



Miljøministeriet
Miljøstyrelsen

Biologisk grundlag for målrettet pesticidanvendelse til bekæmpelse af kloakrotten

Miljøprojekt nr. 1418, 2013

Titel:

Biologisk grundlag for målrettet
pesticidanvendelse til bekæmpelse af kloakrotten

Forfattere:

Ann-Charlotte Heiberg^{1,2}

¹ Institut for Agroøkologi, Aarhus Universitet

² AC Heiberg Rådgivning.

Udgiver:

Miljøstyrelsen
Strandgade 29
1401 København K
www.mst.dk

År:

2013

ISBN nr.

978-87-92903-04-4

Ansvarsfraskrivelse:

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.

Må citeres med kildeangivelse.

Indhold

FORORD	5
SAMMENFATNING OG KONKLUSIONER	7
SUMMARY AND CONCLUSIONS	11
1 INDLEDNING	15
2 BASAL DATAINDSAMLING	19
2.1 FØRSØGSLOKALITETERNE	19
2.1.1 <i>A-lokaliteten</i>	19
2.1.2 <i>B-lokaliteterne</i>	20
2.2 INDFANGNING AF ROTTER	21
2.2.1 <i>Fangst af rotter til laboratorieundersøgelser</i>	22
2.2.2 <i>Fangst-genfangst</i>	22
2.2.3 <i>Fangstresultater</i>	23
2.2.4 <i>Klimadata (temperatur og nedbør)</i>	28
2.3 RESISTENSUNDERSØGELSER	30
2.3.1 <i>Blood Clotting Response test</i>	31
2.3.2 <i>Genetiske undersøgelser; PCR på VKORC1</i>	32
2.4 BEKÆMPELSESEFFEKTIVITET	33
2.4.1 <i>Kvalitet af bekæmpelsesmidlerne</i>	33
2.4.2 <i>Udlægningsteknik</i>	34
2.4.3 <i>Bekæmpelse af kloakrotter</i>	34
3 ANVENDELSESORIENTEREDE UNDERSØGELSER	37
3.1 RESISTENS I DANSKE KLOAKKER	37
3.1.1 <i>Indledning</i>	37
3.1.2 <i>Materialer og metoder</i>	38
3.1.3 <i>Resultater</i>	39
3.1.4 <i>Diskussion og konklusion</i>	40
3.2 BEKÆMPELSESEFFEKTIVITET	41
3.2.1 <i>Indledning</i>	41
3.2.2 <i>Kvalitet af bekæmpelsesmidlerne</i>	42
3.2.3 <i>Udlægningsteknik</i>	45
3.2.4 <i>Diskussion</i>	47
3.3 BEKÆMPELSE AF KLOAKROTTER	48
3.3.1 <i>Indledning</i>	48
3.3.2 <i>Materialer og metoder</i>	49
3.3.3 <i>Resultater</i>	49
3.3.4 <i>Diskussion</i>	52
3.4 <i>LEPTOSPIRA</i> I DE DANSKE KLOAKKER	52
3.4.1 <i>Indledning</i>	52
3.4.2 <i>Materialer og metoder</i>	52
3.4.3 <i>Resultater</i>	54
3.4.4 <i>Diskussion</i>	54
4 VIDENSKABELIGE UNDERSØGELSER	55
4.1 BESTANDSDYNAMIK	55
4.1.1 <i>Indledning</i>	55

4.1.2	<i>Materialer og metoder</i>	56
4.1.3	<i>Resultater</i>	56
4.1.4	<i>Diskussion</i>	60
4.2	OMRÅDEPRÆFERENCER OG BEVÆGELSER I KLOAKSYSTEMET	61
4.2.1	<i>Indledning</i>	61
4.2.2	<i>Materialer og metoder</i>	62
4.2.3	<i>Resultater</i>	63
4.2.4	<i>Diskussion</i>	70
4.3	BESTANDSGENETISKE UNDERSØGELSER	70
4.3.1	<i>Indledning</i>	71
4.3.2	<i>Materialer og metoder</i>	71
4.3.3	<i>Resultater</i>	73
4.3.4	<i>Diskussion</i>	75
5	SAMMENFATTENDE DISKUSSION OG KONKLUSION	77
5.1	DE ANVENDELSESORIENTERED E UNDERSØGELSER	77
5.2	DE VIDENSKABELIGE UNDERSØGELSER	79
6	REFERENCER	83

Forord

Nærværende rapport er en sammenfattende beskrivelse af projektet "Biologisk grundlag for målrettet pesticidanvendelse til bekæmpelse af kloakrotten".

Formålet har været at teste virkningen af kloakrotte-bekæmpelse samt at øge vores viden om kloakrotters generelle biologi og økologi. Denne viden vil kunne danne grundlag for en fremtidig målrettet og effektiv rottebekæmpelse i byområderne, som bygger på et relevant kendskab til skadedyrets biologi og økologi.

Projektet er gennemført af Ann-Charlotte Heiberg (projektleder) og teknikerne; Sarah Adams, Folmer Jensen og Iver Munch Skadborg, Institut for Agroøkologi, Aarhus Universitet samt Professor Herwig Leirs, University of Antwerp, Belgien.

Til projektet har været knyttet en styregruppe, som takkes for godt samarbejde og kommentarer til selve rapporten. Styregruppen har bestået af: Inge Faldager, Rørcentret, Teknologisk Institut, Karl-Martin Vagn Jensen, Skadedyrlaboratoriet, Aarhus Universitet, Thomas Secher Jensen, Naturhistorisk Museum, Aarhus, Morten Otkjær Thune, Center for Miljø, Københavns Kommune, Peter Weile, By- og Landskabsstyrelsen, Jens Mossin, Miljøstyrelsen og Jørn Kirkegaard, Miljøstyrelsen.

Projektet er blevet finansieret af Skadedyrlaboratoriet, Aarhus Universitet, Momsfondet i Kommunernes Landsforening og Miljøstyrelsen.

Tak til alle, der har bidraget med en aktiv indsats og økonomisk støtte til projektet.

Skellingsted, januar 2011

Ann-Charlotte Heiberg

Sammenfatning og konklusioner

Nærværende rapport er en afrapportering af et gennemført projekt vedrørende kloakrotternes biologi og bekæmpelse

Baggrund og formål

Kloakrottebekæmpelse foretages ofte uden kendskab til kloakrotters biologi og adfærd og ofte uden forudgående kendskab til kloaksystemets struktur og ikke mindst uden kendskab til, hvor i kloakken rotterne forekommer. Bedre indsigt i og forståelse for de biologiske og adfærdsmæssige betingelser for kloakrotter, vil kunne give grundlag for en bedre målretning af kloakrottebekæmpelse, som vil kunne medføre et mere effektivt resultat.

Kloakrottebekæmpelse gennemføres typisk med en forventning om, at antallet af rotteanmeldelser i byområderne kan nedbringes, da en stor del af disse rotteanmeldelser kan have relation til kloakken (rotterne kommer ud via defekte kloakker og afløbsinstallationer).

Forekomst af resistens kan have betydelige konsekvenser for bekæmpelses-effektiviteten. Men faktorer, som f.eks. kvaliteten af de anvendte bekæmpelsesmidler og hvorledes de tilbydes rotterne, kan ligeledes have en indflydelse på bekæmpelsen. Der er brug for viden om, hvordan disse midler anvendes i forbindelse med kloakrottebekæmpelse for at sikre den bedste og mest målrettede kloakrottebekæmpelse.

Hovedformålet med dette projekt var todelt. En videnskabelig del, som havde til formål at bibringe os viden om kloakrotternes bestandsdynamik og reproduktion, deres bevægelser i kloakken og foretrukne opholdssteder. En anvendelsesorienteret del som havde til formål at undersøge forekomst af resistens, bekæmpelseseffektivitet og betydningen af kvalitet og udlægningsform for rotternes accept af gift.

Undersøgelsen

De videnskabelige undersøgelser blev udført centralt i Kgs. Lyngby (Lyngby-Taarbæk kommune). Forsøgsområdet omfattede to adskilte ledningssystemer (ældre fællesledninger i beton fra 1950'erne). I perioden august 2006 frem til december 2008, blev der hver 4. uge gennemført fangst-genfangst sessioner. Princippet i fangst-genfangst forsøg er, at alle individer mærkes og derefter genudsættes. Mærkningen af rotterne er medvirkende til, at de kan genkendes ved senere fangster. Data (biologiske og fangstdata), som blev indsamlet ved de enkelte fangst-sessioner, blev brugt til belysning af aspekter som bestandsdynamik, yngleperioder og bevægelsesadfærd.

Der blev i hele undersøgelsesperioden ikke udført kloakrottebekæmpelse i området.

De anvendelsesorienterede undersøgelser blev gennemført på seks forskellige forsøgslokaliteter i tre forskellige kommuner. De tre kommuner var

København, Rødovre og Lyngby-Taarbæk. De tre deltagende kommuner repræsenterede derudover tre forskellige bekæmpelsesstrategier.

- Københavns kommune – her har man ikke har lavet kloakrottebekæmpelse igennem de sidste 20 år.
- Rødovre kommune – her stoppede man med kloakrottebekæmpelse ca. fire år forud for projektets start.
- Lyngby-Taarbæk – her er der ”altid” blevet foretaget kloakrottebekæmpelse.

Det blev undersøgt om der forekom bromadiolonresistens i kloakkerne i de udvalgte forsøgslokaliteter. Bromadiolon blev valgt, da det er det hyppigst anvendte middel i rottebekæmpelsen, men også i selve kloakrottebekæmpelsen. Foruden at undersøge for bromadiolonresistens blev det undersøgt, om de tre forskellige bekæmpelsesstrategier havde indflydelse på forekomst og omfanget af bromadiolonresistens på hver af de undersøgte lokaliteter.

På de samme seks forsøgslokaliteter blev der ca. to år efter resistensundersøgelsen gennemført et bekæmpelsesforsøg med anvendelse af gift. Bekæmpelsen foregik over en periode på ca. otte uger, hvor der blev bekæmpet i samtlige brønde med giftudlægninger efter behov. Virkningen af bekæmpelsen blev fulgt i ca. 18 måneder efter fjernelse af giften.

Der blev derudover gennemført en række undersøgelser vedrørende rotters accept af det anvendte gift, krav til kvaliteten og udlægning af giften i kloakken.

Projektresultater

De videnskabelige undersøgelser - Kloakrottebestanden på de to forsøgslokaliteter steg ikke, som følge af den manglende kloakrottebekæmpelse. Antallet af rotter i de to områder varierede i antal omkring et gennemsnit på 17 og 18 rotter, hvilket svarede til, at der var mellem ca. én til to rotter per 100 meter hovedledning.

Rotter blev fanget i hele forsøgsområdet og der blev ikke fundet en relation mellem de områder med flest fangster og ledningsdimensionerne. Dog blev det vist, at de mindre og tørre ledningsafsnit var foretrukne opholdssteder til yngelpleje.

Der blev observeret drægtige hunner året rundt med en varierende andel, som ikke kunne relateres til bestemte tidsperioder. Den gennemsnitlige andel af drægtige hunner i de enkelte fangsperioder var ca. 25 % ud af alle indfangede hunner. Dette er værdier, som er sammenlignelige med observationer gjort for overfladerotter, som lever under gunstige forhold.

Langt de fleste undersøgte kloakrotter bevægede sig dagligt kun over kortere afstande (maks. 150 meter). Rotterne bevægede sig over en gennemsnitlig afstand, i hele observationsperioden, på ca. 200 meter.

Der blev på baggrund af rotternes bevægelsesmønstre vist, at rotterne generelt var stedfaste, og at der var lille eller ingen udveksling af rotter imellem de forskellige ledningsafsnit. Dette kunne tyde på, at de undersøgte kloakrotter levede i adskilte bestande eller familiegupper. Der var ikke indikation af, at

adskillelsen af grupperne indenfor hvert af de to forsøgsområder var betinget af fysiske barriere.

De anvendelsesorienterede undersøgelser – På samtlige seks lokaliteter blev der fundet bromadiolonresistente rotter, med et resistensniveau varierende mellem 3,7 til 17,6 %. Der blev ikke fundet signifikante forskelle mellem de tre kommuner med hensyn til bekæmpelsesstrategi og forekomst og niveauet af bromadiolon resistens.

Overraskende kunne det konstateres, at de individer, der blev identificeret bromadiolonresistente, ikke var bærer af en ellers kendt mutation i genet VKORC. Mutationen i VKORC genet antages ellers for at være ansvarlig for, at rotter udviser resistens overfor de anvendte antikoagulanter. Den fundne bromadiolonresistens måtte således skyldes en anden ændret mekanisme end de funktionelle ændringer i VKORC genet.

Forsøg med kloakrottebekæmpelse viste, at det var muligt at nedbringe antallet af rotter væsentligt i de bekæmpede områder over en længere periode, når bekæmpelsen blev tilrettelagt med flere giftudlægninger afhængig af den stedlige rotteaktivitet. Men det var også klart, at et effektivt og længerevarende bekæmpelsesresultat afhang af, at det bekæmpede område ikke stod i åben forbindelse med andre ikke-bekæmpede områder.

Forsøg, hvor betydningen af kvaliteten og udlægningsmetoden af giften blev undersøgt, viste, at der kunne opnås en bedre accept af giften, når giften var relativt frisk. Derudover havde det stor betydning, om giften blev tilbudt rotterne med eller uden emballagen intakt, idet gift, hvor emballagen var fjernet hurtigere blev accepteret af rotterne. Derimod var placering af giften på eller over kloakbrøndens banket uden betydning, så længe den kunne nås af rotterne.

Hovedkonklusioner

Den manglende bekæmpelse i forsøgsområdet med biologiske undersøgelser viste, at dette ikke havde betydning for kloakrottebestanden, idet kloakrottebestanden tilsyneladende var selvregulerende og at de lokale forhold, såsom tilgængelige redepladser og føde, afgør, hvor mange rotter der kan være i et ledningsafsnit.

Rotter kan opholde sig overalt i kloakken, i store såvel som små ledningsdimensioner – men de foretrækker de mindre og tørre ledningsafsnit til yngelpleje.

Kloakrotter har ingen fast yngleperiode. Dermed er kloakrottebekæmpelsen ikke afhængig af årstiden for at få størst effekt.

Kloakrotterne har et stort reproduktivt potentiale, idet ca. ¼ af alle kønsmodne hunner er drægtige.

Rotter synes at være relativt stedfaste i deres ophold i kloakken, idet de undersøgte rotter kun bevægede sig kun over meget korte afstande.

Rotterne lever i adskilte grupper med lille eller ingen udveksling, uden at denne adskillelse synes at betinges af fysiske barriere.

Der kunne ikke umiddelbart konstateres, at den praktiserede strategi, med hensyn til kloakrottebekæmpelse, havde indflydelse på forekomst og udbredelsen af bromadiolonresistens på de undersøgte forsøgslokaliteter. Derimod kunne det konstateres, at resistens kan forårsages af andre, endnu ukendte mekanismer, end den ellers kendte ændring af VKORC genet.

Når gift udlægges, skal den anvendte gift være frisk og gerne tilbydes rotterne uden indpakning, eller at dele af giften er frit eksponeret.

Antallet af kloakrotter kan nedbringes til et minimum ved gentagne giftudlægninger. Effekten af bekæmpelsen afhænger bl.a. af, om det bekæmpede område står i åben forbindelse med andre ikke-bekæmpede områder.

Summary and conclusions

This report presents the result of a study revealing the life of sewer rats.

Background and aim

Sewer rat control is to a large extent conducted without prior knowledge of the biology and behavior of sewer rats. Furthermore, the control is often carried out without knowledge of the sewer construction and where the rats occur in the sewers. Understanding the biology and behavior of sewer rats will provide necessary knowledge to improve the future sewer rat control.

One reason to control sewer rats is that it is believed that it will reduce the number of rat complaints in city areas, as many of these have a relation to defective sewers.

Occurrence of resistance is a critical issue in rat control. But also bait quality and how the bait is offered when controlling rats can be a matter of great influence. We need to know more about the requirements on the usage of anticoagulant baits in order to achieve a targeted sewer rat control.

The main aims of this project were divided into two parts; a scientific part, which should provide us with new knowledge of the biology, reproduction, movements and site preferences of sewer rats. The other part concerns the practical sewer rat control. This part of the project aimed at investigating occurrence and prevalence of anticoagulant resistance, the efficacy of sewer rat control and the importance of bait quality and placement.

The study

The scientific investigations were carried out in Kgs. Lyngby (Lyngby-Taarbæk Municipality). The study area consisted of two separate sewer systems (built in the 1950'ies, concrete and combined system). The study was carried out as a capture-mark-recapture (CMR) study, taking place between August 2006 and December 2008. CMR sessions were carried out every fourth week. The principles of the CMR are that all captured animals are uniquely marked after the first capture and then released at the same position where it was captured. The marking of the animals allows the animals to be recognised when captured in later capture sessions. Data (biological and capture data) collected during the different capture sessions were used to investigate details about the population dynamics, breeding periods and movement behavior of the investigated sewer rats.

During the study period no sewer rat control was performed.

The practical investigations were conducted in six other locations in three different municipalities; Copenhagen, Rødovre and Lyngby-Taarbæk. These three municipalities represented three different strategies in sewer rat control.

- Copenhagen – no sewer rat control had been carried out for 20 years.

- Rødovre – sewer rat control had been abandoned approximately four years prior to this study.
- Lyngby-Taarbæk – sewer rat control was carried out on a regular yearly basis.

Occurrence of bromadiolone resistance was investigated in the six locations. Bromadiolone is the most common anticoagulant used for rat control, including sewer rat control, in Denmark. Occurrence and prevalence of bromadiolone resistance in each of the six locations were analysed for correlation to the sewer rat control strategy practiced in each location.

Two years later, trials of sewer rat control were carried out on the same six locations. Sewer rat control was carried out with a continuous placement of bait (pulsed baiting) over a period of approximately eight weeks. After removal of all poisonous bait the study sites were kept under observation for another 18 weeks in order to investigate the efficacy over a longer period of time.

In addition to this, studies on the quality of the bait and how to place the bait in the sewers were carried out.

Project results and conclusions

The scientific investigations revealed, despite lack of sewer rat control for a period of more than two years, that the population of sewer rats did not increase in numbers. Instead the population of sewer rats varied around a mean of 17 and 18 sewer rats, corresponding to approximately one to two rats per 100 meters of main sewer line.

Sewer rats were captured at all trapping positions in the two study locations. There could not be found any relation between sites with most captures and sewer line dimensions, indicating no preferences for specific site/dimension. However, we did find evidence of the smaller and drier sewer sections were preferred for parental care.

Breeding female rats occurred all year around without any particular breeding seasons. On average approximately 25 % of all captured females in each trapping session was identified pregnant. This observation is equivalent to likewise observations done for surface rats under favourable environmental conditions.

The investigated sewer rats only moved over a limited area. The day-to-day movements averaged 150 meters and the total movements within the observation periods were limited to an average of 200 meters.

Based on data on movements it was shown that rats exhibited some degree of site fidelity and that little or no exchange occurred between these sites. These findings suggest that sewer rats live in separate populations or family groups, as it is known from surface populations. There was no indication of separation into groups was determined by physical barriers.

The practical investigations found bromadiolone resistance at all six locations. Prevalence of resistance varied between 3.7 to 17.6 % at the different locations. No significant correlation was found between prevalence of resistance and control strategy.

Surprisingly, those individuals being identified as bromadiolone resistant did not have the, otherwise known, mutations in the VKORC gene. Rats with functional mutations within the VKORC gene are known to exhibit anticoagulant resistance. The findings done in this study suggest that resistance to anticoagulants can be caused by other mechanisms than the known changes of VKORC.

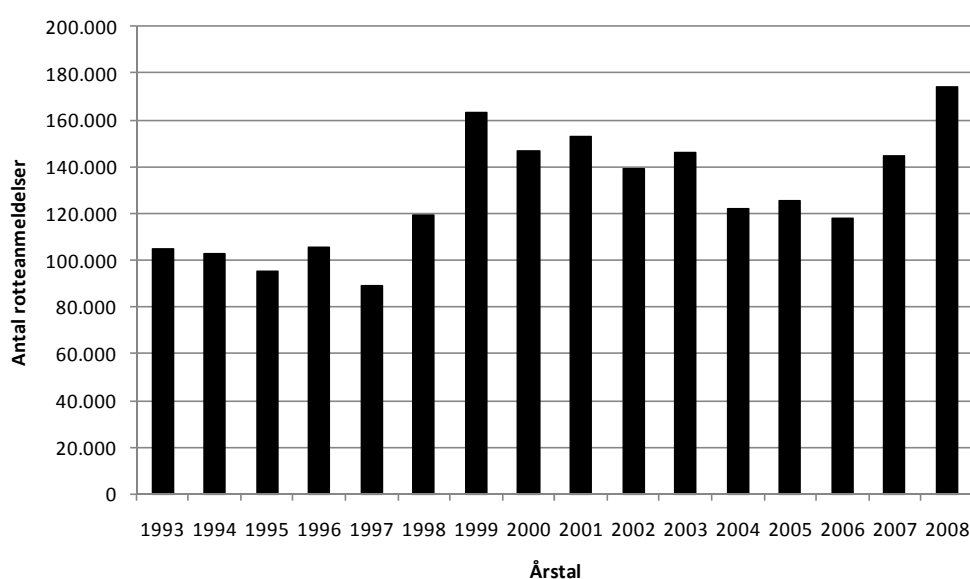
Trials with sewer rat control demonstrated that it was possible to reduce the sewer rat populations substantially but that the efficacy and longterm effects were influenced by the possibility of invasions of sewer rats from other non-controlled sewer sections.

When using bait blocks controlling sewer rats, this study demonstrated that fresh bait blocks is crucial for a good acceptance by the rats. The acceptance was also influenced by whether or not the bait was wrapped with cardboard etc., as bait without these wrappings was far better accepted than bait wrapped with cardboard.. However, we did not find evidence of the placement of bait to be important for acceptance as long as the bait was placed within reach of the rats.

1 Indledning

Godkendelsen af midler til brug for kloakrottebekæmpelse samt anbefalinger til bekæmpelsesstrategier er baseret på den antagelse, at kloakrotters biologi og adfærd er lig den for overfladerotter. Det basale kendskab til kloakrotters biologi og adfærd er imidlertid meget mangelfuldt og savner videnskabelig dokumentation for hvor, hvornår og hvordan man mest effektivt bekæmper. De krav der stilles til brug af pesticider i kloakrottebekæmpelsen er ikke nødvendigvis optimale, og de anbefalinger der udstedes, kan måske virke stik imod hensigten om effektiv bekæmpelse. Bedre indsigt i og forståelse for de biologiske og adfærdsmæssige betingelser for kloakrotter, vil give et bedre og mere sikkert grundlag for godkendelse og målretning af brugen af pesticider med et deraf følgende mere effektivt resultat. Det øgede kendskab vil kunne medvirke til en varig reduktion af pesticidforbruget i forbindelse med den kommunale kloakrottebekæmpelse, og det kan ligeledes antages at medføre en reduktion i antallet af overfladerotter i bymæssig bebyggelse, da kloakrotter her menes at være en af de primære kilder til forekomst og anmeldelse af rotter (Meyer 2004).

Den brune rotte, *Rattus norvegicus* (Berkenhout), forårsager omfangsrige beskadigelser på blandt andet bygningsmateriel, forurener store mængder fødevarer og kan desuden smitte mennesker med en række alvorlige sygdomme, heriblandt den mest udbredte, Weil's syge, men også campylobacter- og salmonellainfektioner kan overføres med rotter (Gratz 1994). I Danmark påbyder loven kommunalbestyrelsen, at rotter bekæmpes, dog er bekæmpelse af rotter i kloakken frivilligt. Indenfor det seneste årti er der observeret en stigning i anmeldelser af rotter, ikke kun i Danmark men bl.a. også i England og Wales (Meyer 2004). I Danmark er det samlede antal af anmeldelser af rotter steget med ca. 40 % siden 1993 frem til 2008, med enkelte år som 1999 og 2008 med særlig mange rotteanmeldelser (Figur 1.1).



Figur 1.1 - Anmeldelser om rotter til danske kommuner i tidsrummet 1993-2008. Data er baseret på indberetninger fra kommunerne til By- og Landskabsstyrelsen.

Til denne stigning skal det bemærkes, at andelen af anmeldelser fra landområderne er faldet, hvilket indikerer, at forekomsten af rotter i byområder er blevet et stigende problem (Peter Weile, pers. kom). Det er velkendt, at kloaksystemet spiller en central rolle for rotternes bestandsdynamik i byerne (Meyer 2004). I engelske byområder antages det, at mellem 60 % til 70 % af rotteanmeldelser kan relateres til kloakkerne (Meyer 2004). I danske byområder antages det, at op mod 90 % af disse rotteanmeldelser har relation til kloakkerne (Peter Weile, pers. kom). Den observerede stigning i antal anmeldelser skyldes dog ikke alene kloakrotter, det antages også, at de varmere klimaforhold og resistens mod de anvendte gifte (rodenticider) er medvirkende til de observerede stigninger i antallet af rotteanmeldelser (Meyer 2004).

Bekæmpelse af rotter foregår primært ved anvendelse af antikoagulanter (midler der hæmmer, at blodet kan størkne) både i kloakkerne og på overfladen. Der skelnes mellem overfladerotter, som lever og etablerer sig i bygninger eller åbne områder, og kloakrotter, som lever i kloakkerne, selvom der ikke videnskabeligt er belæg for en sådan stringent opdeling baseret på forekomst. Alle danske kommuner foretager bekæmpelse af overfladerotter, som loven påbyder, og selvom anvendelse af antikoagulanter og fældefangst på overfladen ofte er effektivt til at slå den lokale overfladerottebestand ned, opnås en længerevarende effektiv bekæmpelse af overfladerotter uden for beboelsesejendomme ikke altid. Nogle af de væsentligste grunde kan være en, i første omgang, utilstrækkelig bekæmpelse af den eksisterende bestand, genindvandring af rotter fra nabobestande eller rotter fra defekte afløbsinstallationer. Da det, som tidligere nævnt, antages, at de fleste anmeldelser i byerne kan have relation til netop kloakken, så foretager mange af de danske kommuner kloakrottebekæmpelse med det formål at være forebyggende (proaktive) og nedbringe antallet af rotteanmeldelser. Men meget af den bekæmpelse, der foretages, er ofte ikke målrettet nok, og dermed ikke effektiv bl.a. pga. manglende viden om kloakrottens biologi og økologi, men også pga. af en utilstrækkelig bekæmpelse.

På sigt anses den forebyggende (proaktive) strategi for mere økonomisk rentabel end den reaktive strategi, hvor bekæmpelse sker på basis af en aktuel rotteforekomst (Colvin & Jackson 1999). Forebyggelse og bekæmpelse af rotter med bekæmpelsesmidler kan ikke erstatte de væsentlige forebyggende foranstaltninger, som består i at rottesikre bygninger, udbedre og vedligeholde kloakkerne og sikre de private rør- og afløbsinstallationer. Dertil kommer en effektiv renholdelse (på overfladen), som f.eks. at bortskaffe spiseligt affald. Forekommer der rotter, bør en bekæmpelse altid følges op med forebyggende foranstaltninger for at sikre et optimalt resultat (Integrated Pest Management - IPM (Meyer 2004)).

Kloakrottebekæmpelse med brug af bekæmpelsesmidler (antikoagulanter) bør især tage udgangspunkt i strategisk rigtig placering af bekæmpelsesmidler eventuelt placeret i strategisk rigtige perioder for at være målrettet. Forudsætningerne for effektiv og målrettet kloakrottebekæmpelse kan dog kun opfyldes, såfremt man har kendskab til hvor, hvornår og hvordan man mest effektivt bekæmper i kloakken. Denne viden bør indgå som grundlag for de krav, der udstedes af myndighederne ved godkendelse af bekæmpelsesmidler, og desuden praktiseres af dem, der skal udføre bekæmpelsen.

Allerede for ca. 35 år siden kom der fokus på den såkaldte "rat-free town" (Myllymäki 1969). Men på verdensplan, er der generelt kun få studier af kloakrotter (især studier i felt-regi) og kun enkelte eksempler på succesrige, koordinerede bekæmpelsesprogrammer, hvor målet på under 1 % rotteaktivitet, som følge af en bekæmpelse, er dokumenteret. Disse succeshistorier inkluderer et storstillet bekæmpelsesprogram udført i Budapest i Ungarn (Bajomi 1980; Bajomi 2002) og et i Kuwait (Al-Sanei *et al.* 1986).

I Budapest opnåede man en kraftig nedgang i antallet af rotter igennem et intensivt giftudlægningsprogram (over og under jorden), forbedrede sanitære forhold og renovationsforhold. At holde rotterne nede på et acceptabelt niveau kræver dog en fortsat grundig monitoring og opfølgning af rotteforekomst i Budapest (Bajomi 1980, 1986, 2002). Men nogle af de væsentligste årsager til den massive reduktion i rotteforekomst i Budapest skyldtes primært de forbedrede sanitære forhold og affaldshåndtering og i mindre grad en fokuseret kloakrottebekæmpelse.

Tilsvarende kunne man i Kuwait opleve store reduktioner i antallet af rotter i byområderne ved forbedrede sanitære forhold og en øget indsats på oplysning til borgerne (Al-Sanei *et al.* 1986).

Kun undersøgelser foretaget i USA og England har tidligere fokuseret på kloakrotter, deres forekomst og bekæmpelse.

I USA fandt Colvin *et al.* (1998), at kloakrotter i Boston hovedsageligt var forbundet med boligområder, hvor kloaksystemet bestod af smalle rør (<61 cm diameter) med lav gennemstrømning. I England er det i et eksperimentelt opstillet kloaksystem vist, at kloakrotter foretrækker tørre kloakafsnit som soveplads og til pelspleje, og våde kloakafsnit til fouragering (Channon *et al.* 2004). Det er derimod ikke klarlagt om tørre steder er en nødvendighed for redepladser og yngelpleje og dermed for rotternes opformering (Channon *et al.* 2004). Vi har altså kun mangelfuldt kendskab til rotternes foretrukne opholdssteder og færden i kloakkerne, og vi kender intet til kloakrottens biologi og økologi, reproduktion, overlevelse eller bestandsfluktuationer. Desuden mangler vi viden om, hvorvidt spredning fra kloak til åbne arealer på overfladen skyldes høj tæthed og pladsmangel i kloakkerne, eller om der er tale om bestande, der både anvender kloaksystem og de åbne arealer på overfladen. Endelig må vi erkende, at vi ikke har et nøjere kendskab til, hvorvidt den gift vi bruger i kloakken (hovedsagelig bromadiolon 0,01 %) har den ønskede virkning med en effektiv nedgang i kloakrottebestanden.

