omfanget af spredningen af antibiotika i forbindelse med havbrug. Miljøstyrelsen og Storstrøms Amt finansierede derfor undersøgelsen ”Kortlægning af spredning af antibiotika fra saltvandsbaserede havbrug” (TerraMare, 1999), som gav et første indblik i stoffet oxolinsyres spredning under og omkring et havbrug i Danmark. Resultaterne var interessante, idet de viste et gennemsnitsindhold fra 24 prøver på 5,86 µg/kg. En enkelt prøve havde et indhold på 195 µg/kg. Amtet besluttede i foråret 2000 at følge op på undersøgelsen. Dette blev gjort med rapporten ”Indhold af oxolinsyre og forekomst af antibiotikaresistens i sedimentet under Skalø Havbrug, Storstrøms Amt” (TerraMare, 2000). Der var her indsamlet prøver på tre af de samme positioner, som havde været undersøgt i den første rapport. Resultaterne viste, at indholdet af oxolinsyre var faldet betragteligt, men at stoffet dog stadig kunne findes under og tæt på netburene. Med hensyn til forekomst af antibiotikaresistens var datamaterialet ikke tilstrækkeligt til at kunne drage konklusioner.

Da der fra mange sider var stor interesse for de to rapporter, besluttede Storstrøms Amt, Ringkjøbing Amt og Sønderjyllands Amt at følge op på arbejdet ved at udvide undersøgelserne til at omfatte havbrug og landbaserede saltvandsdambrug i de tre amter. En ansøgning til Miljøstyrelsen om at medfinansiere projektet resulterede i, at undersøgelsen blev udvidet til også at omfatte de to antibiotika trimethoprim og sulfadiazin, og desuden kobber, som anvendes som antibegroningsmiddel på havbrugenes netbure. Nærværende undersøgelse er således finansieret af både Miljøstyrelsen og de tre amter.

Undersøgelsen omfatter en kortlægning af stofferne oxolinsyre, trimethoprim/sulfadiazin (Tribrissen) og kobber i bundsedimenterne under og tæt på fire havbrug, et nedlagt havbrug og et landbaseret saltvandsdambrug. Det har ikke ligget indenfor rammerne af undersøgelsen også at berøre problematikken omkring resistens overfor antibiotika eller at vurdere eventuelle miljømæssige konsekvenser.

Projektet er udført af Uffe Wilken, TerraMare, og der har været afsat to arbejdsuger til opgaven. De tre amter har udført alt feltarbejdet.

Til projektet har endvidere været tilknyttet en referencegruppe bestående af:

Torben Wallach, Miljøstyrelsen (formand)
Uffe Wilken, TerraMare (projektleder)
Karl-Iver Dahl Madsen, DHI Institut for Vand & Miljø
Inger Dalsgaard, Danmarks Fiskeri Undersøgelser
Søren Sørensen, Institut for Generel Mikrobiologi, Københavns Universitet
Sigrid Andersen, Fødevarerdirektoratet
Henning M. Jørgensen, Danmarks Naturfredningsforening
Bent Halling-Sørensen, Danmarks Farmaceutiske Højskole

Morten Brozek, Sønderjyllands Amt
Jane Grooss, Ringkjøbing Amt
John Andersson, Storstrøms Amt

Referencegruppens opgave har været at kommentere udkast og vurdere projektets forløb og resultater.

Sammenfatning og konklusioner

Fra fire havbrug, et landbaseret saltvandsdambrug og en gammel position for et havbrug blev der udtaget prøver i fire intervaller ned i sedimentet. Prøverne blev analyseret for de tre antibiotika oxolinsyre, trimethoprim og sulfadiazin. Endvidere blev der analyseret for kobber, som er aktivstof i antibegroningsmidler. Prøverne er indsamlet i Storstrøms Amt, Ringkjøbing Amt og Sønderjyllands Amt.

For oxolinsyre viste prøverne mellem 5 og 37 gange detektionsgrænsen. Oxolinsyre havde ikke været brugt i 2000 i alle de undersøgte virksomheder, men der var alligevel en signifikant koncentration under brugene. Kombinationsproduktet Tribriksen består af stofferne trimethoprim og sulfadiazin. Selv om produktet har været anvendt på 4 af de undersøgte lokaliteter i år 2000, er der kun fundet indhold af sulfadiazin fra ét havbrug hvor niveauet lå mellem 3 og 16 gange detektionsgrænsen på 5,0 µg/kg vådprøve. Der blev ikke fundet indhold af trimethoprim i de analyserede prøver.

Indholdet af kobber i prøverne fra Storstrøms Amt lå relativt lavt, mens analyseresultaterne for virksomhederne i Sønderjyllands Amt lå relativt højt

Undersøgelsesresultaterne peger i retning af, at tribriksin muligvis er mindre persistent end oxylinsyre.

Med hensyn til kobber-niveauerne bør dette vurderes i forhold til de vilkår, amtet skal fastsætte for det enkelte havbrug eller saltvandsdambrug. Der henvises til bekendtgørelse 921 af 8. oktober 1996 om kvalitetskrav for vandområder og krav til udledning af visse farlige stoffer til vandløb, søer eller havet.

Summary and conclusions

Samples were taken at four marine fish farms, from one landbased saltwater fish farm, and one old marine fish farm site. Samples were taken in four time intervals, down into the sediment. The samples were analysed for three antibiotics: oxolinic acid, trimethoprim and sulphadiazine. Analyses were also made for copper, an active ingredient in antifouling agents. The samples were taken in the regional areas Storstrøms Amt, Ringkjøbing Amt and Sønderjyllands Amt.

For oxolinic acid the samples were between 5 and 37 times above the detection limit. Oxolinic acid had been used in the year 2000 in none of fish farms examined, but still, the concentrations under the farms were significant.

The combination product Tribriksen consists of the substances trimethoprim and sulfadiazine. Although the product has been used in four of the sites investigated in 2000, sulfadiazine was only found at one site, at a level between 3 and 16 times the detection limit of 5.0 µg/kg wet sample.

Trimethoprim was not found in the samples analysed.

The content of copper in the samples taken in Storstrøms Amt was relatively low, while the results of analyses at farms in Sønderjyllands Amt were relatively high.

The results indicate that Tribriksen may be less persistent than oxolinic acid.

As regards the concentrations of copper, they should be seen in relation to the terms stipulated by the regional authorities for individual marine or salt water fish farms. Reference is made to Ministerial Order no. 921 of October 8, 1996, on quality requirements for wetlands and for discharge of certain dangerous substances to watercourses, lakes or the sea.

Indledning

Brug af antibiotika i landbrug og akvakultur har fået større og større opmærksomhed indenfor de sidste få år. Fra sundhedsmyndighederne og offentligheden har opmærksomheden været rettet mod muligheden for udvikling af resistente mikroorganismer i miljøet. Fra miljømyndighederne har man især været bekymret for de økotoxikologiske effekter, som disse miljøfremmede stoffer kan have på biota i vand- og sedimentfaserne.

To undersøgelser har vurderet, at op til betragtelige mængder (70-80 %) af et doseret antibiotikum kan nå miljøet omkring et havbrug (Lunestad, i Michel & Alderman, 1991; Hektoen et al., 1995). Ved landbaserede anlæg bruges ofte slamfældningsbassiner som filtre inden vandet ledes ud i recipienten. Det akkumulerede slam kan derpå samles ind og benyttes som gødning på markerne (Jane Grooss, Ringkjøbing Amt, pers. medd.). Disse forhold bør ses i sammenhæng med, at antibiotika er biologisk meget aktive, at nogle antibiotika er forholdsvis persistente i sedimenter og at især lave koncentrationer synes at fremme resistens (Jørgensen & Halling-Sørensen, 2000).

Danmark havde i 1999 13 saltvandsdambrug og 25 havbrug, der overvejende producerede regnbueørreder (Miljøstyrelsen, 2000). Forbruget fremgår af Tabel 1. Forbruget afhænger bl.a. af vandtemperaturen. I varme somre øges risikoen for sygdomsudbrud, som kræver behandling.

I forbindelse med akvakultur anvendes medicin til at behandle mod bakteriesygdomme. Desuden vaccineres alle fisk inden udsætning. Medicinen ordineres af dyrlæger, og doseres iblandet foderet. I den årlige indberetning til Miljøstyrelsen skal havbrugene bl.a. gøre rede for mængden og typen af anvendt antibiotika.

Det gælder for antibiotika såvel som for kobber, at der i Danmark ikke i øjeblikket findes en lovgivning, der fastsætter kvalitetskriterier for miljøfremmede stoffer og tungmetaller i sedimenter. De lokale miljømyndigheder, i dette tilfælde amterne, fastsætter selv de retningslinier, der administreres fra. Det skal dog nævnes, at Miljø- og Energiministeriets bekendtgørelse nr. 921 af 8. oktober 1996 ("Kvalitetskrav for vandområder og krav til udledning af visse farlige stoffer til vandløb, søer og havet") har været anvendt, idet bekendtgørelsen nævner, at udledninger ikke må give anledning til ophobning af farlige stoffer. Endvidere står der, at der skal sættes kravværdier for forskellige miljøfremmede stoffer. Miljøstyrelsen har ved brev af 29. januar 2001 givet tilsagn om at udarbejde kvalitetskriterier for de hyppigst anvendte hjælpestoffer ved dambrugs- og havbrugsproduktion i Danmark. En sådan foreløbig kravværdi for kobber i vandfasen er fastsat i bekendtgørelsens bilag.

År	1995	1996	1997	1998	1999	2000
<i>Forbrug af antibiotika (kg)</i>	1428	1094	2749	841	2455	

Tabel 1. Opgørelse over forbruget af antibiotika i Danmark (Miljøstyrelsen, 2000)

1 Litteratursøgning

For at holde projektet indenfor de allokerede ressourcer er der søgt i et begrænset antal databaser. Vurderingen var dog, at disse databaser dækkede emneområdet tilfredsstillende.

Følgende baser er søgt:

ASFA 1 (Biological sciences and living resources), 1990-2001
ASFA 3 (Aquatic pollution and environmental quality), 1990-2001
Biosis Previews, 1993/1-2000:52
Zoological Records, 1993-2000/09
Georef, 1993-2000/12
Agris, 1991-2000/08
CAB Abstracts, 1992-2000/10

Der blev opsat kombinationer med et antal søgeord, som det fremgår af Tabel 2. Antallet af ”hits” blev noteret (i parentes), og afhængig af relevansen af titel og abstract blev referencen valgt ud til en nærmere gennemlæsning (antal ved siden af parantesen).

