

## **Måleprogram for antibiotikaresistens og udvalgte antibiotika i spildevand fra Hvidovre Hospital og fra Renseanlæg Damhusåen**



Projektet er delvist finansieret af Den Europæiske Fond for  
Regionaludvikling Interreg IIIA Øresundsregionen

## Måleprogram for antibiotikaresistens og udvalgte antibiotika i spildevand fra Hvidovre Hospital og fra Renseanlæg Damhusåen

Agern Allé 5  
 2970 Hørsholm

Tlf: 4516 9200  
 Fax: 4516 9292  
 bop@dhigroup.com  
 www.dhigroup.com

April 2007

|                         |                        |
|-------------------------|------------------------|
| Klient                  | Klientens repræsentant |
| Lynettefællesskabet I/S | Kim Rindel             |

|   |             |
|---|-------------|
| Projekt   | Projekt nr. |
| Måleprogram for antibiotikaresistens og udvalgte antibiotika i spildevand fra Hvidovre Hospital og fra Renseanlæg Damhusåen | 53918       |

|   |               |
|---|---------------|
| Forfattere  | Dato          |
|   | April 2007    |
| Bodil Mose Pedersen, Jette W. Lentz Fredskilde, Ulf Nielsen | Godkendt af   |
|   | Sten Lindberg |

|          |                         |        |              |               |
|----------|-------------------------|--------|--------------|---------------|
|          |                         |        |              |               |
|          | Revideret (side 6 og 7) |        |              | 07-09-28      |
|          | Rapport                 | BOP    | ULN/ELS      | SL 07-04-19   |
| Revision | Beskrivelse             | Udført | Kontrolleret | Godkendt Dato |

|   |   |
|---|---|
| Nøgleord  | Klassifikation  |
| Antibiotics; Antibiotic resistance, Copenhagen Catchment Area, <i>E. coli</i> ; Enterococcus; Hospitals; PEC/PNEC; Wastewater | <input type="checkbox"/> Åben<br><input type="checkbox"/> Intern<br><input checked="" type="checkbox"/> Tilhører klienten |

|  |              |
|--|--------------|
| Distribution                               | Antal kopier |
| Lynettefællesskabet I/S:                   | 3            |
| DHI: Kim Rindel<br>GHK-ULN-CLJ-PLJ-JWL-BOP | 6            |



## **INDHOLDSFORTEGNELSE**

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1     | BAGGRUND .....  | 2  |
| 2     | FORMÅL.....   | 3  |
| 3     | METODE .....  | 4  |
| 4     | ANTIBIOTIKAFORBRUG .....  | 5  |
| 4.1   | Afdelinger og forbrugsmønster på Hvidovre Hospital .....              | 5  |
| 4.1.1 | Antibiotikaforbrug på Hvidovre Hospital.....                          | 6  |
| 4.1.2 | Forbrug af udvalgte antibiotika på Center 3 og 4.....                 | 8  |
| 4.1.3 | Estimeret afledning af udvalgte antibiotika fra Center 3 og 4 .....   | 9  |
| 4.2   | Antibiotikaforbrug i Renseanlæg Damhusåens opland.....                | 10 |
| 5     | MÅLEPROGRAM .....   | 12 |
| 5.1   | Prøvetagningsprogram .....  | 12 |
| 5.2   | Analyseprogram – antibiotika .....                                    | 13 |
| 5.3   | Analyseprogram – resistente bakterier .....                           | 13 |
| 5.4   | Opgørelse af vandmængder .....  | 14 |
| 5.4.1 | Hvidovre Hospital.....  | 14 |
| 5.4.2 | Renseanlæg Damhusåen .....  | 15 |
| 6     | RESULTATER .....  | 16 |
| 6.1   | Spildevandskarakterisering.....                                       | 16 |
| 6.2   | Resistensbestemmelser .....   | 17 |
| 6.2.1 | Forekomst af E. coli og enterokokker i spildevand .....               | 17 |
| 6.2.2 | Resistensmønstre fra Hvidovre Hospital til Renseanlæg Damhusåen ..... | 19 |
| 6.2.3 | Procentvise andele af resistente E. coli og enterokokker .....        | 22 |
| 6.2.4 | Resistensandele i forhold til forbrug .....                           | 23 |
| 6.3   | Antibiotikaanalyser.....  | 25 |
| 7     | KONKLUSIONER .....  | 30 |
| 8     | ANBEFALINGER .....  | 32 |
| 9     | REFERENCER .....  | 34 |

## **BILAG**

|   |  |
|---|--|
| A | Antibiotikaforbrug og afledte mængder fra Hvidovre Hospital Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4) |
| B | Data for spildevandpumper på Hvidovre Hospital   |
| C | Data for prøvetagning på Hvidovre Hospital og Renseanlæg Damhusåen                           |
| D | Resistensbestemmelse – protokol og analyseresultater   |
| E | Bearbejdede resistensdata og figurer   |
| F | Kemiske analyser af antibiotika  |



## 1 BAGGRUND

Rapporteringen af dette projekt er koordineret med projektet om ”Kortlægning og vurdering af spildevand med antibiotika og resistente bakterier fra hospitaler – eksemplificeret ved Hvidovre Hospital” /1/. Oplysninger om Hvidovre Hospitals (HH’s) afløbssystemer, antibiotikaforbrug, relevante patogene bakterier samt analyseresultater er af forståelsesmæssige årsager i et vist omfang gentaget i de to rapporter. Begge projekter har været en del af Miljøgruppens Handlingsplaner for 2006.

Den grundlæggende viden om sammensætningen af spildevandsstrømme fra hospitaler er generelt meget begrænset. De hidtidige måleprogrammer og kontrol af tilslutningstiladelser har næsten udelukkende omfattet almindelige spildevandsparametre og tungmetaller. Miljøstyrelsen gennemførte i 2006 et analyseprogram af lægemiddelstoffer i slam samt i ind- og udløb fra renseanlæg. Målingerne indgår som en udvidelse af NOVANA programmet. Data var ikke tilgængelige ved udarbejdelse af denne rapport (februar 2007). Nærværende projekt vil kunne bidrage til mere viden om sammenhængen mellem hospitalernes belastning af antibiotika og resistente bakterier på renseanlæg.

Måleprogrammet skal ses som opfølgning på Lynettefællesskabets tidligere projekter om måling af resistens, beregning af antibiotikakoncentrationer i hospitalsspildevand og indledende risikovurderinger /2, 3, 4/. Der har ikke tidligere været gennemført sammenhængende målinger af antibiotika og resistente bakterier i spildevand. Disse data vurderes i dette projekt i forhold til antibiotikakoncentrationer estimeret ud fra forbrug. Måleprogrammet skal bidrage til dokumentation af sammenhængen mellem de beregnede afledte mængder og koncentrationer af antibiotika og tilstedeværelsen af resistente bakterier i spildevandsafledninger fra hospitaler. HH er det eneste hospital i Renseanlæg Damhusåens (RD’s) kloakopland. Det giver mulighed for at opgøre HH’s andel af tilledningen af antibiotika og resistente bakterier i spildevand til RD.

De hidtidige undersøgelser af resistente bakterier i hospitalsspildevand blev gennemført på et meget overordnet plan. Der blev analyseret for resistente *E. coli* og enterokokker i samleprøver fra fire afledningspunkter på HH, og de estimerede antibiotikakoncentrationer var baseret på årsforbrug for hele HH. I dette måleprogram er der fokuseret på karakteristika for to af de fire spildevandsstrømme og forbruget af antibiotika specifikt i tilknytning hertil.

Resultater fra måleprogrammet skal anvendes ved opstilling af kriterier for udpegning af de mest kritiske afledninger i forhold til antibiotika og resistente bakterier. Samtidig forventes de opnåede data at kunne indgå i en vurdering af behovet for en eventuel regulering af hospitalers spildevandsafledning for andre parametre (udvalgte antibiotika og resistente bakterier) end de traditionelt anvendte (COD, BOD, SS og tungmetaller).