Vi står over for et stigende rotteproblem, der særligt kan relateres til byområder, samt at de eksisterende bekæmpelsesformer, der anvendes i dag, bærer præg af manglende indsigt i de forhold, der især vedrører kloakrotten. Der er et presserende behov for at øge kendskabet til kloakrottens biologi og økologi, og dermed skabe et solidt biologisk grundlag for udstedelse af krav til pesticidanvendelsen, og for udarbejdelse af bekæmpelsesstrategier, der målretter og effektiviserer bekæmpelsen af rotter i byområder.

Dette projekt havde til formål at belyse følgende;

Videnskabelige undersøgelser (Kloakrotters biologi & økologi)

- 1) Bestandsdynamik, reproduktion og overlevelse i kloakken
- 2) Opholdssteder og mobilitet i kloakken

Anvendelsesorienteret undersøgelser (Bekæmpelseeffektivitet)

- 3) Antikoagulant resistens
- 4) Accept (palatabilitet) af giftblokke
- 5) Bekæmpelseeffektivitet

Rapporten her er en afrapportering af de resultater, der blev indsamlet på projektet fra august 2006 frem til december 2008. Rapporten er opbygget med et afsnit (afsnit 2), der beskriver de generelle data vedrørende metoder og forsøgsudførelse. I afsnit 3 præsenteres og diskuteres resultaterne af de undersøgelser, som er blevet gennemført med fokus på anvendelsesorienterede bekæmpelsesaspekter. I afsnit 4 er det de grundlæggende videnskabelige undersøgelser, som præsenteres og diskuteres. Afsnit 5 er en sammenfatning af projektets primære resultater og betydningen og relevansen for rottebekæmpelsen diskuteres.

2 Basal dataindsamling

2.1 Forsøgslokaliteterne

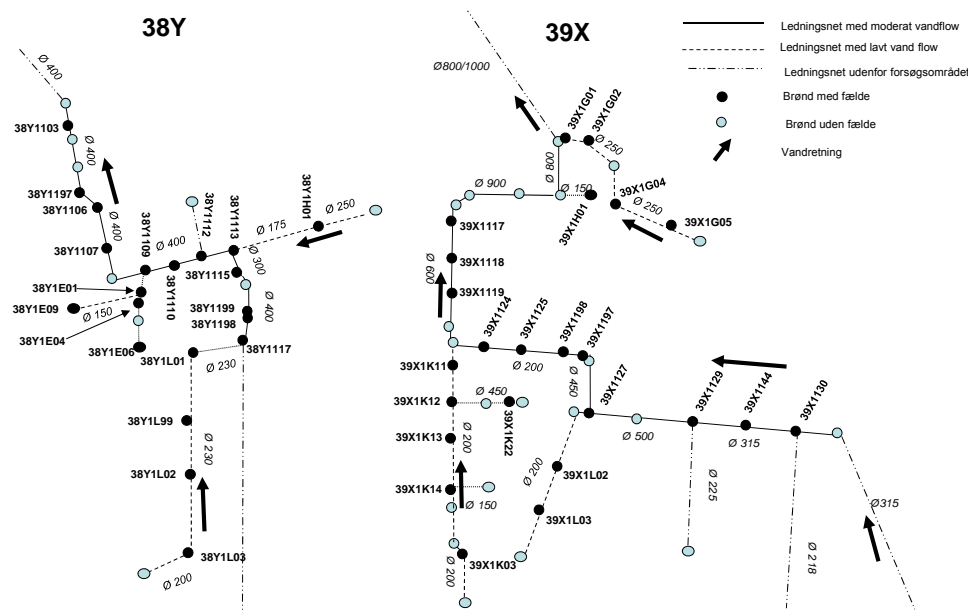
For at kunne gennemføre de planlagte biologiske og anvendelsesorienterede undersøgelser skulle der findes egnede forsøgslokaliteter. Da de anvendelsesorienterede undersøgelser bl.a. omfattede undersøgelse af resistens mod antikoagulanter og bekæmpelse af kloakrotter med brug af gift, var der for disse undersøgelser brug for særskilte forsøgslokaliteter for at forhindre en påvirkning af kloakrotterne i de områder, som skulle bruges til at belyse de biologiske aspekter af kloakrotternes liv. Der var i dette projekt behov for i alt syv forsøgslokaliteter. En hovedlokalitet (lokalitet A), hvor de biologiske undersøgelser vedrørende blandt andet bestandsstørrelser, reproduktion, alder- og kønsfordeling, overlevelse og bevægelser kunne udføres. De øvrige undersøgelser blev henlagt til seks andre forsøgslokaliteter, B1-B6.

Alle forsøgslokaliteterne var beliggende i byområder, hvor oplandet var en kombination af forretning og bolig (både enkelt parceller og etageejendomme). Alle forsøgslokaliteter havde kloaksystemer af ældre dato, og alle var fælleskloakeret, det vil sige, at både spildevand og regnvand blev afledt i samme ledningsstreng.

Udvælgelsen af de enkelte forsøgsområder blev baseret på forudgående undersøgelser, som havde til hensigt at sikre, at forsøgsområderne havde rotteaktivitet. Forundersøgelser omfattede nøje gennemgang af kloakbrøndene i afgrænsede områder, og var der tvivl om rotteaktivitet (som følge af manglende rotteekskrementer), forud for udvælgelse af forsøgslokalitet, blev indikatorblokke (ugiftige voksblokke sammenlignelig med de giftblokke der anvendes i til kloakrottebekæmpelse) ophængt og prøvefangster foretaget. Dette foregik flere uger forud for forsøgenes gennemførelser, for at påvirke rotterne adfærd mindst muligt.

2.1.1 A-lokaliteten

Hovedlokaliteten (forsøgsområde A) var beliggende i Kgs. Lyngby og dækkede et samlet overflade areal på ca. 500 x 600 m (30 Ha). Forsøgslokaliteten bestod af to adskilte systemer, 38Y og 39X som stødte umiddelbart op til hinanden (figur 2.1). For begge systemer var gældende, at de havde forbindelse til det øvrige ledningsnet udenfor forsøgsområdet. Længden af den offentlige ledning i de to systemer var for 38Y ca. 825 m og 1335 m for system 39X. I hele forsøgsområdet var der i alt 73 kloakbrønde. De i alt 45 forsøgsbrønde blev udvalgt således, at der var en god dækning af hele forsøgsområdet. Antallet af forsøgsbrønde var henholdsvis 21 og 24 i system 38Y og 39X.



Figur 2.1 - Forsøgslokalitet A – området bestod af to adskilte afløbssystemer. Begge systemer var fællessystemer. I område 38Y var der i alt 21 forsøgsbrønde og i 39X var der 24 forsøgsbrønde.

2.1.2 B-lokaliteterne

De seks B-lokaliteter blev fundet i København, Rødovre og Lyngby-Taarbæk kommune med to lokaliteter per kommune (Figur 2.2). Begrundelsen for at vælge disse tre kommuner var, at de hver i sær repræsenterede forskellige tilgange til kloakrottebekæmpelsen. Københavns kommune har igennem de sidste 20 år ikke udført kloakrottebekæmpelse med brug af gift. I Rødovre Kommune var bekæmpelse af kloakrotter med gift blevet indstillet fire år før forsøgets start, og i Lyngby-Taarbæk kommune bruges der årligt ca. 2500 giftblokke i bekæmpelsen af kloakrotter.

Mellem 25-35 forsøgsbrønde blev etableret i hver af de seks forsøgslokaliteter. B-lokaliteterne blev anvendt til tre særskilte forsøg. I projektets første år blev der gennemført undersøgelser for antikoagulant resistens blandt kloakrotterne i de seks områder samt undersøgelser af forekomst af bakterien *Leptospira* sp. i de indfangne kloakrotter. Bakterien *Leptospira* kan fremkalde Weil's syge hos mennesker og husdyr. I projektets sidste år blev der etableret forsøg med bekæmpelse af kloakrotter med brug af antikoagulanter for derved at kunne vurdere bekæmpelseseffektiviteten.



Figur 2.2 - København og omegnskommunerne og placering af de seks B-Forsøgslokaliteter.

2.2 Indfangning af rotter

Projektets væsentligste resultater er baseret på indfangning af vilde rotter i selve kloakkerne. I alle tilfælde blev rotterne indfanget med rusefælder (levendefangende).

På de seks B-lokaliteter blev der anvendt enkelt fangende rusefælder (billede 2.1) og på A-lokaliteten blev der anvendt flerfangende rusefælder (billede 2.2).



Billede 2.1 – enkeltfangende rusefælde.



Billede 2.2 – flerfangende rusefælde

2.2.1 Fangst af rotter til laboratorieundersøgelser

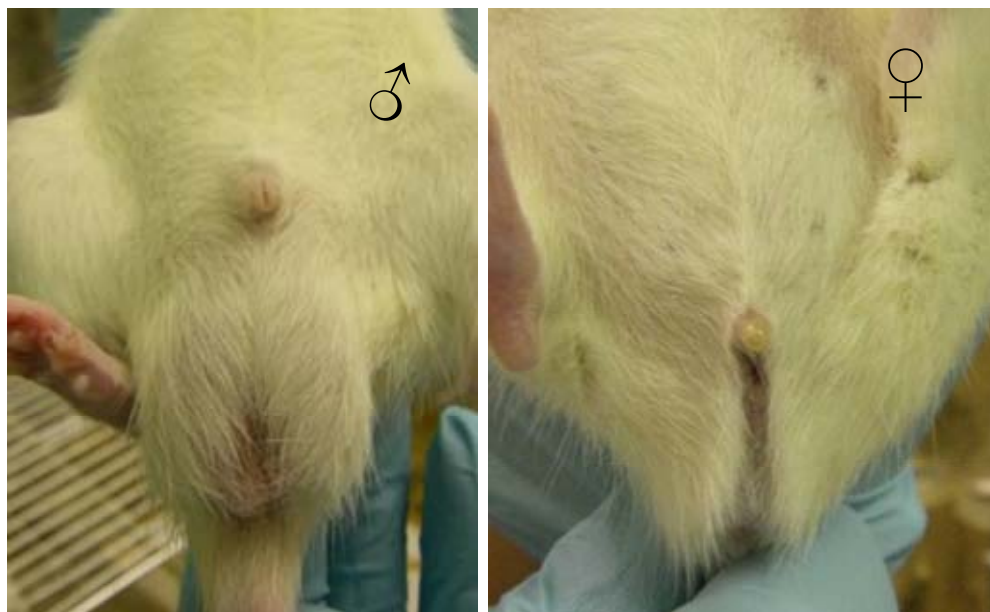
For at undersøge for resistens mod antikoagulanter skulle rotter indfanges levende og bringes til test på laboratoriet.

Til fangst af kloakrotter blev levendefangende rusefælder benyttet. Fælderne blev placeret i mellem 20-30 brønde per lokalitet. De indfangede rotter blev på Skadedyrlaboratoriet opstaldet enkeltvist i bure. Efter en kortere akklimatiserings-periode blev rotterne testet for bromadiolon resistens (se herom i afsnit 2.4 og 3.1).

2.2.2 Fangst-genfangst

Både på forsøgslokalitet A, men også på de seks B-lokaliteter blev der foretaget fangst-genfangster. På B-lokaliteterne skete det som ovenfor nævnt i forbindelse med vurdering af bekæmpelseeffektivitet af en giftbekæmpelse (afsnit 2.5 og afsnit 3.3). Ved fangst-genfangst blev de allerede opsatte fælder aktiveret og derefter fulgte tre på-hinanden-følgende fangstdage. Disse fangstsessioner blev gennemført hver fjerde uge. På lokalitet A blev fangstsessionerne gennemført fra uge 34 (august) 2006 og afsluttet uge 50 (december) 2008. Indfangningshyppigheden hver fjerde uge er baseret på det biologiske faktum, at rotter har en hurtig generationstid og relativ kort gennemsnitlig levealder. Ved længere indfangningsintervaller, ville værdifuld information om bestanden kunne gå tabt, idet sandsynligheden for at genfange de samme individer mindskes ved senere fangstsessioner.

Ved fangstsessionerne blev rotternes køn, vægt, reproduktive stadie samt stedet (forsøgsbrønden) registreret. Kønnen på rotten blev bestemt ud fra afstanden mellem kønsåbning og anus (billede 2.3), og reproduktive aktive hanner kunne identificeres ud fra synlige testikler (scrotum) og bitestikler (gubernaculum) og reproduktive aktive hunner var kendetegnende ved perforation af kønsåbning, synlig drægtighed og laktation.



Bil lende 2.3 – demonstration af placeringen af kønsåbninger hos han (venstre) og hunrotte (højre).

Ved fangst-genfangst er det essentielt, at de enkelte rotter mærkes, således at de kan genkendes, når og hvis de blev genfanget. Hver rotte fik ved første fangst, under bedøvelse, indskudt en lille mikrochip (PIT tag (Passive Integrated Transponder), Francis Scientific Instruments Inc., UK). Chippen var på størrelse med et riskorn, og blev injiceret subkutant (under huden) i nakken eller bugen af rotten. Hver PIT tag havde et unikt nummer (som f.eks. 04159E261B), som gjorde, at hvert mærket individ altid kunne identificeres ved en senere genfangst.

I forbindelse med, at rotten var bedøvet, blev der i samme omgang udtaget en blodprøve fra hver enkelt rotte, med henblik på senere genetiske undersøgelser (afsnit 4.3). Blodprøven blev enten taget fra den ventrale side af halen (undersiden) eller fra punktering af orbital sinus (ligger bag øjet). Blodprøver blev registreret og opbevaret på frys (-20 °C) indtil brug.

Rotter er notorisk neofobe (angste for nye ting). Indfangning af rotter på overfladen er forbundet med vanskeligheder netop på grund af denne fobi. Dette var også forventelig at være udtalt blandt kloakrotterne. En måde at imødegå rottens neofobi var at placere fælderne i god tid (minimum 2 uger) i de enkelte fangstbrønde og altid i tilvænningsperioder at lade fælderne stå åbne og med lokkemad. Således kunne rotterne vænne sig til at gå ind og ud af fælderne. Fælderne forblev altid i fangstbrønden imellem fangstsessioner og var i denne periode deaktiveret og altid med lokkemad placeret i fælderne. Kun ved selve fangstsessionerne blev fælderne aktiveret og tilset dagligt i de tre efterfølgende fangstdage. Grundet den lange forsøgsperiode for den biologiske undersøgelse (to år og fire måneder) blev det antaget, at neofobi ville have en mindre og ubetydelig indvirkning på forsøget.

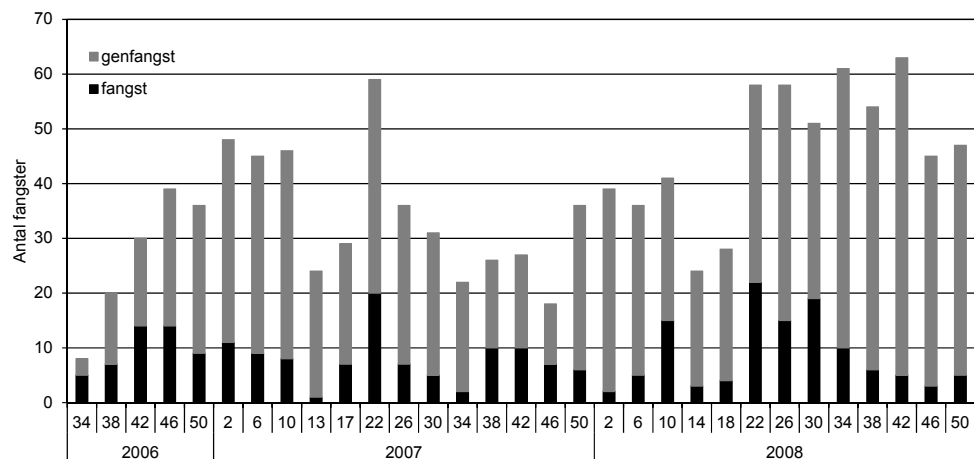
2.2.3 Fangstresultater

Dette afsnit omhandler nogle af de basale fangstdata, som blev indsamlet på forsøgslokalitet A (forsøgsområderne 38Y og 39X). Disse data dannede basis for de videre analyser om kloakrotternes biologi (se afsnit 4). Ved fangstsessionerne blev der, som nævnt i afsnit 2.2.2, indsamlet oplysninger, om de enkelte rotter med hensyn til; a) om det var en førstegangsfangst eller

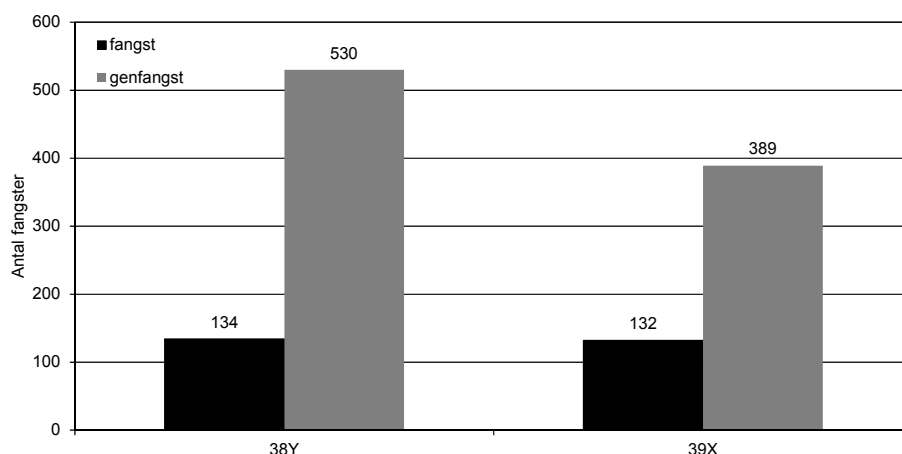
b) en genfangst, c) rottens køn, d) vægt e) reproduktive stadie og f) hvor den blev fanget. Baseret på bl.a. informationer om fangst-genfangst kunne bestandsstørrelserne beregnes for hver af de gennemførte fangstsessioner. Bestandsstørrelserne blev derefter testede for relation til andre observationer, såsom f.eks. rotternes reproduktion, temperatur, nedbør. På baggrund af informationer om fangstbrønde blev der undersøgt for, om der var særlige præferenceområder i kloakken for f.eks. hunner og hanner, unge og gamle etc. Desforuden blev fangstinformationerne brugt til at skaffe viden om, hvor langt omkring i systemerne rotterne bevægede sig.

2.2.3.1 Demografi i rottebestandene i forsøgsområde A

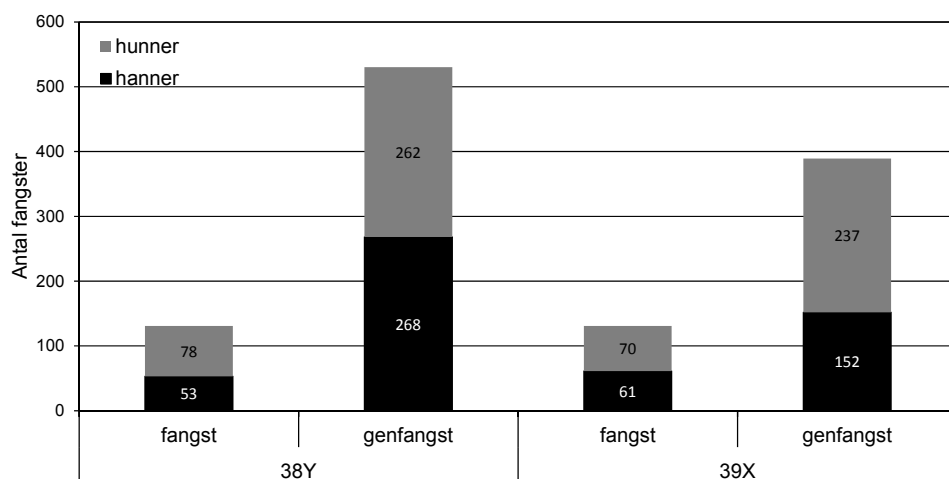
Der blev gennemført i alt 31 fangstsessioner i projektperioden. I alt blev der foretaget 1185 fangster, hvor der blev chipmærket 266 individer. Disse 266 individer blev tilsammen genfanget 919 gange. Der er lavet en samlet oversigt over det totale antal fangst-genfangster på hele forsøgslokalitet A for hver af de 31 fangstsessioner (figur 2.3). Fordelingen af fangst og genfangster for de to systemer 38Y og 39X kan ses af figur 2.4. Der var signifikant flere fangster i 38Y i forhold til i 39X ($\chi^2=4,17$, $P=0,041$, Yates corrected χ^2 , Statistica), da antallet af genfangster her var væsentlig højere. Fordelingen mellem de to køn for fangster og genfangster var ikke forskellig i de to systemer, 38Y og 39X ($\chi^2=0,31$, $P=0,577$) (figur 2.5). De demografiske data vil blive yderligere analyseret og diskuteret i afsnit 4.1.



Figur 2.3 - Fordelingen af fangst-genfangster på forsøgslokalitet A. I alt 31 fangstsessioner blev gennemført på forsøgslokalitet A. Uge nr. i årene 2006-2008 angiver tiden hvor fangstsessionerne er blevet gennemført. Højden på hver søjle angiver det totale antal fangster. Sorte markeringer angiver fangst af nye individer og de grå markeringer angiver antal let af genfangster.



Figur 2.4 - Fordelingen af fangst-genfangster i system 38Y og 39X på forsøgslokalitet A. For 38Y og 39X var der henholdsvis 134 og 132 individer som til sammen blev genfanget 530 og 389 gange.



Figur 2.5 - Fordelingen mellem fangst-genfangst mellem han- og hunrotter i system 38Y og 39X på forsøgslokalitet A.

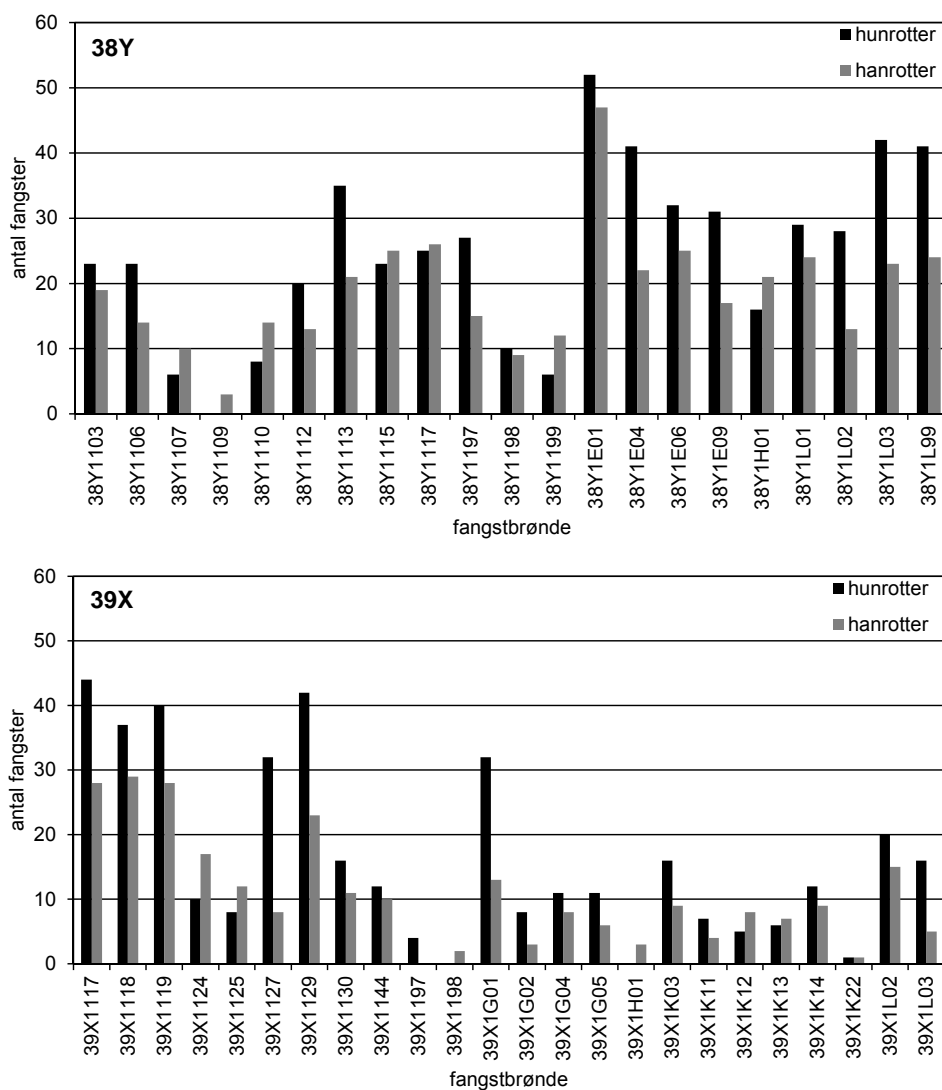
2.2.3.2 Bevægelser i kloakken

På baggrund af fangstfordelingen i de forskellige fangstbrønde, blev det undersøgt, om der var områder, som var mere attraktive end andre områder. I figur 2.6 ses det, at der var en overvægt af fangster i visse fangstbrønde i både system 38Y og 39X. De brønde, som havde størst fangsttal, var typisk brønde, som var nabobrønde til hinanden (se også figur 2.1 for placeringen af brøndene).

Som det ses ud fra fangstopgørelsen var der indikation af, at rotterne ikke var jævnt fordelt i kloaksystemerne. På individniveau kunne der observeres mange individer, både hanner og hunner, som havde et meget afgrænset bevægelsesområde (dvs. at de kun blev fanget i ganske få brønde og ofte tilstødende nabobrønde) (figur 2.7 og 2.8). Andre rotter bevægede sig over længere afstande dvs. at de blev fanget i brønde som lå længere fra hinanden.

Da rotterne kun kunne bevæge sig via ledningsnettet, så måtte en rotte, der bevægede sig fra et punkt (A) til et andet punkt (D) på et eller andet tidspunkt have opholdt sig på eventuelle punkter, der lå imellem (nemlig punkt B og C). Da vi kun benyttede os af fangstinformationen, kunne vi ikke udelukke, at rotterne forekommer på andre positioner udenfor det undersøgte

område, da der var åben forbindelse til tilstødende ledningsafsnit. De individuelle fangstinformationer blev brugt til at definere bevægelsesmønstre for de enkelte individer og grupper af rotter. Dette vil blive yderligere diskuteret i afsnit 4.2.



Figur 2.6 - Fordelingen af fangster (fangster incl. genfangster) i de to systemer 38Y og 39X på forsøgslokalitet A.

Individual ID	Sex	38Y1E09	38Y1E04	38Y1E06	38Y1E01	38Y1103	38Y1197	38Y1106	38Y1107	38Y1109	38Y1110	38Y1112	38Y1H01	38Y1113	38Y1115	38Y1198	38Y1199	38Y1117	38Y1L01	38Y1L99	38Y1L02	38Y1L03	Total
A031	M				1									1	1			3	3	4			13
A172	M		1		1		1				1	1	1	1	1		1	4	7	2	1	3	26
A137	M		1		1						1			2	1	1		1				1	9
A113	F	2	1	1	1												1				1		7
A244	M			1	1	2	2	2	3		1		2	3								1	17
A072	F				1	3																	4
A207	M				2		1					2		1	1		1			1	1	2	12
A016	F	2	2	2	2	2	6	4	1			1								1	1	2	22
A206	F	2	3		2		7	1	2			1	1	2									21
A220	F	1		1	2			1															5
A151	M	3	1	2	3	1		1	1						1	1	1		1				16
A178	M				3					1			2	1	3		2	2	2	2	3	2	23
A002	F				3														2				5
A169	M		1		3		1								1		1	4	3	2	1	2	19
A236	M		1	1	4		1	3			3	3	3	2	3	1	1	1		1			28
A045	F	1	3	2	2		1																9
A015	F	2	6	2	2																		12
A009	F		1		2																		3
A245	M	2	1		2																		5
A014	F		3		2																		5
A133	F				2									1									3
A023	M	2			2		2		2														8
A231	M		1	1	3		1					2											8
A230	M				3								4	1	2		4						14
A132	F				3																		3
A150	F	1	2	2	6		1				1												13
A135	M	3	5	2	6	1	1	3		1													22
A283	M		1	1																			2
A284	F	1		1																			2
A238	F	1		2							1		1		1								6
A204	M		1								1		2	1									5
A219	F		2					1				2	5	9	1								20
A017	F	2																					2
A053	F												3		1	1							5
A076	F											2		2	2	1							7
A066	M														2	1							3
A021	F											1	3	3		1							8
A273	F											1		1	1								3
A286	F													1	1								2
A275	F														2	1							3
A058	F												2	2	2								6
A293	M														2								2
A063	F											1		1									2
A069	M										1		2	1									4
A274	M											1		1									2
A057	M												4	2									6
A276	F													2									2
A060	F										1	2											3
A237	M											2											2
A024	M					7																	7
A048	M							2	1														3
A049	F							2															2
A068	M					1	2	1															4
A073	F					2	2	1															5
A083	F					1	2	2															5
A084	M					1			1														2
A259	F					2	2																4
A270	F							2															2

Figur 2.7 - Uddrag af enkelte individ optegnelser for system 38Y. Øverste linier angiver fangstpositionerne, som så vidt muligt er placeret ved siden af nabo-brønde, der kan i øvrigt refereres til figur 2.1 for den skematiske oversigt over positionernes placeringer. Hver linie i tabellen angiver et enkelt individ. Kønnen opgives som enten F (hun) eller M (han). De farvede felter på hver linie angiver de positioner hvor individet er blevet fanget og tallet i feltet hentyder til antal gange individet er fanget på positionen.