<i>Søgeord</i>	<i>Oxolinic acid</i>	<i>Trimethoprim</i>	<i>Sulphadiazine</i>	<i>Copper</i>
	503	4654	190	27297
Sediment	(23) 8	(421) a	(2) 1	(654) d
Resistance	(135) 14	(1349) b	(28) 6	
Degradation	(22) 6	(17) 3	0	
Ecotoxicol*	(1) 0	(3) 0	0	(350) e
Aquaculture	(230) 9	(101) 22	(21) 5	(349) f
Mariculture	(1) 1	0	0	(11) 7
Regulation	(4) 1	(15) 2	(5) 2	(282) g
Environment	(62) 10	(98) c	(8) 3	(3305) h
Bioaccumul*	(8) 0	(30) 3	(1) 0	(539) i
Antifouling				(40) 14
Quality criteria				(48) 12
Limits				(98) 5, j

Tabel 2. Kombinationer af søgeord. Bogstaverne henviser til den fokuserede søgning, som fremgår af Bilag A.

Bemærkninger:

At det hyppigt er få referencer indenfor de enkelte kategorier, der anvendes, skyldes at mange referencer går igen på tværs af kategorierne. Endvidere at sammenhængen måske ikke var relevant efter en nærmere gennemlæsning. Enkelte referencer var det ikke muligt at få fat på.

Søgeordet *resistance* blev inddraget, da forsøg med resistens også kan give oplysninger om de andre emner (f.eks. i forbindelse med feltforsøg).

Asterisken * betegner et ”wildcard”.

Søgeordet *regulation* blev, trods flere betydninger, inddraget for at få et billede af en eventuel lovgivning på området.

Visse kombinationer gav så mange "hits", at det var nødvendigt at fokusere søgningen yderligere. Resultaterne af denne søgning fremgår af Bilag A.

Det generelle indtryk på baggrund af søgningen er, at det er ret begrænset, hvad der findes af relevant litteratur om antibiotika i miljøet. I et litteraturstudie om miljøpåvirkninger og hjælpestoffer i forbindelse med ferskvandsdambrug, konkluderer Sortkjær et al. (2000), at den manglende viden på området kan få betydning for muligheden for at foretage økotoksikologiske vurderinger.

Et par enkelte referencer skal dog fremhæves som glimrende introduktioner til problematikken. Miljøprojekt nr. 361 (Miljøstyrelsen, 1997) omhandler forekomst af antibiotikaresistens i akvatiske miljøer, samt de mekanismer der gør sig gældende. Sortkjær et al. (2000) har mange informationer om hjælpestoffer, der benyttes både i fersk- og saltvand. Holten Lützhøft (2000) giver i sin ph.d. afhandling både en overordnet orientering om akvakultur, men beskriver også forekomst, skæbne og effekt af antibiotika. Desuden gives et par mere kemisk/toksikologisk specifikke afhandlinger. Endelig skal nævnes særnummeret af *Chemosphere* Vol. 40, (7), April 2000. "Drugs in the Environment".

2 Beskrivelse og anvendelse af stofferne

Oxolinsyre. Går under handelsnavne som Branzil vet, Aquavet og Inoxyl premix vet (Veterinærmedicinsk produktkatalog 2000). Tilhører gruppen af quinoloner. Som antibiotika er stoffet ikke særlig bredspektret (Sortkjær et al., 2000). Opløseligheden er 4,1 mg/l ved pH 7, men stiger ved højere pH-værdier; pKa-værdien er 6,9 (Timmers & Sternglanz, 1978). Stoffet doseres f.eks. som 50 mg Inoxyl premix vet (indeholdende 12 mg oxolinsyre) pr. kg fisk i 7 dage (Larsen, 1991).

Tribrissen. Er et handelsnavn for et blandingsprodukt bestående af stofferne sulfadiazin og trimethoprim i blandingsforholdet 5:1 (Veterinærmedicinsk Produktkatalog, 2000). Sulfadiazin er et sulfonamid, har en opløselighed på 74 mg/l ved pH 7, og er en svag syre. Stoffet virker som bredspektret antibiotika (Sortkjær et al., 2000). Trimethoprim er en svag base med en pKa-værdi på 7,1 (Seiler et al., 1982) og en opløselighed på 400 mg/l ved pH 7 (Merck Index, 1996).

Kobber. Efter udfasningen af organotinforbindelser som antibegroningsmidler har forskellige kobberprodukter vundet indpas. Net, der hænger i vandsøjlen, kan bruges som vækstsustrat for både muslinger og alger. Konsekvensen heraf kan være reducerede maskestørrelser og en egentlig nedsynkning af nettene (Beveridge, 1987). For at undgå disse problemer bruges forskellige biocider, som langsomt udskiller et giftigt stof. Kobber anvendes ofte i denne forbindelse som kobbersulfat i en organisk matrix, hvor kobberionerne er det aktive stof.

3 Undersøgellesområder

I de følgende tabeller er antibiotika (oxolinsyre, Tribriksen) angivet i kg aktivstof.

3.1 Storstrøms Amt

Amtet har syv havbrug. Der er i denne undersøgelse indsamlet prøver fra Grønsund Havbrug, Skalø Havbrug og fra en lokalitet, hvor der tidligere har ligget netbure. Data for produktion og forbrug af antibiotika og kobber fremgår af Tabel 3.1. Beliggenheden af havbrug ses i Figur 3.1. Alle data er meddelt af biolog John Andersson, Vandmiljøkontoret, Storstrøms Amt.

Grønsund Havbrug, Fiscodan A/S Grønsund (Agersø2) består af 21 fastgjorte netbure. Netburene benytter kobbernot som antibegroningsmiddel. Burene blev udsat i maj og taget ind lige før jul.

Skalø Havbrug (Skalø Laks A/S, Herredsvej 2-4, DK-4944 Fejø) ligger nord for Fejø i Femø Sund på ca. 10 meters vanddybde. Der produceres fra 13 bure, og de er forankret således, at de kan ligge og sveje rundt for vind og strøm. Der er god vandgennemstrømning. I år 2000 blev der ikke fodermedicineret, idet alle fiskene blev vaccineret med oliebaseerede vacciner. Netburene benytter kobbernot som antibegroningsmiddel, og blev udsat medio april og taget ind medio december.

Gammel position for havbrug ved Ulvsund. Havbrugsproduktionen på positionen ophørte i 1995, da havbruget blev flyttet til den nuværende beliggenhed ved Grønsund (Sundlaks). Motiveringen for at inddrage et nedlagt havbrug i undersøgelsen har været et ønske om, at belyse tilstedeværelsen af en eventuel nedbrydning og udvaskning af antibiotika og kobber i forbindelse med retablering af området. Der blev produceret fra netbure på ca. 5 m vanddybde.

Som det fremgår af Tabel 3.1 har der ikke været anvendt oxolinsyre i år 2000.

	<i>Produktion (t) Brutto/netto</i>	<i>Oxolinsyre (kg)</i>	<i>Tribriksin (kg)</i>	<i>Cu (kg)</i>
Grønsund				
1997	Ingen	Ikke anvendt	Ikke anvendt	
1998	635/477	25 kg	61 kg	Ikke oplyst
1999	630/451	33 kg	229 kg	Ikke oplyst
2000	Ikke oplyst	Ikke anvendt	184,80 kg	Ikke oplyst
Skalø				
1997	412/304	Ca. 50 kg	Ikke oplyst	Ikke oplyst
1998	443/326	66 kg	Ikke anvendt	Ikke oplyst
1999	441/294	55 kg	Ikke anvendt	Kobbernot
2000	Ikke oplyst	Ikke anvendt	Ikke anvendt	Ikke oplyst
Gl. position Ulvsund				
1992	115/70	Ikke anvendt	Ikke anvendt	Ikke oplyst
1993	116/12	Ikke anvendt	Ikke anvendt	Ikke oplyst

1994	100/64	Inoxyl premix 24 kg	Ikke oplyst	Ikke oplyst
1995	126/87	Inoxyl premix 38 kg	Ikke oplyst	Ikke oplyst

Tabel 3.1. Produktion og forbrug af aktivstoffer hos de tre havbrug undersøgt i Storstrøms Amt.



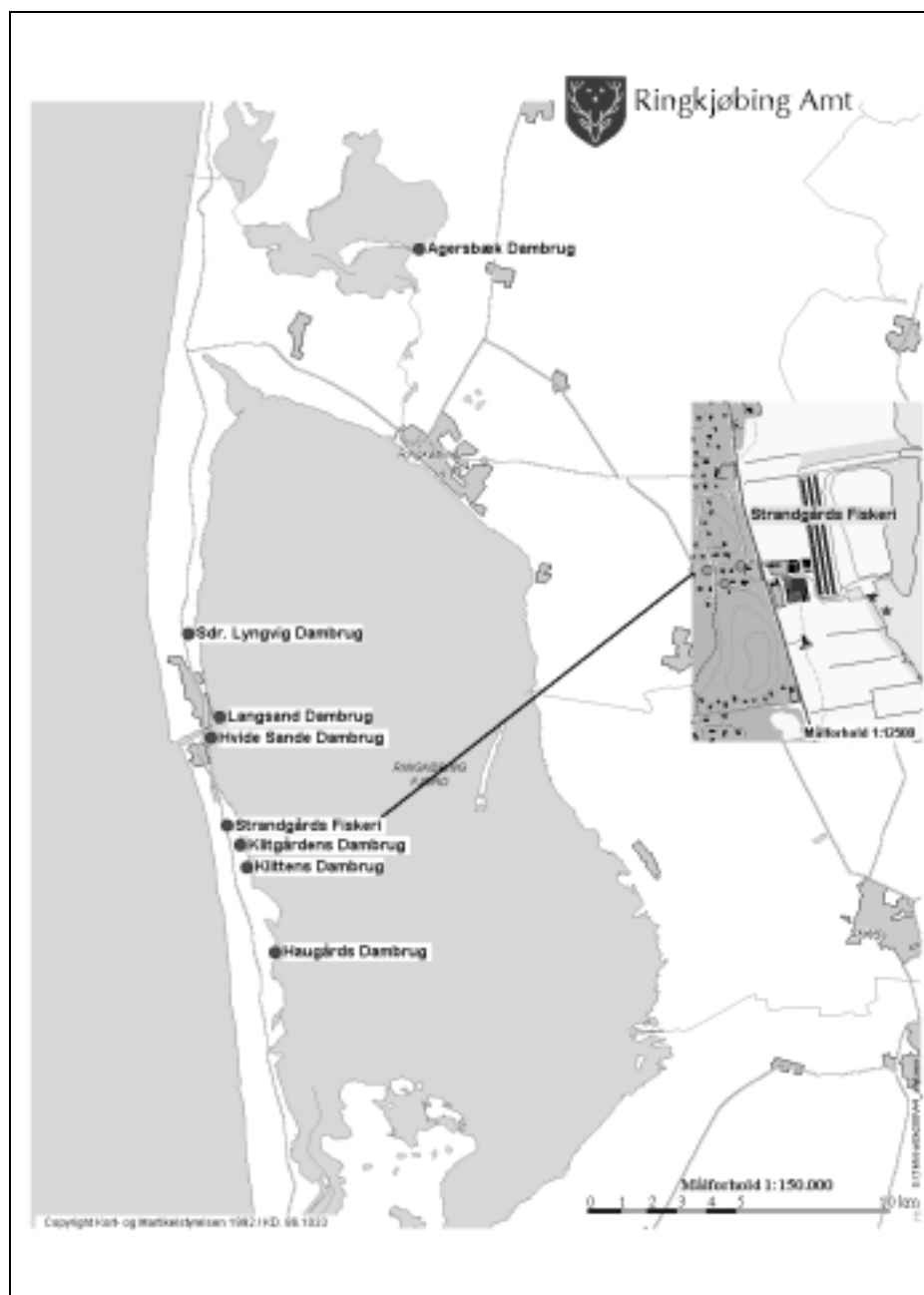
Figur 3.1. Oversigt over beliggenheden af de tre undersøgte havbrug i Storstrøms Amt.