## 2 **FORMÅL**

Det er projektets formål at karakterisere afledningerne fra to af HH's i alt fire sengebygninger i forhold til antibiotikaresistente bakterier og antibiotika. Endvidere er det formålet at opnå viden om, hvorvidt der er en sammenhæng mellem forekomst af antibiotika og resistente bakterier i spildevand fra HH i forhold til forekomsten i ind- og udløb fra Renseanlæg Damhusåen. Herunder er det formålet at:

- bestemme andelen af resistente bakterier (*E. coli* og enterokokker) med resistens over for udvalgte antibiotika
- analysere for udvalgte antibiotika i spildevand fra HH og sammenligne med forbrugsdata og tilstedeværelsen af resistente bakterier
- beskrive afløbssystemets fysiske udformning på HH og opgøre mængden af afledt spildevand
- sammenholde belastningen med resistente bakterier og antibiotika fra HH med belastninger i indløbet til RD
- opnå mere detaljeret viden om sammenhængen mellem beregnede og målte antibiotikakoncentrationer i spildevand fra HH

De ovennævnte specifikke formål skal ses i relation til det overordnede mål, som er at karakterisere afledninger med henblik på at identificere de mest kritiske afledninger fra hospitaler.



### 3 **METODE**

Hvidovre Hospital er det eneste hospital i Renseanlæg Damhusåens kloakopland, hvilket giver en unik mulighed for at opgøre/måle hospitalets andel af belastningen med lægemiddelstoffer i indløbet til renseanlægget.

HH er opdelt i fire sengebygninger (herefter benævnt centre). Der er udtaget spildevandsprøver fra to af de fire sengecentre henholdsvis fra Center 3 og 4. Ligeledes er der udtaget prøver fra ind- og udløb på RD.

I forbindelse med indsamling af oplysninger om den fysiske udformning af afløbssystemet, pumpesystemernes kapacitet og drift mv. samt oplysninger om kritiske infektioner og antibiotikaresistensproblematikker blev der etableret et samarbejde med HH's driftsafdeling samt infektionshygiejniske afdeling. På baggrund af denne viden samt en kortlægning af forbruget af antibiotika i 2006 /1/ blev der udvalgt, hvilke antibiotika og resistente bakterier det var relevant at analysere for.

Databearbejdningen i forhold til antibiotikakoncentrationer er baseret på Lægemiddelstyrelsens oplysninger om årligt forbrug. Forbruget er opdelt og vurderet specifikt for de afdelinger/centre, der er udtaget spildevandsprøver fra (se kapitel 4). Dog uden at tage hensyn til variationer i forbrug over året.

Prøverne på HH blev udtaget som tidsproportionale døgnprøver i uge 44 og 45 i 2006. Prøvetagningen fra RD omfattede udtagning af flowproportionale døgnprøver i samme periode. Måleprogrammet er nærmere beskrevet i kapitel 5.

For at kunne benytte den tidligere opnåede viden, jf. /1, 2, 3/, er der fokuseret på bakterietyperne *E. coli* og enterokokker. Når det gælder antibiotika, blev analyserne centreret omkring antibiotika, der indgår i Miljøstyrelsens måleprogram for medicinrester. Data var ikke tilgængelige ved udarbejdelse af denne rapport (februar 2007).

Antallet af antibiotika, for hvilke der findes kommercielt tilgængelige analyser, som kan benyttes ved analyse af spildevand, er endnu meget begrænset. Hospitalsspildevand er et vanskeligt medie at analysere, dels fordi det indeholder mange forskellige kemiske stoffer, der kan interferere, og dels fordi koncentrationen af suspenderet stof (SS) er høj (<15 mg/l). Analyser af antibiotika i spildevand er derfor en dyr og besværlig opgave. Antallet og udvalget af antibiotika, det har været muligt at måle for, har således været begrænset. Det har betydet, at visse antibiotika, der ifølge beregninger i /1/ er vurderet som kritiske, ikke indgår i måleprogrammet, fx cefuroxim.



## **4 ANTIBIOTIKAFORBRUG**

Oplysninger om antibiotikaforbruget i primærsektoren stammer fra Lægemiddelstyrelsens hjemmeside. Forbruget fordelt på afdelinger på HH er indhentet særskilt af Lægemiddelstyrelsen.

Forbruget af lægemidler opgøres i definerede døgndoser/1.000 indbyggere/døgn. Definerede døgndoser (DDD) er en enhed, som fastsættes af WHO, og angiver en antaget gennemsnitsdosis pr. døgn for en voksen person, der får lægemidlet på dets hovedindikation /8/. Ved hjælp af databasen "Antibiotics" er forbruget omregnet fra DDD til mængder. Den mængdemæssige afledning i spildevandet er efterfølgende estimeret. Estimeringen er foretaget ud fra principperne i /3/, hvor der er taget højde for, at der sker en vis nedbrydning af stoffet i kroppen, som varierer fra antibiotika til antibiotika. Dette betyder, at det ikke nødvendigvis er de antibiotika, der anvendes i størst mængde, som også afledes i størst mængde.

### **4.1 Afdelinger og forbrugsmønster på Hvidovre Hospital**

Hvidovre Hospital ligger på Kettegård Allé i Hvidovre Kommune og er et af landets største hospitaler med 722 sengepladser og ca. 3.500 ansatte. HH's kerneopgaver er betjening af ca. 133.000 borgere fra Københavns Kommune og ca. 50.000 borgere fra Hvidovre Kommune. Derudover har HH landsdelsfunktioner indenfor følgende seks specialeområder: Medicinsk og kirurgisk gastroenterologi, infektionsmedicin, pædiatri, neurohabilitering og diagnostisk radiologi (MR-scanning).

Ifølge nøgletal fra HH foretages der årligt ca. 100.000 behandlinger, 42.000 udskrivelser, 260.000 ambulante besøg og 16.000 operationer.

Hospitalets centralkompleks er i tre plan med et samlet etageareal på ca. 300.000 m<sup>2</sup> og indeholder fire centre. Stueetagen indeholder ambulatorie- og behandlingsafdelinger. Derudover findes analyse- og forskningslaboratorier m.m. Hospitalets fire sengebygninger (centre) med i alt 722 sengepladser er fordelt på 35 afdelinger.

Antibiotikaforbruget og forbrugsmønsteret på de enkelte afdelinger er kortlagt i Lynettefællesskabets rapport fra 2007 /1/. Kortlægningen viser, som forventet, at forbruget varierer fra afdeling til afdeling afhængigt af karakteren af patientplejeaktiviteter og behandlingsudbud. De fleste antibiotikatyper anvendes på alle fire centre. På baggrund af afdelingssammensætningen samt forbruget af kritiske antibiotika, jf. /1/, er der i dette projekt valgt at udtage og analysere spildevandsprøver fra henholdsvis Center 3 og 4.

Fordelingen af afdelinger for alle fire sengebygninger på HH vises i tabel 4.1.



Tabel 4.1 Afdelingsoversigt for de fire centre på Hvidovre Hospital.

| Center 1  | Center 2  | Center 3  | Center 4   |
|---|---|---|--|
| Alkoholenhed (rehab.)<br>Apopleksi<br>Hjerneskade<br>Infektionsmedicin*<br>Kardiologi | Apopleksi amb.<br>Barsel<br>Ergoterapi<br>Fysioterapi<br>Geriatri<br>Hjerte-lungemedicin<br>Kardiologisk amb.<br>Klin.fys./nuklearmedicin<br>Lungemedicinsk afd.<br>Medicinske afsnit<br>Neurohabilitering<br>Reumatologi | Ambulant fødeklinik<br>Endoskopi<br>Geriatri<br>Kir. Gastroenterologisk afd.<br>Kir. Gastroenterologisk amb.<br>Kir. Gastroenterologisk operation<br>Klinisk Biokemisk afd.<br>Med. Gastroenhed<br>MR-afdeling<br>Kir. Ortopædkirurgisk afd.<br>Kir. Ortopædkirurgisk operation<br>Røntgen afd. | Akut modt.<br>Børneamb/afd./modt.<br>Endokrinologi<br>Fertilitetsklinik<br>Fodterapi<br>Fødegang/klinik<br>Gynækologisk/obstetrisk afd.<br>Gynækologisk/obstetrisk amb.<br>Gynækologisk/obstetrisk operation<br>Hudklinik<br>Inkontinensklinik<br>Intensiv terapi<br>Klinisk Mikrobiologisk afd.<br>Kir. Gastroenterologisk afd.<br>Neonatal afd.<br>Obstetrik/Barsel<br>Opvågning/(anæstesi)<br>Osteoporose<br>Skadestue<br>Smerteklinik<br>Svangre afd./amb.<br>Øjenklinik<br>Øre/næse/hals klinik |

\* Infektionsmedicinsk afdeling ligger midlertidigt i Center 2, men flyttes tilbage til Center 1 i februar 2007.