Individual ID	Sex	39X 1G01	39X 1G02	39X 1G04	39X 1G05	39X 1H01	39X 1117	39X 1118	39X 1119	39X 1K03	39X 1K11	39X 1K12	39X 1K13	39X 1K14	39X 1K22	39X 1124	39X 1125	39X 1198	39X 1127	39X 1129	39X 1130	39X 1144	39X 1102	39X 1103	Total
A003	M					4	4	3																	11
A232	M					6	2	1																	9
A153	F	6		1		9	11	5																	32
A022	M						1	1																	2
A287	M						1	1																	2
A258	M						1	4																	5
A013	F						2	3																	5
A223	F						5	3																	8
A226	M					1	1	1																	3
A294	M					1	1	1																	3
A256	F					1	1	6																	8
A037	F					1	1																		2
A281	F					1	2																		3
A191	M					1		1																	2
A255	F					1		4																	5
A254	F					2	2	3																	7
A115	F					3	1	1																	5
A030	F					3	2																		5
A243	F	2		1	1	3																			7
A082	F																			1		1			2
A179	F																		1		1				2
A078	M																		2						2
A145	F																		2			1			3
A234	F																		2						2
A260	F																		2						2
A144	F																		3		1				4
A280	M																		3		1	2			6
A062	M																		3						3
A140	F																		4	3	2				9
A120	F																		5	2	2				9
A050	F																		2		1				3
A247	M																		3						3
A155	M															1					1	2	2		6
A046	F																					1	2		3
A130	M																						2		2
A201	M																		1						1
A095	F	1	1	1	1																				4
A091	F	1	1																						2
A089	F	1		1																					2
A110	M	1		1																					2
A124	F	1			1																				2
A125	M	1			1																				2
A011	F	3	1		1																				5
A199	F								1		1	1				1									4
A116	M								1			1				4	1						2		9
A158	F								1				2												3
A166	F								2		1	1	1		1										6
A242	F								4	1	1	1	1	1	1	1	2								12
A200	M									1	1				2	1									5
A203	M									1	2				1										4
A197	M									1	3				4								1		9
A229	F									1		2	5												8
A202	M										1					3		1							5
A221	M										1	1	2												4
A157	M											1			2										3
A250	M												2												2

Figur 2.8 - Uddrag af enkelte individ optegnelser for system 39X. Øverste linier angiver fangstpositionerne, som så vidt muligt er placeret ved siden af nabo-brønde, der kan i øvrigt refereres til figur 2.1 for den skematiske oversigt over positionernes placeringer. Hver linie i tabellen angiver et enkelt individ. Kønnen opgives som enten F (hun) eller M (han). De farvede felter på hver linie angiver de positioner hvor individet er blevet fanget og tallet i feltet hentyder til antal gange individet er fanget på positionen.

2.2.4 Klimadata (temperatur og nedbør)

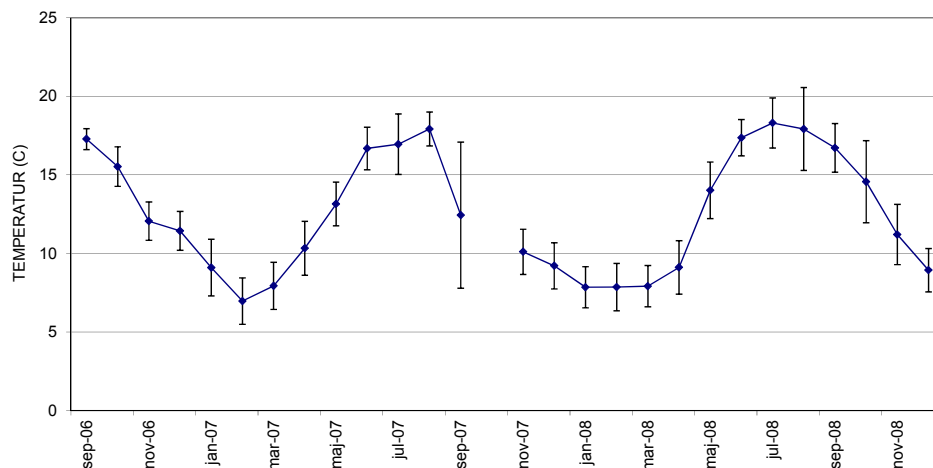
Klimatiske faktorer som f.eks., årstider og nedbør kan være afgørende for bestandsregulering af rotter på overfladen. Derfor blev det undersøgt om temperatur og nedbør havde indflydelse på bestandsreguleringen i kloakken.

2.2.4.1 Temperatur

Under hele projektperioden blev der indsamlet temperaturdata fra forsøgslokalitet A. Til dette formål blev der ophængt optil seks temperaturloggere i faste forsøgsbrønde imellem hver fagstsession. Igennem hele forsøgsperioden blev der hver måned, i forbindelse med fangstfangstsessionen i området, tappet data fra disse loggere.

Den gennemsnitlige temperatur per måned blev estimeret ud fra samtlige temperaturmålinger fra samtlige loggere og standardafvigelsen for de enkelte værdier angav den observerede variation i månedens gennemsnitstemperatur (Figur 2.9). Som det ses, var der udsving i temperaturen, som umiddelbar

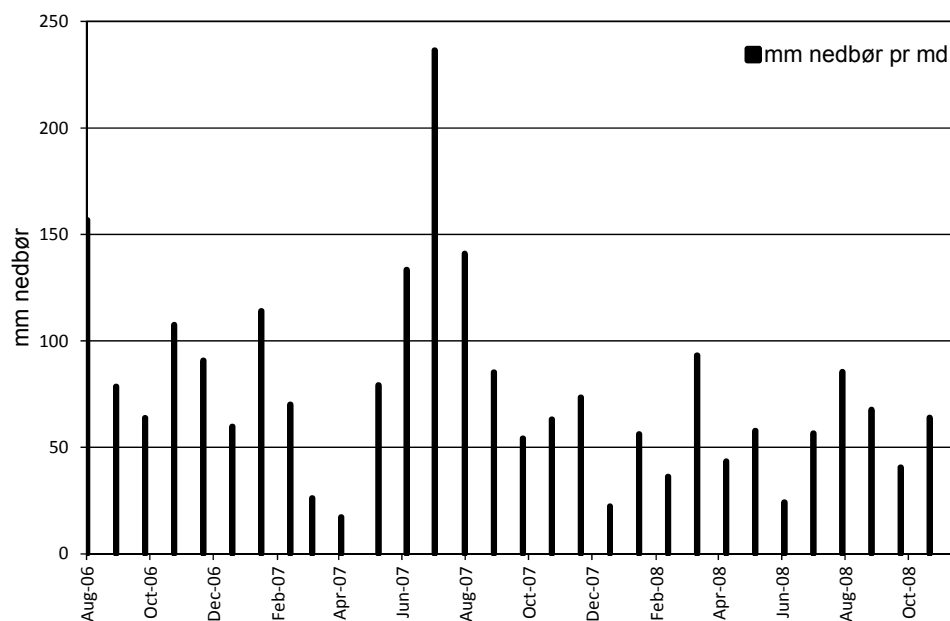
havde relation til årstiden. Ikke på noget tidspunkt kom temperaturen under 5 °C om vinteren og aldrig over 20 °C om sommeren. Den månedlige afvigelse var ikke foranlediget af forskelle mellem målestationer, men et resultat af døgnudsving, med lavere temperaturer i nattetimerne og de højeste temperaturer i dagtimerne.



Figur 2.9 - Middel temperatur i kloakken på forsøgslokalitet A. Standardafvigelsen angivet som vertikale streger.

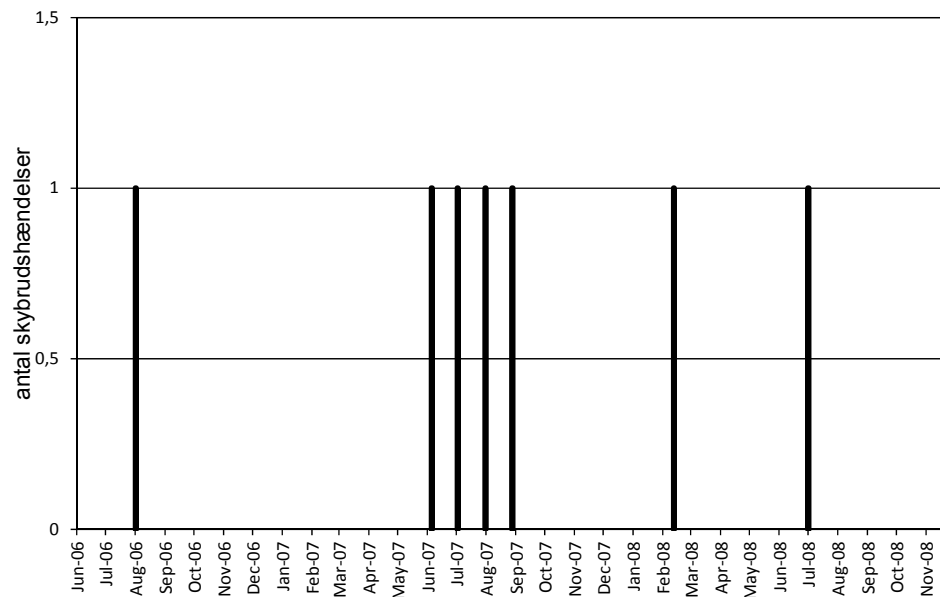
2.2.4.2 Nedbør

Da de undersøgte forsøgsområder alle var fælleskloakerede kunne øgede nedbørmængder i lokalområdet påvirke vandstanden i ledningerne og dermed få stor indflydelse på rottebestandens overlevelse. For at få et mål for den mængde nedbør der faldt over forsøgsområde A i undersøgelsesperioden, blev der indhentet nedbørsdata fra en nærværende målestation (Stades Krog regnbassin) (data udleveret af Københavns Energi). Den månedlige nedbør (målt i mm) blev beregnet på baggrund af disse oplysninger og kan ses i Figur 2.10.



Figur 2.10 - Månedlig nedbør i Lyngby, baseret på oplysning fra regnvandsbassinet Stades Krog.

Det var yderligere muligt at identificere de tidspunkter, hvor der forekom egentlige skybrud. Ved skybrud falder store mængder vand på meget kort tid, og dette kan give problemer med vandafledningen i fælleskloakerede ledninger. Overbebyrdede kloakledninger kan resultere i, at rotter bliver skyllet væk fra deres områder og med en mulig øget dødlighed til følge. I denne undersøgelse blev skybrudshændelser karakteriseret ved de nedbørshændelser, hvor den faldne nedbørsmængde/antal minutter oversteg en værdi på 0,02 (Figur 2.11). Kun syv hændelser, som kunne have påvirket ledningsnettet væsentlig blev identificeret. I sommeren 2007 fandt hele fire sådanne hændelser sted.



Figur 2.11 - Identificerede skybrudshændelse i Lyngby, baseret på indsamlede nedbørsdata fra regnvandsbassinet Stades Krog. Hændelsen "skybrud" har karakteren "1" og måneder uden skybrud karakteren "0".

Data på temperatur og nedbør vil blive benyttet i analyser, hvor disse faktoreres indflydelse på bestandsstørrelsen af kloakrotter i de to systemer undersøges (afsnit 4.1).

2.3 Resistensundersøgelser

Forekomst af resistens hos de undersøgte kloakrotter blev foretaget ved anvendelse af to forskellige teknikker. For at undersøge rotternes fænotypiske response, når de udsættes for en antikoagulant, blev Blood Clotting Response testen (BCR) anvendt. Derudover blev samtlige rotter testet for resistens ved brug af en genetisk test.

Til undersøgelse for resistens mod antikoagulanter har den mest anvendelige test, siden sidst i 1990'erne, været BCR testen (Martin *et al.* 1979). Testen blev udviklet i slutningen af 70'erne og videreudviklet op i gennem 80'erne (Martin *et al.* 1979, Gill *et al.* 1993, 1994). Testen, som er baseret på injektion af subletale doser (ikke dødelige doser), har i mange forsknings- og testlaboratorier erstattet den ældre ædetest, som er baseret på at fodre rotterne med giften blandet op på f.eks. et kornprodukt.

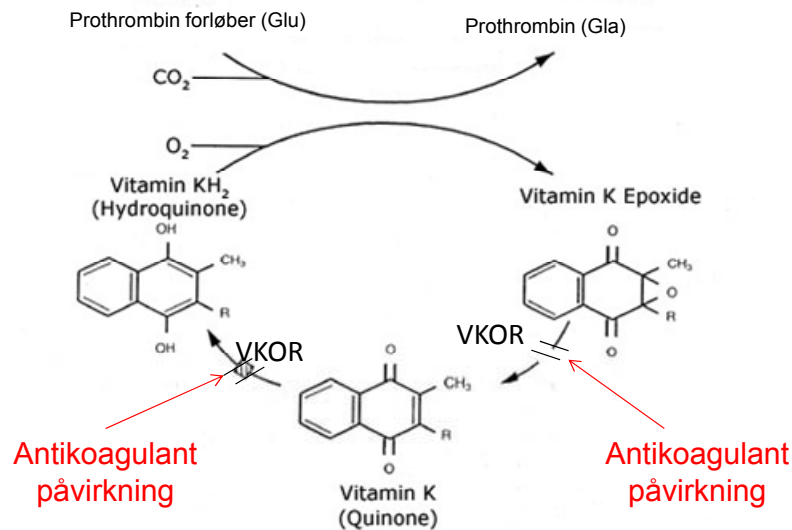
I starten af årtusindeskiftet havde man held med at identificere det gen og de mutationer (genetiske ændringer), som menes at danne basis for antikoagulant resistens. I de følgende afsnit vil BCR testen (afsnit 2.3.1) og den genetisk baseret test (afsnit 2.3.2) blive beskrevet.

Der kan foruden dette afsnit refereres til afsnit 3.1, hvor resultaterne af undersøgelsen fremlægges og diskuteres.

2.3.1 Blood Clotting Response test

Som navnet på testen antyder, er det blodets evne til at koagulere, som undersøges. Grunden til dette er, at en antikoagulant påvirker blodets koagulationsevne negativt, således at blodet ikke længere kan størkne.

Blodets koagulation er betinget af dannelsen af en række koaguleringsfaktorer. Basis for dannelsen af disse faktorer er en cyklisk omdannelse af vitamin K (Thijssen 1995). Med indgivelse af en antikoagulant vil antikoagulanten forhindre denne cykliske omdannelse, hvorfor der ikke kan frigives det nødvendige prothrombin til den videre dannelse af blodkoaguleringsfaktorer (figur 2.12).



Figur 2.12 - Vitamin K cyklus, som er medvirkende til dannelsen af prothrombin, som indgår i dannelsen af blodkoaguleringsfaktorer. Antikoagulanter binder sig VKOR (vitamin k oxid reduktase) og forhindrer derved den cykliske omdannelse af vitamin K epoxid.

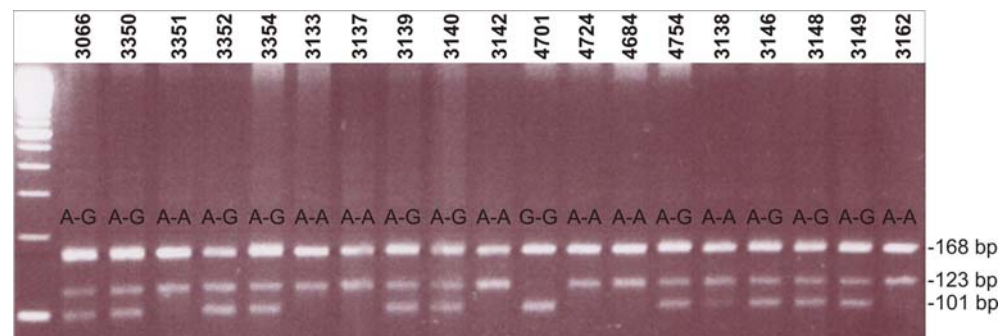
Derfor vil man, ved at måle blodets koaguleringssevne efter indgivelse af en subletal dosis (ikke dødelig) af giften, kunne se en forøget koaguleringsstid hos rotter, som er følsomme overfor antikoagulanter. At blodet ikke kan koagulere, betyder, at rotten vil dø af indre blødninger. Hos de antikoagulant resistente rotter er der midlertidigt sket en ændring i deres DNA, så det protein antikoagulant angriber ikke længere er modtageligt for påvirkningen (Rost *et al.* 2004) (figur 2.12). Det betyder, at antikoagulant kun i ringe grad eller slet ikke kan fungere. Dermed vil dannelsen af koaguleringsfaktorer hos den resistente rotte kunne fortsætte uhindret eller med lettere formindsket aktivitet.

For at undersøge om rotten påvirkes af en indgivelse af en antikoagulant tages der altid en blodprøve før selve indgivelsen (blodprøve 1) og, afhængig af hvilken antikoagulant der undersøges for, tages der en ny blodprøve (blodprøve 2) én til fire dage efter indgivelsen af giften. I denne undersøgelse, hvor det var bromadiolonresistens, var der fire dage mellem blodprøve 1 og 2. Koaguleringsaktiviteten blev målt i procent (PCA = percentage clotting activity). PCA værdien for dag 4 blev korrigeret for den individuelle basisaktivitet, da der kan være forskel på den enkelte rottes udgangspunkt. (PCA på blodprøve 1). Den korrigerede PCA værdi for den enkelte rotte blev brugt til at adskille følsomme fra resistente rotter. Den korrigerede PCA værdi blev beregnet på følgende måde; $PCA_{\text{blodprøve 2}}/PCA_{\text{blodprøve 1}} \times 100 \%$. Rotter med PCA værdier over 10 % blev identificeret som værende bromadiolonresistente (Gill *et al.* 1994).

2.3.2 Genetiske undersøgelser; PCR på VKORC1

Den genetiske baggrund for antikoagulant resistens har været mål for studier igennem de sidste årtier (Greaves 1985, MacNicoll 1985, 1988, Markussen *et al.* 2007, 2008, Pelz *et al.* 2005, Wallin *et al.* 2001). Som nævnt angriber antikoagulanter et essentielt target site, som gør, at den cykliske omdannelse af vitamin K, ikke længere kan fortsætte og produktionen af blodkoaguleringsfaktorer ophører. Dette target site menes at være vitamin K epoxid reductase enzym komplekset (VKOR) (figur 2.12). Et bestemt område (VKORC1) i den genetiske kode for membranproteinet VKOR er blevet identificeret, hvor mutationer i VKORC1 kan relateres til antikoagulant resistens (Rost *et al.* 2004). Specielt én mutation i VKORC1 henregnes for at være typisk for resistente danske og tyske rotter (Pelz *et al.* 2005). Mutation er fundet i den kodende region, exon 3, på codon position 139, hvor den forårsager en aminosyreændring fra tyrosin til cystein.

Ved hjælp af Polymerase Chain Reaction (PCR) kan det afgøres, om en rotter har eller ikke har den genetiske mutation, som fører til resistens. PCR resultaterne fra en sådan test kan visualiseres på en agarosegel, hvor de forskellige DNA fragmenter fra PCR'en kan adskilles og derved kan genotypen for hvert enkelt individ identificeres (billede 2.4). Et individ kan være 1) følsom overfor antikoagulanter, dvs. at rotten ikke har nogen ændringer i VKORC1, og derfor kendetegnes ved at have to kopier af vildtype allellen (A-A). 2) Rotten kan være resistent, hvilket betyder, at den kan have ændringen i enten en eller to kopier (henholdsvis heterozygot og homozygot). Koden for de to resistente typer vil være A-G (heterozygoten) og G-G (homozygoten).



Billede 2.4 - Forskellige DNA fragmenter for det testede VKORC1 fragment, som fremkommer ved PCR. Hver "kolonne" repræsenterer et individ (f.eks. 3066). PCR fragmenterne er kørt ud på en agarosegel, hvor DNA'et farves med

ethidium bromid, således at det bliver synligt. Der findes to forskellige alleler for VKORC1. allel A er identisk med vilddypen (følsom) og allel G er identisk med den ændrede (muteret) version (resistent). Et individ kan være enten AA (antikoagulant følsom (homozygot for vilddypen)), GG (antikoagulant resistent (homozygot for mutationen) eller AG (resistent heterozygot).

2.4 Bekæmpelseseffektivitet

Bekæmpelseseffektiviteten af rotter i kloakken afhænger bl.a. af, som beskrevet i forrige afsnit, om rotterne har udviklet resistens overfor det anvendte bekæmpelsesmiddel. Men den generelle accept af det anvendte bekæmpelsesmiddel kan være afgørende for en god bekæmpelseseffektivitet. Kun ved midler med god accept kan man forvente, at rotten vil indtage dødelige doser af antikoagulanten. Er de to forhold vedrørende resistens og rotternes accept af bekæmpelsesmidlet god, så er den sidste vigtige brik i en effektiv bekæmpelse en god og målrettet udlægning af giften.

2.4.1 Kvalitet af bekæmpelsesmidlerne

I Danmark anvendes næsten udelukkende paraffinerede giftblokke til kemisk bekæmpelse af rotter i kloakker. Men der findes ingen videnskabeligt begrundede forskrifter for, hvordan den mest effektive kloakrottebekæmpelse udføres med ædegifte indeholdende antikoagulanter.

Fugt, lugt og andre forhold i kloakken kan formodentlig påvirke giftblokkenes beskaffenhed (f.eks. i form af svampeangreb på blokkene, og derved mindske rotters accept af midlet (billede 2.5). Derfor blev det undersøgt, om rotternes accept (palatabilitet) af giftblokkene blev påvirket af, hvor længe blokkene havde hængt i kloakken. For at give giftblokkene en "korrekt" patina blev blokke hængt ned i kloakken, men udenfor rotternes rækkevide i en periode fra to til seks måneder. Palatabiliteten af friske blokke og blokke som havde hængt i kloakken i to og seks måneder blev testet (afsnit 3.2.2).



Billede 2.5 - Giftblokke brugt til palatabilitetsforsøg med blokke, som havde hængt i kloakken i seks måneder.

En palatabilitetsundersøgelse er en test, hvor et givens produkts generelle accepteringsgrad vurderes. I sådan en undersøgelse vil forsøgsdyret blive sat over for valg af fødeemner: testproduktet og et generelt godt accepteret placebo-produkt. Grunden til at anvende en god placebo er for at sikre, at et

testprodukt også accepteres, selvom der er en god alternativ fødekilde i rottens omgivelser. Undersøgelser har vist, at de observerede forskelle i palatabilitet på forskellige produkter også afspejles under naturlige betingelser (Klemann & Pelz 2005).

Resultaterne af den gennemførte palatabilitetsundersøgelse præsenteres i afsnit 3.2.2.

2.4.2 Udlægningsteknik

De paraffinerede giftblokke til kloakrottebekæmpelse forhandles typisk med et omgivende paphylster, som beskytter midlet mod fugt etc. På paphylstret er yderligere de lovpligtige informationer om midlet opgivet. Giften ophænges med paphylsteret intakt af nogle rottebekæmpere, og med paphylsteret delvist eller helt fjernet af andre. For at undgå at bekæmpelsesmidlet fysisk fjernes, hvis vandstanden i kloakken stiger, ophænges blokkene i kloakken med alt fra "garn" til ståltråd. Hvor højt blokkene placeres over bunden beror på et subjektivt skøn for den enkelte bekæmper. I projektet blev det undersøgt, om placeringen af blokkene havde betydning og i givet fald hvilken udlægningsmetode, der var bedst.

Selve forsøget blev foretaget i kloakkerne og var baseret på et 2 x 2 faktorielt forsøgsdesign (Tabel 2.1). Med dette forsøgsdesign udført i samme 8 forsøgsbrønde blev effekten af de forskellige faktorer undersøgt.

Forsøgets resultater præsenteres og vil blive diskuteret i afsnit 3.2.3

Tabel 2.1 - Behandlingstyper og antal gentagelser til undersøgelse af den bedste udlægningsmetode af paraffinblokke.

	Paraffinblok med paphylster	Paraffinblok uden paphylster
På banketten	4	4
5 til 10 cm over banketten	4	4

2.4.3 Bekæmpelse af kloakrotter

Mange kommuner vælger at foretage en eller anden form for kloakrottebekæmpelse. Den mest almindelige metode er, at bekæmperen en eller to gange om året hænger giftblokke ned i hver brønd i et afgrænset område. Muligvis bliver det samme område behandlet år efter år, men i de kommuner, hvor byzonen er af en betydelig størrelse, vil man typisk vælge en turnusordning. I sådan en ordning vil området sædvanligvis blive opdelt og de enkelte delområder vil på skift blive behandlet, men ikke inden for samme periode/år. Typisk vil denne form for opdeling ikke være baseret på selve ledningsnettets struktur, men udelukkende baseret på en visuel opdeling af de lokale overfladeforhold.

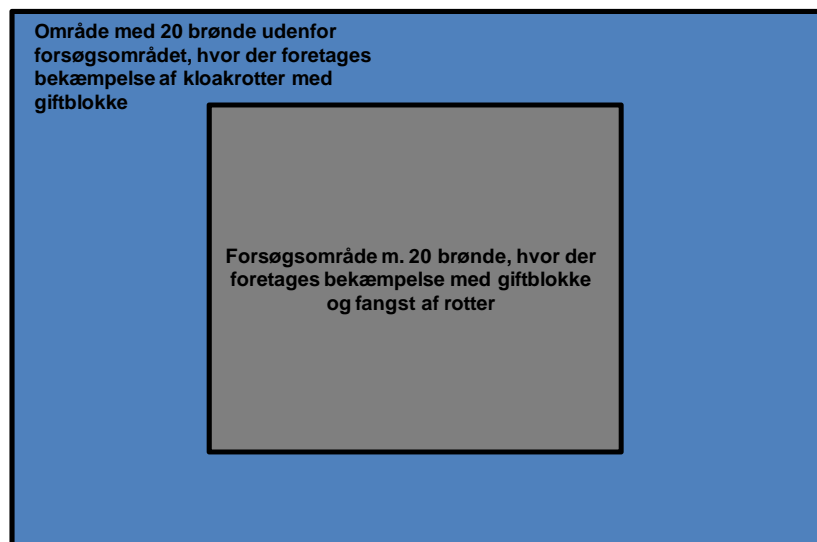
Tidligere udenlandske undersøgelser har indikeret, at der i kloakkerne kan være område uden eller med ringe rotteaktivitet og områder, hvor der er stor forekomst af rotter (Colvin *et al.* 1998, Channon *et al.* 2006). At ophænge gift i områder uden rotteaktivitet vil være spildte kræfter og unødigt brug af gift. Hvorimod i områder med høj rotteaktivitet, vil det typiske kræve en grundigere bekæmpelse, dvs. flere ophængninger af giftblokke, indtil der ikke længere ædes af blokkene.

Den kloakrottebekæmpelsespraksis, med én blok per brønd per år, har formentlig ringe indflydelse på kloakrottebestanden. De få rotter der fjernes

som følge af giftindtagelse, vil blot give rum til nye rotter, som hurtig kommer til bl.a. pga. rotternes gode formeringsevne (Barnett & Bathard 1953). I Boston igangsatte Colvin *et al.* (1989) et storstillet og succesrigt bekæmpelsesforsøg af kloakrotter. Colvin *et al.* benyttede den tidligere beskrevne teknik – Pulsed Baiting (interval udlægning) Dubock (1982). Det er en metode, som typisk er baseret på anvendelse af de stærkeste antikoagulanter (brodifacoum, difethialon og flocoumafen). Dette er midler, som rotter kun behøver indtage i enkelt-doser for at dø. Det at rotten kun behøver meget små doser for at dø, udnyttes ved intervaludlægning. Man udlægger meget små portioner gift (typisk 50-100 gram per udlægningssted) på mange forskellige positioner. Giften suppleres op med samme mængde hver 7. dag på alle de positioner, hvor der spises af giften. Dette ophører først, når der ikke længere spises af giften. Således sikres et forbrug af gift, som er i overensstemmelse med bestandens størrelse, samtidig med at der opnås en betydelig bekæmpelses-effektivitet.

I nærværende projekt blev der gennemført et forsøg, som havde til hensigt at undersøge effekten af en målrettet bekæmpelse som beskrevet ovenfor. Forsøget blev gennemført på tre af B-lokaliteterne. Som kontrolområder blev to af de resterende B-lokaliteter samt selve A-lokaliteten anvendt. En betydelig afvigelse fra Boston modellen var, at der blev brugt bromadiolon i stedet for en af de stærkere gifte. Årsagen til at bromadiolon blev valgt skyldtes bl.a. 1) at der pt. ikke findes kloakvenlig formulering af andre midler på det danske marked og 2) ud fra den kendsgerning, at bromadiolon er den hyppigst anvendte gift til kloakrottebekæmpelse i Danmark. Giften blev ophængt i større mængder end ved Boston modellen (interval udlægning), men praksis med at følge op på indtaget og evt. supplere op, når giften var blevet spist, blev fulgt i hele bekæmpelsesperioden, dog med interval af 14 dage i stedet for 7 dage, grundet den store mængde gift (blokke á 300 g). Da forsøgsområderne var mindre, kunne de enkelte områder ikke opfylde kravet med at foretage bekæmpelsen indenfor et "lukket" (afgrænset) område. Derfor blev forsøget opsat med et kerneområde samt et omgivende område (figur 2.13). Der blev bekæmpet rotter i begge områder, men effekten af bekæmpelsen blev kun vurderet i selve kerneområdet. Til vurdering af bekæmpelseseffektiviteten blev der i kerneområdet gennemført fangstfangst (se i øvrigt afsnit 2.2.2), med henblik på at følge udviklingen i rottebestanden. Bekæmpelsen blev påbegyndt august/september i 2008 og giftudlægningen fortsatte over en periode på mellem syv til otte uger. En eventuel nedgang i kloakrottebestanden blev vurderet ved en ny fangstfangst ved ophør af giftbekæmpelsen. Derefter blev effekten af bekæmpelsen vurderet over en længere periode ved at følge udviklingen i rottebestanden i de bekæmpede områder seks uger efter endt bekæmpelse og derefter efter yderligere 3 måneder.

Forsøgets resultater præsenteres og diskuteres i afsnit 3.3.



Figur 2.13 - Skitse for forsøg med bekæmpelse af kloakrotter med brug af giftblokke

3 Anvendelsesorienterede undersøgelser

I dette kapitel vil undersøgelser, der har umiddelbar relevans for den praktiske bekæmpelse, blive gennemgået. Kapitlet er opdelt i fire afsnit. Afsnit 3.1 belyser problematikken vedrørende antikoagulant resistens hos kloakrotter. Afsnit 3.2 belyser forskellige aspekter vedrørende brug af antikoagulanter til kloakrottebekæmpelse. Afsnit 3.3 omhandler forsøg til belysning af bekæmpelseseffektivitet og sidste afsnit 3.4 omhandler en undersøgelse vedrørende forekomst af den sygdomsfremkaldende bakterie, *Leptospira interrogans*, i kloakrotter.

3.1 Resistens i danske kloakker

Følgende undersøgelse om resistensudbredelse i de københavnske kloakker er blevet publiceret i det videnskabelige tidsskrift *Pest Management Science* (Heiberg 2009, volume 65, side 444-449).

3.1.1 Indledning

Resistens overfor de hyppigst anvendte antikoagulanter er almindelig kendt i danske såvel som udenlandske rottebestande (Lund 1988, Lodal 2001, Kerins *et al.* 2001, Pelz 2001). Dog har vort kendskab til udbredelse af resistens været forbeholdt rotter, som lever på overfladen. Det vil sige, at vores viden om forekomst og udbredelse af resistens i de danske kloakker derfor er meget begrænset.