3.2 Ringkjøbing Amt

Amtet har ingen havbrug, men der findes otte saltvandsdambrug (indpumpningsanlæg), der i alt producerede 793 tons regnbueørreder i 1999 (Tilsyn med Ferskvandsdambrug. Ringkjøbing Amt, Vandmiljøkontoret, juni 2000). I denne undersøgelse er der udtaget prøver fra Strandgårds Fiskeri ved Holmsland (Strandgårds Fiskeri, Sønder Klitvej 39, Aargab, 6960 Hvide Sande; se Figur 3.2). Produktion, forbrug af antibiotika og anvendelse af kobber i perioden 1997-2000 fremgår af Tabel 3.2. Saltvandsdambruget har, som de øvrige saltvandsdambrug i amtet, etableret renseforanstaltninger i form af slamfælder i kanalsystemet eller bundfældningsbassiner med automatiske slamsugere efter støvsugerprincippet. Der blev medicineret med oxolinsyre i maj og august, og med Tribriksen i maj 2000.

	<i>Produktion, (t)</i>	<i>Oxolinsyre (kg)</i>	<i>Tribriksin (kg)</i>	<i>Cu (kg)</i>
1997	188	50	Ikke anvendt	50
1998	275	35	Ikke anvendt	50
1999	291	50	Ikke anvendt	50
2000	325 (netto)	60	10,5	Ikke anvendt

Tabel 3.2. Forbrug af aktivstoffer fra Strandgårds Fiskeri, Ringkjøbing Amt. Oplysninger for 2000 er meddelt af konsulent J. K. Nielsen, Ringkjøbing.



Figur 3.2. Beliggenhed af Strandgårds Fiskeri, Ringkjøbing Amt.

3.3 Sønderjyllands Amt

Amtet har ét saltvandsdambrug og fire havbrug. I denne undersøgelse er udtaget prøver ved Fiscodan Mommark A/S og Barsø Havbrug I/S (begge havbrug ejes af FISCODAN A/S, Østergade 11,1, 9800 Hjørring. For beliggenhed se Figur 3.3). Produktion, forbrug af antibiotika og anvendelse af kobber i perioden 1997-2000 fremgår af Tabel 3.3. (M. Brozek, Sønderjyllands Amt, pers. medd.).

Fiscodan Mommark anvender seks netbure, hvoraf der ved prøveindsamlingen dog kun var net i de fire sydligste. Bunden ligger på omkring 14 m. Havbruget ligger på en veleksponeret kyststrækning og ud fra sedimentforholdene vurderes det, at der er god vandudskiftning og en del strøm.

Barsø Havbrug har seks netbure. Bunden ligger på omkring 13 m. Havbruget ligger forholdsvis beskyttet, og ud fra sedimentforholdene vurderes det, at vandudskiftningen er begrænset og strømmen er svag.

Begge havbrug er placeret over svagt hældende bundprofiler som passerer 20 meters dybde indenfor en afstand på få hundrede meter. Der er ikke anvendt oxolinsyre i år 2000 på de to havbrug.

	<i>Produktion (t)</i>	<i>Oxolinsyre (kg)</i>	<i>Tribrissin (kg)</i>	<i>Cu (kg)</i>
Fiscodan M.				
1997	299,3	9,7	146,9	*
1998	309,9	0	42,8	*
1999	293,1	30	71,4	118-295
2000	263,3	0	57,2	124-310
Barsø Havbrug				
1997	165,7	0	46,1	*
1998	195,6	0	25,2	*
1999	170,3	0	43,1	118-295
2000	185,7	0	33	74-186

Tablet 3.3. Bemærkninger: Produktion er bruttoproduktion. Kobber er beregnet under antagelse af et indhold på 10-25 vægt% Cu (I) oxid jf. datablad for det anvendte antibegroningsmiddel. *) Forbrug af kobber som antibegroningsmiddel er ikke indberettet, men er efter al sandsynlighed anvendt.



Figur 3.3 Kort over lokaliteter i Sønderjyllands Amt

4 Feltarbejde

4.1 Storstrøms Amt

Der blev i efteråret og vinteren 2000 indsamlet prøver fra seks lokaliteter: Grønsund Havbrug under net og 42 m nordvest for net og referencestation (27. november, 4. december og 21. december), den gamle position i Ulvsund og referencestation (4. december), Skalø Havbrug under net (29. september). Prøverne fra Grønsund, Ulvsund og Skalø under net samt referencestationer blev indsamlet af dykker. Prøverne 42 m nordvest for Grønsund Havbrug blev indsamlet med haps. Bunddybderne for alle stationer, med undtagelse af Grønsund Havbrug (42 m), er bestemt med digital dybdemåler og aflæst af dykkeren. For Grønsund Havbrug 42 m er dybden aflæst på skibets ekkolod. De følgende beskrivelser er fra amtets havbrugsnotat, januar 2001.

Bundbeskrivelse Grønsund Havbrug: Bunden ligger på 12,3 m, og blev undersøgt ét sted med dykkere. Afstand fra bur til bund var 5,0 m. Bunden var let hældende, siltet, kuperet og med enkelte sten. Bunden var dækket af et lyst brunt organisk lag. Der blev ikke observeret foderpiller, fæcalier eller svovlbakterier. Der fandtes blåmuslinger og hjertemuslinger i området. Sedimenttykkelsen målt med stor lineal var fra 35 cm til over 80 cm. Tykkelsen var over 100 cm på referencestationen.

Bundbeskrivelse for gammel position ved havbrug i Ulvsund: Den gamle position for tilsynet på havbruget og referencestationen i 1995 blev undersøgt. Bunddybden på positionerne var 4,7-5,1 m. Bunden var flad, siltet og sedimentets farve lysegrå. Der forekom ingen svovlbakterier. Ålegræs og hjertemuslinger forekom i området. Sedimenttykkelsen målt med stor lineal var over 100 cm på begge lokaliteter.

Bundbeskrivelse Skalø Havbrug: Bunden under havbruget ligger på ca. 10,8 m, og blev undersøgt to steder af dykker den 29. september 2000. Afstand fra bur til bund var 5-5,4 m. Bunden var flad, blød og siltet, og var dækket af et brunt-sort organisk lag. Der blev ved det ene sted observeret 40% svovlbakterier, og 50% svovlbakterier ved referencestationen. Der var 2% dækning af foderpiller og 1% dækning af fæcalier. Der fandtes ca 1% blåmuslinger, og der var fiskeyngel og skrubber i området. Sedimenttykkelsen målt med en stor lineal var fra 80 cm til over 100 cm; på referencestationen 100 cm.

4.2 Ringkjøbing Amt

Der blev indsamlet ni prøver på tre stationer den 12. december 2000 i niveauerne 0-2 cm, 2-5 cm og 5-10 cm. Indsamlingen blev foretaget ved at gå ud og stikke kajakrørene ned i bunden.

Strandgårds Fiskeri: Umiddelbart uden for den sidste bro over afløbet ved Strandgårds Fiskeri. Prøvetagningsdybde ca. 1 m. Bunden var sandet og rimelig hård.

Strandgårds Fiskeri: 50 m syd for udløbet og 20 m udenfor rørsåkæret. Prøvetagningsdybde ca. 0,5 m. Bunden var sandet og hård.

Reference: Velling Bugt ved Fiskehusene 20 m udenfor rørsåkæret. Prøvetagningsdybde ca. 0,5 m. Bunden var sandet og hård.

4.3 Sønderjyllands Amt

Der blev indsamlet 20 prøver fra seks lokaliteter den 29. og 30. november og 6. og 7. december 2000. Indsamlingen foregik fra gummibåd, og blev foretaget af amtets dykkende biolog. Lokaliteterne var: Fiscodan Mommark under bur, Fiscodan Mommark ca. 25 m sydøst for bur, Fiscodan Mommark referencestation i nærheden af Pøls Rev, Barsø Havbrug under bur, Barsø Havbrug 25 m stik vest for buret og Barsø referencestation på nordøstsiden af Barsø. På Fiscodan Mommark var det kun muligt at udtage prøver i niveauerne 0-2 cm, 2-5 cm og 5-10 cm.

Bundbeskrivelse Fiscodan Mommark: Bunddybde 13,9 m. Under buret var der få hvide pletter fra svovlbakterier (*Beggiatoa* sp.), blåmuslinger og søstjerner. Der var ca. 1 til 2 m mellem bund og den nederste del af buret. Ved udkanten af buret var sedimentet lidt blødere og der var lidt flere sten. Ca. 25 m sydøst for buret på dybden 12,8 m strakte der sig en sedimentationsfane ud fra buret. Vest for buret var der få hvide pletter på en sandbund med mange sandorme. Syd for buret var bunden hovedsagelig blød, men med lidt sandbund med blåmuslinger og søstjerner.