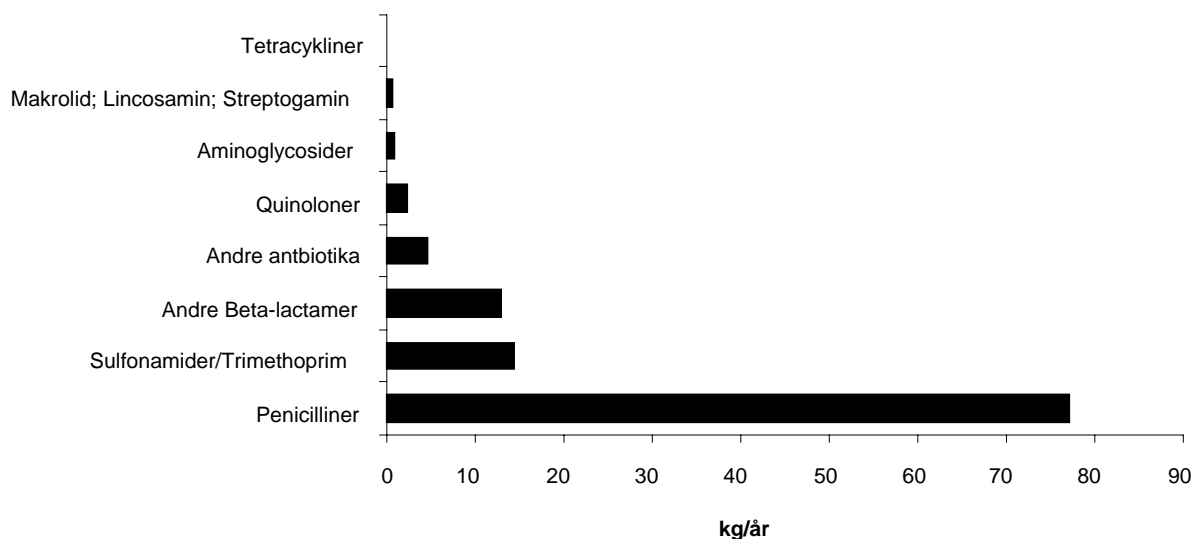
#### 4.1.1 Antibiotikaforbrug på Hvidovre Hospital

Antibiotikaforbruget på Hvidovre Hospital afhænger af, hvilke mikroorganismer der forårsager sygdommen, som skal behandles. Ifølge Klinisk Mikrobiologisk Afdelings (KMA) årsopgørelse fra 2005 /9/ ses en samlet forbrugsstigning i antibiotika på HH i forhold til 2004. Årsagen til stigningen er ændrede anbefalinger fra 2004 til 2005 om højere dosering samt flere behandlede patienter.

Da stort set alle typer af mikroorganismer forekommer på et hospital, anvendes der tilsvarende mange forskellige antibiotika. Valg af antibiotikapræparat foretages i reglen ud fra hospitalets antibiotikapolitik /7/. På HH anvendes der ca. 35 forskellige typer antibiotika, som er fordelt på otte antibiotikahovedgrupper.

Oplysninger om antibiotikaforbruget fordelt på afdelinger er, som tidligere nævnt, indhentet fra Lægemiddelstyrelsen. Forbruget er omregnet fra DDD til mængde og koncentrationer i spildevandet.

Det totale mængdemæssige forbrug på HH for 2005 fordelt på otte hovedgrupper er vist i figur 4.1.



Figur 4.1 Det totale antibiotikaforbrug på Hvidovre Hospital for 2005 fordelt på hovedgrupper.

Som det fremgår af figur 4.1, udgør penicilliner det største forbrug med ca. 78 kg/år. Det næststørste forbrug stammer fra sulfonamider. Herefter fra andre beta-laktam antibiotika, herunder cefalosporiner og andre antibiotika, som vancomycin og metronidazole. For quinoloner er forbruget beregnet til ca. 2,3 kg/år.

Forbruget af aminoglycosider udgør 0,8 kg/år, og her er der primært tale om forbrug af stoffet gentamicin. Forbruget af makrolider ligger på ca. 0,5 g/år og Tetracykliner ca. 0,2 kg/år. Sidstnævnte må i forhold til forbruget af de øvrige antibiotikagrupper betragtes som lavt.

I dette projekt er der udvalgt specifikke antibiotika fra fem forskellige hovedgrupper, der er fokuseret på i forhold til resistensforekomst samt forbrug og koncentrationer i spildevandet. Valget bygger dels på kortlægningen af kritiske antibiotika og patogene bakterier /1/ og dels på, hvilke antibiotika det var muligt at analysere for ved hjælp af kommercielt tilgængelige metoder. Valget af disse antibiotika fremgår af tabel 4.2.

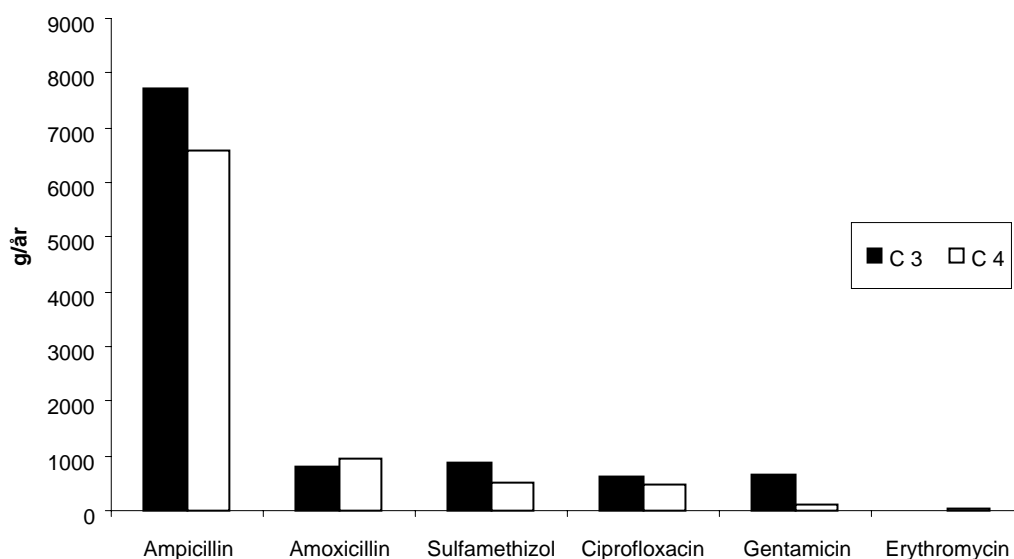
Tabel 4.2 Seks specifikke antibiotika fra fem hovedgrupper, der er foretaget kvantitative målinger for.

| ATC-kode | Antibiotika hovedgruppe | Antibiotikum  |
|----------|-------------------------|---------------|
| J01C     | Penicillin              | Amoxicillin   |
| J01C     | Penicillin              | Ampicillin    |
| J01M     | Quinolon                | Ciprofloxacin |
| J01E     | Sulfonamid              | Sulfamethizol |
| J01F     | Makrolid                | Erythromycin  |
| J01G     | Aminoglycosid           | Gentamicin *) |

\*) Der ikke gennemført analyser af gentamicin i spildevand fra Hvidovre Hospital, men alene resistensbestemmelser over for *E. coli*.

#### 4.1.2 Forbrug af udvalgte antibiotika på Center 3 og 4

Forbruget af de seks udvalgte antibiotika på Center 3 og 4 på HH fremgår af figur 4.2.