Betydningen af vores manglende viden om resistens i de danske kloakrottebestande kan få alvorlige konsekvenser for den fremtidige rottebekæmpelse, i det omfang det involverer brug af antikoagulanter.

Da den fremtidige rottebekæmpelse, i højere grad, bliver nødt til at fokusere på rotteproblemet i byområderne, er det væsentligt, at man her har den fornødne viden om rotterne i disse områder. En stor andel af de rotteanmeldelser, som forekommer i bynære områder, har en relation til defekter i afløbssystemerne (Peter Weile pers. kom). Netop derfor bliver det manglende kendskab til udbredelsen af resistens i kloakkerne og betydningen af den praktiserede bekæmpelsesstrategi for udbredelsen af resistens understreget.

De danske kommuner er pålagt at bekæmpe rotter – der er dog ikke krav om kloakrottebekæmpelse. Alligevel foretager mange kommuner (ca. 80 % af de gamle danske kommuner (før kommunereformen i 2007)) kloakrottebekæmpelse, men der er en tendens til, at flere kommuner lægger kloakrottebekæmpelsen på hylden.

Naturstyrelsen har udgivet nogle retningslinier for en effektiv bekæmpelse af kloakrotter, men der eksisterer ingen undersøgelser herhjemme af

effektiviteten af kloakrottebekæmpelsen. Der findes enkelte udenlandske undersøgelser, som med held har bekæmpet rotter i kloakkerne (Colvin *et al.* 1998), men ingen undersøgelser, der har belyst resistensproblematikken i kloakkerne.

Den generelle danske praksis for kloakrottebekæmpelse er ophængning af giftige paraffinerede kloakblokke (typisk med bromadiolon som aktiv stof med en koncentration af det aktive stof på 0,01 %). Typisk udvælges større eller mindre områder uden nærmere kendskab til ledningsstrukturer. I mange tilfælde ophænges der gift i samtlige brønde i det udvalgte område uden forudgående kendskab til rotteaktivitet. Da der, oftest, ikke foretages en vurdering af rotteaktiviteten i det pågældende område forud for en bekæmpelse, betyder det, at man ikke ved, om den gift der hænges ned, er tilstrækkelig til at bekæmpe de kloakrotter, der er i området, eller om der overhovedet er rotter i det pågældende område.

I dette forsøg blev det undersøgt, om forskellige strategier i den kommunale kloakrottebekæmpelse havde indflydelse på forekomst af antikoagulant resistens hos kloakrotterne. Kloakrotter blev indsamlet fra tre kommuner, Lyngby-Taarbæk, Rødovre og Københavns kommune. De tre kommuner repræsenterede tre forskellige strategier med hensyn til kloakrottebekæmpelse; årlig anvendelse af gift (Lyngby-Taarbæk), ingen brug af gift igennem de sidste 6-7 år (Rødovre) og ingen brug af gift igennem de sidste 20 år (København).

3.1.2 Materialer og metoder

To områder i hver af de deltagende kommuner blev udvalgt på baggrund af meldinger om rotteaktivitet i området, samt ved inspektion af afløbssystemet mht. rotteaktivitet. Nedenstående tabel (tabel 3.1 og figur 2.2) viser en oversigt over lokaliteterne og antal fangster.

Tabel 3.1 - Antal fangede rotter på hver af de 6 B-lokaliteter. For hver af kommunerne er angivet arealet og længden af det offentlige ledningsnet.

Kommune	Areal (Km ²)	Offentlig kloak (Km)	Lokalitet	Fangst periode	Antal fangster	
Lyngby	38.9	325	B1	Ørholm	Juli 2006	48
Lyngby			B2	Virum	Marts 2007	30
Rødovre	12.1	170	B3	Roskildevej	Februar 2007	22
Rødovre			B4	Damhusdalen	November 2006	31
København	88.3	1.044	B5	Østerbro	November 2006	36
København			B6	Nørrebro	November 2006	40
Fanget totalt					207	

3.1.2.1 Indfangning og opstaldning

Til fangst af kloakrotter blev levendefangende fælder benyttet. Fælderne blev placeret i 20-30 brønde per lokalitet én til to uger før selve fangsten. Af hensyn til rotternes neofobi (angst for nye ting) forblev fælderne åbne i denne periode med lokkemad i form af mejsekugler. Dette er medvirkende til, at rotterne vænner sig til at gå ind og ud af fælderne og spise af lokkemaden. Efter denne tilvænningsperiode blev fælderne aktiveret og derefter tilset dagligt. Alle indfangede rotter blev overført til laboratoriefaciliteterne på Skadedyrlaboratoriet for videre resistenstestning. Rotterne blev holdt i bure enkeltvis. Hanner og ikke-kønsmodne hunner kunne testes efter en uges

akklimatiseringsperiode, hvorimod kønsmodne hunner først kunne testes efter minimum tre ugers opstaldning, for at undgå drægtige hunner i resistenstesten. I den periode dyrene opholdte sig på Skadedyrlaboratoriet blev dyrene dagligt tilbudt frisk vand og standard rotte/mus laboratoriefoder (Altromin nr. 1324, Chr. Petersen A/S, Ringsted).

3.1.2.2 Test for resistens ved brug af Blood Clotting Response test

Bromadiolon resistens eller følsomhed kan verificeres ved brug af en "Blood Clotting Response" test (BCR). Det er en metode som bygger på måling af blodets koaguleringssevne før og efter indgivelse af en antikoagulant (Martin *et al.* 1979, Gill *et al.* 1994), i dette tilfælde bromadiolon. (se i øvrigt afsnit 2.3.1).

Fremgangsmåden ved indgivelse af antikoagulant var først at bedøve rotterne med brug af Isofluran (Schering-Plough Animal Health, Sverige). Dernæst blev en blodprøve (dag 0) taget fra den ventrale side af halen. Hvorefter en opløsning med antikoagulant (bromadiolon-opløsning) blev givet interperitonealt (i bughulen). Mængden af indgivet gift blev afstemt i henhold til rottens køn og kropsvægt (1 mg bromadiolon per kg hanrotte og 2,4 mg bromadiolon per kg hunrotte) (Gill *et al.* 1994). Efter 4 dage blev rotten igen bedøvet og en ny blodprøve (dag 4) blev udtaget. Blodets koagulering blev målt som den Procentvise Clotting Aktivitet (PCA) og måles som sagt før indgivelse af gift, på dag 0 og igen dag 4. Hvis rotten er følsom overfor antikoagulant, vil rottens blod ikke kunne størkne. Adskillelse af følsom rotte fra resistens sker på baggrund af PCA værdien, hvor PCA over 10 % definerer en resistent rotte (Gill *et al.* 1994).

Udbredelsen af resistens for hver af de 6 lokaliteter blev beregnet som procent (\pm 95 % konfidensinterval). Forskel i resistensudbredelsen, som følge af bekæmpelsesstrategien, blev testet med brug af PROC GENMOD proceduren i SAS (SAS System version 9.1).

3.1.2.3 Test for resistens ved brug af VKORC1 PCR

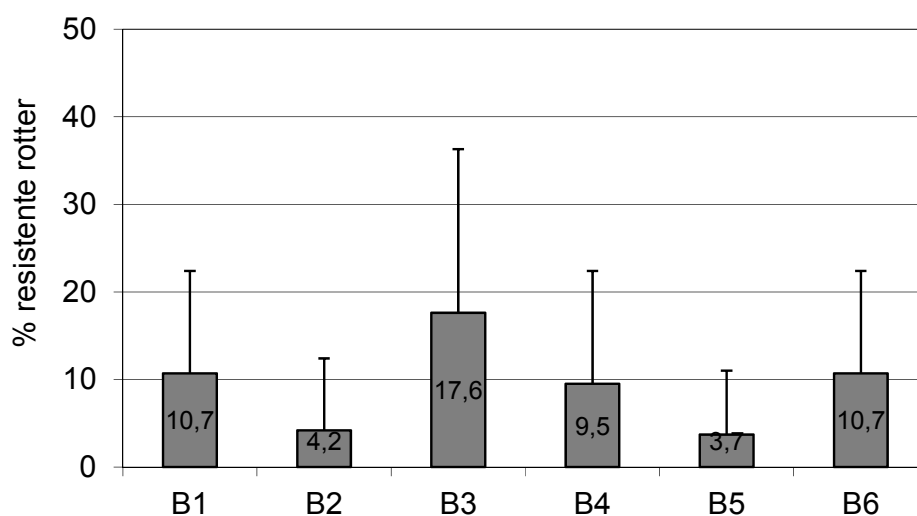
Man har tidligere påvist, at den grundlæggende resistens-egenskab formentlig skyldes en eller flere mutationer i et gen, som koder for vitamin K oxid reductase (VKOR), hvor et område (VKORC1) er stedet for de observerede mutationer med relation til resistens (Rost *et al.* 2004, Pelz *et al.* 2005). Resistente rotter fra Danmark er tidligere blevet undersøgt for disse mutationer og indtil videre har alle danske resistente rotter vist sig at bære én specifik dansk mutation (Pelz *et al.* 2005). Ved anvendelse af Polymerase Chain Reaction (PCR) kan man undersøge om de rotter, som bliver testet resistente og følsomme i BCR er bærer af denne specifikke mutation. På baggrund af en blodprøve fra de indfangede rotter på samtlige seks B-lokaliteter blev DNA isoleret fra de enkelte rotter og med PCR blev rotternes VKORC1 profil verificeret.

Resultaterne blev sammenholdt med BCR resultaterne (der henvises i øvrigt til Heiberg 2009 for yderligere læsning).

3.1.3 Resultater

BCR testen viste, at der var bromadiolon resistente rotter på alle seks B-lokaliteter. Udbredelsen af resistens på de enkelte forsøgslokaliteter blev beregnet (Figur 3.1). Det betød, at selv der, hvor der ikke blev benyttet antikoagulanter i kloakkerne, forekom der resistente rotter. Vi undersøgte, om der var forskel i udbredelsen, som kunne være betinget af de forskellige

bekæmpelsesstrategier, men der blev ikke fundet statistiske forskelle ($\chi^2=4,52$, $P=0,105$).



Figur 3.1 - Den procentvise andel af bromadiolon resistens. Den procentvise andel af resistente rotter kan aflæses ud fra søjlens højde derudover er værdien angivet for hver søjle. 95 % konfidensintervaller er angivet ved de lodrette streger.

Den VKORC1 baserede PCR undersøgelse gav overraskende negative resultater, hvilket betød, at de rotter, som blev testede positive i BCR, ikke havde den forventede mutation i VKORC1. For at sikre, at BCR resultatet ikke skyldtes en anden mutation i VKOR, som ikke var dækket af den pågældende PCR test, blev den genetiske kode for hele VKOR genotekst sekvenseret for samtlige resistente individer. Her var resultatet, at der ikke var nogen mutationer i genotekst med relation til antikoagulant resistens (Heiberg 2009).

3.1.4 Diskussion og konklusion

Selvom der ikke blev fundet mange resistente rotter, så blev der dog konstateret resistente rotter på samtlige seks forsøgslokaliteter, og der var ingen signifikant forskel i resistensniveauet lokaliteterne imellem, som kunne relateres til den anvendte bekæmpelsesstrategi.

De undersøgte kloakrotter i denne undersøgelse viste sig, i mod forventningen, ikke at have mutationer i VKOR genotekst. Det er ikke første gang, at der er fundet resistente rotter, som ikke har mutationer i VKOR genotekst (Pelz *et al.* 2005, Wallin *et al.* 2001, Wajih *et al.* 2004). Dette er ikke ensbetydende med, at BCR testen ikke er tilstrækkelig og giver urigtig information om den enkelte rottes resistens-udtryk. BCR testen er baseret på den enkelte rottes fænotypiske udtryk, dvs. hvordan rotten fysisk reagerer på en antikoagulant påvirkning. Hvad der forårsager den udtrykte fænotypiske resistens, kan forårsages af ændringer i VKOR genotekst, som det er blevet observeret for de tidligere undersøgte danske rotter (Pelz *et al.* 2005). En anden mulighed er indflydelse fra andre gener (Wallin *et al.* 2001, Wajih *et al.* 2004, Markussen *et al.* 2007). Specielt studier af Markussen *et al.* (2007, 2008) tyder på, at bromadiolonresistente rotter kan have en forhøjelse i udtrykkelsen af visse P450 gener (afgiftningsgener). Da kloakrotter lever i et miljø, hvor de dagligt udsættes for diverse bakterier, detergenter *etc.* kunne afgiftningssystemet P450 hos kloakrotter være i et allerede forhøjet beredskab. Når kloakrotten indtager

en antikoagulant, vil rotten, uagtet om den har en resistens-mutation i VKORC1 eller ej, have muligheder for at imødegå væsentlige følgevirkninger af antikoagulant-påvirkningen i kraft af den tilpassede afgiftningsaktivitet. Dette kunne måske være forklaringen på, at selvom rotter ikke er resistente i genetisk forstand, så vil rottens fysiologiske svar (det fænotypiske udtryk) være medvirkende til, at den vil blive identificeret som resistent i en BCR test. Ved den kendte genetiske resistens (VKORC1) er der tale om en egenskab, som kan overføres til afkom (Greaves & Ayres 1967), hvorimod spredning af den resistens, som kommer til udtryk i denne undersøgelse, er ukendt. Er egenskaben arvelig, vil denne form for resistens kunne udgøre en lige så stor trussel for den fremtidige rottebekæmpelse.

Konklusionerne af denne undersøgelse er, at der kan forekomme rotter, som udviser en fænotypisk form for resistens, som ikke har forbindelse til det formodede resistensgen, VKOR. Forekomst af lav forekomst af resistens er ikke nødvendigvis et resultat af den praktiserede rottebekæmpelse. Selektion for resistens betinget af mutationer i VKOR udelukkes ikke at kunne forekomme i kloakkerne. Skulle den genetisk betingede form for resistens opstå, vil resistensen, i forbindelse med kloakrottebekæmpelse med antikoagulanter, blive selekteret for. Med de nye observationer på en anden form for resistens har blot givet yderligere udfordring for bekæmpelsen af rotter i kloakkerne.

3.2 Bekæmpelseseffektivitet

I bekæmpelsen af kloakrotter har man generelt ikke fokus på, hvad der er mest effektivt overfor rotterne. Hvad vil de gerne æde? Blot fordi rotter lever i kloakken, har mange den fejlagtige opfattelse, at rotter æder alt, hvad de kan komme i nærheden af. Men rotten sætter pris på kvalitet og vil, hvis den stilles overfor et valg mellem et ældre og frisk produkt, vælge det friske produkt. Når man skal bekæmpe rotter på overfladen og i kloakken, må det derfor gælde, at der anvendes midler af en sådan kvalitet, at det har en god accept blandt rotterne.

Bekæmpelsesuccessen afhænger af rottens accept, og af om den spiser tilstrækkeligt til at få en dødelig dosis. Foruden at den udlagte gift skal kunne konkurrere med andre alternative fødekilder, så skal giften også udlægges, der hvor det er mest sandsynligt, rotten støder på det.

I dette afsnit vil der derfor blive fokuseret på to detaljer vedrørende den anvendte gift til bekæmpelse af kloakrotter. 1) om gift, der har været i kloakken i længere tid, stadigvæk er attraktiv for rotten? og 2) hvor giften bør placeres og tilbydes.

3.2.1 Indledning

En hyppig praksis i den kommunale kloakrottebekæmpelse er ophængning af gift i de offentlige kloakbrønde en til to gange årligt uden nærmere inspektion før og efter ophængningen.

Det kan betyde, at giftblokke kan hænge urørte i kloakken, fordi der f.eks. ikke er rotteaktivitet i området. Men skulle der senere komme rotter, så er spørgsmålet, om disse giftblokke fortsat vil være lige attraktive for rotterne, og om de i givet fald vil æde giften? Hvis ikke, vil giften være ophængt uden gavnlig virkning for hverken bekæmpelsen eller miljøet.

I dette projekt undersøges derfor, hvilken betydning længere tids ophængning af giftblokke i kloakken kan have på rotternes accepteringsgrad.

Til bekæmpelse af kloakrotter i Danmark anvendes, som tidligere nævnt, de paraffinerede giftblokke, da mange af disse har en bedre holdbarhed i det fugtige kloakmiljø. Hvor højt blokkene placeres over brøndens bund beror på et subjektivt skøn for den enkelte udlægger. Hvorfor undersøge dette? I England, som vi hyppigt sammenligner os med angående rottebekæmpelse, vil man typisk lægge giften på selve banketten i brønden, da man antager, at rotten i kloakken har sit fødesøgningsfokus i og under øjenhøjde. Men man kunne også antage, at rotten i kraft af dens udforskende adfærd ikke har et begrænset søgningsfelt, og at placeringen derfor er underordnet.

Dog kunne tilgængeligheden af "føden" være afgørende for, hvor hurtigt det accepteres af rotterne. Her vil det blive undersøgt, om det har betydning for rotternes accept af giften, om giften er frit eksponeret (uden det paphylster giften leveres med), og om rottens fødesøgningsfokus kan have betydning for, hvor giften bør placeres.

3.2.2 Kvalitet af bekæmpelsesmidlerne

I dette forsøg blev det undersøgt, om accepteringsgraden af giftblokke kunne påvirkes ved ældningsprocessen i kloakmiljøet.

3.2.2.1 Materialer og metoder

Dette forsøg er udelukkende et laboratorieforsøg og omhandler et vælgerforsøg, som betyder, at rotter udsættes for et valg mellem testproduktet og en placebo. Placeboen er typisk et produkt, som er godt accepteret af rotter. Grunden til at man tester giften overfor et ugiftigt alternativ er for at sikre, at testproduktet accepteres, selvom der er et godt accepteret alternativ i omgivelserne. I dette forsøg var placeboen knust økologisk hvede.

Forsøgene blev udført i avlsrum med grupper af rotter, bestående af fem hunner (ikke synlig drægtige hunner) og fem hanner. Hvert forsøg blev gentaget.

Rotterne, som blev anvendt til forsøgene, var fra Skadedyrlaboratoriets egen stamme af vilde følsomme rotter. Rotterne blev placeret i avlsrum á 13 m² to til tre dage for forsøgets start, for derved at vænne rotterne til forholdene. Redekasser blev opsat i hvert hjørne af rummet indeholdende redemateriale (halm). I tilvænningsperioden blev rotterne foruden vand tilbudt knust altromin (standard muse- og rottefoder).

Forsøget blev opdelt i fire separate forsøg, som alle blev udført med gentagelser og var som følger;

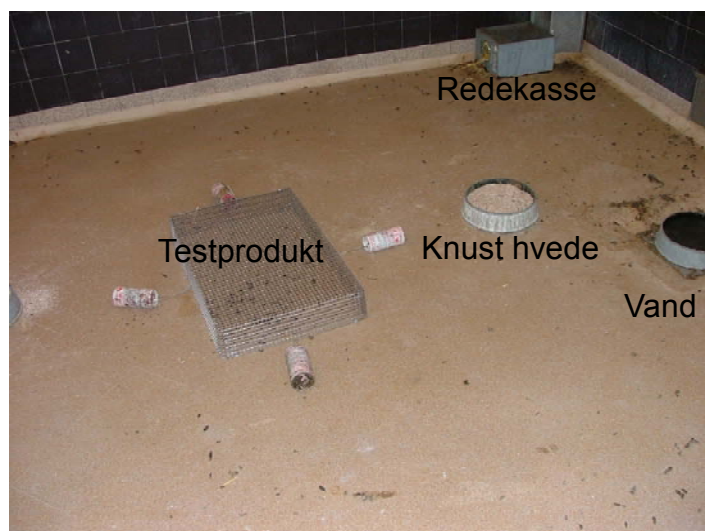
- 1) test af placebo foder mod ugiftig paraffinblok
- 2) test af nye (friske) giftige paraffinblokke mod placebo
- 3) test af giftige paraffinblokke mod placebo– alder: to måneder (ophængt til ældning i kloak)
- 4) test af giftige paraffinblokke mod placebo– alder: seks måneder (ophængt til ældning i kloak)

Ældningen af blokken blev foretaget i kloakken, hvor kloakblokkene blev ophængt i en højde, som ikke kunne nås af rotterne. Bundstykkerne på paphylstrene blev fjernet ved ophængningen (billede 3.1).



Billede 3.1 - Testmaterialet ophængt til ældning i kloakken.

De enkelte forsøg blev opsat på følgende måde; fire testblokke blev fastgjort til net placeret centralt i forsøgsrummet. Fastgørelsen var for at forhindre rotterne i at fjerne blokkene. Blokkene var placeret fri af nettet. Derudover blev der opsat to skåle med placebo (knust hvede), som blev opsat på hver side af nettet med i alt 500 g i hver skål (billede 3.2). En af grundene til at anvende knust hvede i denne form for forsøg er, at det minimerer rotternes trang til at samle føden til depot. Forsøgsperioden med valg var for alle fire forsøg fem dage.



Billede 3.2 - Forsøgsopstilling af vælgerforsøg – redekasser placeret i hvert hjørne. Placebo (knust hvede i skål) og testprodukt placeret centralt i forsøgsrummet. Det testede produkt er fastgjort, for at forhindre at produktet slæbes bort.

Der blev foretaget daglig afvejning af placebo og testfoderet. For placeboens vedkommende bestod den daglige afvejning af en samlet vægt for svind i de to

opsatte skåle. Efter afvejningen blev skålene igen fyldt op til 500 g. Blokkene blev ligeledes afvejet dagligt og den samlede vægt og svind blev beregnet. For forsøget med seks måneders blokke blev der opsat kontrolblokke i samme forsøgsrum (ikke tilgængelige for rotterne), fordi de anvendte seks måneders blokke var meget fugtige og en fordampning, og dermed et vægttab, indenfor forsøgsperioden kunne forventes. Kontrolblokkene var identiske med de seks måneder gamle testblokke. Vægttabet blev opgjort som en gennemsnitsværdi af de i alt fire kontrolblokke, som blev anvendt ved hvert forsøg. Svindet på seks måneders blokke blev korrigeret for vægttabet. Ved forsøgets ophør blev giften fjernet og placeboen erstattet med almindelig foder (Altromin). Herefter fulgte en tre ugers observationsperiode, hvor mortaliteten i forsøgene blev registreret (dog ikke for det første forsøg, som blev gennemført med ugiftige blokke). Dødsårsagen blev fastslået på baggrund af obduktion af de enkelte forsøgsdyr. Accepteringsgraden (palatabiliteten) blev beregnet ud fra følgende; total mængde testprodukt ædt / total mængde (placebo + testprodukt) ædt. Forskelle i accepteringsgraden imellem de forskellige aldre af de testede blokke blev testet.

3.2.2.2 Resultater

Resultaterne fra det første testforsøg (ugiftig blok mod placebo) viste, at der generelt var en god accept af den paraffinerede blok, og at en eventuel vægning på de giftige parafinblokke henregnes derfor til antikoagulanttilsætning og ældningen.

Forsøgene med de giftige blokke var ikke entydige, som det fremgår af tabel 3.2. De friske blokke havde uventet et meget utilfredsstillende resultat i andet forsøg. En dødelighed på 50 % og palatabilitetsratio under 0,2 vil ikke normalt medføre en godkendelse af produktet. Det første forsøg viste heller ikke en acceptable palatabilitetsratio, men en dødelighed på 90 % som er tilfredsstillende.

Tabel 3.2 - Mængde (g) testprodukt og placebo indtaget af forsøgsrotter. På baggrund af indtaget mængde er palatabilitetsratioen beregnet (testprodukt/placebo).

		Blok ædt (g)	Placebo ædt (g)	Palatabilitets- ratio	Dødelighed
Ugiftig	Forsøg1	393,4	512,5	0,43	
	Forsøg2	147,3	595,7	0,25	
Friske	Forsøg1	81,3	651	0,12	90%
	Forsøg2	45,1	717	0,06	50%
2 mdr.	Forsøg1	15	963,4	0,01	50%
	Forsøg2	3,8	967	0,004	0%
6 mdr.	Forsøg1	15	981,2	0,02	30%
	Forsøg2	129	801,1	0,16	100%

For de øvrige forsøg, som var gennemført med blokke, som havde været ophængt i kloakkerne til ældning var palatabilitetsratioen af disse meget variabel og under det niveau der normalt accepteres ved en effektivitetsvurdering.

For forsøg 2 med seks måneders blokke var udfaldet overraskende positivt, sammenlignet med de øvrige forsøg. I forsøg 2 (seks måneder) blev der observeret den højeste palatabilitetsratio (0,16) og en mortalitet på 100 %.

Dette tolkes dog ikke her som, at rotterne foretrak de ældre blokke. Forsøg 1 i samme serie viste meget ringe accept og lav dødelighed. Forskellen på disse to forsøg kunne ses ved den måde, der var blevet ædt af blokkene. Som det fremgår af billede 3.3, så var der kun ædt af én blok og kun fra samme sted. Det kunne tolkes som, at hvis der først er bidt hul indtil den rene del af giften, øges accepten, da der ikke længere er behov for at bide i den "uappetitlige" del af blokken.

Det skal påpeges, at for forsøg 1 og 2 med seks måneders blokke, at der først blev observeret gnav i blokkene efter 2 til 3 dage. Dette kunne tyde på, at så længe blokken var våd og fugtig, var den uinteressant, men da det yderste lag på blokkene tørrede ind (efter et par dage), blev blokkene mere interessante.



Billede 3.3 - Forsøg med seks måneders blokke (andet forsøg). Der var gnav i kun én blok, og kun hvor blokkens "friske" kerne var blottet.

3.2.3 Udlægningsteknik

3.2.3.1 Materialer og metoder

Der er blevet anvendt et 2×2 faktorielt forsøgsdesign (tabel 3.3) til at teste kloakrotters præference for friske ugiftige paraffinblokke **med** og **uden paphylster** (uden pap, betød at den nederste halvdel af pappet var fjernet og dermed var blokken blottet). Blokken var placeret henholdsvis på banketten og **5 cm** til **10 cm over banketten** i kloakbrøndene. På baggrund af fangsterfaringer fra fangst/genfangst forsøget på lokalitet A, blev otte (vel)besøgte kloakbrønde i god afstand fra hinanden udvalgt. Da forsøget blev udført på forsøgslokalitet A, hvor der var igangværende fangst/genfangst sessioner, benyttes kun ugiftige paraffinblokke. De ugiftige blokke er identiske med Mortalins bromadiolon kloakblokke, blot var der ikke tilsat gift. De ugiftige blokke blev ophængt med eller uden paphylster 5-10 cm over banketten i halvdelen af brøndene og i resten af brøndene blev blokkene placeret på banketten (hver behandlingskombination blev opsat i fire kloakbrønde). Blokkene blev tilsat og vejede hver 3. - 4. dag over en periode på 15 dage (dvs. i alt fem gange), og svindet over tid blev beregnet, ligeledes blev det registreret, hvornår der kunne konstateres gnav på de enkelte blokke. Da kloakken er et fugtigt miljø blev en vægtforøgelse påregnet, som følge af fugtoptag i de ophængte blokke. Derfor blev der ophængt fire kontrolblokke ved hvert forsøg. I de brønde, hvor ophængningen af blokkene var f.eks. 5 eller 10 cm over banket blev, blokkene i de efterfølgende forsøg placeret på banketten og vice versa.

Resultaterne blev analyseret for at afgøre, hvilken metode der var bedst accepteret blandt rotterne.

Tabel 3.3 - 2 x 2 faktoriel forsøgsdesign. Behandlingstyper og antal replikater til undersøgelse af bedste udlægningsmetode af kloakblokke.

	Paraffinblok med paphylster	Paraffinblok uden paphylster
På banketten	4	4
5 til 10 cm over banketten	4	4

3.2.3.2 Resultater

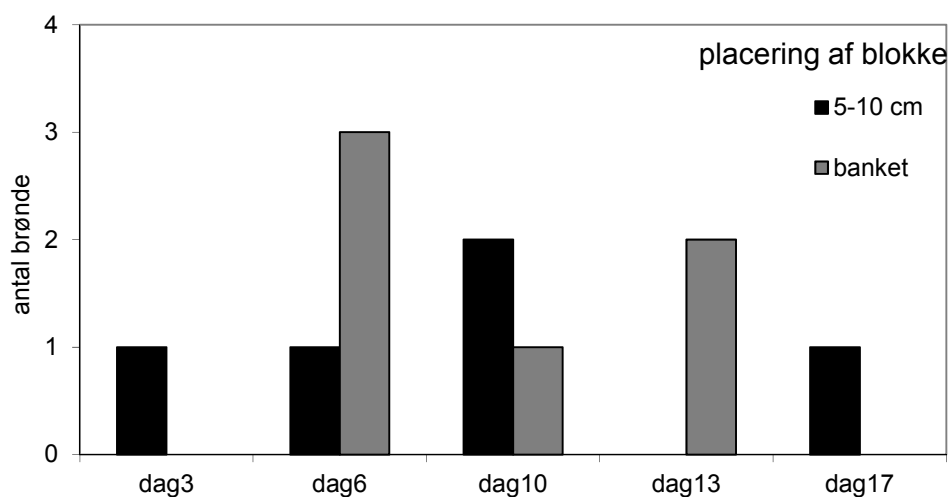
Forsøgene viste at placeringen af blokken var uden betydning for rotternes accept af blokkene, hvorimod blokke uden pap var signifikant bedre accepteret end blokke med pap (Tabel 3.4).