Bundbeskrivelse Fiscodan Mommark referencestation: Bundsedimentet var brunt på overfladen og havde strømribber. Mange huller fra dyr. En del molboøsters (7-8 cm), samt søstjerner og slangestjerner. Bunden var mere sandet end ved havbruget.

Bundbeskrivelse Barsø Havbrug: Under buret på 13,1 m dybde var bunden meget blød og hvid med et udbredt dække af svovlbakterier. Enkelte levende blåmuslinger. Ved udkanten af buret på 13,1 m var sedimentoverfladen brun med enkelte blåmuslinger og søstjerner. 15 m nordvest for buret på 15,2 m sås store pletter af svovlbakterier. Circa 25 m vest for buret var sedimentoverfladen brun med blåmuslinger, søstjerner og mange slangestjerner. Generelt var bunden meget blød og meget gasholdig.

Bundbeskrivelse Barsø referencestation: Bunddybde 20,2 m. Mange sifonhuller fra muslinger. Enkelte sø- og slangestjerner. Sedimentoverfladen var brunlig, og der var rester af muslingeskaller. Bunden var jævn med mindre fordybninger, hvor der var enkelte hvide iltvindspletter. Sedimentet var lige så blødt som ved havbruget, men uden gas.

5 Metoder

Alle prøver blev analyseret for oxolinsyre, trimethoprim, sulfadiazin, kobber og tørstof på Steins Laboratorium, Brørup. For de tre antibiotika er prøven angivet i µg/kg vådprøve, ikke i µg/kg tørstof, da det ikke vides, om stofferne eventuelt nedbrydes under opvarmningen til tørstofbestemmelse. Oxolinsyre synes dog umiddelbart thermostabil. Forsøg med at koge stoffet i vand i 15 minutter afslørede ingen nedbrydning af stoffet (Samuelsen et al., 1992).

5.1 Oxolinsyre

Af principielle grunde kan information om analysemetoden kun gives overordnet (Lambert Sørensen, Steins Laboratorium, pers. medd.): 5,0 g prøve blev ekstraheret med en NaOH-opløsning. Ekstraktet blev derpå oprenset og opkoncentreret ved fastfaseekstraktion. Det opkoncentrerede ekstrakt blev herefter analyseret ved RP-HPLC med fluorescens detektion. Detektionsgrænsen er 2,0 µg/kg (ng/g; ppb). Analysemetodens relative reproducerbarhedsstandardafvigelse er ca. 20 % på niveau 2 µg/kg, 10 % på 5 µg/kg, 5 % på 20 µg/kg og 2 % på 100 µg/kg.

5.2 Trimethoprim, sulfadiazin

Prøven ekstraheres med organisk væske. Ekstraktet oprenses ved ionbytning. Det oprensede ekstrakt analyseres på HPLC med PDA-detektor. Kvantificering blev foretaget ved 230 nm (trimethoprim) og 270 nm (sulfadiazin).

Recovery fra sedimentprøver spiked til niveau 10-50 µg/kg før ekstraktion:

Sulfadiazin : 80-85%

Trimethoprim : 80-85%

Detektionsgrænser:

Sulfadiazin : 5 µg/kg prøve

Trimethoprim : 5 µg/kg prøve

Relativ repeterbarhedsstandardafvigelse (RSDr) :

Sulfadiazin : 5% (niveau 10-50 µg/kg prøve)

Trimethoprim : 6% (niveau 10-50 µg/kg prøve)

5.3 Kobber

Prøven tørres. Den tørrede prøve oplukkes efter DS 259 og analyseres ved ICP-AES.

Detektionsgrænse: 3,6 mg/kg tørstof

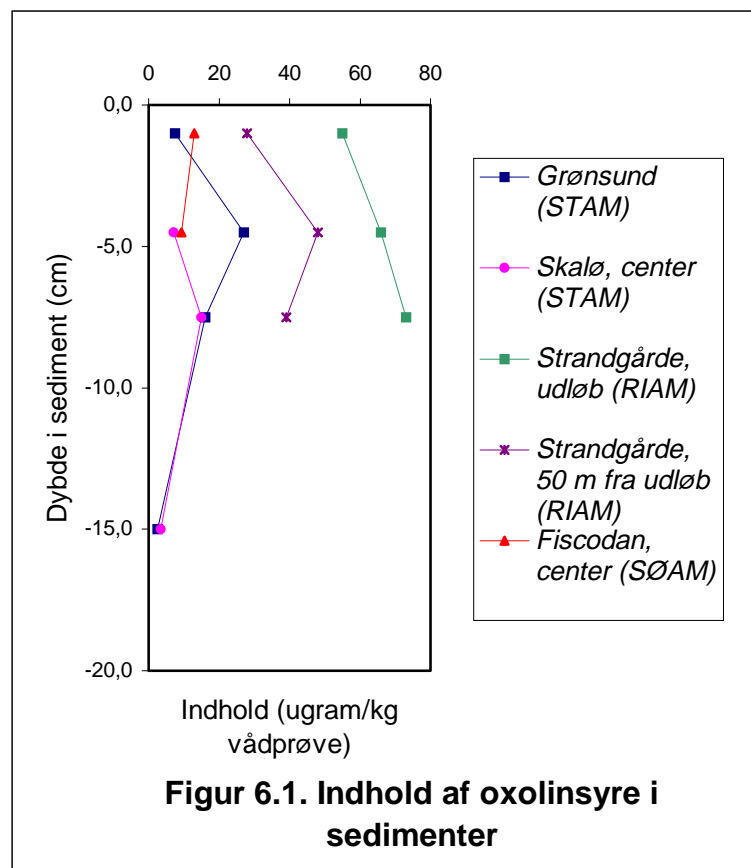
Relativ repeterbarhedsstandardafvigelse (RSDr) : 8% (niveau 50 mg/kg tørstof), 4% (niveau 500 mg/kg tørstof).

6 Resultater

Der er i de følgende figurer brugt forbindelses-linier mellem punkterne i dybdeintervallerne. Disse linier er udelukkende anvendt for at synliggøre sammenhængende data (prøvestationer), og skal ikke ses som et forsøg på at interpolere koncentrationsværdier. Prøveintervallerne er angivet som dybder (0-2 cm = 1 cm; 2-5 cm = 3,5 cm; 5-10 cm = 7,5 cm; 10-20 cm = 15 cm).

6.1 Oxolinsyre

Figur 6.1 og Tabel 6.1 viser analyseresultaterne for oxolinsyre fra alle tre amter.



<i>Prøvelokalitet</i>	<i>Dybde (cm)</i>	<i>Oxolinsyre (ug/kg vådprøve)</i>
Storstrøms Amt		
Grønsund ref. Station	0-2	<2
Grønsund ref. Station	2-5	<2
Grønsund ref. Station	5-10	<2
Grønsund ref. Station	10-20	<2
42 m NW for bur 18, 54°55,500N- 11°59,106E	0-2	<2
42 m NW for bur 18, 54°55,500N- 11°59,106E	2-5	<2
42 m NW for bur 18, 54°55,500N- 11°59,106E	5-10	<2
42 m NW for bur 18, 54°55,500N- 11°59,106E	10-20	<2
Grønsund station	0-2	7,5
Grønsund station	2-5	27
Grønsund station	5-10	16
Grønsund station	10-20	2,6
Ref. Station, gl. pos.	0-2	<2
Ref. Station, gl. pos.	2-5	<2
Ref. Station, gl. pos.	5-10	<2
Ref. Station, gl. pos.	10-20	<2
Gl. pos.	0-2	<2
Gl. pos.	2-5	<2
Gl. pos.	5-10	<2
Gl. pos.	10-20	<2
Skalø station E	0-2	<2
Skalø station E	2-5	7,1
Skalø station E	5-10	15
Skalø station E	10-20	3,5
Ringkjøbing Amt		
Strandg. Udløb	0-2	55
Strandg. Udløb	2-5	66
Strandg. Udløb	5-10	73
Strandg. 50 m syd for udløb	0-2	28
Strandg. 50 m syd for udløb	2-5	48
Strandg. 50 m syd for udløb	5-10	39
Vellingbugt. Fiskehusene	0-2	2,0
Vellingbugt. Fiskehusene	2-5	2,4
Vellingbugt. Fiskehusene	5-10	<2

Tabel 6.1

Sønderjyllands Amt		
Fiscodan Mommark center	0-2	13
Fiscodan Mommark center	2-5	9,4
Fiscodan Mommark center	5-10	<2
Fiscodan Mommark	0-2	
Fiscodan Mommark	2-5	
Fiscodan Mommark	5-10	
Fiscodan Mommark ref.	0-2	<2
Fiscodan Mommark ref.	2-5	<2
Fiscodan Mommark ref.	5-10	<2
Barsø ref.	0-2	
Barsø ref.	2-5	
Barsø ref.	5-10	
Barsø ref.	10-20	
Barsø Havbrug center	0-2	
Barsø Havbrug center	2-5	
Barsø Havbrug center	5-10	
Barsø Havbrug center	10-20	
Barsø Havbrug	0-2	
Barsø Havbrug	2-5	
Barsø Havbrug	5-10	

Tabel 6.1 fortsat

Storstrøms Amt: Indholdet fra Grønsund Havbrug varierer mellem detektionsgrænsen på 2,0 µg/kg og ca. 14 gange denne værdi. Det højeste indhold ligger på 2-5 cm dybde i sedimentet (27 µg/kg). Fra samme havbrug blev der 42 m fra netburet ikke fundet indhold af stoffet. Referencestationen for Grønsund havde ikke indhold af oxolinsyre.

For Skalø Havbrug under net varierer indholdet fra at være fraværende i de øverste 2 cm i sedimentet, til ca. 7 gange detektionsgrænsen på 5-10 cm dybde.

Fra det nedlagte havbrug blev der hverken på den gamle position eller på referencestationen fundet indhold af stoffet.

Ringkjøbing Amt: Indholdet af oxolinsyre fra det landbaserede saltvandsanlæg er ved udløbet fra sedimentationsbassinet mellem 28 og 37 gange detektionsgrænsen, lavest i de øverste 2 cm, og højest i niveauet 5-10 cm. Prøverne, der er taget 50 m fra udløbet, ligger i de 3 niveauer på henholdsvis 14, 24 og 20 gange over detektionsgrænsen. Værdierne for to af de tre referenceprøver ligger lige omkring detektionsgrænsen.