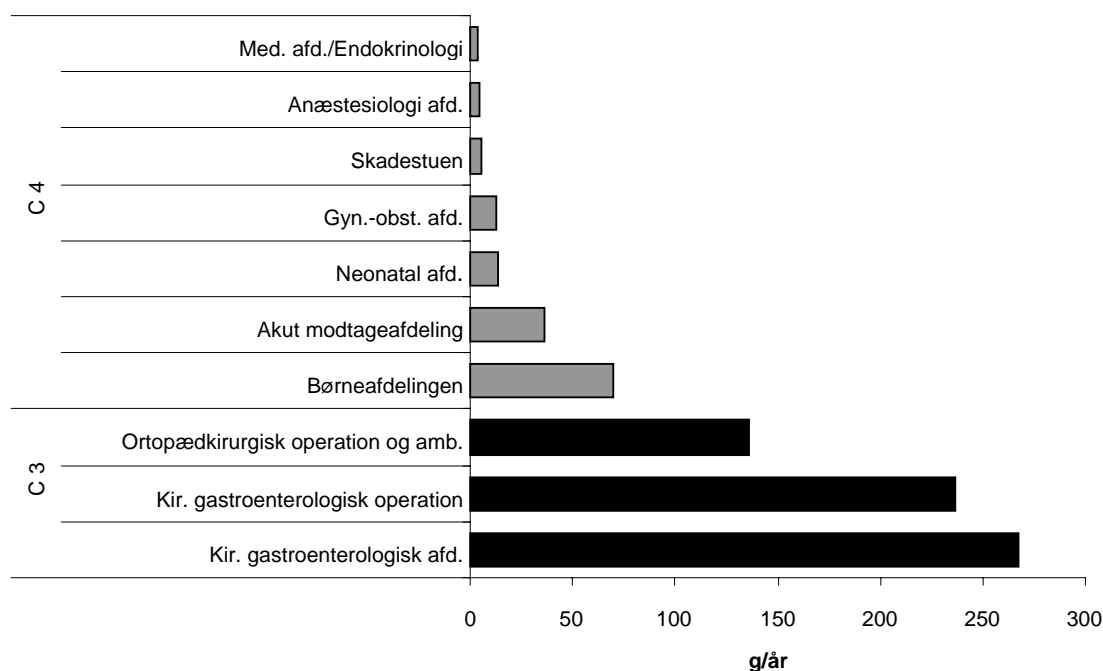
Figur 4.2 Antibiotikaforbrug på Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4) i 2005 opgjort i gram pr. år.

Det fremgår af figur 4.2, at forbruget af alle de udvalgte antibiotika – undtagen amoxicillin – er størst på Center 3.

Forbruget af ampicilliner er estimeret til ca. 7.200 g/år på Center 3 og 4.000 g/år på Center 4. For Center 3 ligger amoxicilliner, sulfamethizol, ciprofloxacin og gentamicin fra 600-870 g/år. For Center 4 ligger amoxicilliner på ca. 950 g/år og sulfamethizol og ciprofloxacin i intervallet fra 430 til 530 g/år, hvorimod gentamicin ligger lavere med et forbrug på 115 g/år. Forbruget af erythromycin ligger i forhold til de øvrige antibiotika lavt med ca. 50 g/år for de to centre tilsammen. Den samlede afledte mængde i RD's opland (inkl. primærsektoren) er ca. 7.000 g/år.

For samtlige antibiotika på nær gentamicin er forbruget i primærsektoren hørende til RD's kloakopland større end forbruget på HH. Dette skyldes, at gentamicin er et af de få antibiotika, som udelukkende anvendes på hospitaler, og som mange ellers resistente patogene mikroorganismer er fuldt følsomme over for. Ifølge anbefalinger fra Statens Serum Institut bør gentamicin derfor kun benyttes i særligt kritiske situationer, hvor andre antibiotika ikke har effekt. Ifølge /1/ skyldes det forholdsvis høje forbrug af gentamicin på Center 3, at gentamicin anvendes forebyggende i forbindelse med kirurgiske indgreb.

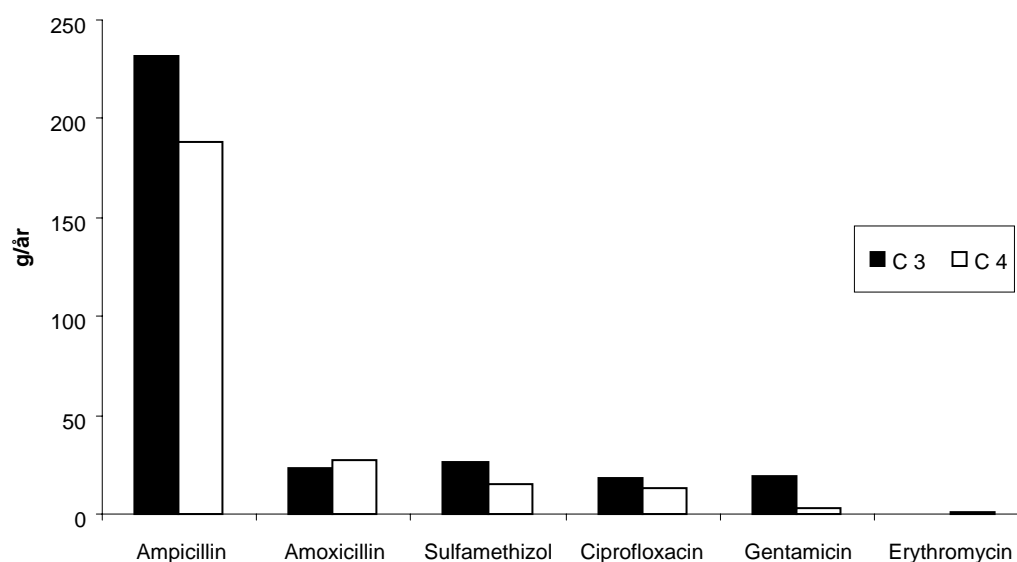
Figur 4.3 viser det afdelingsvise forbrug af gentamicin på Center 3 og 4 på HH i 2005.



Figur 4.3 Samlet årligt forbrug af gentamicin for afdelinger knyttet til Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4).

#### 4.1.3 Estimeret afledning af udvalgte antibiotika fra Center 3 og 4

Ved hjælp af databasen ”Antibiotics” er afledning af de seks udvalgte antibiotika til spildevandet estimeret. Estimeringen er, som førnævnt, foretaget ud fra principperne i /3/, hvor der er taget højde for en individuel ekskretionsrate for de enkelte antibiotika. Dette betyder, at det ikke nødvendigvis er de antibiotika, der anvendes i de største mængder, også afledes i de største mængder.



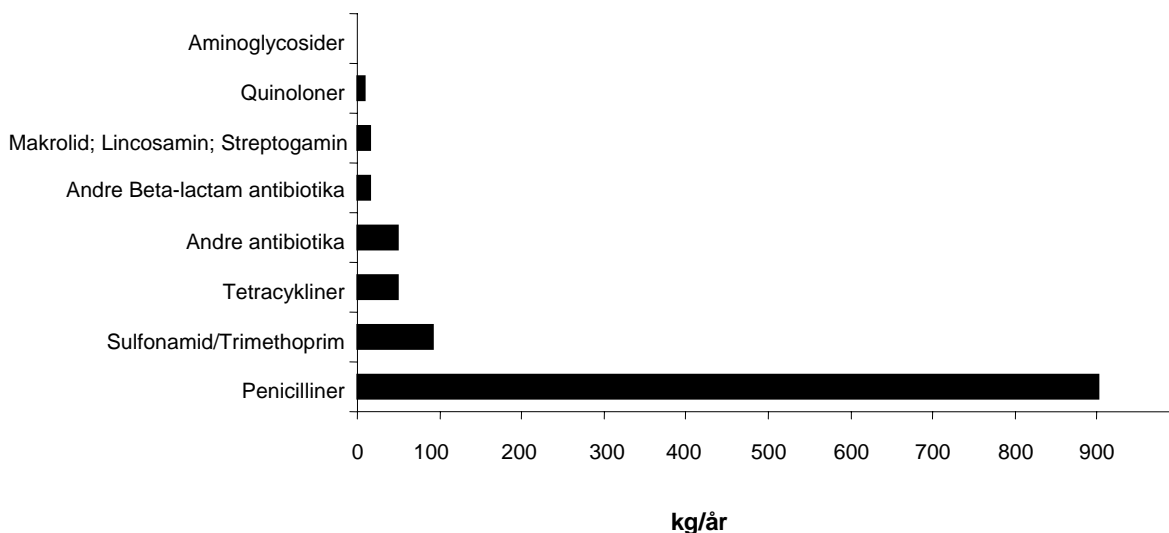
Figur 4.4 Estimeret afledning af de udvalgte antibiotika til spildevandet fra henholdsvis Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4). Sammenlignet med figur 4.2 er der her taget hensyn til ekskretionsraten.