Tabel 3.4 - Mængde kloakblok indtaget af forsøgsrotterne. Signifikansniveauet (Yates corrected 2) er angivet som ikke-signifikant (ns); $P=0.05$ (*); $P=0.01$ (**); $P>0.001$ (***)

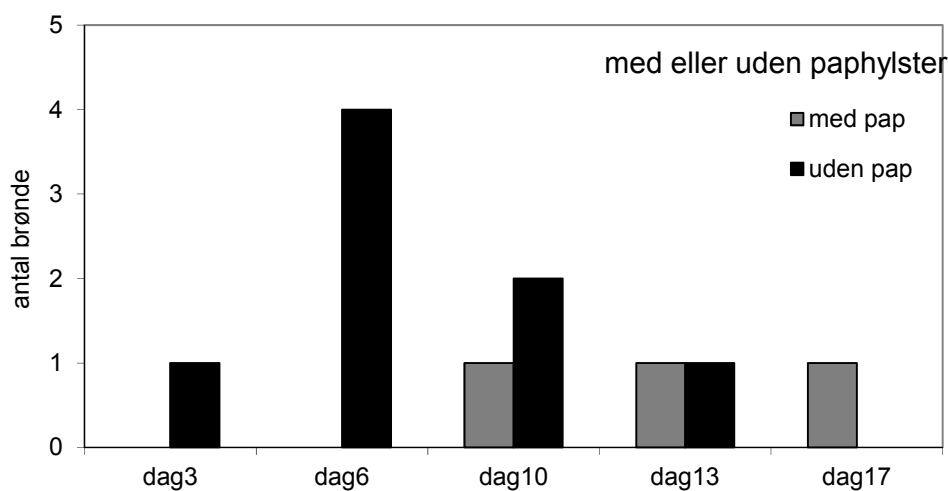
	1. gentagelse		2. gentagelse		Totalt	
	Mængde ædt (g)	P	Mængde ædt (g)	P	Mængde ædt (g)	P
Banket	654	ns	516	ns	1170	ns
5-10 cm	412		784		1196	
med pap	348	**	132	***	480	***
uden pap	718		1168		1886	

significans (Yates corrected X^2); non-significant (ns); $P=0.05$ (*); $P=0.01$ (**); $P>0.001$ (***)

Ligeledes havde placeringen ingen betydning for, hvor hurtigt rotterne accepterede blokkene (figur 3.2). Men derimod var blokke uden pap hurtigere accepteret end blokke med pap på (figur 3.3). Ved forsøgets afslutning var der således gnav på samtlige blokke uden pap, men kun på tre ud af de otte blokke med pap ($\chi^2 = 4,65$, $P = 0,031$).



Figur 3.2 - Bekæmpelsesblokke nedhængt i otte forsøgsbrønde med placering enten på banketten eller 5-10 cm over banketten. Forsøget er udført som et 2x2 faktorielt forsøgsdesign. Antallet af brønde, hvor der er tydelige gnavmærker fra rotter er noteret for hver af de fem målingsdage.



Figur 3.3 - Bekæmpelsesblokke nedhængt i otte forsøgsbrønde med eller uden paphylster. Forsøget er udført som et 2x2 faktorielt forsøgsdesign. Antallet af brønde, hvor der er tydelige gnavmærker fra rotter er noteret for hver af de fem målingsdage.

3.2.4 Diskussion

Vælgerforsøgene, som blev udført med henholdsvis friske og ældede blokke, var ikke umiddelbart entydige i resultaterne. Her var palatabilitetsratioen meget variabel og lå under det niveau, som der normalt skal til for at godkende et middel til bekæmpelse af rotter. Dog kan der udledes af de gennemførte forsøg, at rotterne først begyndte at æde af de ældede blokke efter et par dage. Her var, specielt de ældste blokke, så tilstrækkeligt udtørret, at rotterne begyndte at æde af dem. Man kan ikke sige, at blokkene var dårligere accepteret jo længere tid de havde hængt i kloakken. Men ses der bort fra forsøg nr. 2 med seks måneders blokke, fremgår det dog, at der af de friske blokke bliver ædt mest. Når rotterne åd af de ældede blokke, søgte rotterne de områder på blokkene, som ikke var dækket af for meget "kloaksnask" eller dele af blokken, som var blevet blotlagt (rengjort ved gnav).

Forsøg med placeringen af kloakblokken i brøndene med eller uden pap viste med tydelighed, at det ikke var vigtigt, hvorledes man placerede blokken, så længe den dog var i rottens nåhøjde. Der kan være gode argumenter for at beholde pappet på blokkene, da det formentlig yder en ekstra beskyttelse mod miljøet i kloakken, samt indeholder de nødvendige produkt- og sikkerhedsoplysninger. Men forsøget viser, at pappet kan være medvirkende til en ringere eller langsommere accept.

Konklusionerne for disse forsøg er, at bruges der kloakblokke eller anden form for gift til bekæmpelse af kloakrotter, så er det vigtigt for en hurtig accept, at midlet er eksponeret, dvs. at eventuel emballage eller dele af emballagen fjernes, før de hænges ned i kloakken.

Rottens fødesøgningsbillede er ikke begrænset til banketten, og så længe rotten kan nå giften, har placeringen af giften ingen betydning for rottens accept af giften.

Selvom resultaterne ikke var entydige, så er der dog en indikation for, at rotterne vil foretrække den friske kloakblok fremfor en blok, der har hængt i kloakken i længere tid. Det er forholdene i den pågældende brønd, der afgør hvor "begroet" giftblokken bliver. I tørre omgivelser kunne det være, at blokkene ikke er så hårdt angrebet og dermed, at de fortsat vil accepteres af rotterne. Men det at ældre blokke generelt havde en ringere palatabilitetsration bør foranledige til, at man ikke lader blokke hænge i brønde, hvor der ikke er rotteaktivitet på bekæmpelsestidspunktet.

3.3 Bekæmpelse af kloakrotter

Med et ønske om at begrænse brugen af pesticider, heriblandt antikoagulanterne, så er det vigtigt at indsamle viden om, hvordan disse midler anvendes bedst muligt for at sikre en effektiv rottebekæmpelse, som også er hensynsfuld overfor miljøet. Dette afsnit omhandler forsøg med kloakrottebekæmpelse og vurdering af bekæmpelseseffektiviteten.

3.3.1 Indledning

Hvis en bestand af rotter ikke bekæmpes effektivt, vil bestanden hurtigt opnå samme bestandsniveau som før bekæmpelsen, og dermed vil virkningen være kortvarig (Barnett & Bathard 1953). Årsagen hertil er rotternes høje reproduktive potentiale. Når dele af bestanden fjernes, vil de resterende rotter udfylde det efterladte "tomrum" med nye kuld af rotteunger. Derfor kan en gennemført kloakrottebekæmpelse, hvor der blot ophænges gift én gang årligt være uden betydning for rottebestanden.

I Boston, USA, blev der gennemført et forsøg med kloakrottebekæmpelse, og kun igennem målrettet og effektiv indsats med bekæmpelse af kloakrotter gav dette mærkbare resultater (Colvin *et al.* 1998). Fælles for de to nævnte tiltag var, at bekæmpelse og en længerevarende effekt af bekæmpelsen skete som følge af et omfattende arbejde med egentlig bekæmpelse, opfølgning på bekæmpelsen og fortsat monitoring af rotteaktivitet.

Colvin og hans medarbejdere bekæmpede kloakrotter ved at anvende interval udlægning (Pulsed baiting technique) (Colvin *et al.* 1998). Metoden er kort beskrevet i afsnit 2.4.3. Som tidligere beskrevet er metoden baseret på flere på

hinanden følgende udlægninger, hvor udlægningen i de enkelte brønde først ophører, når rotteaktiviteten er stoppet. Forsøg med bekæmpelse af kloakrotter, hvor de generelle retningslinier for interval udlægning blev praktiseret, blev gennemført som en del af dette projekt.

3.3.2 Materialer og metoder

Til at belyse effekten af kloakrottebekæmpelse blev bekæmpelse udført på tre forsøgslokaliteter og tre kontrollokaliteter. På kontrollokaliteterne blev der ikke bekæmpet. Tre B-lokaliteterne, med én lokalitet per kommune, blev udvalgt til bekæmpelsesområder. Kun to af B-lokaliteterne blev anvendt som kontrolområde, da det sidste kontrolområde blev erstattet af A-lokaliteten, hvor der i forvejen blev indfanget rotter i et ikke-bekæmpet område.

I hvert område blev der opsat 20 levendefangende fælder til fangst af rotter. Fangster blev foretaget på de fem B-lokaliteter hver 6. uge. På A-lokaliteten blev fangsterne gennemført hver 4. uge i forbindelse med de allerede planlagte fangst/genfangst sessioner (afsnit 4.1). I bekæmpelsesområderne blev der kun foretaget fangster i et delområde (figur 2.11), hvorimod selve rottebekæmpelsen blev udført i yderligere 20 brønde omkransende fangstområdet.

Bekæmpelse foregik ved at hænge giftblokke (bromadiolonblokke af ca. 300g og uden pap) ned i hver enkelt brønd (i alt 40 brønde per lokalitet). Hver 14. dag blev samtlige brønde gennemgået for svind i de ophængte giftblokke, som følge af rottegnav. I tilfælde af stort svind eller, at blokkene havde fået svampevækst eller lign., blev blokkene erstattet af nye. Først ved ophør af giftindtag og maksimalt otte uger efter bekæmpelsens start blev giften fjernet fra områderne. Efter bekæmpelse blev der gennemført yderligere to fangst/genfangst sessioner på forsøgslokaliteterne; seks uger efter ophør af bekæmpelse og derefter efter yderligere tre måneder.

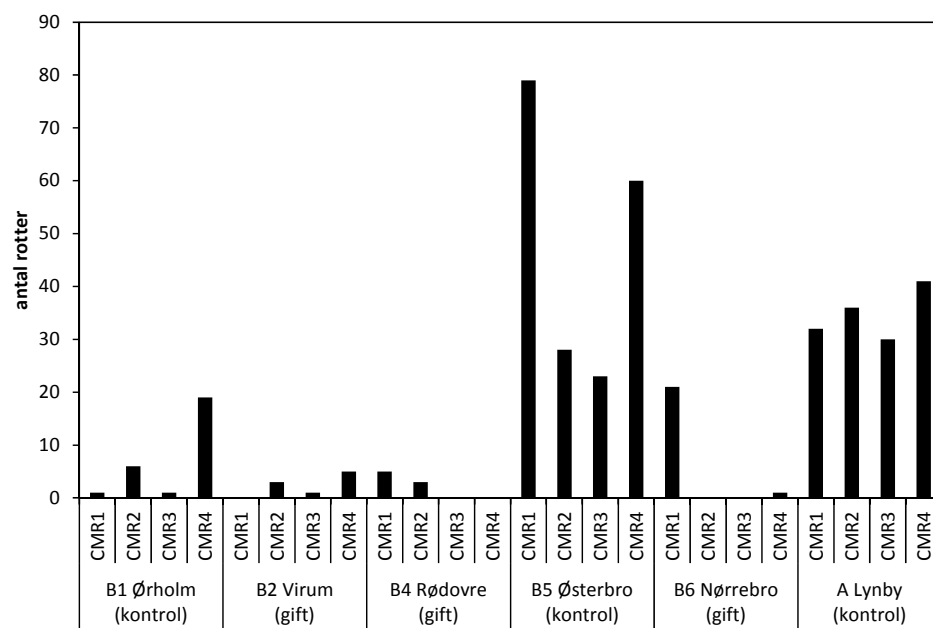
I forsøgsperioden blev antallet af nyindfangede samt genfangede rotter opgjort.

For den sidst gennemførte fangstsession blev rotterne ikke genudsat efter fangst, da de blev fjernet fra de enkelte forsøgsområder (dog ikke på lokalitet A, der her fortsat var anden forsøgsaktivitet).

3.3.3 Resultater

Antallet af rotter indfanget på de seks lokaliteter blev opgjort som det faktuelle antal rotter registreret for det enkelte område. Det vil sige, at rotter, som blev fanget mere end én gang, kun blev talt med én gang.

Ved de gennemførte fangstsessioner på B-lokaliteterne blev der ikke genfanget rotter fra forrige fangstsession. Derved var alle genfangster i den pågældende fangstsession rotter, som var indfanget i selv samme session. Antallet af rotter indfanget ved de fire gennemførte fangstsessioner er opgivet i tabel 3.5 og figur 3.4.



Figur 3.4 - Fordelingen af antal let af rotter på de seks forsøgslokaliteter. Tre områder hvor der ikke blev foretaget bekæmpelse (kontrol) og tre område med giftbekæmpelse (gift).

Tabel 3.5 - Fire fangstsessionser (CMR1-4) blev gennemført på hver af forsøgslokaliteterne med henblik på at måle antallet af rotter. Antallet af fangster og genfangster er angivet, samt det totale antal individer, som blev fanget i sessionen.

	session	start	slut	Fangster	Genfangster	Individer i alt
B1 Ørholm (kontrol)	CMR1	25-08-2008	28-08-2008	1	0	1
	CMR2	06-10-2008	09-10-2008	6	5	6
	CMR3	17-11-2008	20-11-2008	1	1	1
	CMR4	07-02-2009	12-02-2009	19		19
B2 Virum (gift)	CMR1	25-08-2008	28-08-2008	0	0	0
	CMR2	06-10-2008	09-10-2008	3	3	3
	CMR3	17-11-2008	20-11-2008	1	0	1
	CMR4	07-02-2009	12-02-2009	5		5
B4 Rødovre (gift)	CMR1	22-09-2008	25-09-2008	5	2	5
	CMR2	03-11-2008	06-11-2008	3	0	3
	CMR3	15-12-2008	18-12-2008	0	0	0
	CMR4	09-03-2008	12-03-2008	0	0	0
B5 Østerbro (kontrol)	CMR1	08-09-2008	11-09-2008	79	72	79
	CMR2	20-10-2008	23-10-2008	28	97	28
	CMR3	01-12-2008	04-12-2008	23	82	23
	CMR4	23-02-2009	26-02-2009	60		60
B6 Nørrebro (gift)	CMR1	08-09-2008	11-09-2008	21	5	21
	CMR2	20-10-2008	23-10-2008	0	0	0
	CMR3	01-12-2008	04-12-2008	0	0	0
	CMR4	23-02-2009	26-02-2009	1		1
A Lyngby (kontrol)	CMR1	19-08-2008	21-08-2008	10	51	32
	CMR2	14-10-2008	16-10-2008	5	58	36
	CMR3	11-10-2008	13-10-2008	3	42	30
	CMR4	04-02-2009	06-02-2009	12	40	41

Der blev ved hver fangstsessionser fanget rotter på kontrollokaliteterne. I to af de tre bekæmpede områder blev der sporet en væsentlig reduktion af rotter. På lokalitet B2 lykkedes det ikke i den otte uger lange bekæmpelsesperiode at få bugt med rotterne. Årsagen skal formentlig her søges i, at selveandområdet på lokaliteten ikke var tilstrækkeligt stort, og at der formentlig forekom en indvandring af rotter fra de tilstødende områder. På B6 (Nørrebro) var der tegn på, at rottebekæmpelsen var tilendebragt (ingen fangst af rotter eller fortæring af den ophængte gift). Men ved den sidste fangstsessionser ca. seks måneder efter påbegyndelsen af bekæmpelsen, blev der indfanget én enkelt rotte på sidste fangstdag. Derudover kunne der konstateres enkelte friske rotteekskrementer, som tegn på en fornyet rotteaktivitet i området.

Samlet set er der dog signifikant forskel mellem kontrol og giftområderne, når antallet af rotter før (CMR1) og efter bekæmpelsen (CMR4) sammenlignes ($\chi^2=12,40$, $P=0,0004$, Yates corrected χ^2 , Statistica).

3.3.4 Diskussion

Den sidste fangstsession fandt sted ca. 18 uger efter fjernelsen af gift. Formålet med dette var at undersøge, om den udførte bekæmpelse kunne forventes at have en længerevarende effekt på rottebestanden i målingsområdet. Som bekendt var selve indfangningsområdet indsnævret til 20 fangstbrønde, men giftbekæmpelse foregik i 40 brønde, som sikring mod indvandring af rotter fra randområderne til selve forsøgsområderne.

Der blev under hele forløbet observeret god rotteaktivitet i kontrolområderne. I de bekæmpede områder var der en målbar reduktion af rotter, som også var synlig ved forsøgets afslutning.

Forsøgets begrænsning var, at området ikke var afskåret fra det resterende ledningsnet, hvorfor det ikke lykkedes at bekæmpe rotterne i B2. Meget kunne tyde på, at praktiserede man denne form for målrettede bekæmpelse indenfor et område, som kunne afskæres fra det øvrige ledningsnet, at man ville opnå gode og langtrækkende bekæmpelsesresultater i tråd med resultaterne fra Boston (Colvin *et al.* 1998)

3.4 *Leptospira* i de danske kloaker

Med tilknytning til nærværende projekt blev et specialeprojekt udført, som havde til formål at undersøge forekomsten af den sygdomsfremkaldende bakterie *Leptospira sp.* i kloakrotter. Undersøgelsen blev udført i samarbejde med Statens Serum Institut. Der kan i øvrigt henvises til den videnskabelige publikation Krøjgaard *et al.* (2009).

3.4.1 Indledning

Den brune rotte (*Rattus norvegicus*) er bærer af en lang række af forskellige *Leptospira* bakterier og især af *Leptospira icterohaemorrhagiae*, som kan forårsage Weils syge (Faine *et al.* 1999, Levett *et al.* 1998, Lindenbaum & Eylan 1982, Thiermann 1977).

Siden 1987 er der ikke udført omfattende undersøgelser af udbredelsen af *leptospira* blandt rotter i Danmark (Lund 1987). Denne undersøgelse vil dermed øge vores viden om bakterien i kloakrotter. Undersøgelse er baseret brugen af molekylærbiologiske metoder som PCR (Polymerase Chain Reaction) og forsøgsvis serologiske metoder (Microscopic Agglutination Test) MAT.

Formålet med undersøgelsen var at indsamle viden om udbredelsen af patogene *Leptospira* bakterier blandt kloakrotter (*Rattus norvegicus*) i seks forsøgsområder i og omkring København.

3.4.2 Materialer og metoder

Fra rotter, som blev indsamlet på de seks B-lokaliteter i forbindelse med resistensundersøgelsen (afsnit 2.4.2 og afsnit 3.1) (tabel 3.6), blev der efter endt resistenstest indsamlet blod og nyrer fra de resistente testede rotter. Prøverne blev videre undersøgt for forekomst af *leptospira sp.*

Tabel 3.6 - Sted, tidspunkt og antal rotter fanget til undersøgelser for leptospira.

Kommune	Lokalitet		Fangstperiode	Antal rotter
Lyngby-Taarbæk	B1	Ørholm	Juli 2006	48
Lyngby-Taarbæk	B2	Virum	Marts 2007	25
Rødovre	B3	Roskildevej	Februar 2007	19
Rødovre	B4	Damhusdalen	November 2006	31
København	B5	Østerbro	November 2006	35
København	B6	Nørrebro	November 2006	38
i alt				196

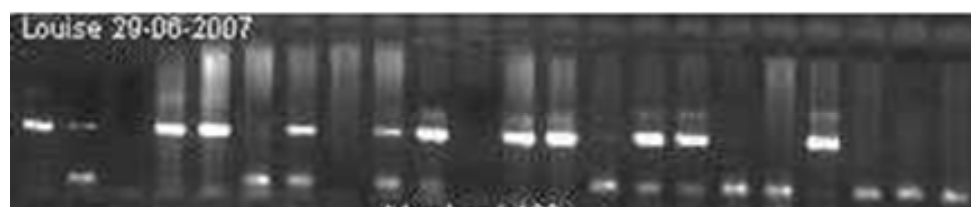
Leptospira vandrer fra blodbanen og placerer sig i de indre organer især nyrerne. Dette er årsagen til, at vi valgte det organ, som grundlag for undersøgelse for *Leptospira* infektioner. Nyrerne blev udtaget med sterile pincetter og sakse, og lagt i hvert sit sterile rør og opbevaret på -80 °C indtil DNA oprensning.

Til detektion af *Leptospira* spp. blev en konventionel PCR brugt baseret på primerne G1 og G2 (Gravekamp *et al.* 1993). Primerne amplificerede et DNA fragment fra SecY-genet på 285 basepar. PCR'en blev udført i et volumen på 100 µl med 2 µl G1 og G2 primere (20mM), 5 µl MgCl₂ (50 mM), 10 µl Platinum buffer, 10 µl dUTP mix (25 mM dATP, dCTP, 26 mM dGTP og 50 mM dUTP), 61 µl Milli-Q vand og 0,4 µl Platinum tag (5 U/µl) og 10 µl DNA. Følgende PCR profil blev brugt; 2 minutter ved 95 °C, 10 cykler á 95 °C i 30 sekunder, 60 °C i 15 sekunder, hvorefter temperaturen blev sænket med 1°C per cyklus fra 60 °C til 50 °C, dernæst 72 °C i 30 sekunder. Når temperaturen på 50 °C var nået blev der gennemført yderligere 40 cykler som beskrevet. PCR'en blev afsluttet med yderligere et step ved 72 °C i 5 minutter. PCR'en blev kørt på en GeneAmp PCR system 9600 (Applied Biosystems, USA). PCR produktet blev visualiseret på en 2 % agarose gel med ethidium bromid. Størrelsen af fragmenterne blev bestemt med brug af en 100 basepar ladder (New England BioLabs, USA).

I projektet blev der fokuseret på, at undersøge udbredelse af de patogene leptospira arter hos rotten.

Der blev analyseret for effekten af lokalitet, alder og køn med hensyn til inficering blandt rotterne ved hjælp af Proc Genmod i SAS.

a b c d e f g h i j k l m n o p q r s t u x

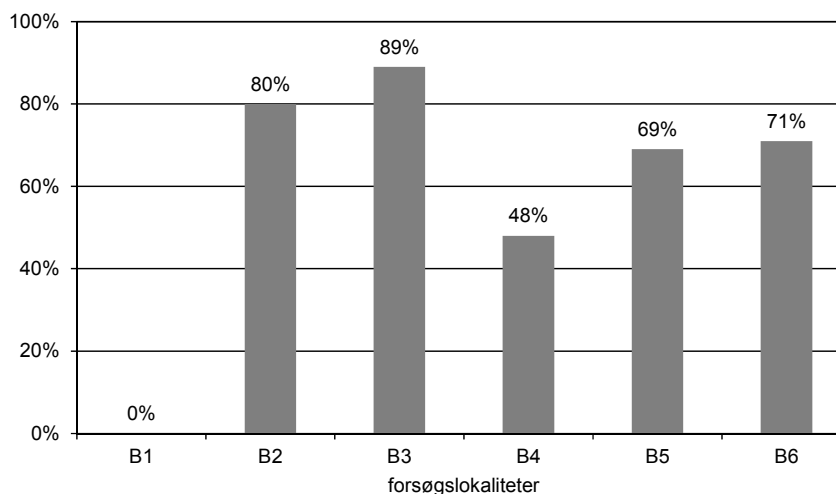


Billede 3.4 - Billede af PCR produkter på agarose gel. a og b er positive kontroller (*Leptospira icterohaemorrhagiae* renkultur fortyndet 10⁻⁵ og 10⁻⁶ gange. c er en negativ kontrol. d – x er 19 rotteprøver. De tydelige lysende bånd, der har vandret lige så langt som de positive kontroller, identificeres som en leptospira infektion. De DNA prøver, hvor der er ikke ses bånd ud fra de positive kontroller anses som ikke-inficeret.

3.4.3 Resultater

I alt blev 196 rotter testede for, om de var inficeret med *Leptospira* spp. 104 rotter blev fundet positive, 92 blev fundet negative. Fordelingen af inficerede og ikke-inficerede på de seks forskellige lokaliteter ses på figur 3.5. Der blev fundet signifikante forskelle mellem inficeringsandelen blandt de seks lokaliteter ($\chi^2=80,01$, $P<0,001$).

De 196 rotter fordelte sig på 104 hunner, og 92 hanner. Der blev ikke fundet statistisk forskel mellem hanner og hunner ($\chi^2=1,48$, $P=0,224$).



Figur 3.5 - Forekomst af kloakrotter fra de seks B-lokaliteter med leptospira infektion.

3.4.4 Diskussion

Forekomst af *Leptospira* var udbredt på de undersøgte B-lokaliteter, bortset fra én lokalitet, hvor der ikke blev fundet leptospira-inficerede rotter. Rotter kan som reservoirdyr være kroniske bærere af bakterien og have en livslang udskillelse af bakterien med deres urin (Twigg 1973, Faine *et al.* 1999). Derfor må fraværet af *Leptospira*-inficerede rotter på B1 være et resultat af, at bakterien over en længere periode ikke er forekommet på lokaliteten og i rottebestanden.

Vi kan ikke udelukke, at grunden til, at så høje infektionsrate bliver observeret på de øvrige fem lokaliteter, kan skyldes, at de undersøgte rotter på de enkelte lokaliteter var nært beslægtede. Hvis bakterien kun forekommer sporadisk, må man forvente at se en højere infektionsrate blandt nært beslægtede individer (grundet den fysiske kontakt). Med den viden, der igennem dette projekt er opnået om rotternes bevægelsesmønstre (afsnit 4.2) og fordelingen af de undersøgte og inficerede rotter på de enkelte B-lokaliteter, var der ikke indicier for forekomst af "hotspots" af leptospira i kloakken. Det må derfor antages, at leptospira kan være udbredt i store dele af rottebestanden på de undersøgte lokaliteter

Den høje forekomst af leptospira-inficerede kloakrotter bør omfattes med bekymringer. Ud fra den antagelse at mange af de rotter, vi støder på i byområderne, kommer fra kloakken, må vi antage, at smitterisikoen fra rotter er reel.

4 Videnskabelige undersøgelser

Dette projekt har givet ophav til en stor mængde data, der vil danne baggrund for videnskabelige publikationer i de kommende år. Her i denne rapport præsenteres de basale data og analyser af disse.

4.1 Bestandsdynamik

4.1.1 Indledning

Der er en generel opfattelse af, at rotterne findes i hobetal i vores kloakker. Herved kan rotterne yngle og leve uden risiko for prædatorer (rovdyr). Resistens overfor bekæmpelsesmidlerne (antikoagulanterne) kan resultere i bekæmpelsessvigt. Dette kombineret med den manglende prædation kan give basis for en stigning i antallet af kloakrotter. Vi har en formodning om, at skybrud lejlighedsvis vil kunne nedbringe kloakrottebestanden, specielt i de fælleskloakerede ledninger (hvor spildevand og regnvand bortledes i samme ledning). Ved skybrud vil der over meget kort tid skulle afledes store mængder regnvand. Dette resulterer i, at mange rotter drukner. Denne formodning bygger bl.a. på de observationer, der gøres med et stort antal døde rotter på renseanlæggene, i overløbsbassinerne og på jordoverfladen..

Vi ved fra overfladen, at rottebestanden typisk er stigende fra det tidlige forår frem til efteråret, hvor øget adgang til føde kan være afgørende for kuldenes overlevelse (Twigg 1975). I kloakken er fødemængden antageligvis rimelig konstant og vil derfor ikke være begrænsende for kloakrotternes reproduktion. Rotters reproduktion synes generelt ikke at være påvirket af dagslængden, hvorfor mørket i kloakken antages at være uden betydning for kloakrotters reproduktion, men det vil blive undersøgt her.

Derimod kunne reproduktionen afhænge af bestandstætheden. Ved høje tætheder vil der være et større krav til redepladser, derfor kunne mangel på tørre kloakledninger have en begrænsende indflydelse på reproduktionen (Meehan 1984).

Viden om hvad der kan have eller ikke have indflydelse på kloakrotters reproduktion, kan være af betydning for en effektiv og målrettet bekæmpelse. I bestande af skadedyr, hvor der er en klar adskillelse mellem en reproduktiv og ikke-reproduktiv periode, vil det give bedst mening at bekæmpe bestanden i den ikke-reproduktive periode. Man vil erfare, at bekæmper man rotter i en periode, hvor reproduktion er startet, så vil en ufuldstændig bekæmpelse kun kortvarigt resultere i en bestandsnedgang, da de ynglende rotter hurtigt vil bringe bestanden op på samme niveau igen (Barnett & Bathard 1953).

I denne undersøgelse blev kloakrottebestande fulgt i en periode på to år og fire måneder i to adskilte kloaksystemer på forsøgslokalitet A (Lyngby). I denne periode blev der ikke bekæmpet kloakrotter i forsøgsområdet. Udviklingen i rottebestande og deres reproduktion blev undersøgt. Indflydelsen fra parametre, som nedbør og temperatur, på bestanden og reproduktionen blev ligeledes undersøgt.

4.1.2 Materialer og metoder

Forsøgslokalitet, hvor de biologiske undersøgelser blev udført er beskrevet i afsnit 2.1.1. Undersøgelsen begyndte i august 2006 og blev afsluttet i december 2008 (2 år og 4 måneder) og var baseret på fangst-genfangst studier. Retningslinjerne for gennemførelse af fangst-sessionerne samt dataindsamlingen er beskrevet i afsnit 2.2.2.

For hver enkelt fangst-session, som omfattede tre fangstdage, blev der beregnet bestandsstørrelser. Dette blev gjort særskilt for de to systemer. Beregning af bestandsstørrelser blev baseret på information om 1) hvor mange dyr, der blev fanget første gang, mærket og genudsat, 2) tidligere mærkede rotter og genudsat og 3) antal genfangster.

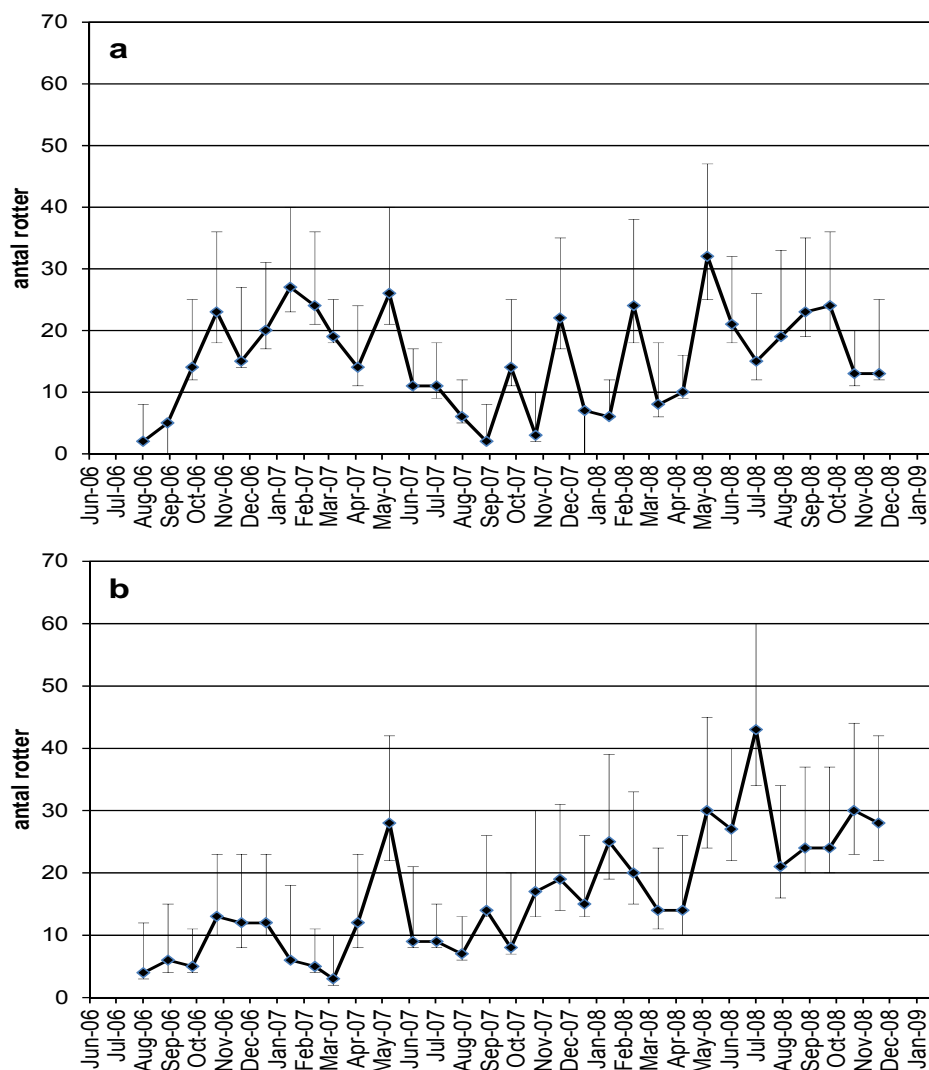
For at undersøge indflydelsen af bla. reproduktion, temperatur og nedbør på bestanden, blev tilvækst i bestandsstørrelsen, mellem de enkelte fangst-sessioner, beregnet og denne tilvækst blev anvendt til at undersøge for sammenhæng med reproduktion, temperatur og nedbør.