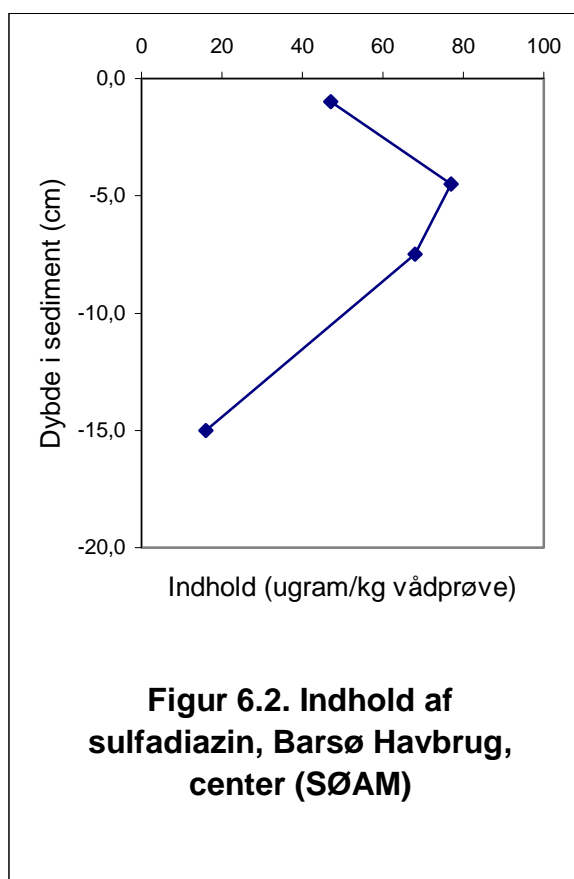
Sønderjyllands Amt: Af de tre prøver taget under et net fra Fiscodan Mommark, viser to af prøverne indhold mellem 5 og 7 gange detektionsgrænsen, højest i det øverste sedimentlag. Den nederste prøve har ikke indhold af stoffet. Ligeså de tre referenceprøver. Der er ikke analyseret for oxolinsyre fra Barsø Havbrug, idet stoffet ikke er anvendt i 2000.

6.2 Tribriksen

Kombinationsproduktet Tribriksen består af de to aktivstoffer trimethoprim og sulfadiazin.

Trimethoprim: Der er analyseret for stoffet i prøverne fra alle havbrug med undtagelse af Skalø Havbrug under net. Der er ikke fundet indhold af stoffet i nogen af prøverne (se Tabel 6.2).

Sulfadiazin: Der er analyseret for stoffet i prøverne fra alle havbrug med undtagelse af Skalø Havbrug under net. Der er kun fundet indhold over detektionsgrænsen på 5 µg/kg i prøverne fra Barsø Havbrug under net. Her ligger indholdet mellem 3 og 16 gange detektionsgrænsen, højest i niveauet 2-5 cm, lavest i det dybeste interval mellem 10-20 cm (se Figur 6.2).



<i>Prøvelokalitet</i>	<i>Dybdeinterval (cm)</i>	<i>Sulfadiazin (ug/kg vådprøve)</i>	<i>Trimethoprim (ug/kg vådprøve)</i>
Storstrøms Amt			
Grønsund ref. Station	0-2	<5	<5
Grønsund ref. Station	2-5	<5	<5
Grønsund ref. Station	5-10	<5	<5
Grønsund ref. Station	10-20	<5	<5
42 m NW for bur 18, 54°55,500N-11°59,106E	0-2	<5	<5
42 m NW for bur 18, 54°55,500N-11°59,106E	2-5	<5	<5
42 m NW for bur 18, 54°55,500N-11°59,106E	5-10	<5	<5
42 m NW for bur 18, 54°55,500N-11°59,106E	10-20	<5	<5
Grønsund station	0-2	<5	<5
Grønsund station	2-5	<5	<5
Grønsund station	5-10	<5	<5
Grønsund station	10-20	<5	<5
Ref. Station, gl. pos.	0-2	<5	<5
Ref. Station, gl. pos.	2-5	<5	<5
Ref. Station, gl. pos.	5-10	<5	<5
Ref. Station, gl. pos.	10-20	<5	<5
Gl. pos.	0-2	<5	<5
Gl. pos.	2-5	<5	<5
Gl. pos.	5-10	<5	<5
Gl. pos.	10-20	<5	<5
Skalø station E	0-2		
Skalø station E	2-5		
Skalø station E	5-10		
Skalø station E	10-20		
Ringkjøbing Amt			
Strandg. Udløb	0-2	<5	<5
Strandg. Udløb	2-5	<5	<5
Strandg. Udløb	5-10	<5	<5
Strandg. 50 m syd for udløb	0-2	<5	<5
Strandg. 50 m syd for udløb	2-5	<5	<5
Strandg. 50 m syd for udløb	5-10	<5	<5
Vellingbugt. Fiskehusene	0-2	<5	<5
Vellingbugt. Fiskehusene	2-5	<5	<5
Vellingbugt. Fiskehusene	5-10	<5	<5

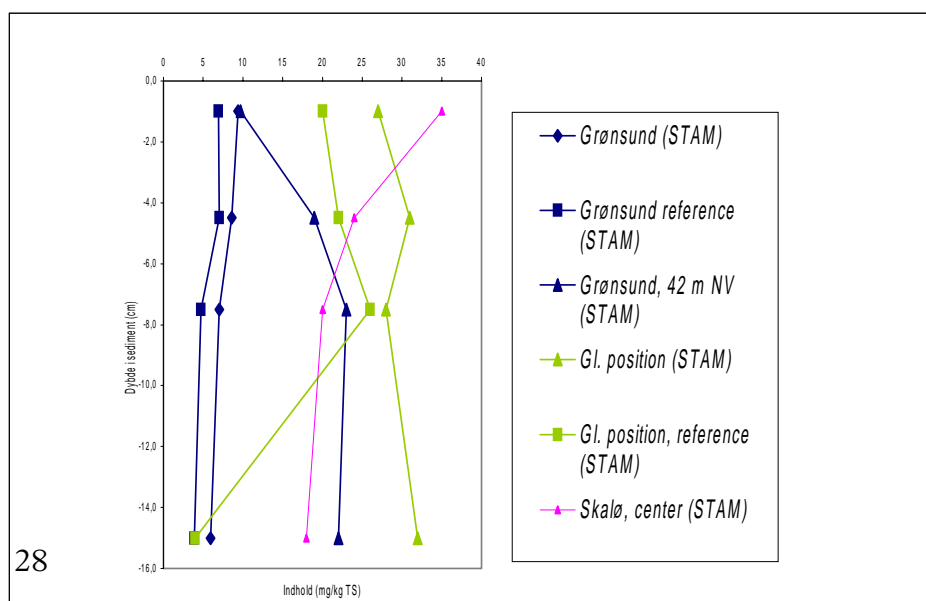
Tabel 6.2

Sønderjyllands Amt			
Fiscodan Mømmark center	0-2	<5	<5
Fiscodan Mømmark center	2-5	<5	<5
Fiscodan Mømmark center	5-10	<5	<5
Fiscodan Mømmark	0-2	<5	<5
Fiscodan Mømmark	2-5	<5	<5
Fiscodan Mømmark	5-10	<5	<5
Fiscodan Mømmark ref.	0-2	<5	<5
Fiscodan Mømmark ref.	2-5	<5	<5
Fiscodan Mømmark ref.	5-10	<5	<5
Barsø ref.	0-2	<5	<5
Barsø ref.	2-5	<5	<5
Barsø ref.	5-10	<5	<5
Barsø ref.	10-20	<5	<5
Barsø Havbrug center	0-2	47	<5
Barsø Havbrug center	2-5	77	<5
Barsø Havbrug center	5-10	68	<5
Barsø Havbrug center	10-20	16	<5
Barsø Havbrug	0-2	<5	<5
Barsø Havbrug	2-5	<5	<5
Barsø Havbrug	5-10	<5	<5

Tabel 6.2 fortsat

6.3 Kobber

Storstrøms Amt. Alle koncentrationer fra amtet er under 35 mg/kg TS (se Figur 6.3 og Tabel 6.3). Det er dog bemærkelsesværdigt, at på nær den øverste prøve fra Skalø (center), så viser resultaterne fra den gamle position de højeste værdier. Forbruget af kobber i driftsperioden op til 1996 er ikke oplyst. Endvidere har referencestationen for den gamle position noget højere indhold end Grønsund Referencestation.



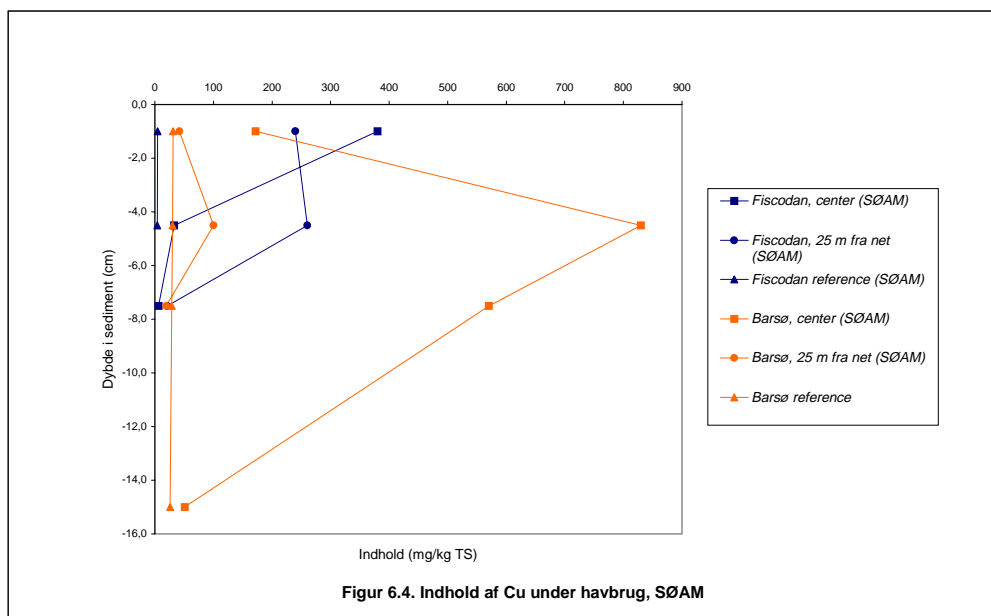
<i>Prøvelokalitet</i>	<i>Dybdeinterval (cm)</i>	<i>Kobber (mg/kg TS)</i>
Storstrøms Amt		
Grønsund ref. Station	0-2	6,9
Grønsund ref. Station	2-5	7,0
Grønsund ref. Station	5-10	4,7
Grønsund ref. Station	10-20	3,9
42 m NW for bur 18, 54°55,500N- 11°59,106E	0-2	9,7
42 m NW for bur 18, 54°55,500N- 11°59,106E	2-5	19
42 m NW for bur 18, 54°55,500N- 11°59,106E	5-10	23
42 m NW for bur 18, 54°55,500N- 11°59,106E	10-20	22
Grønsund station	0-2	9,4
Grønsund station	2-5	8,6
Grønsund station	5-10	7,0
Grønsund station	10-20	5,9
Ref. station, gl. pos.	0-2	20
Ref. station, gl. pos.	2-5	22
Ref. station, gl. pos.	5-10	26
Ref. station, gl. pos.	10-20	27
Gl. pos.	0-2	27
Gl. pos.	2-5	31
Gl. pos.	5-10	28
Gl. pos.	10-20	32
Skalø station E	0-2	35
Skalø station E	2-5	24
Skalø station E	5-10	20
Skalø station E	10-20	18

Tabel 6.3

Ringkjøbing Amt. Der er ikke fundet indhold af kobber over detektionsgrænsen på 3,6 mg/kg TS.