Det fremgår af figur 4.4, at den estimerede afledning for de udvalgte antibiotika følger forbrugsmønsteret. Afledningen er således størst for ampicillin, efterfulgt af amoxicillin, sulfamethizol og ciprofloxacin. Afledningen af gentamicin er estimeret til at være størst på Center 3 (ca. 786 g/år). Afledningen af erythromycin er i forhold til de øvrige antibiotika beskednen.

Data over antibiotikaforbruget på HH's Center 3 og 4 samt den estimerede afledte mængde til spildevandet fra de to centre er vist i Bilag A.

## 4.2 Antibiotikaforbrug i Renseanlæg Damhusåens opland

Lægemiddelstyrelsen opgjorde i 2005 antibiotikaforbruget separat for hospitaler og den primære sektor. Forbruget i den primære sektor i RD's opland er fordelt på Københavns Amt samt Københavns Kommune og Frederiksberg Kommune. Forbruget af antibiotika i RD's opland er beregnet ud fra antallet af indbyggere, der bor i kommunerne Hvidovre, Rødovre, Herlev, Gladsaxe, Frederiksberg og København og som afleder spildevand til RD. Antibiotikaforbrug kendes for Københavns Amt samt Københavns Kommune og Frederiksberg Kommune. Antibiotikamængden i indløbet til RD er beregnet ved hjælp af databasen "Antibiotics". Forbruget i RD's opland for 2005 fordelt på otte hovedgrupper er vist i figur 4.5, og de estimerede koncentrationer for de seks udvalgte antibiotika i indløbet til RD er vist i tabel 4.3.



Figur 4.5 Forbruget af antibiotikahovedgrupper i primærsektoren i RD's opland.

I lighed med forbrugsmønsteret på HH er forbruget af penicilliner størst. Det samme gælder for hovedgruppen sulfonamid/trimethoprim. Forbruget af Tetracykliner er størst i primærsektoren med ca. 5 kg/år. Forbruget adskiller sig dermed væsentligt fra forbruget på HH, hvor der til sammenligning kun anvendes ca. 250 g/år. Omvendt er det for aminoglycosider, hvor det største forbrug er på HH, hvilket skyldes, at denne gruppe primært anvendes på hospitaler. Forbruget af quinoloner er også forholdsmæssigt stort på HH i forhold til brugen af andre antibiotikatyper i primærsektoren. Dette hænger formentlig sammen med, at Statens Serum Institut anbefaler at begrænse brugen af quino-



loner i primærsektoren. Dog er der i både primær- og hospitalssektoren sket en fordobling i forbruget af quinoloner fra 2000 til 2005 /11/.

*Tabel 4.3 Estimerede koncentrationer ( $\mu\text{g/l}$ ) i Renseanlæg Damhusåens indløb.*

| <b>ATC-kode</b> | <b>Antibiotikum</b> | <b>Renseanlæg Damhusåen, indløb</b> |
|-----------------|---------------------|-------------------------------------|
| J01CA01         | Ampicilliner        | 1,831                               |
| J01CA04         | Amoxicilliner       | 2,36                                |
| J01EB02         | Sulfamethizol       | 2,54                                |
| J01MA02         | Ciprofloxacin       | 0,269                               |
| J01GB03         | Gentamicin          | 0,03                                |
| J01FA01         | Erythromycin        | 0,271                               |



## 5 MÅLEPROGRAM

Dette kapitel indeholder en beskrivelse af måleprogrammet med hensyn til prøvetagning og analyseprogram. Der blev udtaget spildevandsprøver på HH samt i indløb og udløb på RD i uge 44 og 45, 2006, og herefter blev prøverne analyseret for antibiotika og det totale indhold af *E. coli* samt enterokokker. Derudover blev antallet af resistente bakterier for udvalgte antibiotika bestemt.

### 5.1 Prøvetagningsprogram

I tidligere undersøgelser blev der udtaget spildevand fra brøndene på Kettegård Allè. I dette projekt blev prøverne udtaget direkte fra pumpeumpene under sengebygningerne.

Prøverne er udtaget som tidsproportionale døgnprøver fra mandag til tirsdag og tirsdag til onsdag i ugerne 44 og 45, 2006. Der blev udtaget et volumen på 6,2-6,9 liter pr. døgn med et prøvetagningsinterval og delprøvevolumen på henholdsvis 15 minutter og ca. 65 ml. Temperaturen blev målt fra 19,8 til 21,5°C i de opsamlede prøver. Data vedrørende prøvetagningstidspunkter samt udtagne prøvevolumener fremgår af tabel 5.1.

Tabel 5.1 Oversigt over spildevandsprøver udtaget fra pumpeumpene under Center 3 og 4.

| <b>Spildevandspumpeump Center 3</b> |                  |                  |                      |         |                               |
|-------------------------------------|------------------|------------------|----------------------|---------|-------------------------------|
| Identifikation                      | Start            | Slut             | Prøvevolumen (liter) |         | Bemærkning                    |
|                                     |                  |                  | Beregnet             | Udtaget |                               |
| HH3 2006-01                         | 30-10-2006 13:15 | 31-10-2006 13:05 | 6,2                  | 6,5     | OK                            |
| HH3 2006-02                         | 31-10-2006 13:05 | 01-11-2006 13:10 | 6,2                  | 6,5     | OK                            |
| HH3 2006-03                         | 06-11-2006 12:47 | 07-11-2006 12:52 | 6,2                  | 6,0     | OK                            |
| HH3 2006-04                         | 07-11-2006 13:02 | 08-11-2006 12:49 | 6,2                  | 6,0     | OK                            |
| <b>Spildevandspumpeump Center 4</b> |                  |                  |                      |         |                               |
| HH4 2006-01                         | 30-10-2006 13:25 | 31-10-2006 13:30 | 6,8                  | 2,5     | Prøvetager stoppet ca. kl. 22 |
| HH4 2006-02                         | 31-10-2006 13:30 | 01-11-2006 13:20 | 6,8                  | 6,0     | OK                            |
| HH4 2006-03                         | 06-11-2006 13:04 | 07-11-2006 13:02 | 6,8                  | 6,5     | OK                            |
| HH4 2006-04                         | 07-11-2006 13:02 | 08-11-2006 13:15 | 6,8                  | 2,5     | Prøvetager stoppet ca. kl. 22 |

To af prøverne fra Center 4 dækkede kun ca. en tredjedel af døgnet. Dette er en vigtig oplysning i forhold til vurdering af analyseresultater. DHI stod for udtagning af prøverne på HH samt aflevering af prøverne på analyselaboratorierne. Afbrydelserne af prøvetagningerne skyldtes tilstopning af sugeslangerne.

Den flowproportionale prøvetagning i indløb og udløb på RD blev varetaget af renseanlæggets personale. Prøverne blev udtaget fra kl. 7 om morgenen til næste dag kl. 7 fra mandag til tirsdag og fra tirsdag til onsdag i ugerne 44 og 45, 2006. I alt blev der således indsamlet fire døgnprøver fra indløb og fire døgnprøver fra udløb. Prøverne blev fyldt på flasker udleveret af analyselaboratorierne og hentet af DHI for derefter at blive afleveret på laboratorierne (DHI og Eurofins A/S).