Da den månedlige nedbør, må forventes ikke at ville have samme indflydelse på rottebestanden, som forekomst af skybrud, blev der testet for sammenhæng mellem bestandsændringen og skybrud (se afsnit 2.2.4.2). Analysen blev udført med brug af Proc mixed (SAS). For parameteren temperatur blev den gennemsnitlige måneds temperatur anvendt.

Der blev ligeledes undersøgt for en sammenhæng mellem bestandstilvæksten og reproduktionen efter samme analysemetode som ovenstående. Her blev reproduktionen opgjort som andelen af synlige drægtige hunner ud af det samlede antal hunner fanget i den pågældende fangstperiode.

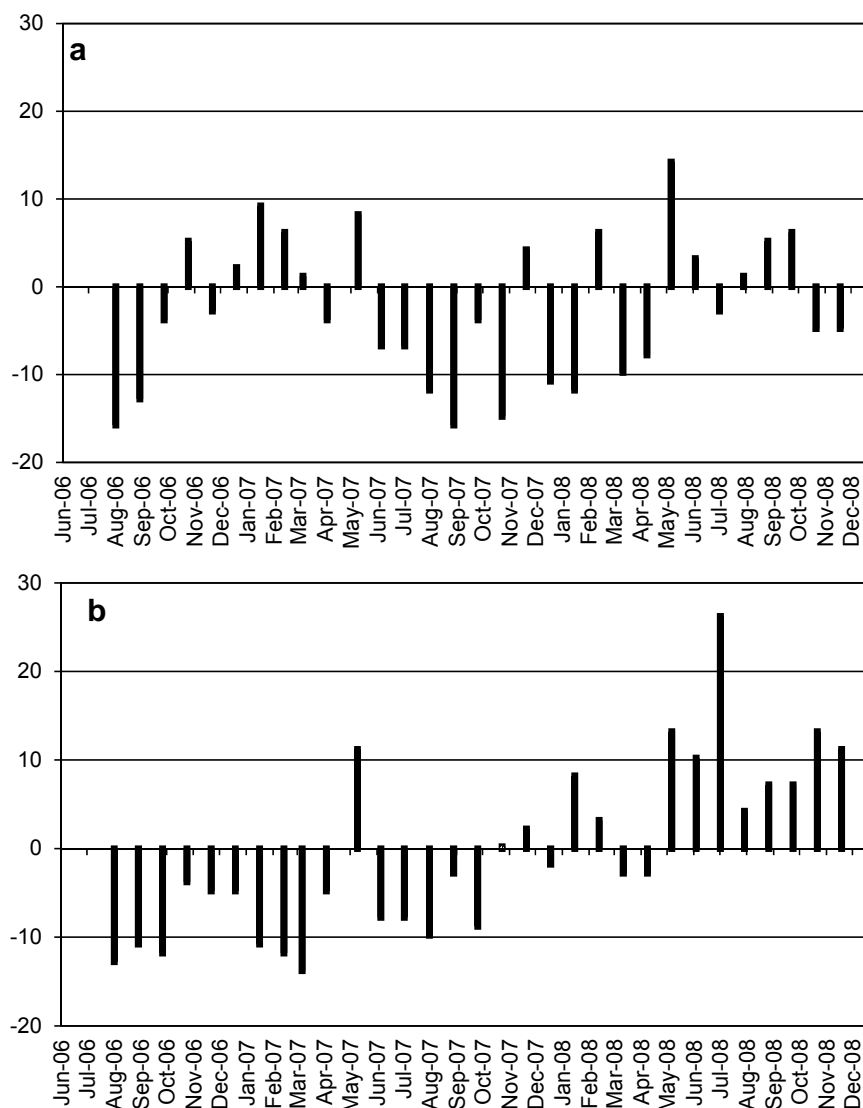
4.1.3 Resultater

Den gennemsnitlige bestandsstørrelse var 18 rotter for system 38Y og 17 rotter for 39X. Gøres dette op for hver 100 meter undersøgte hovedledning betyder det, at der gennemsnitlig var 2,2 og 1,3 rotter. De estimerede bestandsstørrelser og estimaternes 95 % konfidensintervaller er vist i figur 4.1. Her ses det, at kloakrottebestanden i de to områder varierede meget i den undersøgte periode.



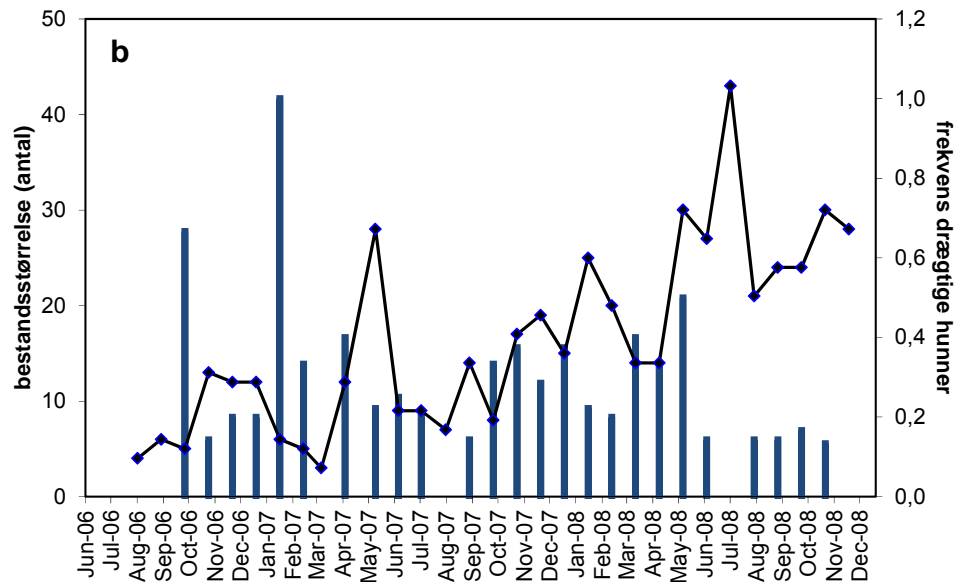
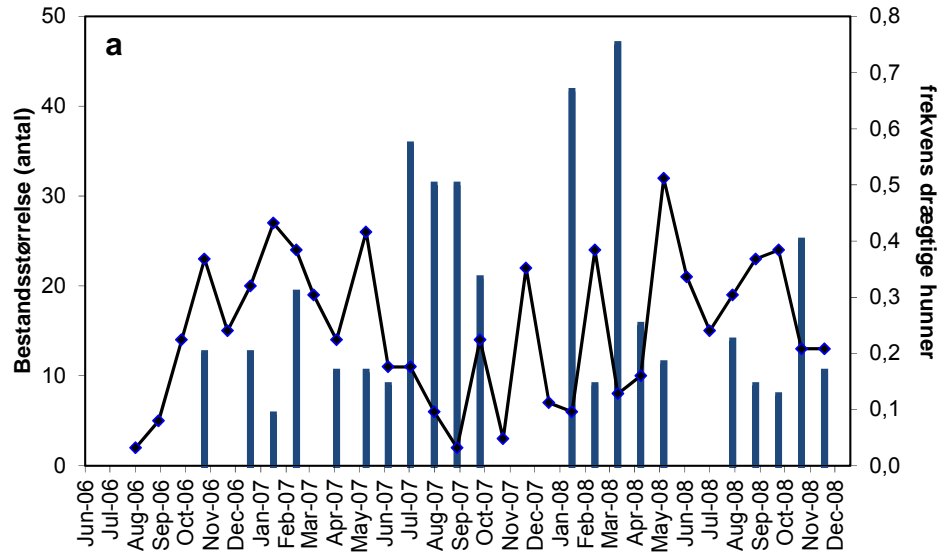
Figur 4.1 - Bestandsestimater for de enkelte fangstsessionser i 38Y (a) og 39X (b). Estimatet er angivet ved kurverne. 95 % konfidensinterval let er angivet som vertikale streger.

Ved at se på bestandsestimerne i forhold til det målte gennemsnit, ses det, at afvigelser fra gennemsnitsværdien ikke fulgte et mønster, der var årstidsbestemt og at der heller ikke var sammenfaldende udsving imellem de to systemer (figur 4.2).



Figur 4.2 - Afvigelser fra den gennemsnitlige bestandsstørrelse i de to systemer, 38Y (a) og 39X (b). For 38Y er gennemsnitsværdien 18 rotter og for 39X er det 17 rotter.

Af figur 4.3 ses det ligeledes, at forekomsten af drægtige hunner ikke fulgte et årstidsbestemt mønster og som for bestandsstørrelsen, så var der ikke sammenfald mellem tidspunkter med henholdsvis mange og få drægtige hunner. Den gennemsnitlige frekvens af drægtige hunner var for 38Y ca. 0,20 (svarende til at 20 % af hunnerne var drægtige) og for 39X var frekvensen ca. 0,24 (svarende til at ca. 24 % af hunnerne var drægtige).



Figur 4.3 - Frekvensen af drægtige hunner i de enkelte fangstsessionser. Drægtige hunner er angivet som søjler for system 38Y (a) og 39X (b). Bestandsestimatet for systemet er angivet som en kurve (95 % konfidensintervallet er ikke angivet her).

Det blev testet om reproduktionen, temperaturen eller nedbøren havde indflydelse på bestandstilvæksten i de to systemer (tabel 4.1). Kun for middeltemperatur i system 38Y var der en signifikant sammenhæng.

Tabel 4.1 - Indflydelse på bestandstilvæksten af henholdsvis frekvensen af drægtige hunner, temperatur og nedbør (skybrud) blev testet. Forholdet mellem tilvækst og de tre faktorer blev testet med Proc mixed (SAS).

	DF	F værdi	P
38Y:			
Middeltemperatur	1	0,91	0,349
Nedbør	1	2,22	0,145
Reproduktion	1	0,50	0,489
39X:			
Middeltemperatur	1	5,04	0,03
Nedbør	1	0,29	0,59
Reproduktion	1	0,03	0,87

4.1.4 Diskussion

Der blev observeret betydelige udsving i bestandsstørrelsen omkring de to gennemsnitsværdier på henholdsvis 17 og 18 rotter. Trods en manglende rottebekæmpelse i hele forsøgsperioden var der ikke tegn på, at rottebestanden havde en fortsat stigning, da der i hele perioden blev observeret stigninger og fald i forhold til gennemsnitsværdierne. I 39X var der dog tegn på en bestandsstigning imod slutningen af 2008, men i forbindelse med andre undersøgelser, som strækker sig udover dette projekts forsøgsperiode, viste de efterfølgende bestandsestimater, at bestanden atter var omkring gennemsnitsværdien på 17 rotter.

I sammenligning med overfladerotter, så var der ikke en årstidsbestemt reproduktion i kloakken. I gennemsnit var mellem 20-25 % af alle indfangne hunner i kloakken drægtige, dvs. at andelen af drægtige hunner formentlig var en anelse højere, idet det kun var de synlige drægtige hunner, som blev medregnet. Dette er forhold, som man ville kunne observere i en overfladebestand af rotter, når forholdene vel og mærket er gunstige (relative varme temperaturer og rigelig med føde) (Leslie *et al.* 1952). Dette betyder, at rotterne kan formere sig året rundt i kloakken, og at forholdene her er så gode, at en relativ stor andel af hunnerne kan yngle.

Reproduktionen havde dog ikke målbar indflydelse på bestandstilvæksten. Senere analyser vil dog undersøge om reproduktionen (og bestandstilvæksten) kunne være densitetsafhængig (altså afhængig af bestandens størrelse). Det at en øget reproduktion ikke nødvendigvis resulterer i en stigning i bestandens størrelse kan skyldes mange ting, men i kloakken er antallet af mulige redepladser formentlig den afgørende faktor for overlevelse af de enkelte kuld.

Skybrud havde, imod forventning, ikke en umiddelbar effekt på bestandstilvæksten. Men da nedbøren er opgjort fra overfladiske målstationer (det var ikke muligt i dette forsøg at lave målinger i kloakken) kan det ikke udelukkes, at *in situ* målinger ville have givet en bedre korrelation mellem nedbør og tilvækst.

De umiddelbare konklusioner må være, at ingen af de undersøgte abiotiske faktorer og reproduktionen kunne forklare udsvingene i den observerede bestandsstørrelse. Yderligere analyser vil blive gennemført for at afklare dette spørgsmål.

En anden vigtig observation er, at bestanden af kloakrotter ikke steg kontinuerligt, som følge af den manglende bekæmpelse. Dette er hvad, der normalt kan forventes i naturlige bestande, da der vil være en bærekapasitet for en given bestand (typisk afhængig af habitatens udformning og føderessourcer). Det at der kun observeres bestandssvingninger omkring et relativt lavt gennemsnitlig antal rotter indikerer, at der ikke er basis for opretholdelse af store rottebestande i de undersøgte kloakker – der er det antal rotter som forholdene tillader.

4.2 Områdepræferencer og bevægelser i kloaksystemet

Som for ovenstående resultater vil disse data som er indsamlet vedrørende rotternes bevægelsesadfærd danne baggrund for videnskabelige analyser i de kommende år. Her præsenteres de basale analyser og resultater.

4.2.1 Indledning

De studier der tidligere er lavet vedrørende kloakrotters biologi er baseret på målinger af rotternes indtag af f.eks. loddemat og gift (Barnett & Bathard 1953, Bentley *et al.* 1959, Colvin *et al.* 1998, Channon *et al.* 2000, Channon *et al.* 2006). Disse undersøgelser har bl.a. vist, at rotter foretrækker at opholde sig i de ledningsdele med diameter på maksimalt 600 mm (Colvin *et al.* 1998). Der er indikation for, at rotterne ikke er jævnt fordelt i ledningsnettet, og at der er områder ("hotspots"), som hyppigere bliver reinvaderet af rotter end andre områder (Channon *et al.* 2006).

Det kunne betyde, at ud over diameteren på ledningen, så er der også præference for visse områder i ledningssystemet og at der kan forekomme områder i kloakken med ringe eller ingen rotteaktivitet.

Nogle af de faktorer, som kan have indflydelse på forekomst og antal af rotter, er tilgængeligheden af et fødegrundlag og rede- og sovepladser. Colvin *et al.* (1998) fandt at dér, hvor man kunne forvente flest rotter, var de dele af ledningssystemet, hvor vandgennemstrømningen var lav, og hvor der her var størst mulighed for redebygning. Sådanne områder er typisk gældende for den øverste del af ledningen i et fællessystem og i stikledninger og døde stik (stik som ikke længere er i brug, men som ikke er blevet afproppet).

Hvordan bevæger rotterne sig rundt i kloakken? Er der ingen grænser for den enkelte rotte eller familie? Fra overfladen ved vi, at rottebestande kan være adskilt i forskellige grupper/familier nogle gange uden, at der er fysiske barrierer (Klemann & Pelz 2006, Gardner-Santana *et al.* 2009). Om det forholder sig sådan i kloakken er ikke tidligere blevet undersøgt.

Da rotterne kun kan bevæge sig via ledningen, kan man forvente, at den enkelte rottes bevægelsesområde er begrænset, idet den vil blive "bremset" af rotter fra tilstødende kolonier. Men det kan også tænkes, at fordi rotterne ikke har mulighed for at undgå hinanden, bliver de nødt til at acceptere hinandens tilstedeværelse og dermed vil rotterne kunne bevæge sig rundt mellem hinanden og dermed fremstå som en stor homogen bestand.

I denne del af undersøgelsen blev det bl.a. undersøgt, hvor rotterne forekom i kloakken, og om rotter bevægede sig frit omkring i kloakken og over hvor store afstande, de bevægede sig. Derudover blev det undersøgt, om rotterne i kloakken lever i adskilte bestande eller familiegrupper. Sidstnævnte vil i dette

afsnit kun blive belyst på baggrund af fangstinformationer. I afsnit 4.3 vil samme emne blive berørt, men baseret på DNA analyser.

4.2.2 Materialer og metoder

4.2.2.1 *Fordeling af fangster*

Forsøgslokalitet, hvor de biologiske undersøgelser blev udført, er beskrevet i afsnit 2.1.1. Undersøgelsen startede i august 2006 og blev afsluttet i december 2008 og var baseret på fangst-genfangst studier. Retningslinjerne for gennemførelse af fangst-sessionerne samt dataindsamlingen er beskrevet i afsnit 2.2.2.

Ud fra en antagelse om, at de områder, som foretrakkes, også er de områder med størst fangstantal, blev antallet af fangster opgjort per fangstbrønd. Dette blev sammenholdt med viden om ledningernes dimensioner. Fangsterne kunne derudover opgøres for henholdsvis hanner og hunner, unger og voksne rotter og derfra kunne det undersøges, om der var forskelle i, hvor de enkelte grupper af rotter foretrak at opholde sig.

Der blev i undersøgelsen differentieret mellem unger og voksne dyr. Vægten er en usikker indikator for rottens alder, men her i denne undersøgelse er alderen ikke så vigtig, som den reproduktive alder. Alle rotter som vejede under 50 g blev betragtet som juvenile ikke-kønsmodne rotter (unger) og de voksne kønsmodne rotter (adulte) var rotter med en vægt på 150 g og derover. Imellem 50 og 150 g ligger gruppen af unge ikke-kønsmodne rotter (subadulte).

4.2.2.2 *Bevægelser*

Det kan ikke udelukkes, at den afstand en rotte tilbagelægger i hele dens observationsperiode ville afhænge af antal gange og dermed tiden, hvor rotten har opholdt sig i det undersøgte ledningssystem. Dvs. jo hyppigere en rotte bliver fanget desto større er sandsynligheden for, at rotten kan blive fanget på forskellige fangstpositioner. Derfor blev der testet for uafhængighed mellem antal individuelle observationer, tid og hvor langt (i meter), at rotten havde bevæget sig i forsøgsperioden.

Test for uafhængighed mellem antal observationer og tiden individet havde opholdt sig i forsøgsområdet, blev testet med "General Linear Model" (Proc glm, SAS) for henholdsvis 38Y og 39X og for kønsforskelle. Individuer, som kun var fanget én gang, blev udelukket af disse analyser. Forskel på den tilbagelagte afstand mellem hanner og hunner blev testet med en t-test.

Bevægelsesafstanden blev i denne undersøgelse opgjort i to målparametre. Den første var den maksimale bevægelsesafstand. Den maksimale afstand var den afstand, som en rotte bevægede sig i hele dens observationsperiode, og dermed den fysiske afstanden (i meter) i mellem de to fjerneste liggende registrerede fangstpositioner. Denne afstandsparameter betød ikke nødvendigvis, at det var et område, som rotten benyttede hele tiden.

Det andet mål for bevægelsesafstand repræsenterede den afstand rotten bevægede sig over dagligt (dag til dag bevægelse). Her blev kun de rotter, som havde to på hinanden følgende observation indenfor samme fangst-session medtaget, da "dag til dag" bevægelsen kun kan måles indenfor samme session.

4.2.2.3 Bestandsstruktur

Den enkelte kloakrottes bevægelsesadfærd var begrænset til det lukkede ledningssystem. Det betød, at blev en rotte fanget f.eks. to gange på to forskellige fangstpositioner, som var placeret langt fra hinanden, måtte det konkluderes, at rotten naturligvis også i den mellemliggende periode have opholdt sig på de positioner, som lå imellem de to ydre punkter. Denne information om bevægelsesmønstre blev brugt til at identificere grupper af rotter. De individuelle bevægelsesmønstre kunne bl.a. bruges som basis for at vurdere om rottebestanden alene på deres bevægelsesadfærd kunne opdeles i forskellige delbestande.

Vi undersøgte bevægelsesmønstre i bestandene i de to systemer. For disse analyser betragtede vi kun de voksne (adulte) individer (> 150 g), da vi antog at juvenile og subadulte individer i en vis udstrækning ville være påvirket af beslægtede voksne individer. Så i det tilfælde, hvor vi havde individuelle fangstobservationer fra juvenil frem til adult stadium, blev kun de adulte observationer medtaget. Yderligere blev kun de adulte individer, som havde minimum 2 observationer inkluderet i analysen.

For at undersøge bestandsstrukturer blev der anvendt en cluster analyse (Proc cluster i SAS). Behandling af data til denne analyse blev foretaget på følgende måde; antallet af individer fanget på fangstposition, x , og antallet af disse individers forekomst på andre fangstpositioner, y , blev registreret. Det tal blev konverteret til frekvenser (d) bestemt af $d=1-r$, hvor r er bestemt af følgende ligning;

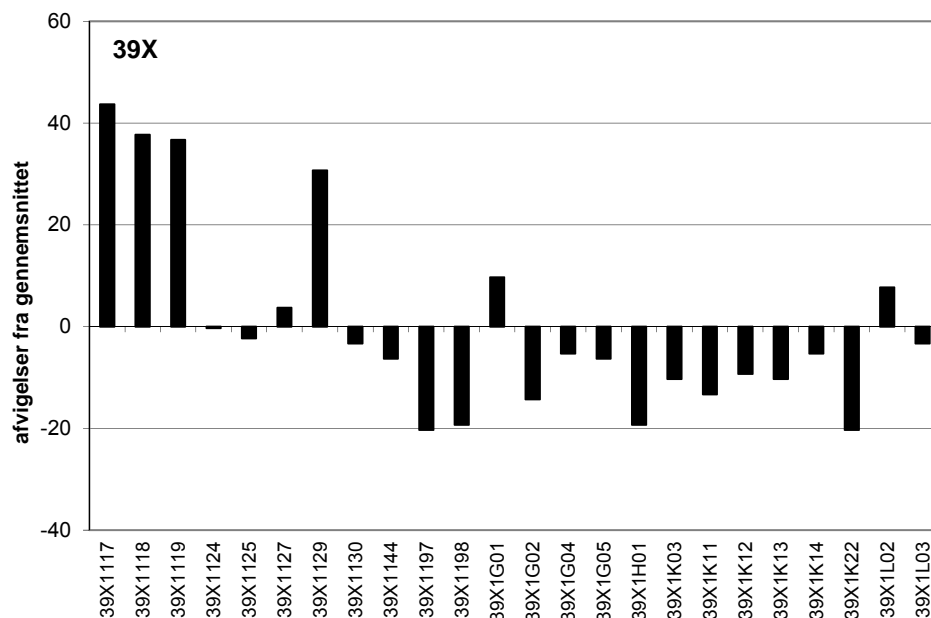
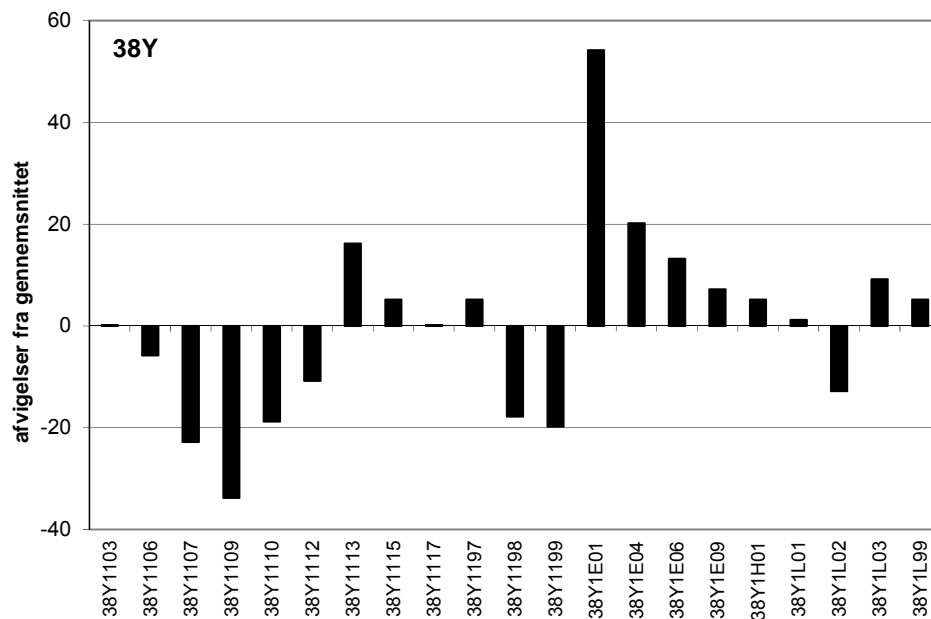
$$\sqrt{(\mathbf{xy}_n)^2 / \mathbf{x}_n + \mathbf{x}_n}$$

Frekvensmatricen som blev dannet herved, blev brugt som input til cluster analysen med brug af WARDS metode (Ward 1963). Proc tree proceduren blev brugt til at konstruere en "fylogentisk" træ, hvor de fangstpositioner, som har størst "slægsskab" eller deling af samme individer, er placeret i samme gruppe.

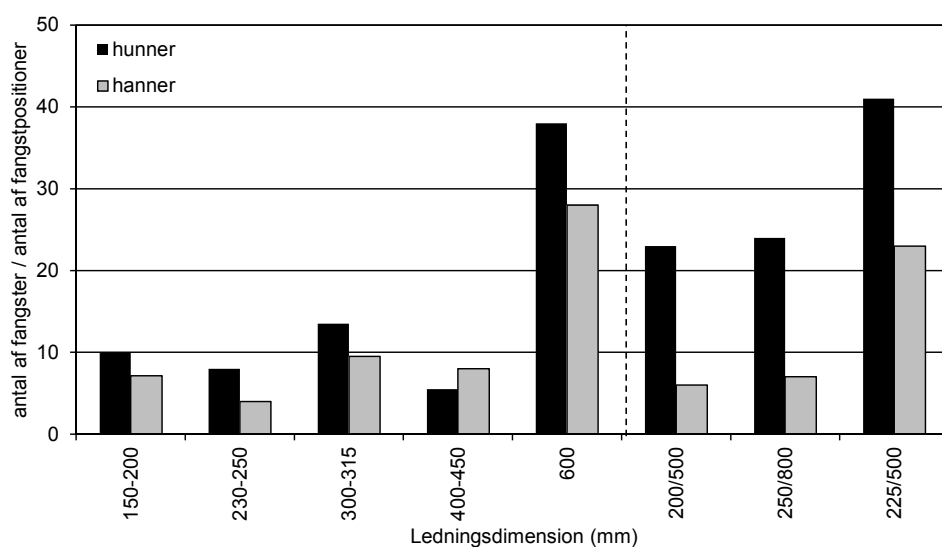
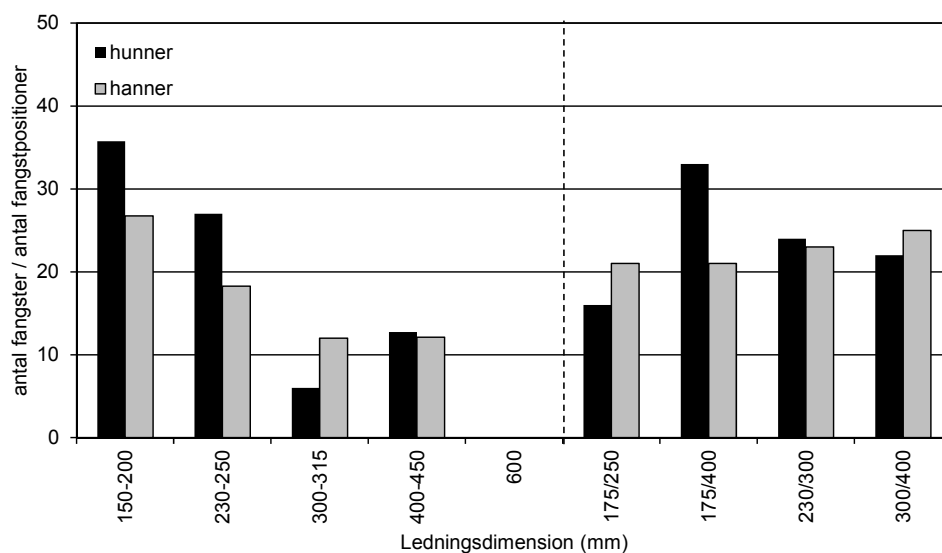
4.2.3 Resultater

4.2.3.1 Fordeling af fangster i kloakken

Der blev fanget rotter på samtlige fangstpositioner i forsøgsområdet med en gennemsnitlig fangst per fangstposition på 36,8 fangster i 38Y og 22,3 fangster i 39X. Men som det ses af figur 4.4, hvor afvigelser fra det gennemsnitlige antal fangster er angivet, var der stor forskel på fangsthypighederne på de enkelte fangstpositioner. I 39X blev mere end halvdelen af alle fangster fanget på kun fem positioner, hvor de fire fangstpositioner X1117, X1118, X1119 og X1129 havde det største antal fangster. Positionerne X1117-1119 ligger i modsætning til de øvrige positioner på en samlet ledningsstrækning med en ledningsdimension på 600 mm og med høj vandføring (se også figur 2.1). Strækningen er ca. 130 m lang og har meget få korte stikledninger, og der er derfor ikke mange muligheder for hvilepladser. I 38Y var fangsterne mere jævnt fordelt, dog med en tendens til, at de positioner med flest fangster var de strækninger med mindre ledningsdimension (150 til 230 mm) (figur 4.4 og 2.1)



Figur 4.4 - Afvigelser fra det gennemsnitlige antal fangster per fangstposition. Det gennemsnitlige antal fangster i 38Y er 36,8 fangster og i 39X 22,3 fangster.