Sønderjyllands Amt. For Fiscodan Mommark under net (center) ses en høj koncentration (380 mg/kg TS). Koncentrationen falder dog meget ned gennem sedimentet. Den nederste værdi ligger i samme størrelsesorden som værdierne for de øverste cm af referenceprøverne (se Figur 6.4 og Tabel 6.4). Prøven 25 m fra netkant har høje indhold af kobber for de øverste to intervaller, faldende til værdier lidt over referencestationens. Indholdet i de to referenceprøver fra Fiscodan ligger på samme niveau.

For Barsø ses også et konstant indhold i referenceprøverne ned gennem søjlen. Prøven taget under nettet (center) har meget højt indhold i forhold til referenceprøverne. Især de to midterste niveauer på 2-5 cm og 5-10 cm har indhold på hhv. 830 og 570 mg/kg. Prøverne taget 25 m fra nettet har i forhold til prøverne under nettet lavt indhold (for to af prøverne i nærheden af referenceprøvernes koncentration).



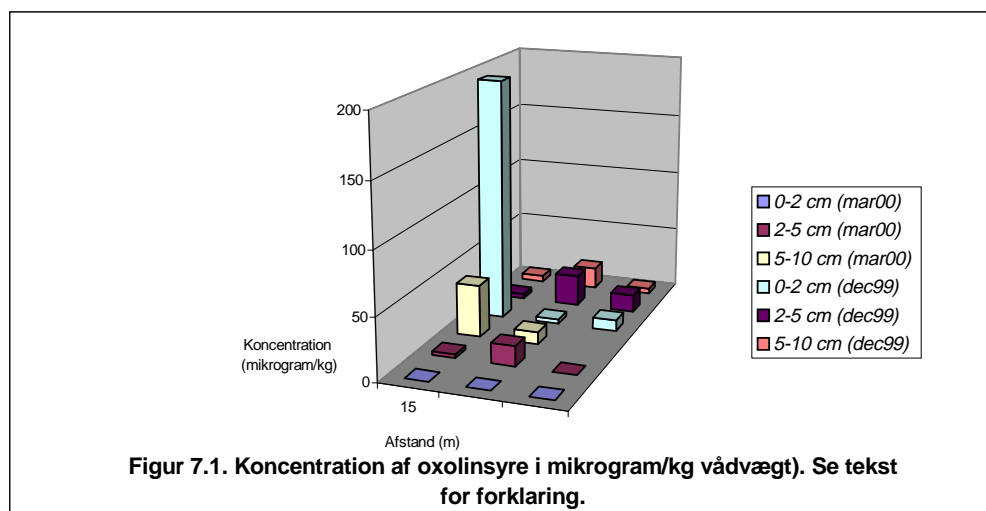
Prøvelokalitet	Dybdeinterval (cm)	Kobber (mg/kg TS)
Sønderjyllands Amt		
Fiscodan Mømmark center	0-2	380
Fiscodan Mømmark center	2-5	33
Fiscodan Mømmark center	5-10	6,2
Fiscodan Mømmark	0-2	240
Fiscodan Mømmark	2-5	260
Fiscodan Mømmark	5-10	21
Fiscodan Mømmark ref.	0-2	4,4
Fiscodan Mømmark ref.	2-5	4,2
Fiscodan Mømmark ref.	5-10	<3,6
Barsø ref.	0-2	31
Barsø ref.	2-5	30
Barsø ref.	5-10	29
Barsø ref.	10-20	26
Barsø Havbrug center	0-2	172
Barsø Havbrug center	2-5	830
Barsø Havbrug center	5-10	570
Barsø Havbrug center	10-20	51
Barsø Havbrug	0-2	42
Barsø Havbrug	2-5	100
Barsø Havbrug	5-10	19

Tabel 6.4

7 Diskussion

7.1 Oxolinsyre

Med undtagelse af Fiscodan Mommark (center) ligner stofprofilerne for oxolinsyre resultaterne fra tilsvarende undersøgelser (Samuelsen, i Michel & Alderman, 1991; Hektoen et al., 1995; TerraMare, 1999; TerraMare 2000). I den øverste del af sedimentsøjlen er indholdet lavt i forhold til den midterste del, for atter at falde i den nederste del af søjlen. Figur 7.1 viser resultaterne fra de to tidligere kortlægninger i Storstrøms Amt (TerraMare 1999, 2000).



Figuren viser indholdet under og i forskellige afstande fra Skalø Havbrug i henholdsvis december 1999 og marts 2000. Der blev sidst medicineret med oxolinsyre i juli og august 1999 med ialt 55 kg oxolinsyre. Sammenholdt med indholdet for december 2000 fremgår det, at stoffet forsvinder meget langsomt, og at der stadig over et år efter endt medicinerings ses rester af stoffet.

Forsøg fra især Norge har vist, at oxolinsyre er persistent i de dybere dele af sedimentet flere måneder efter endt medicinerings. Niveaueet for denne persistens over tid varierer fra undersøgelse til undersøgelse. Nygaard et al. (1992), Samuelsen et al. (1994) og Hektoen et al. (1995) finder stort set ingen reduktion i stofkoncentrationen efter de 180 dage, hvor forsøgene kører, hvorimod Hansen et al. (1992) ser et fald på 60 % i forhold til udgangskoncentrationen. Det skal nævnes, at Björklund et al. (1991) ikke fandt indhold af oxolinsyre ved udgangen af deres korte laboratorieforsøg.

Der er dog væsentlige forskelle i forsøgsbetingelserne. Björklund et al. (1991) anvender en meget lav koncentration af oxolinsyre (1,0 µg/g), hvorimod de fire andre arbejdsgrupper anvender koncentrationer, der er væsentlig højere. Ligeledes fremgår det indirekte fra Björklunds artikel, at det udelukkende er overfladesedimentet, der er undersøgt.

Indhold af oxolinsyre, forsøgsbetingelser og forfattere fra de citerede forsøg er angivet i Tabel 7.1.

<i>Indhold ved start af forsøg</i>	<i>Betingelser</i>	<i>Forfattere</i>
1,0 µg/g	<i>in situ</i> undersøgelse, <i>in vitro</i> forsøg, brakvandssediment	Björklund et al. (1991)
10 ppm	Feltforsøg og <i>in vitro</i> , marint Sediment	Nygaard et al. (1992)
100 ppm	<i>in vitro</i> , marint vand	Hansen et al. (1992)
50 µg/g	<i>in vitro</i> , kunstigt sediment	Samuelsen et al. (1994)
67 ppm	<i>in vitro</i> feltforsøg, marint vand	Hektoen et al. (1995)

Tabel 7.1. Overordnede betingelser for persistens-forsøg med oxolinsyre. Koncentrationsangivelserne er de i artiklerne anvendte.

Ved forsøg med fotonedbrydning under forhold, der svarer til en dansk havbund under et havbrug på dybere vand (Lunestad et al., 1995), fremkom der ingen indikationer på nedbrydning. Heller ikke i Samuelsen (i Michel & Alderman, 1991) og Hansen et al. (1992) nævnes der bakteriel nedbrydning af stoffet.

Oxolinsyres antibakterielle evne kan bevares i sedimentet i længere tid. Hansen et al. (i Michel & Alderman, 1991), Hansen et al. (1992), Samuelsen et al. (1994) og Hektoen et al. (1995) bemærker alle i deres forsøg, at der er observeret antibakteriel effekt i varierende grad op til afslutningen af forsøget 180 dage efter endt medicinering. Ligeledes beskrives i mange undersøgelser forekomst af både resistens og krydsresistens (Nygaard et al., 1992; Spanggaard et al., 1993; Guardabassi et al., 2000; m.fl.).

Medicinering foregår typisk over en periode på ca. 7 dage, hvor medicinen er iblandet en del af foderet. Noget oxolinsyre ender dog alligevel i sedimentet under nettene. Dels fordi syge fisk spiser mindre, dels fordi noget af stoffet passerer gennem fiskenes tarmsystem ubrugt for efterfølgende at udskilles med urin og faeces, og dels fordi nogle af foderpillerne ikke opsnappes af fiskene.

Herfra kan stoffet transporteres videre til vildfisk, muslinger og andre bundlevende invertebrater. Disse organismer kan dermed blive udsat for både toksikologiske effekter og resistens.

Kontaminering med oxolinsyre af den omgivende fauna under og i dagene efter medicinering er dokumenteret i flere undersøgelser. Samuelsen et al. (1992) nævner indhold af oxolinsyre i forskellige væv for opdrættede og vildfisk, krabber og blåmuslinger på mellem 0,01 µg/g og 14,68 µg/g. Dyrene er undersøgt fra dagen hvor medicineringen ophørte og de følgende 13 dage. Der er fanget dyr op til en afstand af 400 m fra havbruget. Ervik et al. (1994) fandt i muskler fra forskellige vildfisk gennemsnitlige indhold på mellem 0 og 5,56 µg/g. Prøverne blev taget i umiddelbar nærhed af 5 havbrug 1 og 2 dage før medicinering og på dagen efter endt medicinering. I et laboratorieforsøg eksponerede Pouliquen et al. (1996) blåmuslinger og østers for havvand med indhold af opløst oxolinsyre (0,15 mg/l og 1,5 mg/l). Efter 1 og 10 dage havde blåmuslinger indhold af oxolinsyre på henholdsvis 2,92 µg/g og 1,07 µg/g; østers havde indhold på henholdsvis 3,30 µg/g og 1,42 µg/g (for en koncentration af oxolinsyre på 1,5 mg/l).