## 5.2 **Analyseprogram – antibiotika**

Baggrunden for udvælgelse af, hvilke antibiotika der skulle analyseres for i de indsamlede spildevandsprøver, fremgår af afsnit 4.4.1. Følgende fem antibiotika blev analyseret af Eurofins i de otte prøver fra HH og de fire prøver fra henholdsvis indløb og udløb på RD:

- Sulfamethizol
- Erythromycin
- Amoxicillin
- Ampicillin
- Ciprofloxacin

Eurofins har udviklet deres egen metode (LC-MS/MS) til bestemmelse af antibiotika. Analyseusikkerheden er opgivet til 20-25% (RSD).

Eurofins har oplyst, at metoden er udviklet til at bestemme antibiotika i udløbsprøver fra renseanlæg og i spildevandsprøver med tilsvarende indhold af SS (<15 mg/l).

Hvad angår spildevand med større mængder SS, er Eurofins nødt til at filtrere prøven. Det var ikke på prøvetagningstidspunktet muligt at gennemføre en totalbestemmelse på mere urene spildevandsprøver. Derfor forventes analyseusikkerheden at være større ved analyse af "beskidte" prøver end ved analyse af prøver med lavt indhold af suspenderet stof. Ved vurdering af analyseresultaterne er det derfor vigtigt at sammenholde analyseresultaterne for SS og glødetab af suspenderet stof (SSGT) med de analyserede antibiotikakoncentrationer.

Alternativet til en total bestemmelse er at bestemme SSGT og med den eksisterende viden om stoffernes fordelingskoefficient  $\log K_{ow}$  beregne andelen af antibiotika bundet til det suspenderede stof.

## 5.3 **Analyseprogram – resistente bakterier**

I alle de indsamlede spildevandsprøver fra HH og RD blev det totale antal *E. coli* og enterokokker bestemt. Derudover blev antallet af resistente bakterier bestemt over for ampicillin, ciprofloxacin, gentamicin og erythromycin. Sammenhængen mellem antibiotika og testorganisme fremgår af tabel 5.2, hvor der tillige er vist fordelingen af forbruget af antibiotika mellem primærsektoren og HH i RD's kloakopland.

Den valgte metode til resistensbestemmelser er tidligere beskrevet i /2/. Protokoller for bestemmelserne fremgår af Bilag D. De kvantitative bestemmelser af total *E. coli* og enterokokker samt resistente bakterier blev udført ved spredning af prøven på agarplader med og uden antibiotika. Prøven og fortyndinger af prøven blev spredt på agarplader tilsat det antibiotika, som skulle testes. De anvendte koncentrationer af antibiotika i agaren fremgår af tabel 5.2. Som kontrol blev ligeledes spredt prøve og fortyndinger på agarplader med og uden antibiotika. Pladerne blev inkuberet i varmeskab. Antallet af bakterier, der voksede op på agarpladerne tilsat antibiotika, angiver, hvor mange resistente bakterier der er i prøven, og antallet af bakterier, der voksede op på agarpladerne uden antibiotikum, angiver det totale antal bakterier, der var i prøven. De mikrobiologi-



ske analyser blev udført af DHI's mikrobiologiske laboratorium. Resultaterne fra analyserne er præsenteret i afsnit 6.2.

Tabel 5.2 Antibiotika, der indgik i de kvantitative resistensbestemmelser.

| Antibiotika   | Anvendelse (fordeling)     | Testbakterie   | Agartype     | Antibiotika i agar ( $\mu\text{g/ml}$ ) | MIC <sub>50</sub> | PNEC= MIC <sub>50</sub> /100 |
|---------------|----------------------------|----------------|--------------|---|-------------------|------------------------------|
| Ampicillin    | Hospitaler og primærsektor | <i>E. coli</i> | EMB          | 30                                      | 7,5               | 0,075                        |
| Ciprofloxacin | Hospitaler og primærsektor | <i>E. coli</i> | EMB          | 3                                       | 2                 | 0,02                         |
| Gentamicin    | Hospitaler                 | <i>E. coli</i> | EMB          | 10                                      | 20                | 0,2                          |
| Erythromycin  | Hospitaler og primærsektor | Enterokokker   | Slanetz agar | 16                                      | 4                 | 0,04                         |

Sammenlignes de anvendte antibiotikakoncentrationer med MIC<sub>50</sub> og PNEC, der indgår i databasen "Antibiotics", er de anvendte koncentrationer til selektion af resistente bakterier højere for alle antibiotika undtagen gentamicin, hvor den anvendte koncentration er det halve af MIC<sub>50</sub> (se tabel 5.2). Generelt giver de anvendte antibiotikakoncentrationer en meget stor sikkerhed for, at de *E. coli*, der vokser op, er resistente over for de aktuelle antibiotika.

## 5.4 Opgørelse af vandmængder

I de to følgende afsnit er vandmængderne afledt fra HH opgjort på baggrund af pumpeydelse og driftstimer for pumperne, der pumper spildevandet til det offentlige kloaksystem. Oplysninger om vandmængderne tilført RD i måleperioden er indhentet fra Lynettefællesskabet I/S og stammer fra renseanlæggets egne flowmålere i indløbet og fra bypass.

### 5.4.1 Hvidovre Hospital

Spildevand, der afledes fra Center 3 og 4, stammer fra vask af patienter, toiletskyl, fra rengøringsaktiviteter samt væsker fra analyse- og behandlingsudstyr mv. Fra hvert center afledes spildevandet til et samlebasin i hospitalets kælder. Hvert bassin har et volumen på ca. 2 m<sup>3</sup>. Når vandet i bassinerne når et vist niveau, pumper spildevandet automatisk videre til separate brønde placeret på Kettegård Allé.

Den totale årlige vandforsyning til HH er ca. 132.000 m<sup>3</sup>. For at opgøre den totale afledning af spildevand fra hver af de fire centre blev antallet af pumpetimer for hver af spildevandspumperne registreret med en til syv dages mellemrum over en to måneders periode fra d. 29. september til d. 27. november 2006. Der er to pumper knyttet til hvert opsamlingsbasin. Rådata er præsenteret i Bilag B, mens beregnede afledte vandmængder fra alle fire centre beregnet ud fra pumpekapacitet og timetæller er præsenteret i tabel 5.3.

Pumpekapaciteten for hver pumpe er ifølge HH's driftsafdeling estimeret til ca. 30 l/s svarende til 108 m<sup>3</sup>/time.



Tabel 5.3 Den afledte vandmængde fra de fire centre beregnet ud fra en estimeret pumpeydelse på 30 l/s ~108 m<sup>3</sup>/time.

|                       | Center 1 | Center 2 | Center 3 | Center 4 | Total<br>Sengebygn. |
|-----------------------|----------|----------|----------|----------|---------------------|
| Pumpetimer/59 døgn    | 25,3     | 52       | 48,9     | 68,6     |                     |
| Pumpetimer/døgn       | 0,4      | 0,9      | 0,8      | 1,2      |                     |
| m <sup>3</sup> /d     | 46       | 95       | 90       | 126      | <b>357</b>          |
| m <sup>3</sup> /år    | 16.904   | 34.743   | 32.672   | 45.834   | <b>130.153</b>      |
| % af total vandmængde | 13,0     | 26,7     | 25,1     | 35,2     |                     |

I tabel 5.3 er den beregnede afledte vandmængde for perioden med registreringer fra timetællerne omregnet til en årligt afledt vandmængde fra centrene til 130.153 m<sup>3</sup>. Denne vandmængde svarer til næsten 100% af vandforbruget for HH.

Vandforbruget på HH omfatter også vand til henholdsvis centralkøkken og driftsafdeling, ligesom der også sker en vis fordampning i køletårnene. Det betyder, at udregningen for vandafledningen på årsbasis er for høj. Dette kan skyldes, at vandforbruget på andre tider af året er lavere end i registreringsperioden. Ved beregning af belastningen med antibiotika (afsnit 6.3) er anvendt spildevandsmængder opgjort på baggrund af pumpeydelse og driftstimer.

Langt den største vandmængde (35,2%) afledes fra Center 4. Mængden fra Center 2 og 3 ligger i samme niveau, mens afledningen fra Center 1, hvor der er færrest sengepladser, udgør ca. 13% af den samlede afledning fra centrene.