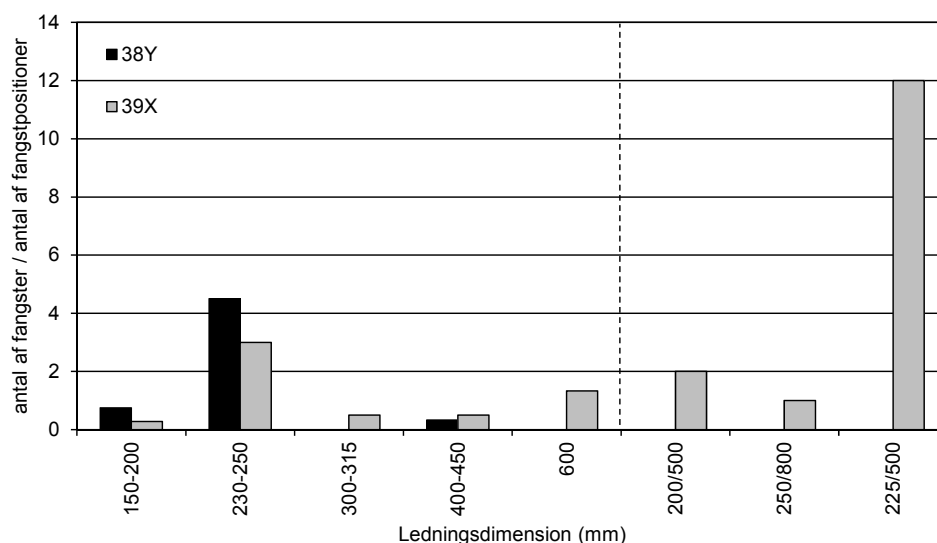


Figur 4.5 - Fordelingen af hanner (grå blokke) og hunner (sorte blokke) i relation til ledningsdimensionen i system 38Y (øverst) og 39X (nederst). Individuer på under 50 g er udeladt her. Antallet af fangster for de enkelte ledningsdimensioner er angivet, som antal af fangstpositioner i forhold til antallet af fangstpositioner med den specifikke ledningsdimension. Den stiplede vertikale linie indikerer adskillelsen af fangstpositioner med fast dimension (venstre) og til højre for linien positioner med blandede ledningsdimensioner.

Ses der på de foretrukne ledningsdimensioner for voksne rotter, kunne der observeres tydelige forskelle mellem de to systemer. I 38Y var der en klar præference for de områder med lille ledningsdimension (150-250 mm) (figur 4.5). I 39X var der i modsætning til 38Y ledningsdimensioner over 400 mm, og der var her, i de større ledningsdimensioner, at der blev fanget flest rotter. Her havde områderne (150-250 mm), som var sammenlignelige med 38Y, markant færre fangster.

Selvom drægtige hunner blev fanget i hele området for både 38Y og 39X (data ikke vist) uden relation til en bestemt ledningsdimension, blev de unge rotter (under 50 g) primært fanget i de områder med lille ledningsdimension (38Y) (figur 4.6). I 39X blev de fleste derimod fanget i et område, hvor ledningsdimensionen varierede mellem 250 til 800 mm. Området dækkede

nabopositionerne X1G01 (250-800 mm), X1G02 (250 mm) og X1G05 (250 mm), som var karakteriseret ved at være et meget tørt område.



Figur 4.6 - Fordelingen af fangster af unge rotter (under 50 g) i relation til ledningsdimensionen i 38Y og 39X. Antallet af fangster for de enkelte ledningsdimensioner er angivet, som antal af fangstpositioner i forhold til antallet af fangstpositioner med den specifikke ledningsdimension. Den stiplede vertikale linie indikerer adskillelsen af fangstpositioner med fast dimension (venstre) og til højre for linien positioner med blandede ledningsdimensioner.

4.2.3.2 Bevægelser

De to systemer, 38Y og 39X, var adskilte, men lå umiddelbart i meget tæt på hinanden. Men på intet tidspunkt i forsøgsperioden blev der fundet rotter, som flyttede rundt mellem systemerne, hvilket i sig selv var naturligt, da de to systemer ikke havde forbindelse til hinanden under jorden. Det, at der ikke fandt udveksling sted mellem de to naboledninger, kunne indikere, at der ikke fandt udveksling sted med overfladen som mellemlid.

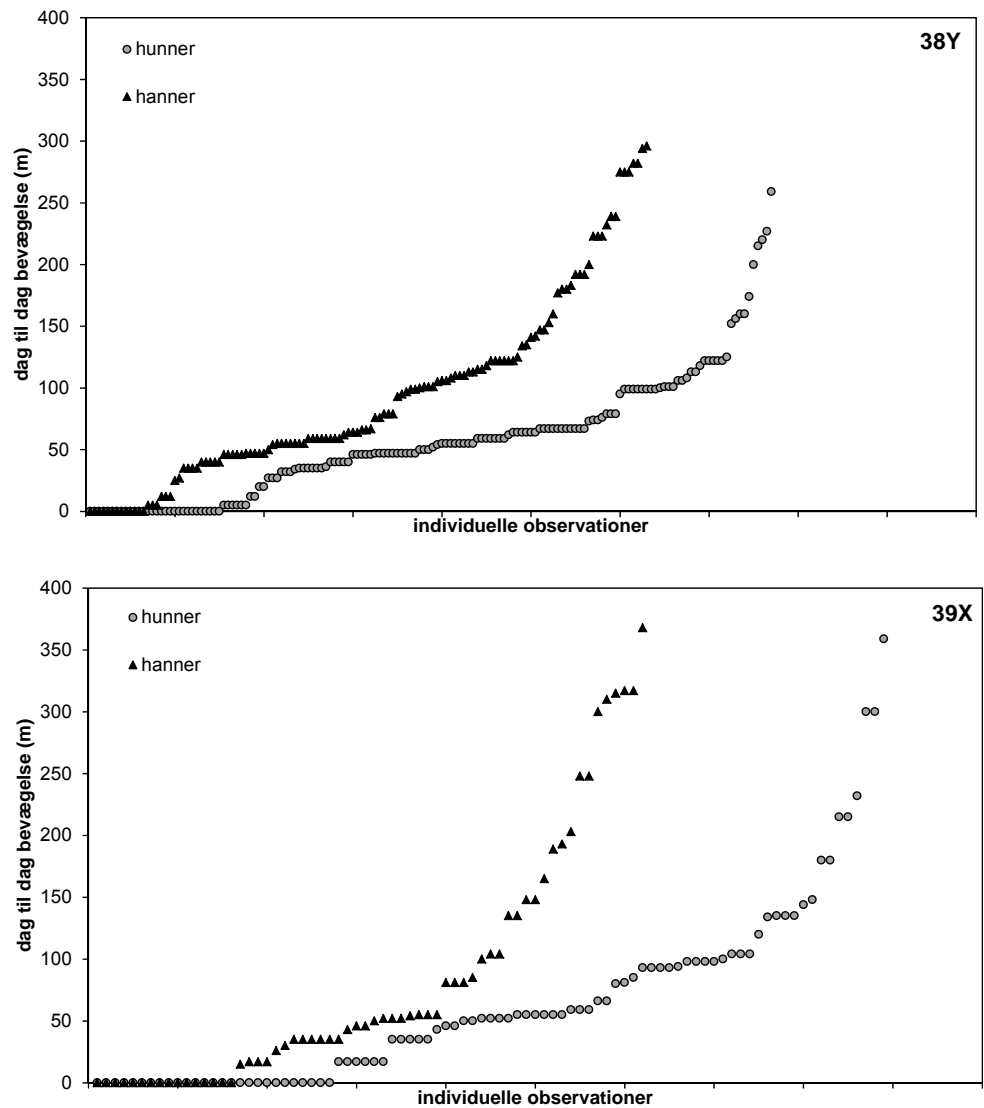
Vi fandt, at der var en signifikant afhængighed mellem antallet af observationer og den maksimale afstand ($P_{38Y,hun} = 0.0182$, $P_{39X,hun} = 0.026$, $P_{38Y,han} = 0.140$, $P_{39X,han} = 0.015$), men uafhængig af den tid individet havde opholdt sig i området ($P_{38Y} = 0.050$, $P_{39X} = 0.713$). Ved kun at betragte de individer, som havde minimum fire observationer, var der ikke længere en signifikant afhængighed ($P_{38Y,hun} = 0.100$, $P_{39X,hun} = 0.252$, $P_{38Y,han} = 0.381$, $P_{39X,han} = 0.319$).

Den gennemsnitlige rotte bevægede sig i hele observationsperioden sig over en afstand af ca. 200 m i begge systemer og for hvert køn. Der var ikke signifikant forskel på den bevægede afstand for hanner og hunner (tabel 4.2).

Tabel 4.2- Den gennemsnitlige maksimale afstand til bagelagt af rotter i de to systemer. Kun rotter med minimum fire fangstobservationer er medtaget. Den mindste og største afstand er angivet. Der blev testet for forskelle mellem hanner og hunner i henholdsvis 38Y og 39X, hvor P angiver signifikansniveauet.

		n	maximal afstand (m)	min-max afstande	P
38Y	alle	78	195.5 ± 14.8 S.E	0 m - 544 m	0.063
	hunrotter	46	171.7 ± 17.3 S.E	5 m - 544 m	
	hanrotter	32	229.7 ± 25.2 S.E	0 m - 494 m	
39X	alle	56	212.1 ± 17.5 S.E	17 m - 447 m	0.393
	hunrotter	33	199.6 ± 26.4 S.E	17 m - 447 m	
	hanrotter	23	229.9 ± 26.4 S.E	17 m - 418 m	

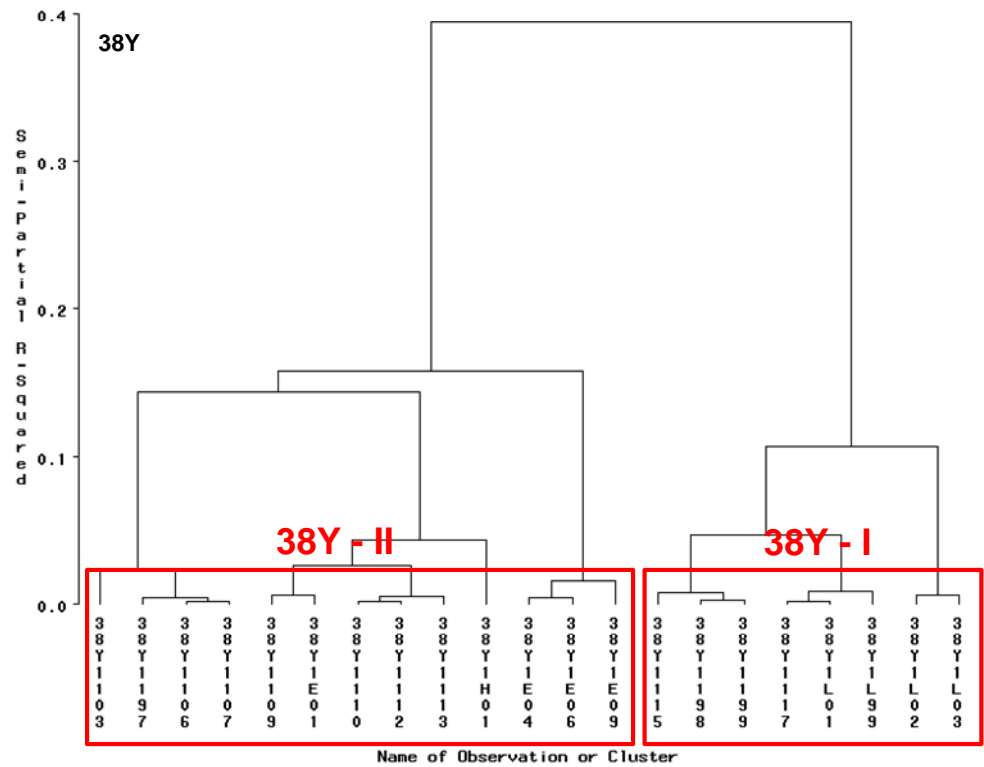
”Dag til dag” bevægelsen var generelt mindre end 200 m (figur 4.7). Medianværdien for hunner i 38Y var 51 m og for hannerne 66,5 m. I 39X bevægede hunnerne sig gennemsnitlig 52 m dagligt og hannerne 48 m. I 38Y lå langt de fleste af disse ”dag til dag” observationer indenfor en grænse på 150 m, hvor hannerne bevægede sig signifikant længere end hunnerne ($P < 0,0001$). i 39X blev der ikke fundet forskel på kønnene ($P = 0,191$).



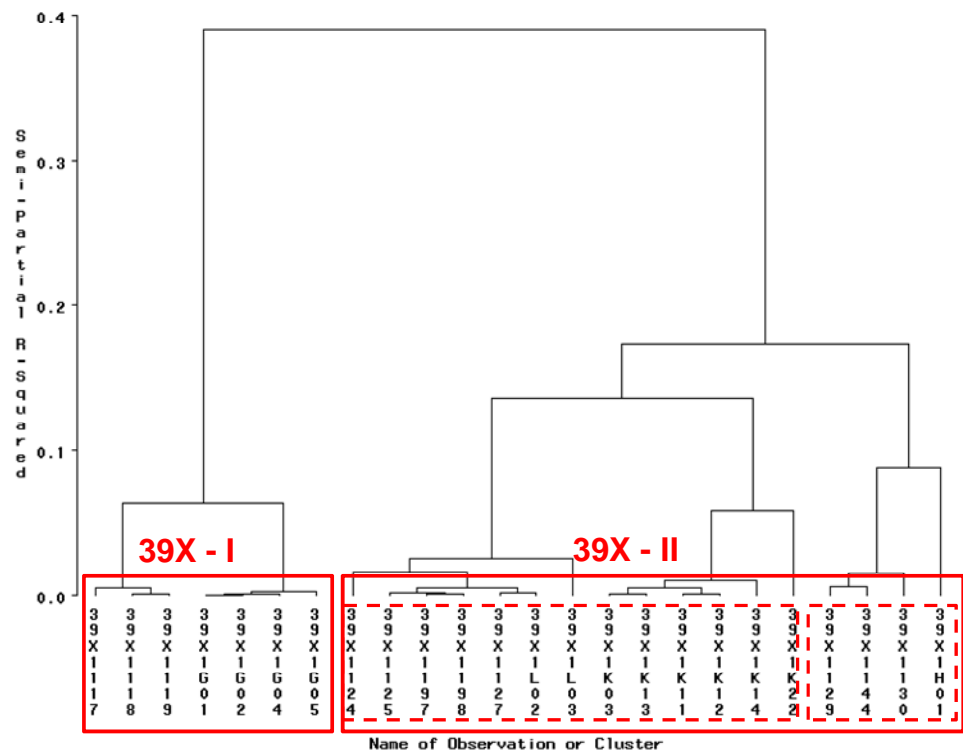
Figur 4.7 - Den maksimale "dag til dag" afstand mellem to på hinanden følgende fangstobservationer for hanner (sorte trekkanter) og hunner (grå cirkler) i henholdsvis 38Y (øverst) og 39X (nederst).

4.2.3.3 Bestandsstruktur

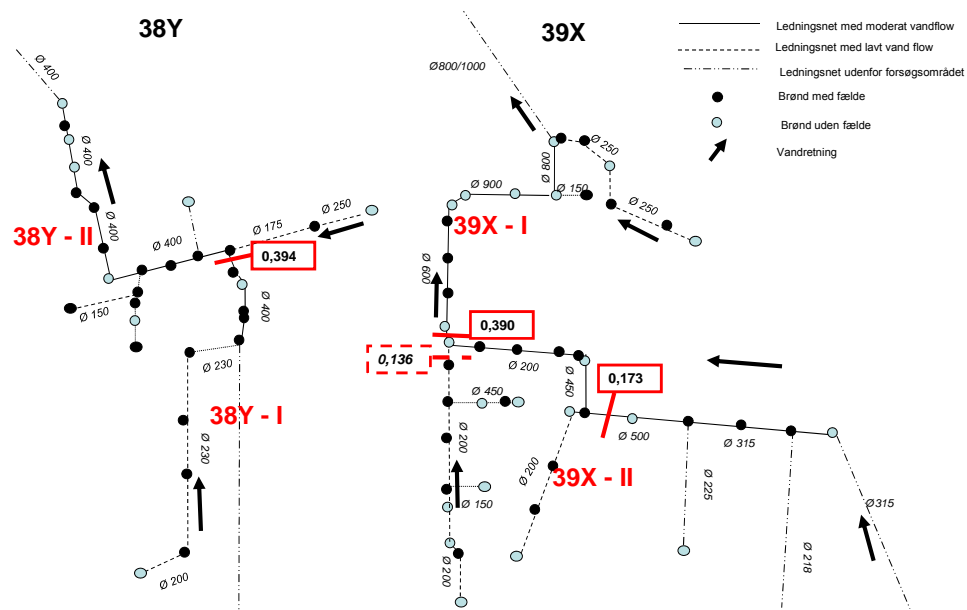
Cluster analysen viste, at der var tale om grupperinger af fangstpositionerne i de to systemer (Figur 4.8, 4.9 og 4.10). For begge systemer var der to større grupperinger. Der var ingen eller kun ringe udveksling af rotter mellem disse grupper (data ikke vist), som understøtter en gruppeadskillelse af rotter. Der blev yderligere observeret nogle mindre grupperinger indenfor hovedgrupperingerne. De observerede R^2 -værdier var dog mindre og skyldes formentlig, at der forekommer vandringer af enkelte individer på tværs af disse smågrupper.



Figur 4.8 - Gruppering indenfor 38Y. Grupperingen er baseret på baggrund af cluster analysen (SAS). For 38Y blev to hovedcluser, 38Y-I og 38Y-II (omgivet af de røde markeringer), fundet. R2-værdien for opdelingen af cluser kan aflæses på x-aksen.



Figur 4.9 - Gruppering indenfor 39X. Grupperingen er baseret på baggrund af cluster analysen (SAS). For 39X blev to hovedcluser, 39X-I og 39X-II (omgivet af de røde firkanter), fundet. R2-værdien for opdelingen af cluser kan aflæses på x-aksen. Internt i 39X-II er der yderligere en gruppering med R2 på 0,173. Disse to grupperinger er angivet med stiplede markeringer.



Figur 4.10 - Skitsering af bestandsgrupperinger baseret på cluster analysen (se i øvrigt figur 4.8, figur 4.9). De røde markeringer er adskillelsen mellem de grupper, hvor de højeste R2-værdier blev opnået. I 39X er angivet en enkelt undergruppering med en R2 værdi under 0,150 (stiplet rød markering).

4.2.4 Diskussion

Rotter forekom over hele området men med betydelig variation i fangstsuccessen på de enkelte fangstpositioner. Tidligere undersøgelser har vist, at rotter primært forekommer i de mindre ledningsdimensioner (Twigg 1975, Lund 1994, Colvin *et al.* 1998). Dette kunne ikke understøttes af denne undersøgelse, da rotterne blev fanget lige så hyppigt i de større ledningsdimensioner som i de mindre.

Synlige drægtige hunner blev observeret i både mindre og større ledningsdimensioner, og på den baggrund var det ikke muligt at udpege yngleområder. Men det kunne derimod lade sig gøre ved at se på, hvor de unge rotter (under 50 g) opholdte sig. Disse resultater understøtter teorien, om at rotterne benytter de små og tørre ledningsdimensioner til yngelpleje (Twigg 1975).

Der var ikke indikation af, at rotter bevægede sig frit imellem hinanden og over længere strækninger. Faktisk havde den gennemsnitlige rotte et bevægelsesområde svarende til 200 m igennem dens levetid. Den daglige bevægelse var generelt meget kortere med en afstand på ca. 50 til 70 m. Disse mål indikerer, at rotterne udviste en form for fast tilhørsforhold (site-fidelity).

På trods af manglende fysiske barrierer i de undersøgte områder, så var der indikation på, at rotterne var grupperet i bestandsenheder eller familiegrupper.

4.3 Bestandsgenetiske undersøgelser

I dette afsnit behandles nogle præliminære resultater fra de genetiske undersøgelser af rotterne. Data vil blive yderligere behandlet og offentliggjort i en videnskabelig publikation.

4.3.1 Indledning

På baggrund af observerede data fra bl.a. adfærdsmæssige studier eller, som her i dette projekt, bevægelsesmønstre identificeret ved hjælp af fangst/genfangster, kan mulige bestands- og familiestrukturer erkendes. Dog kan man ved at inddrage molekylære metoder, hvor dele af det enkelte individs DNA kortlægges, få en indsigt i faktiske slægtsskab- og bestandsforhold. Vi har på baggrund af de foregående undersøgelser vedrørende bestandsdynamikken og bevægelser i de undersøgte kloakrottebestande været i stand til at blottlægge dele af rotternes historie. Her vil vi med inddragelsen af molekylære metoder undersøge om bestandene kan differentieres fra hinanden, som følge af den genetiske forskel eller lighed.

Brugen af DNA mikrosatelitter er en anerkendt metode til at afgøre bestands- eller slægtsskabsmæssige spørgsmål, som kan være opstået indenfor få generationer. Med brugen af mikrosatelitter kunne vi undersøge, om rotter fra system 38Y og 39X var genetisk adskilt fra hinanden (differentierede bestande) og om der internt i hvert af de to ledningssystemer forekom genetisk adskilte delbestande, som det bl.a. blev indikeret ud fra rotternes bevægelsesadfærd (afsnit 4.2.3.3). I samme tidsperiode, som den igangværende undersøgelse på forsøgslokalitet A, blev der indfanget enkelte overfladerotter. Det blev undersøgt, om disse rotter havde samme genetiske baggrund, som enten rotterne i system 38Y eller 39X. Et sammenfald af den genetiske DNA profil mellem overflade- og kloakrotter ville kunne indikere, om der er tale om en forbindelse mellem overfladen og kloakken.

4.3.2 Materialer og metoder

Forsøgslokalitet, hvor de biologiske undersøgelser blev udført, er beskrevet i afsnit 2.1.1. Undersøgelsen startede i august 2006 og blev afsluttet i december 2008 og var baseret på fangst-genfangst studier. Retningslinjerne for gennemførelse af fangstsessionerne samt dataindsamlingen er beskrevet i afsnit 2.2.2.

Ved den generelle dataindsamling blev der i forbindelse med, at rotten var bedøvet, udtaget en blodprøve fra rotten. Blodprøverne blev opbevaret ved -20 °C indtil DNA ekstraktion.

DNA blev ekstraheret med brug af Dneasy™ tissue kit (Qiagen) med brug af den vejledende protokol for "rodent tails". I alt 11 mikrosatellit loci blev undersøgt for hvert individ; D1wox1, D1wox23, D1wox31, D2wox27, D3wox7, D4wox7, D6wox1, D6wox2, D8wox7, D12wox1 og D19wox11 (Heiberg *et al.* 2006). Alle loci blev kørt i PCR som singleplex, men blev efterfølgende blandet sammen fordelt på tre efter PCR multiplex. Primer sekvenserne kan hentes på <http://rgd.mcw.edu>. Selve PCR blev udført i 20 µl volume med et udgangspunkt på 20-100 ng genomisk DNA, 1 X Amplitaq Gold buffer (Applied Biosystems), 2 mM eller 2,5 mM af MgCl₂, 0,2 mM af hver dNTP, 0,2 µM af hver loci-primer og 0,4 units Amplitaq Gold (Applied Biosystems). PCR reaktionerne blev kørt på en 9600 GeneAmp™ thermocycler (Applied Biosystems). PCR temperatur- profilerne var; 1 indledende step med denaturering ved 94 °C i 10 minutter, dernæst 8-10 PCR cykler med touchdown med start annealingtemperatur på 65 °C ned til 58 °C eller med start ved 60 °C ned til 50 °C (annealingtemperaturen blev sænket med 1 °C for hver cyklus). Når slut annealingtemperaturen var nået blev der

gennemført 25-30 cykler bestående af følgende temperaturprofil; 15 sekunder ved 94°C, 15 sekunder ved den lave annealingtemperatur og 40 sekunder ved 72°C. PCR blev afsluttet med et ekstra "elongation" step ved 72°C på 1 time. PCR produkter blev efterfølgende blandet sammen og sendt til **Eurofins MWG operons** til allebestemmelse.

4.3.2.1 databehandling

Den observerede (H_o) og forventede (H_e) heterozygositet blev beregnet ved hjælp af POPGENE 1.32 (Yeh *et al.* 1997).

Afvigelser fra Hardy-Weinberg proportioner (HWP) blev estimeret som ved brug af GENEPOP 3.4 (Raymond & Rousset 1995). Hvor signifikansniveauet blev estimeret ved brug af Markov Chain metoden med 10.000 dememorization steps, 1.000 batches og 1.000 iterations per batch (Guo & Thomson 1992).

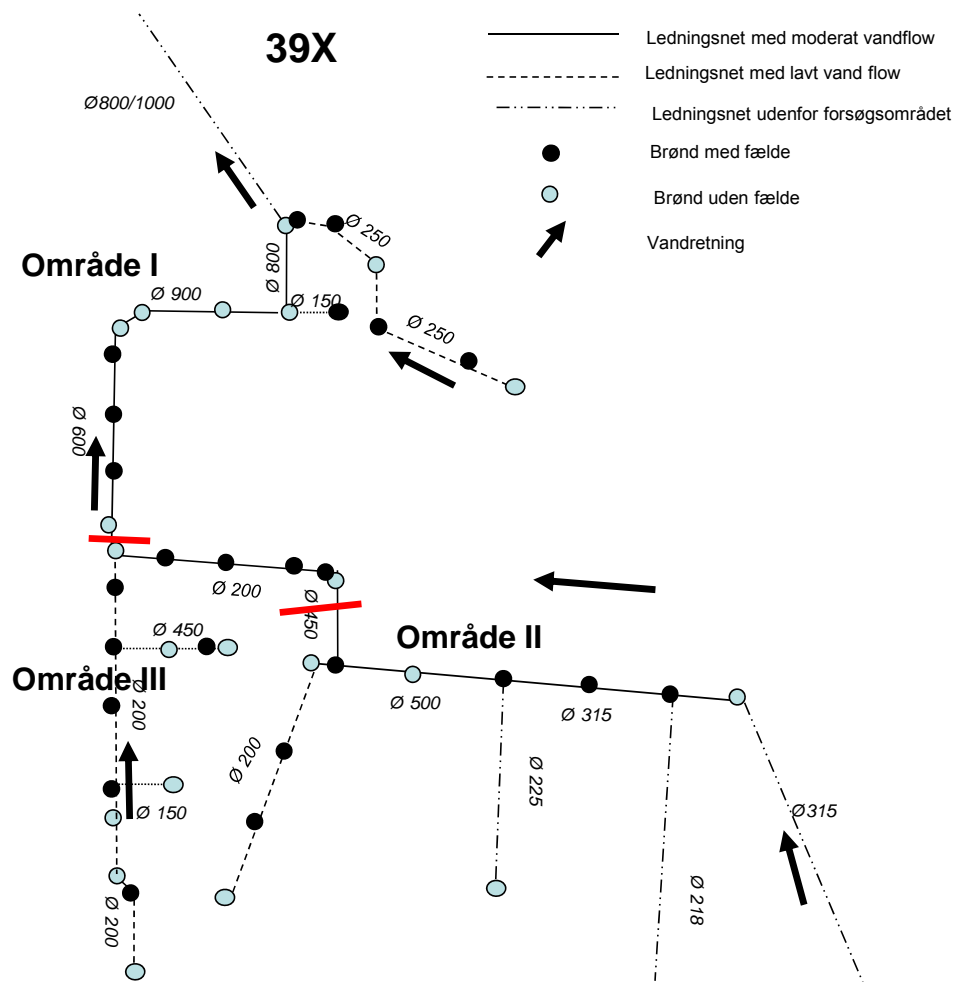
Samtlige anvendte mikrosatelit loci blev testet for genotypisk koblingsuligevægt med brug af Markov Chain metoden (GENEPOP). Ved koblingsuligevægt forstås der en analyse, hvor de enkelte genetiske markører (her de forskellige DNA mikrosatelitter) testes for uafhængighed af hinanden. Signifikansniveauet for disse tests blev korrigeret for "flere sammenligninger" (multiple comparisons) ved brug af Bonferroni korrektion (Rice 1989).

Genetisk differentiering mellem de indsamlede bestande blev estimeret ved brug af parvise D_{est} værdier ifølge Jost (2008):

$$[(H_{t_{est}} - H_{s_{est}}) / (1 - H_{s_{est}})] \times [n / (n-1)],$$

Hvor $H_{t_{est}}$ er en næsten unbiased estimator for den totale heterozygositet i bestandene og $H_{s_{est}}$ en unbiased estimator for heterozygositeten indenfor bestandene og n er antallet af bestande undersøgt. D_{est} estimatorerne blev genereret med brug af SMOGD (Crawford 2009).

For at undersøge bestandsstrukturer brugte vi en Bayesian likelihood-baseret assignment metode som er tilgængelig i software pakken GENECLASS 2.0 (Cornuet *et al.* 1999, Piry *et al.* 2004). Baseret på en simulationsprocedure med 10.000 simulerede individer og en tærskelværdi på 0,05 blev sandsynligheden for hvert enkelt individs placering (assignment) til en af bestandene beregnet. Den bestand, hvor individet havde størst sandsynlighed for at forekomme, var den bestand hvortil individet blev assignet. Dette blev undersøgt for rotter indsamlet i 38Y og 39X, samt for fem rotter indsamlet på overfladen i forsøgsområdet. Derudover blev interne bestandsstrukturer i 39X undersøgt. Dette skete på baggrund af den indikation der var for bestandsstrukturer fundet ved cluster analysen i afsnit 4.2.3. For at sikre så stor en prøvestørrelse for de enkelte områder i 39X blev der kun analyseret på tre af de største clusters (område I, II og III) (figur 4.11).



Figur 4.11 - System 39X på forsøgslokalitet A med tre område-opdelinger; I, II og III. Områderne er defineret på baggrund af clusteranalysen (se figur 4.9 og 4.10). Adskillelsen af de tre områder er indikeret ved de to røde streger.

4.3.3 Resultater

Alle loci kombinationer blev undersøgt for koblings-uligevægt. I alt 55 sammenligninger, hvoraf der blev fundet signifikant uligevægt for syv loci-kombinationer efter at der var foretaget en Bonferroni korrektion (Rice 1989). Men da afvigelserne forekom tilfældigt og ingen af kombinationerne forekom mere end én gang, blev ingen af de anvendte loci udelukket af analyserne. Den forventede (H_e) og den observerede (H_o) heterozygositet er vist i tabel 4.3. I system 38Y og 39X var der signifikante afvigelser fra HWP. At der ikke blev fundet signifikant afvigelser fra HWP for overfladerotterne, skal pga. af den meget lille prøvestørrelse tages med forbehold. Dog er det værd at bemærke den væsentlige højere heterozygositet, som kunne observeres i de fem overfladerotter.