Til sammenligning var der i Danmark indtil 1. januar 2001 en midlertidig grænseværdi på 300 µg oxolinsyre pr. kilogram fisk (for fisk med finner; Pedersen & Kristensen, 1999).

7.2 Trimethoprim

Selvom Tribriksen er anvendt i år 2000 hos både Strandgårds, Fiscodan Mommark og Barsø Havbrug, er stoffet ikke fundet i prøverne fra denne undersøgelse. Trimethoprims evne til at nedbrydes diskuteres i flere undersøgelser.

I Hektoen et al. (1995) ses det, at i de undersøgte sedimenter udvaskes eller nedbrydes ca. 50 % i de øverste 0-2 cm allerede indenfor de første 2 måneder, og efter 6 måneder er stofkoncentrationen nede på ca. 10 % af startkoncentrationen. For de dybere niveauer (3-7 cm) er halvdelen af stoffet nedbrudt og udvasket efter ca. 4 måneder, og efter 6 måneder er kun ca. 30 % tilbage. I Samuelsen et al. (1994) er trimethoprim helt forsvundet fra sedimentet 2 måneder efter forsøgets start, og den antibakterielle effekt var væk efter 3 måneder. Der er ikke opgivet sedimentdybder for prøveudtagningen.

I kontrast til disse to undersøgelser viser et forsøg med fotonedbrydning af bl.a. trimethoprim ingen nedbrydning af stoffet selv efter 2 måneder (Lunestad et al., 1995). Halling-Sørensen et al. (2000) foretog en indledende screening af stoffet i et Oxytop system, som viste at trimethoprim efter 28 dage ikke var bionedbrudt væsentligt. Systemet anvendes til screeninger for at vurdere om et stof er let nedbrydeligt. Et efterfølgende forsøg med aktiveret slam gav halveringstider på mellem 22 og 41 dage. Forfatterne sammenligner med pentachlorophenol, som under lignende forsøgsbetingelser har en 1. ordens halveringstid på ca. 5 dage, og som betegnes som værende stort set ikke-nedbrydeligt. Sammenlignet med pentachlorophenol betegnes trimethoprim som ekstremt persistent.

Forsøg under anaerobe forhold har vist, at trimethoprim kan demetyleres af bakterier. Derved ændrer molekylet polaritet og chromatografiske egenskaber (og bliver dermed ikke detekteret), hvorimod molekylets antibakterielle effekt beholdes (Samuelsen et al., 1994).

Det fremgår ikke af litteraturen, hvilke nedbrydningsstoffer trimethoprim danner under nedbrydningen i sedimentet. Holten Lützhøft (2000) klassificerer dog trimethoprim og sulfadiazin som hydrolyserbare på baggrund af kemisk struktur og *in vitro* forsøg.

7.3 Sulfadiazin

Sulfadiazin er kun fundet i prøverne fra en enkelt lokalitet (Barsø Havbrug under net). Her ses samme mønster som for oxolinsyre. Øverst i sedimentet en udvaskningszone med mindre koncentrationer, i den midterste del de højeste koncentrationer og dybest nede det laveste indhold.

Fra forsøg fremgår det, at udvaskningen fra de øverste 2 centimeter foregår hurtigere for sulfadiazin end for trimethoprim. Koncentrationen af sulfadiazin falder til 10-20 % af udgangsniveauet efter blot én måned (Hektoen et al., 1995). Forsøg med fotonedbrydning af stoffet opløst i vand og anbragt ved en

lysintensitet svarende til 1 m vanddybde viste efter 56 dage ingen nedbrydning (Lunestad et al.; 1995). Samuelson et al. (1994) fandt heller ikke nedbrydning efter 6 måneder, og stoffet havde stadig sin antibakterielle effekt intakt. Der er ikke påvist nedbrydningsstoffer, men Holten Lützhøft klassificerer som tidligere nævnt stoffet som hydrolyserbart.

7.4 Toksikologiske effekter af oxolinsyre, trimethoprim og sulfadiazin

Det er få undersøgelser, der findes om emnet. Holten Lützhøft et al. (1999) fandt LC_{50} værdier for to ferskvandsalger og en saltvandsalge på hhv. 0,180 mg/l, 16 mg/l og 10 mg/l (oxolinsyre); 112 mg/l, 130 mg/l og 16 mg/l (trimethoprim); 0,135 mg/l, 7,8 mg/l og større end 403 mg/l (sulfadiazin). Wollenberger et al. (2000) undersøgte toxiciteten på dafnier for en række antibiotika, bl.a. oxolinsyre og sulfadiazin. De fandt LC_{50} værdier på hhv. 4,6 mg/l og 221 mg/l.

Halling-Sørensen et al. (2000) undersøgte toksiciteten på en grønalge, en cyanobakterie og dafnier. Kun methoprim havde mindre effekter på dafnier. LC_{50} værdier var henholdsvis 110 mg/l, 112 mg/l og 123 mg/l. De konkluderer, at med et forbrugsmønster som i dag vil trimethoprim ikke have toksikologiske, miljømæssige konsekvenser.

Både Holten Lützhøft (2000) og Wollenberger et al. (2000) konkluderer på baggrund af rækken af undersøgte antibiotika, at oxolinsyre som det eneste stof kan have et muligt potentiale for at påvirke miljøet.

Endelig skal der nævnes en undersøgelse Ribe amt fik udført i 1999 af Miljø-Kemi (Dansk Miljø Center A/S) på baggrund af laboratorieundersøgelser fra Hedeselskabet. I undersøgelsen klassificeres oxolinsyre, trimethoprim og sulfadiazin alle som Liste I stoffer, idet deres akutte toksiciteter er ≤ 10 mg/l (Miljøstyrelsen, 1994). De i rapporten anbefalede vandkvalitetsmålsætninger er for oxolinsyre 0,18 μ g/l, for trimethoprim 16 μ g/l og for sulfadiazin 0,14 μ g/l.

7.5 Kobber

Som det fremgår i afsnittet om litteratursøgning, er litteraturen om kobber ganske omfattende. I det følgende har det derfor af ressourcemæssige årsager kun været muligt at trække de overordnede linier op omkring forskellige forhold, der berører grundstoffet.

Kobber er et essentielt mikronæringsstof for akvatiske organismer. Ved koncentrationer højere end 10-50 gange den nødvendige dosis, bliver stoffet dog giftigt (Hall & Andersson, 1999). Forsøg med forskellige planter og dyr (muslinger, børsteorme, snegle m.m.) viser forskellige tolerancer overfor stoffet (se f.eks. Meller et al., 1998; Stark, 1998; Leonardi & Vasquez, 1999).

For at imødekomme negative effekter på dyr og planter i havet, har miljømyndighederne i mange lande forsøgt at opstille kvalitetskriterier for bl.a. kobber. Dette er dog ikke uden problemer. Kobbers kemiske adfærd er afhængig af mange faktorer, f.eks. organisk indhold, pH, salinitet, konkurrerende metalioner, sulfidindhold, kornstørrelse og redoxniveau. Yderligere kompliceres problemstillingen af valg af analysemetoder. Forskellige oplukningsmetoder frigiver forskelligt bundet kobber. Det kan dermed være svært at opstille en standardmetode, som gælder for alle situationer.

I et forsøg på at opstille kvalitetskriterier for kobber og zink netop i forbindelse med havbrug, foreslog den skotske miljømyndighed i en rapport (SEPA, 1998) tentative kvalitetskriterier på henholdsvis 35 mg/kg TS (mulige biologiske effekter) og 390 mg/kg TS (sandsynlige biologiske effekter). Kriterierne skal ses i forhold til en baggrundskoncentration på 16 mg/kg TS. I Miljøstyrelsens arbejdsrapport fra 1996 er der opgivet skæringsværdier, hvor sandsynligheden for biologiske effekter i sedimentet er 10 % percentilen (lav effekt) og 50 % percentilen (median effekt). For kobber angives skæringsværdier på 34 mg/kg TS (10 %) og 270 mg/kg TS (50 %). Indenfor OSPAR-samarbejdet anbefales foreløbige kvalitetskriterier på mellem 5 og 50 mg/kg TS.

Da der er nogenlunde overensstemmelse mellem de skotske og danske størrelsesordner, anvendes de danske værdier i den følgende diskussion.

For Storstrøms Amt falder alle de analyserede prøver på nær en enkelt indenfor eller tæt på grænsen, hvor der forudses en lav effekt (34 mg/kg TS).

Anderledes for Sønderjyllands Amt. Her ligger 9 ud af 20 prøver over lav effekt grænsen, og 3 ud af 20 prøver over median effekt grænsen. Én værdi er mere end 3 gange median effekt grænsen. De højeste værdier ligger under nettene.

Tabel 7.2 viser et mindre antal litteraturværdier for indhold af kobber i sedimenter.

<i>Lokalitet</i>	<i>Indhold af kobber (mg/kg TS)</i>	<i>Reference</i>
6 net under 5 skotske havbrug	26; 28; 106; 320; 427; 725	SEPA, 1998
Southend (ydre munding af Thames Estuary, UK)	21,7 (november)	Stevenson & Ng, 1999
Mucking (indre munding af Thames Estuary, UK)	15,2 (marts) 21,1 (juni)	Stevenson & Ng, 1999
Hamble Estuary, UK	59,5 (gennemsnitsværdi)	Boxall et al., 2000
marina ved munden af Hamble Estuary, UK	61,4	Boxall et al., 2000
kystvand, UK	16,4; 27,6	Boxall et al., 2000
Orwell Estuary, UK	47,2 (gennemsnitsværdi)	Boxall et al., 2000
åben marina, Orwell Estuary, UK	55,1 (sommer) 41,4 (vinter)	Boxall et al., 2000
beskyttet marina, Orwell Estuary, UK	453,4 (sommer) 394,2 (vinter)	Boxall et al., 2000

Tabel 7.2. Litteraturværdier for indhold af kobber i sedimenter

8 Konklusion og perspektivering

Tre lokaliteter i Storstrøms Amt blev undersøgt. Der er fundet indhold af oxolinsyre 14 gange højere end detektionsgrænsen på 2,0 µg/kg under Grønsund Havbrug. For Skalø Havbrug er der fundet indhold ca. 7 gange detektionsgrænsen. Der er ikke blevet medicineret med oxolinsyre i dette havbrug siden sommeren 1999, det vil sige, der er forløbet mere end 400 dage mellem medicinerung og prøvetagning. Fra en gammel position på et havbrug blev der ikke fundet indhold af oxolinsyre. Sidst der blev medicineret på dette havbrug var i 1995.