#### 5.4.2 Renseanlæg Damhusåen

Vandmængderne registreret på prøvetagningsdage på RD fremgår af tabel 5.4. Indløb til biologi svarer til udløbet fra renseanlægget. Spildevand, der bliver målt som bypass, tilføres regnvandsbassinerne. Når der igen er kapacitet på renseanlægget, føres vandet fra regnvandsbassinerne tilbage til den biologiske del af renseanlægget. Spildevandet tilført renseanlægget d. 31. oktober 2006 var på grund af nedbør i oplandet forholdsvis tyndt (se afsnit 6.1.2) sammenlignet med spildevandet de øvrige prøvetagningsdøgn.

Tabel 5.4 Spildevandsmængder målt på Renseanlæg Damhusåen på prøvetagningsdøgnene.

| Dato       | Indløb<br>m <sup>3</sup> /d | Indløb biologi<br>m <sup>3</sup> /d | Bypass<br>m <sup>3</sup> /d | Nedbør<br>mm |
|------------|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|--------------|
| 30-10-2006 | 88.189                      | 89.707                              |                             | 2            |
| 31-10-2006 | 169.567                     | 126.683                             | 46.215                      | 10           |
| 06-11-2006 | 77.363                      | 78.965                              |                             | 0            |
| 07-11-2006 | 70.540                      | 74.507                              |                             | 2            |

Middelværdien for indløbsvandmængden på RD var på dage med ≤2 mm nedbør 78.700 m<sup>3</sup>/d. Spildevandsmængden fra HH udgør fra de fire centre ca. 0,45% af indløbsvandmængden på RD.



## 6 RESULTATER

Samtlige rådata fra måleprogrammet er præsenteret i Bilag B, C, D, E og F.

### 6.1 Spildevandskarakterisering

Traditionelt er spildevand fra hospitaler blevet sammenlignet med spildevand fra husholdninger. Som udgangspunkt for at vurdere om spildevandet fra HH er mere eller mindre koncentreret sammenlignet med spildevand fra husholdninger og indløbsspildevandet på RD, blev de indsamlede prøver analyseret for indholdet af organisk stof og suspenderet stof. Dertil kom analyser for pH og glødetab af suspenderet stof (SSGT).

Spildevandskarakteriseringen på HH omfattede analyser for pH, COD, SS og SSGT i de otte indsamlede tidsproportionale døgnprøver. Tabel 6.1 viser måleintervaller i spildevandet fra Center 3 og 4. Til sammenligning er anført COD-koncentrationer målt i indløbet til RD i måleperioden (se tillige tabel 6.2) og data fra Miljøstyrelsens rapport om husholdningsspildevand /10/.

Tabel 6.2 og 6.3 indeholder spildevandsdata for indløbet og udløbet fra RD. Analyserne er udført af Lynettefællesskabets driftslaboratorium.

Tabel 6.1 Koncentrationsintervaller for udførte målinger på spildevand fra Center 3 og 4 på Hvidovre Hospital (HH) samt målinger fra Renseanlæg Damhusåens (RD) indløb og Miljøstyrelsens rapport om husholdningsspildevand /10/.

| Parameter | Enhed | HH Center 3 2006 | HH Center 4 2006 | HH Center 1-4 2003 | RD indløb 2006 | Husspildevand |
|-----------|-------|------------------|------------------|--------------------|----------------|---------------|
| pH        |       | 7,9-8,15         | 7,99-8,75        |                    |                | 6-9           |
| COD       | mg/l  | 396-553          | 523-1154         | 881                | 330-400        | 630           |
| SS        | mg/l  | 169-248          | 236-893          | 440                | 220            | 300           |
| SSGT      | mg/l  | 148-234          | 215-848          | i.m.               |                |               |

i.m. = ikke målt.

Tabel 6.2 Almindelige spildevandsparametre målt i flowproportionale døgnprøver i indløbet til Renseanlæg Damhusåen.

| Dato       | Indløb            | COD  | BOD  | Total-N | Total-P | SS   |
|------------|-------------------|------|------|---------|---------|------|
|            | m <sup>3</sup> /d | mg/l | mg/l | mg/l    | Mg/l    | mg/l |
| 30-10-2006 | 88.189            |      |      |         |         |      |
| 31-10-2006 | 169.567           | 330  | 160  | 23      | 4       | 220  |
| 06-11-2006 | 77.363            |      |      |         |         |      |
| 07-11-2006 | 70.540            | 400  | 190  | 37      | 6       | 220  |

Tabel 6.3 Almindelige spildevandsparametre målt i flowproportionale døgnprøver i udløbet fra Renseanlæg Damhusåen.

| Dato       | Afløb             | COD  | BOD  | Total-N | Total-P | SS   |
|------------|-------------------|------|------|---------|---------|------|
|            | m <sup>3</sup> /d | mg/l | mg/l | mg/l    | Mg/l    | mg/l |
| 30-10-2006 | 89.707            |      |      |         |         |      |
| 31-10-2006 | 126.683           | 28   | <0,3 | 5,3     | 0,8     | 7    |
| 06-11-2006 | 78.965            |      |      |         |         |      |
| 07-11-2006 | 74.507            | 18   | 0,6  | 4,1     | 0,3     | 5    |



Spildevandet fra HH er tilsyneladende mere koncentreret med hensyn til organisk stof og SS fra Center 4 end fra Center 3. Forskellen kan dog skyldes, at to af prøverne fra Center 4 kun dækker ca. en tredjedel af døgnet (kl. 13-22). De foregående otte timer er dog det tidsrum (kl. 5-13), hvor vandforbruget er størst, og hvor der forventes at være flest aktiviteter, der bidrager til spildevandsbelastningen /2/. Alt i alt må spildevandet fra Center 4 derfor betragtes mere belastende sammenlignet med husspildevand. Målt som organisk stof (COD) udgør belastningen fra HH's fire centre ca. 0,75% af indløbsbelastningen til RD.

Udløbsdata fra RD viser, at renselanlægget også i perioder med megen nedbør (tirsdag d. 31. oktober 2006 10 mm nedbør) overholder kravene til afløbskvaliteten for BOD, Total-N, Total-P og SS.

## 6.2 **Resistensbestemmelser**

Resultaterne viser generelt stor variation mellem dagene i antallet af *E. coli* og enterokokker på de enkelte lokaliteter. For *E. coli* gælder dette især for målingerne i indløbet til RD, som varierer fra 34.000 CFU/ml til 112.500 CFU/ml. For enterokokker varierer antallet især på HH, hvor der er målt fra 26.000 CFU/ml til 780.000 CFU/ml på henholdsvis Center 3 og 4. (se rådata i Bilag D).

Målinger af *E. coli* og enterokokker i spildevand findes i Miljøstyrelsens Miljøprojekt nr. 1101 /14/. Ifølge rapporten er der stor variation i de eksisterende koncentrationsmålinger af *E. coli* og enterokokker i indløb og udløb på danske renselanlæg. Dette stemmer overens med tidligere målinger foretaget på spildevand fra HH og et boligområde /2/. I /2/ blev analyseusikkerheden nærmere undersøgt, og det blev konkluderet, at dagsvariationen ikke har væsentlig indflydelse på fortolkningen af resultaterne. På den baggrund er resultaterne i det følgende vist som gennemsnitskoncentrationer. Minimum- og maksimumkoncentrationer for hver analyse er samlet og vist i Bilag E.

Analyseresultater af forekomst og resistensmønstre af *E. coli* og enterokokker i spildevand fra Center 3 og 4 samt fra indløb og udløb på RD er vist i tabel 6.4 samt i figurerne 6.1-6.4.

I tabel 6.5 er resultaterne fra de udførte resistensanalyser samlet og angivet som den procentvise andel af *E. coli* og enterokokker i de analyserede spildevandprøver.

### 6.2.1 **Forekomst af *E. coli* og enterokokker i spildevand**

I tabel 6.4 er vist gennemsnitskoncentrationen for de *E. coli* og enterokokker, der er målt i spildevand fra HH og RD. Til sammenligning er vist koncentrationer fra målinger på spildevand fra henholdsvis danske renselanlæg /14/ og fra et boligområde /2/.