Tabel 4.3 - Forventede (H_e) og observerede (H_o) heterozygositet for system 38Y, 39X og for fem overfladerotter (OF). P angiver signifikansniveauet for afvigelser fra HWP.

	N	$H_e \pm S.D$	$H_o \pm S.D$	P
38Y	84	$0,424 \pm 0,07$	$0,361 \pm 0,02$	*
39X	64	$0,533 \pm 0,06$	$0,449 \pm 0,02$	*
OF	5	$0,625 \pm 0,06$	$0,600 \pm 0,08$	NS

Antallet af overfladerotter var for lille til at kunne beregne genetisk differentiation mellem OF (overfladerotter) og 38Y og 39X. Men den genetiske sammenligning af 38Y og 39X gav en D_{est} værdi på 0,121, som indikerer, at rotterne i de to systemer til en vis grad kunne betragtes som to adskilte genetiske bestande. Indenfor 39X, som kunne opdeles i tre mulige områder, som repræsenterede tre mulige delbestande af rotter, blev niveauet af den genetiske differentiering ligeledes undersøgt (tabel 4.4). Områderne kunne adskilles, dog med lave D_{est} værdier.

Tabel 4.4 - Den genetiske differentiering udtrykt som D_{est} for de tre delområder i 39X.

		Områder i 39X		
		I	II	III
I			0,087	0,055
II				0,02
III				

For at undersøge bestandsstrukturer blev en assignment analyse udført. Først blev de tre bestande; 38Y, 39X og OF analyseret (tabel 4.5) og siden de tre delområder i 39X (tabel 4.6). I begge analyser var der individer, som bedst kunne assignes til en anden bestand end dér, hvor den oprindelig var indfanget fra. Imellem systemerne var raten for denne form for tildeling på tværs af områderne (cross-assignment) på 13,7 %. Men langt størstedelen af rotterne havde et genetisk tilhørsforhold til den bestand som kom fra det samme område. Denne observation blev også gjort for sammenligningen mellem de tre delområder i 39X, hvor cross-assignmenten raten var en smule højere (17 %) (tabel 4.6).

Tabel 4.5 - Antallet af individer tildelt hver af de tre bestande; 38Y, 39X og de fem overfladerotter (OF). Tildelingen er baseret på genetisk similaritet. Diagonalt og med fed skrift er fremhævet det antal individer som tildeles til deres oprindelige bestand.

	38Y	39X	OF
38Y <i>n=84</i>	74	6	4
39X <i>n=64</i>	6	54	4
OF <i>n=5</i>		1	4
<i>Cross-assignment = 13,7 %</i>			

Tabel 4.6 - Antallet af rotter, som kunne tildeles de tre forskellige delområder indenfor 39X, baseret på genetisk similaritet. Diagonalt og med fed skrift er fremhævet det antal individer som tildeles til deres oprindelige gruppe.

område	I	II	III
I <i>n=22</i>	21	1	
II <i>N=24</i>		19	5
III <i>n=10</i>		2	8
<i>Cross-assignment = 17 %</i>			

4.3.4 Diskussion

De genetiske undersøgelser viste, at kloakrotterne i forsøgsområdet var differentieret imellem de to kloaklokaliteter 38Y og 39X, og understøttede ligeledes de observationer fra fangst/genfangst, som viste, at der ikke var udveksling af rotter mellem områderne 38Y og 39X. At så stor en del af individerne kunne assignes til deres fangstområde, indikere en stærk bestandsopdeling.

Der indgik meget få overfladerotter i denne undersøgelse, men alligevel giver deres genetiske tilhørsforhold (assignment testen) en indikation af, at de udgør deres egen bestand. Ved at inkludere flere individer fra overfladen forventes dette spørgsmål besvaret i den endelige videnskabelige publikation.

Internt i 39X kunne de tre områder, I, II og III adskilles. De estimerede D_{est} værdier var lave, men er sammenlignelig med, hvad der er fundet imellem to adskilte nabobestande af overfladerotter, med en vis grad af geneflow (Heiberg ikke-publicerede data). Det betyder, at selv indenfor et relativt snævert område som 39X, opretholder rotterne, formentlig, territoriale grænser mellem delbestande. Derved kan det, som allerede fastslået i afsnit 4.2 og alene på baggrund af fangstinformationer, at rotter i kloaksystemet kan være begrænset i deres færdsel i kloaksystemet, da de "bremses" af tilstødende (familie)bestande. Assignment analyserne viser, at der kan forekomme individer indenfor de enkelte delområder, som rent genetisk ville have været placeret i en anden bestand end der, hvor den var formodet at høre til. Dette er formentlig et udtryk for, at der forekom en vis grad af genetisk udveksling mellem delområderne.

5 Sammenfattende diskussion og konklusion

5.1 De anvendelsesorienterede undersøgelser

I dette projekt blev der udført undersøgelser vedrørende antikoagulant resistens blandt kloakrotter. Normalt antager vi, at forekomst af antikoagulant resistens er en følgevirkning af brugen af antikoagulanter, hvor udbredelsen lokalt er fremmet af et kontinuerligt brug af gift (Pelz 2007). Derfor var det interessant at undersøge resistentspørgsmålet i områder, hvor den kommunale praksis for kloakrottebekæmpelse var forskellig. I Københavns kommune har man igennem de sidste 20 år ikke lavet kloakrottebekæmpelse. I Rødovre kommune stoppede man praksissen med at bekæmpe kloakrotter tre til fire år før projektets start. Den sidste af de tre deltagende kommuner var Lyngby-Taarbæk kommune, hvor der årligt blev foretaget kloakrottebekæmpelse.

Der blev undersøgt for bromadiolonresistens i de tre kommuner. Der blev konstateret resistens på samtlige seks forsøgslokaliteter, men hvor kun mellem 3,7 og 17,6 % af de undersøgte rotter blev identificeret som bromadiolonresistente. Der var ingen sammenhæng mellem bekæmpelsesstrategi og omfanget af resistens.

At der kunne findes resistente individer i en kommune, som ikke praktiserer kloakrottebekæmpelse var umiddelbart overraskende. Men da det viste sig, at de bromadiolonresistente rotter ikke havde samme genetiske lighed (ændringer i genet VKORC1) med andre resistente rotter fra overfladen (Rost *et al.* 2004, Pelz *et al.* 2005), måtte forklaringen være en anden.

Det er muligt, at den observerede resistens i stedet er et resultat af en forhøjet aktivitet af det generelle afgiftningssystem. Tidligere undersøgelser har vist, at bromadiolon resistens kunne involvere et kompleks af afgiftningsgener, P450 (Markussen *et al.* 2007, 2008).

Hvorfor skulle P450 være særligt højt udtrykt i kloakrotter? En af årsagerne kunne være, at kloakrotter lever i et miljø, hvor de dagligt udsættes for diverse bakterier, detergenter etc. Netop den "boosting" af afgiftningssystemet P450 kunne give kloakrotten en række fordele, når den indtager en antikoagulant (Heiberg 2009), idet der vil kunne ske en hurtigere nedbrydning af giften vha. P450 gener.

Ved den kendte genetiske resistens (VKORC1) er der tale om en egenskab, som kan overføres til afkommet (Greaves & Ayres 1967). Om den observerede form for resistens i kloakrotter har samme arvelige muligheder er ukendt på nuværende tidspunkt. Men skulle fremtidige undersøgelser pege i retningen af, at denne egenskab er forbundet med arvelighed, vil denne form for resistens kunne udgøre en lige så stor trussel for den fremtidige

kloakrottebekæmpelse og dermed endnu en udfordring i den daglige bekæmpelse af rotter.

Selvom der kan være tale om en anden form for resistens, er det vigtigt at påpege, at når gift anvendes i den kommunale kloakrottebekæmpelse, bør dette ske på en måde, så risikoen for resistensudvikling og spredning af resistens i kloaksystemet minimeres. Dette stiller krav til bl.a. midlets styrke (her vil resistensforekomst afgøre valg af, hvilke middel der bør anvendes), men også til selve udførelsen af bekæmpelsen.

Der findes ingen studier, som belyser hvordan antikoagulanter mest hensigtsmæssigt bruges for at undgå resistensudvikling og spredning. Men der er ingen tvivl om, at det fortsatte forbrug af gift i den akutte, men så absolut også i den forebyggende bekæmpelse, er medvirkende til at øge resistensudviklingen (Pelz 2007).

For at dæmme op for resistensudvikling i Danmark har man igennem årtier forsøgt at efterleve strategien, om altid at anvende det, efter forholdene, mildeste antikoagulant. Det betyder, at ved f.eks. bromadiolonresistens bør valget falde på det næst stærkeste middel, difenacoum. Om dette er en holdbar strategi i længden er uvist, og vil kræve yderligere og mere dybdegående undersøgelser.

Fra et teoretisk og biologisk udgangspunkt, må den bedste strategi dog være, at grundlaget for resistens fjernes fuldstændigt i hvert enkeltstående tilfælde. Det betyder, at man i teorien skal sikre sig 100 % bekæmpelse og derefter anvende den mildeste antikoagulant, hvis nye rotteproblemer opstår. Hvis bekæmpelsen altid foretages med det mål, at en eventuel resistent bestand bekæmpes fuldstændig, da vil sandsynligheden, for at en ny rottebestand vil være følsom overfor antikoagulanter, være stor.

Den ofte praktiserede fremgangsmetode for den kommunale kloakrottebekæmpelse er én eller to gange årligt at hænge gift ud i de kommunale kloakbrønde. Dette sker i samtlige brønde, i et afgrænset område, ligegyldigt om der er tegn eller ikke tegn på rotteaktivitet. De steder, hvor der ikke umiddelbart er rotteaktivitet, kan blokken ofte hænge urørt, indtil næste år. De steder hvor der er aktivitet, gøres der typisk ikke overvejelser, om den udhængte gift er tilstrækkelig til at bekæmpe de rotter, som er til stede. Denne praksis vil have en lille effekt på kloakrottebestanden, men vil også kunne være medvirkende til at fremme resistens hos kloakrotter, på linie med, hvad der observeres for bestande af overfladerotter (Pelz 2007).

I dette projekt blev det vist, at en øget og opfølgende indsats overfor kloakrotter kunne give en længerevarende bestandsreduktion. Dette blev opnået ved at anvende intervaludlægning. Intervaludlægning er tidskrævende, men nødvendig, hvis man ønsker at opnå synlige resultater (Colvin *et al.* 1998). Det sætter krav til et veltilrettelagt og intensivt arbejde, som skal baseres på et udbredt kendskab til det lokale kloaksystem. Det er netop kloakkens struktur, som bør danne baggrund for, hvilke brønde der skal bekæmpes i. Ved bl.a. at bekæmpe i et sammenhængende ledningsområde, vil man kunne forhindre indvandring af rotter fra ubekæmpede dele af ledningsnettet.

Så længe den kommunale kloakrottebekæmpelse ikke omfatter de private ledninger, så vil selv en målrettet bekæmpelsesindsats i den offentlige

ledningsdel ikke have længerevarende virkning, da der vil ske indvandringen fra disse ikke-bekæmpede private ledninger.

Skal der bekæmpes rotter i kloakken, er det vigtigt, at man øger sandsynligheden for, at flest rotter vil blive tiltrukket af giften. Dette kan bl.a. sikres ved, at de anvendte midler eksponeres. Det vil sige, at eventuel emballage fjernes før de hænges ned i kloakken, idet tiden før rotterne accepterer giften er signifikant kortere.

Endnu en faktor, som taler for, at kloakrottebekæmpelsen bør målrettes med intervaludlægning er, at der er forskel på rotteaktiviteten i de enkelte områder. Områder med høj aktivitet kan ikke bekæmpes med én giftblok. Målretning betyder også, at når der ikke længere er rotteaktivitet, skal giften fjernes, derved skånes miljøet for unødige mængder af gift. I stedet kan man i særligt udvalgte brønde placere ugiftige indikatorblokke, der fungerer som varslingsstationer

Undersøgelsen vedrørende rotternes accept af blokke, som havde hængt i kloakken i længere tid viste, at en efterladt blok ikke er et værn mod en invasion af nye rotter, da disse ældre blokke ikke virker særlig attraktive på rotterne. Derfor bør der ikke hænge gift i de områder, hvor der ikke længere er aktivitet.

5.2 De videnskabelige undersøgelser

De undersøgte kloakrottebestande i Lyngby blev, som tidligere nævnt, ikke bekæmpet i perioden august 2006 frem til december 2008 (to år og 4 måneder), uden at dette førte til en stigning i antallet af kloakrotter. Derfor kunne man stille det spørgsmål - ***hvorfor overhoved bekæmpe rotter i kloakkerne?***

Årsagen til kloakrottebekæmpelse er ofte af forebyggende karakter. Mange steder er kloakkerne i så dårlig en stand, at risikoen for at rotterne kan komme ud via defekte kloakker, stor.

Så længe kloakkerne ikke udbedres, er forekomst af ***leptospira*** i kloakrotter en anden grund til at foretage kloakrottebekæmpelse som forebyggende foranstaltning. Den gennemførte undersøgelse viste, at op mod 90 % af de undersøgte rotter på en kloaklokalitet kunne være inficeret med ***leptospira*** (Krøjgaard *et al.* 2009). Dette understøtter, at de advarsler, som udstikkes til folk, som arbejder med rotter i byområderne og spildevand, er berettigede og om muligt burde forstærkes

Som omtalt i 5.1, så bør en sådan bekæmpelse foregår målrettet for overhovedet at have effekt på kloakrottebestanden.

Hvis samfundets kloakker var i forsvarlig stand, ikke kun den offentlige del, men også på den private del af ledningen, ville der umiddelbart ikke være behov for at bekæmpe kloakrotter. Dermed ville der heller ikke være behov for at diskutere en mere forsvarlig brug af antikoagulanterne for at reducere miljøbelastning.

Fra rotter på overfladen ved vi, at der typisk er en øget reproduktion i de tidlige forårsmåneder (Twigg 1975, Meehan 1984), som giver startskuddet til den stigning i rotteantallet, som kan observeres senere på sommeren. Men i

kloakken forholder det sig anderledes. Her er der ikke et årstidsbestemt mønster i reproduktionen, og der er ikke noget der umiddelbart tyder på, at reproduktionen er ansvarlig for de observerede tilvækster i bestandsstørrelserne. De gjorte observationer betyder, at der ikke er tidspunkter, som er bedre eller dårligere, når der skal bekæmpes rotter i kloakken.

Hvilke andre mekanismer, som kan være medvirkende til, at en ikke-bekæmpet kloakrottebestand ikke stiger i antal, er uvist. Antallet af rotter vil generelt være styret af fødegrundlag, skjulesteder og vand (Twigg 1975, Meehan 1984, Corrigan 2001), og da vand og føde formentlig forekommer i relative konstante mængder, vil dette næppe være en begrænsende faktor for bestandsudviklingen. Derfor er det rimligt at antage, at netop muligheden for at finde steder til redebygning etc. er en begrænsende faktor for kloakrottebestandene.

Da formeringen eller yngelplejen formentlig er afhængig af de tørre og mindre ledningsafsnit, kan det ikke udelukkes, at ved at forhindre rotterne adgang til disse ledningsdele, at antallet af rotter kan holdes nede. Dette er netop blevet undersøgt i et projekt omhandlende brugen af kloakrottespærre og deres indflydelse på kloakrotternes biologi – projektet er udført af Københavns Energi A/S i samarbejde med Aarhus Universitet og Center for Miljø (Københavns Kommune). Projektets resultater kan ses på Københavns Energis hjemmeside (www.ke.dk).

Det blev vist i nærværende projekt, at rotterne forekom i hele det undersøgte område, dog med nogle områder med højere tætheder af rotter end andre områder. Fordelingen af rotterne i kloaksystemet vil bevirke, at indsatsen i en bekæmpelsessituation vil variere fra område til område, hvilket atter understøtter, at kloakrottebekæmpelse bør foretages målrettet og med opfølgende giftudlægninger afstemt efter den eksisterende lokale rotteaktivitet.

Det er tidligere nævnt, at kloakrottebekæmpelsen bør foretages i områder, som kan afgrænses fra det øvrige ledningsnet. Disse afgrænsninger skal være fysiske barrierer, som f.eks. rottespærre, pumpestationer eller lign. Ledninger med store dimensioner og med moderat til højt vandføring (tørvejsflow) virker ikke begrænsende for rotternes bevægelsesadfærd. Undersøgelsen viste netop, at hvis forholdene kræver det, så ville sådanne ledningsstrækninger sagtens kunne inddrages i rotternes bevægelsesområde og dermed være potentielle sprednings-korridorer til andre ledningsafsnit.

Det at kloakrotter, ligesom overfladerotter (Klemann & Pelz 2006, Gardner-Santana *et al.* 2009), lever i større eller mindre grupper af rotter, betyder, at der formentlig findes interne dominansforhold.

I bekæmpelsen af rotter kan interne dominansstrukturer de enkelte rotter imellem have en væsentlig indflydelse på, hvem og hvor mange rotter, som får adgang til f.eks. udlagt gift. Normalt vil de dominante rotter være de først til at indtage og dominere den attraktive føde (i dette tilfælde gift), og dermed holder de rotter, som forekommer nederst i hierarkiet eller naborivaliserende grupper, væk (Twigg 1975, Klemann & Pelz 2006). Eftersom det tager 4-6 dage for en rotte at dø efter indtagelse af en dødelig dosis gift, vil de lavest rangerende rotter først komme til "fadet", når de gamle dominante rotter er døde eller døde.

At følge op på en bekæmpelse og tilpasse den efter de lokale rotteforhold vil være medvirkende til, at der også vil være tilstrækkelig gift til at bekæmpe rotterne nederst i hierarkiet.

Afslutningsvis må det tilføjes, at den bedst tænkelige forebyggende kloakrottebekæmpelse vil være udbedring af kloakkerne og sikring af de private afløbsinstallationer. Dette ville være medvirkende til at reducere grundlaget for rotternes formering, da denne vil afhænge af omfanget af egnede redepladser. Sikres kloakkerne og de private afløbsinstallationer, vil rotterne langt hen ad vejen kunne begrænses i antal og holdes nede i kloakken.

Projektets resultater har bidraget med ny viden om kloakrotterne og deres bekæmpelse og på baggrund af resultaterne kan følgende konkluderes;

At den manglende bekæmpelse i forsøgsområdet med biologiske undersøgelser ikke er ensbetydende med, at antallet af kloakrottebestand vil øges, da det vil være de lokale forhold, som antallet af redepladser og fødegrundlaget, der vil være bestemmende for hvor mange rotter, der kan være på en given ledningsstrækning.

At forekomst af rotter i hele ledningssystemet ansporer til, at kloakrottebekæmpelse bør foretages i hele ledningsnettets udbredelse, men at den meget uensartede fordeling af rotteaktiviteten derimod må anspore til, at bekæmpelsen differentieres imellem områder med stor og lille rotteaktivitet.

Der var ingen årstidsbestemt udsving i kloakrotternes reproduktion, som kunne lægges til grund for, at bekæmpelsen skulle foretages på bestemte årstider for at få størst effekt.

I bekæmpelse af kloakrotter bør der af hensyn til resistensudvikling altid foretages en grundig bekæmpelse, som baseres på viden om kloakkens strukturer og rotternes biolog og adfærd.

Kloakrottebekæmpelse kan ikke klares ved enkeltstående giftudlægninger, uden hensyntagende til rotteaktiviteten.

Da rotter nødtigt æder af giftblokke, som har hængt i længere tid i kloakken, bør giftblokke altid fjernes når der ikke længere ædes af dem i et område.

Antallet af kloakrotter kan nedbringes til et minimum ved gentagne giftudlægninger. Effekten af bekæmpelsen afhænger af, at det bekæmpede område ikke står i åben forbindelse med andre ikke-bekæmpede områder.

6 Referencer

Al-Sanei K.S., Zaghoul T, Balbaa M (1986). Organisation of the rodent control project in Kuwait. ***Control of Mammal Pests*** (eds. Richards C.G.J., Ku T.Y.), London, Taylor and Francis, 143-150.

Bajomi D, Sasvári K, (1986). Results of eight years' examination of the habitats of residual urban Norway rat populations after eradication. I ***Proceedings Twelfth Vertebrate Pest Conference*** (ed. Salmon T.P.), University of California, Davis, California, 66-74.

Bajomi D (1980). Deratization of Budapest and five years of follow-up control measures. I ***Proceedings Ninth Vertebrate Pest Conference*** (ed. Clark J.P.), Fresno, California, 124-129.

Bajomi D (2002). Budapest rat-free for more than thirty years. ***International Pest Control***, **44**, 318-319.

Barnett SA, Bathard AH (1953). Population dynamics of sewer rats. ***Journal of Hygiene***, **51**, 483-491.

Channon D, Cook N, Hook H, Knowles L (2004). Preferred locations in sewers; a covert study of *Rattus norvegicus* behaviour. ***International Pest Control***, **46**, 194-196.

Channon D, Channon E, Roberts T, Haines R (2006). Hotspots: are some areas of sewer network prone to re-infestation by rats (*Rattus norvegicus*) year after year. ***Epidemiology & Infection*** **134**, 41-48.

Colvin BA, Jackson WB (1999). Urban rodent control programs for the 21st century. ***Ecologically-Based Rodent Management*** (eds. Singleton GR, Hinds LA, Leirs H, Zhang Z), Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, 243-257.

Colvin BA, Swift TB, Fothergill FE (1998). Control of Norway rats in sewer and utility systems using pulsed baiting methods. ***Proceedings 18th Vertebrate Pest Conference*** (eds. Baker RO, Crabb CA), University of California, Davis, 247-253.

Cornuet J-M, Piry S, Luikart G, Estoup A, Solignac M (1999). New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. ***Genetics***, **153**, 1989-2000.

Corrigan RM (2001). Rodent control: A practical guide for pest management professionals. ***Pest Control Technology***.

Crawford NG (2009). SMOGD: Software for measurement of genetic diversity. ***Molecular Ecology Resources***, **10**, 556-557.

Faine S et al. (1999). *Leptospira and Leptospirosis*, 2nd ed.

Melbourne, Australia: *MediSci*, 73 pp.

Gardner-Santana LC, Norris DE, Fornadel CM, Hinson ER, Klein SL, Glass GE (2009). Commensal ecology, urban landscapes, and their influence on the genetic characteristics of city-dwelling Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Molecular Ecology*, **18**, 2766–2778.

Gill JE, Kerins GM, Langton SD, MacNicoll AD (1993). The development of a blood clotting response test for discrimination between difenacoum-resistant and susceptible Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Comparative Biochemistry & Physiology* **104C**, 29–36.

Gill JE, Kerins GM, Langton SD, MacNicoll AD. (1994) Bloodclotting response test for bromadiolone resistance in Norway rats. *Journal of Wildlife Management*, **58**, 454–461.

Gratz NG (1994). Rodents as carriers of disease. In: *Rodent pests and their control*. Eds. Buckle AP, Smith RH, CAB International, Wallingford, UK. Pp 85-108.

Gravekamp C et al. (1993). Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers. *Journal of General Microbiology*, **139**, 1691–1700.

Greaves JH, Ayres PB (1967). Heritable resistance to warfarin in the rat. *Nature*, **215**, 877-878.

Greaves JH (1985). The present status of resistance to anticoagulants. *Acta Zoologica Fennica*, **173**, 159–162.

Guo SW, Thomson EA (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*, **48**, 361-372.

Heiberg A-C, Leirs H, Siegismund HR (2006). Reproductive success of bromadiolone-resistant rats in absence of anticoagulant pressure. *Pest Management Science*, **62**, 862-871.

Heiberg A-C (2009). Anticoagulant resistance: a relevant issue in sewer rat (*Rattus norvegicus*) control? *Pest Management Science*, **65**, 444-449.

Kerins GM, Dennis N, Atterby H, Gill JE, MacNicoll AD. (2001). Distribution of resistance to anticoagulant rodenticides in the Brown rat (*Rattus norvegicus* Berk.) in England 1995–98, i *Advances in Vertebrate Pest Management Vol. 2*, (ed. by Pelz HJ, Cowan DP and Feare CJ), Fürth: Filander-Verl (Zoological Library), pp. 149–159.

Klemann N, Pelz H-J (2005). Studies on food selection behaviour of the Norway rat (*Rattus norvegicus*) on farms. *Journal of Pesticide Science*, **78**, 45-52.

Klemann N, Pelz H-J (2006). The feeding pattern of the Norway rat (*Rattus norvegicus*) in two differently structured habitats on a farm. *Applied Animal Behaviour Science*, **97**, 293-302.

- Krøjgaard LHK, Villumsen S, Markussen MDK, Jensen JS, Leirs H, Heiberg A-C (2009). High prevalence of *Leptospira spp.* in sewer rats (*Rattus norvegicus*). *Epidemiology and Infections*, **137**, 1586-1592.
- Leslie PH, Venables UM, Venables LSV (1952). The fertility and population structure of the brown rat (*Rattus norvegicus*) in cornricks and some other habitats. *Proceedings of Zoology Society of London*, **122**, 187.
- Levett PN et al. (1998). Surveillance of leptospiral carriage by feral rats in Barbados. *West Indian Medical Journal*, **47**, 15-17.
- Lindenbaum I, Eylan E (1982). Leptospirosis in *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus* in Israel. *Israel Journal of Medical Sciences*, **18**, 271-275.
- Lodal J. (2001). Distribution and levels of anticoagulant resistance in rats (*Rattus norvegicus*) in Denmark, i *Advances in Vertebrate Pest Management Vol. 2* (ed. by Pelz H-J, Cowan DP and Feare CJ. Fürth), Filander-Verl (Zoological Library), pp. 139-148.
- Lund M (1988). Detection and monitoring of resistance to anticoagulant rodenticides in populations of brown rats (*Rattus norvegicus*) in Denmark. I *Seventeenth Steenbock Symposium on Current Advances in Vitamin K Research* (ed. Suttie JW). Elsevier, New York, pp. 399-405.
- MacNicoll AD (1985). A comparison of warfarin resistance and liver microsomal vitamin K epoxide reductase activity in rats. *Biochimica et Biophysica Acta* **840**, 13-20.
- MacNicoll AD (1988). The role of altered vitamin K metabolism in anticoagulant resistance in rodents, i *Current Advances in Vitamin K Research* (ed. Suttie JW). Elsevier Science, New York, pp. 407-417.
- Markussen MD, Heiberg A-C, Alsbo C, Nielsen PS, Kauppinen S, Kristensen M (2007). Involvement of hepatic xenobiotic related genes in bromadiolone resistance in wild Norway rats, *Rattus norvegicus* (Berk.). *Pesticide Biochemistry & Physiology*, **88**, 284-295.
- Markussen MD, Heiberg A-C, Fredholm M, Kristensen M (2008). Differential expression of cytochrome P450 genes between bromadiolone-resistant and anticoagulant-susceptible Norway rats: a possible role for pharmacokinetics in bromadiolone resistance. *Pest Management Science*, **64**, 239-248.
- Martin AD, Steed LC, Redfern R, Gill JE, Huson LW. (1979) Warfarin-resistance genotype determination in the Norway rat, *Rattus norvegicus*. *Laboratory Animal*, **13**, 209-214.
- Meehan AP (1984). Rats and Mice – their biology and control. Rentokil Limited.
- Meyer A (2004). Rats in sewers – out of sight – out of mind? *Professional Pest Controller*, **37**, 4-7.

- Myllymäki A (1969). An early approach to a rat-free town in Finland. *Schriftenreihe des Vereins für Wasser-Boden und Lufthygiene*, Berlin-Dahlem, **32**, 161-166.
- Pelz H-J. (2001). Extensive distribution and high frequency of resistance to anticoagulant rodenticides in rat populations from Northwestern Germany, in *Advances in Vertebrate Pest Management Vol. 2*, (ed. by Pelz H-J, Cowan DP and Feare CJ. Fürth), Filander-Verl (Zoological Library), pp. 161-170.
- Pelz H-J (2007). Spread of resistance to anticoagulant rodenticides in Germany. *International Journal of Pest Management*, **53**, 299-302.
- Pelz H-J, Rost S, Hünnerberg M, Fregin A, Heiberg A-C, Baert K, et al, (2005). The genetic basis of resistance to anticoagulants in rodents. *Genetics*, **170**, 1839-1847.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet J-M, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A (2004). GeneClass2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *Journal of Heredity*, **95**, 536-539.
- Rice WR (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, **43**, 223-225.
- Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hörtnagel K, Pelz H-J, et al. (2004). Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature*, **427**, 537-541.
- Simberloff D (2003). How much information on population biology is needed to manage introduced species. *Conservation Biology*, **17**, 83-92.
- Thiermann AB (1977). Incidence of leptospirosis in the Detroit rat population. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **26**, 970-974.
- Thijssen HHW (1995). Warfarin-based rodenticides: mode of action and mechanism of resistance. *Pesticide Science*, **43**, 73-78.
- Twigg GL (1973). Rat-borne leptospirosis in wildlife and on farms. *Mammal Review*, **3**, 37-42.
- Wallin R, Hutson SM, Cain D, Sweatt A, Sane DC (2001). A molecular mechanism for genetic warfarin resistance in the rat. *Faseb Journal*, **15**, 2542-2544.
- Wajih N, Sane DC, Hutson SM, Wallin R (2004). The inhibitory effect of calumenin on the vitamin K-dependent γ -carboxylation system. *Journal of Biological Chemistry*, **279**, 25276-25283.
- Yeh FC, Yang R-C, Boyle T, Ye Z-H, Mao JX (1997). POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.

Resumé

Rapporten giver et indblik i kloakrottens biologi og adfærd. Denne nye viden vil kunne give grundlag for en vurdering og eventuel målretning af kloakrottebekæmpelsen. Nogle af rapportens vigtigste konklusioner er; at kloakrottebestanden ikke nødvendigvis vokser ved en manglende bekæmpelse, idet systemets udformning bestemmer antallet af rotter. Kloakrotter kommer ikke langt omkring i kloakken, hvilket stiller krav til, at bekæmpelsen tilpasses den lokale kloakrotteaktivitet. At kloakrotten kan leve indenfor et lille område kan være en udfordring for en bekæmpelse, da der i de ældre ledningssystemer findes mange meter ledning uden muligheder for at bekæmpe med gift eller fælder.



Miljøministeriet
Miljøstyrelsen

Strandgade 29
DK - 1401 København K
Tlf.: (+45) 72 54 40 00

www.mst.dk