Fra et landbaseret anlæg i Ringkjøbing Amt blev der umiddelbart uden for udløbet konstateret indhold af oxolinsyre på op til 37 gange detektionsgrænsen. 50 meter fra udløbet var indholdet op til 24 gange detektionsgrænsen.

Et enkelt havbrug er undersøgt for oxolinsyre i Sønderjyllands Amt. Analyserne fra havbruget Fiscodan Mommark viste indhold på op til 7 gange detektionsgrænsen.

Trimethoprim har været undersøgt på alle lokaliteter på nær Skalø Havbrug. Der er ikke fundet indhold af stoffet i prøverne.

Sulfadiazin har været undersøgt på alle lokaliteter på nær Skalø Havbrug. Stoffet er fundet i en prøveserie fra én lokalitet (Barsø Havbrug, center; Sønderjyllands Amt). Indholdet var op til 16 gange detektionsgrænsen.

Alle lokaliteter er undersøgt for indhold af kobber. Fra to havbrug (Barsø og Fiscodan Mommark) er der fundet koncentrationer, der på baggrund af litteraturen må klassificeres fra at have en mulig til at have en sandsynlig effekt på de organismer, der befinder sig under netburene. Miljøstyrelsen vil dog snarest udmelde kvalitetskriterier for bl.a. kobber, jf. styrelsens brev af 29. januar 2001.

Denne kortlægning har givet data om forekomst af medicin og kobber i forbindelse med havbrug og landbaserede saltvandsdambrug. Det har hverken været hensigten eller været muligt indenfor rammerne af undersøgelsen at diskutere konsekvenserne for miljøet.

9 Referencer

- Beveridge, M. C. M., 1987:** "Cage aquaculture". Fishing News Books Ltd., England
- Bjørklund, H. V., Råbergh, C. M. I., Bylund, G., 1991:** "Residues of oxolinic acid and oxytetracycline in fish and sediments from fish farms". Aquaculture 97 pp. 85-96
- Boxall, A. B. A., Comber, S. D., Conrad, A. U., Howcroft, J., Zaman, N., 2000:** "Inputs, monitoring and fate modelling of antifouling biocides in UK estuaries". Mar. Poll. Bull. Vol. 40, No. 11, pp. 898-905
- Ervik, A., Thorsen, B., Eriksen, V., Lunestad, B. T., Samuelsen, O. B., 1994:** "Impact of administering antibacterial agents on wild fish and blue mussels *Mytilus edulis* in the vicinity of fish farms". Dis. Aquat. Org. Vol. 18: 45-51
- Guardabassi, L., Dalsgaard, A., Raffatellu, M., Olsen, J. E., 2000:** "Increase in the prevalence of oxolinic acid resistant *Acinetobacter* spp. observed in a stream receiving the effluent from a freshwater trout farm following the treatment with oxolinic acid-medicated feed". Aquaculture 188 pp. 205-218
- Hall, L. W., Anderson, R. D., 1999:** "A deterministic ecological risk assessment for copper in European saltwater environments". Mar. Poll. Bull., Vol. 38, No. 3, pp. 207-218
- Halling-Sørensen, B., Holten Lützhøft., H.-C., Andersen, H. R., Ingerslev, F., 2000:** "Environmental risk assessment of antibiotics: comparison of mecillinam, trimethoprim and ciprofloxacin". Antimicrob. Chemotherapy, Vol. 46, Suppl. S1, pp. 53-58
- Hansen, P. K., Lunestad, B. T., Samuelsen, O. B., 1992:** "Effects of oxytetracycline, oxolinic acid, and flumequine on bacteria in an artificial marine fish farm sediment". Can. J. Microbiol., Vol. 38, pp. 1307-1312
- Hektoen, H., Berge, J. A., Hormazabal, V., Yndestad, M., 1995:** "Persistence of antibacterial agents in marine sediments". Aquaculture 133, pp. 175-184
- Holten Lützhøft, H. C., Halling-Sørensen, B., Jørgensen, S. E., 1999:** "Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming". Arch. Environ. Contam. Toxicol., 36. pp. 1-6
- Holten Lützhøft, H.-C., 2000:** "Environmental risk assessment of antimicrobials". ph.d. afhandling fra Danmarks Farmaceutiske Højskole.
- Jørgensen, S. E., Halling-Sørensen, B., 2000:** "Editorial: Drugs in the Environment". Chemosphere 40, (7), pp. 691-701
- Larsen, J. L., 1991:** "Inoxyl premix vet.". Dansk Veterinærtidsskrift 74, 18, 15/9, pp. 705-707

- Leonardi, P. I., Vasques, J. A., 1999:** "Effects of copper pollution on the ultrastructure of *Lessonia* spp.". *Hydrobiol.* 398/399, pp. 375-383
- Lunestad, B. T., Samuelsen, O. B., Fjelde, S., Ervik, A., 1995:** "Photostability of eight antibacterial agents in seawater". *Aquaculture* 134 pp. 217-225
- Meller, M., Egeler, P., Römbke, J., Schallnass, H., Nagel, R., Streit, B., 1998:** "Short-term toxicity of lindane, hexachlorobenzene, and copper sulfate to tubificid sludgeworms (*Oligochaeta*) in artificial media". *Ecotox. Environ. Saf.*, 39, pp. 10-20
- Michel, C. & Alderman, D. J., 1991:** "Chemotherapy in Aquaculture: from theory to reality". Proceedings fra symposium i Paris, 12-15. marts 1991
- Miljøstyrelsen, 1994:** "Økotoksikologiske kvalitetskriterier for overfladevand". Miljøprojekt nr. 250.
- Miljøstyrelsen, 1996:** "Fordelingen af udvalgte metaller i sediment og vand". Arbejdsrapport fra Miljøstyrelsen, Nr. 70, 1996
- Miljøstyrelsen, 1997:** "Forekomst af antibiotikaresistente bakterier i akvatiske miljøer". Miljøprojekt nr. 361, 1997
- Miljøstyrelsen, 2000:** "Punktkilder 1999". Orientering fra Miljøstyrelsen nr. 16, 2000
- Nygaard, K., Lunestad, B. T., Hektoen, H., Berge, J. A., Hormazabal, V., 1992:** "Resistance to oxytetracycline, oxolinic acid and furazolidone in bacteria from marine sediments". *Aquaculture* 104 pp. 31-36
- Pedersen, C. T., Kristensen, T. P., (redaktører), 1999:** "Restkoncentrationer i fisk". Slutrapport for FIUF-projekt. Institut for Fødevarerundersøgelser og Ernæring, Fødevarerdirektoratet
- Pouliquen, H., Le Bris, H., Buchet, V., Pinault, L., 1996:** "Comparative study on the contamination and decontamination of Japanese oyster *Crassostrea gigas* and blue mussel *Mytilus edulis* by oxytetracycline and oxolinic acid". *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol. 133: 143-148
- Samuelsen, O. B., Lunestad, B. T., Husevåg, B., Hølleland, T., Ervik, A., 1992:** "Residues of oxolinic acid in wild fauna following medication in fish farms". *Dis. aquat. Org.*, Vol. 12: 111-119
- Samuelsen, O. B., Lunestad, B. T., Ervik, A., Fjelde, S., 1994:** "Stability of antibacterial agents in an artificial marine aquaculture sediment studied under laboratory conditions". *Aquaculture* 126 pp. 283-290
- Seiler, P., Bishoff, O., Wagner, R., 1982:** "Partition coefficients of 5-(substituted benzyl)-2,4-diaminopyrimidines". *Drug. Res.*, 32, pp. 711-714
- SEPA, 1998:** "An assessment of sediment copper and zinc concentrations at marine caged fish farms in SEPA West Region". Scottish Environment Protection Agency, West Region.

Sortkjær, O., Bovbjerg, P., Steinfeldt, S. J., Bruun, M. S., Dalsgaard, I., Nielsen, P., Aarup, P., 2000: "Undersøgelse af eventuelle miljøpåvirkninger ved anvendelse af hjælpestoffer og medicin i ferskvandsdambrug samt metoder til at reducere/eliminere sådanne påvirkninger". Rapport fra Danmarks Fiskeri Undersøgelser

Spanggaard, B., Jørgensen, F., Gram, L., Huss, H. H., 1993: "Antibiotic resistance in bacteria isolated from three freshwater fish farms and an unpolluted stream in Denmark". *Aquaculture* 115 pp. 195-207

Stark, J. S., 1998: "Effects of copper on macrobenthic assemblages in soft sediments: a laboratory experimental study". *Ecotoxicol.* 7, pp. 161-173

Stevenson, C., Ng, B., 1999: "Distribution of copper, nickel and zinc in the Thames Estuary". *Mar. Poll. Bull.*, Vol. 38, No. 4, pp. 328-331

TerraMare, 1999: "Kortlægning af spredning af antibiotika fra saltvandsbaserede havbrug". Upubliceret rapport for Miljøstyrelsen

TerraMare, 2000: "Indhold af oxolinsyre og forekomst af antibiotikaresistens i sedimentet under Skalø Havbrug, Storstrøms Amt". Rapport

Timmers, K., Sternglanz, R., 1978: "Ionization and divalent cation dissociation constants of nalidixic and oxolinic acids". *Bioinorg. Chem.*, 9, pp. 145-155

Wollenberger, L., Halling-Sørensen, B., Kusk, K. O., 2000: "Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphna magna*". *Chemosphere*, 40 (7): pp. 723-730

Resultat af den fokuserede litteratursøgning

- a: Kombinationen af sediment+trimethoprim+aquaculture => 7 referencer
- b: Kombinationen af resistance+trimethoprim+aquaculture => 1 reference
- c: Kombinationen af trimethoprim+aquatic environment => 1 reference
- d: Kombinationen af copper+marine sediment+aquaculture => 3 referencer
- e: Kombinationen af copper+ecotoxicol*+marine => 13 referencer
- f: Kombinationen af copper+aquaculture+sediment => 2 referencer
- g: Kombinationen af copper+regulation+sediments => 1 reference
- h: Kombinationen af copper+environment+marine environment => 6 referencer
- i: Kombinationen af copper+bioaccumul*+marine => 40 referencer
- j: Kombinationen af copper+limits+sediments => 0 referencer