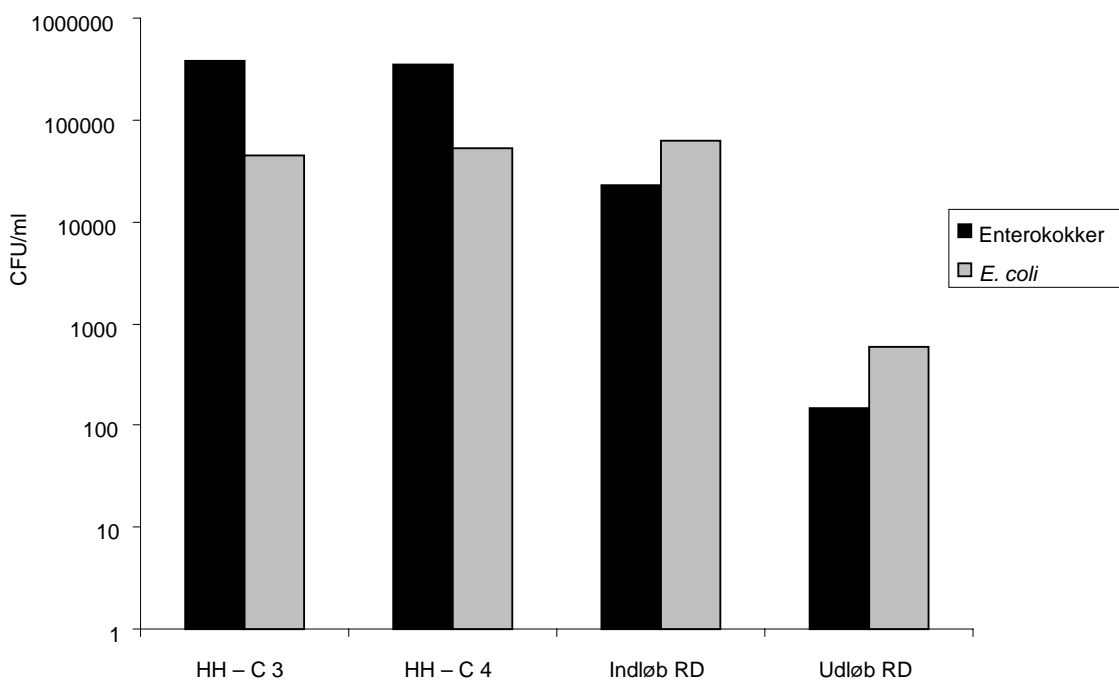
Tabel 6.4 Gennemsnitskoncentrationer af *E. coli*- og enterokokkoncentrationer målt i spildevand fra Hvidovre Hospital's (HH) Center 3 og 4 samt i Renseanlæg Damhusåens (RD) ind- og udløb. Enhed CFU/ml.

|                              | HH<br>Center 3   | HH<br>Center 4   | RD <sub>indløb</sub> | RD <sub>udløb</sub> | Bolig-<br>område | Renseanlæg <sub>indløb</sub>      | Renseanlæg <sub>udløb</sub>       |
|------------------------------|------------------|------------------|----------------------|---------------------|------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| <i>E. coli</i><br>pr. 100 ml | $4,5 \cdot 10^4$ | $5,3 \cdot 10^4$ | $6,4 \cdot 10^4$     | $6,0 \cdot 10^2$    | $1,4 \cdot 10^5$ | $1,1 \cdot 10^4 - 1,3 \cdot 10^6$ | $1,4 \cdot 10^1 - 4,9 \cdot 10^3$ |
| Enterokokker<br>pr. 100 ml   | $3,8 \cdot 10^5$ | $3,5 \cdot 10^5$ | $2,3 \cdot 10^4$     | $1,5 \cdot 10^2$    | $2,5 \cdot 10^3$ | $3,6 \cdot 10^2 - 3,6 \cdot 10^4$ | $2 - 1,3 \cdot 10^3$              |

For begge bakterietyper sker, som forventet, en væsentlig fjernelse i renselanlæg. Rensegraden afhænger dog af anlægstype. Ud fra minimumkoncentrationen i indløbet og maksimumkoncentrationen i udløbet er fjernelsesgraden for RD beregnet til henholdsvis 98 og 99% for *E. coli* og enterokokker (Bilag E).

De målte koncentrationer af *E. coli* fra HH svarer stort set til de koncentrationer, der er målt i almindeligt husspildevand samt i indløbet til RD og andre danske renselanlæg, jf. /14/. Koncentrationen i udløbet fra RD er ligeledes i overensstemmelse med tidligere målinger af *E. coli* i rensat spildevand.

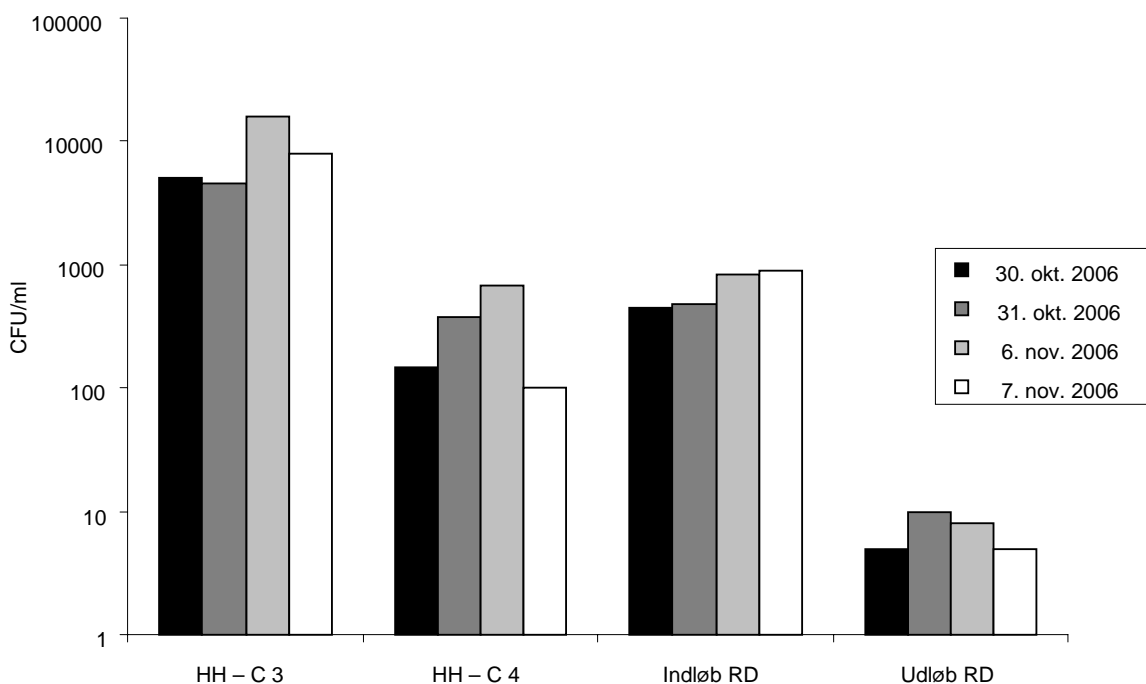
Koncentrationen af enterokokker i udløbet fra RD stemmer overens med tidligere målinger fra andre renselanlæg. Antallet af enterokokker i fæces udgør ca. 10% af antallet af *E. coli* i fæces /15/. Dette stemmer overens med, at der er målt færre enterokokker i RD's indløb, hvor hovedparten af spildevandet er almindeligt husspildevand fra oplandet. Til gengæld er koncentrationen af enterokokker fra begge centre på HH højere end i almindeligt spildevand og højere end koncentrationer generelt målt i indløb til renselanlæg, jf. figur 6.1 og /14/.



Figur 6.1 Gennemsnit af *E. coli* og enterokokker målt i spildevand fra henholdsvis Hvidovre Hospital's (HH) Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4) samt i ind- og udløb på Renseanlæg Damhusåen (RD).

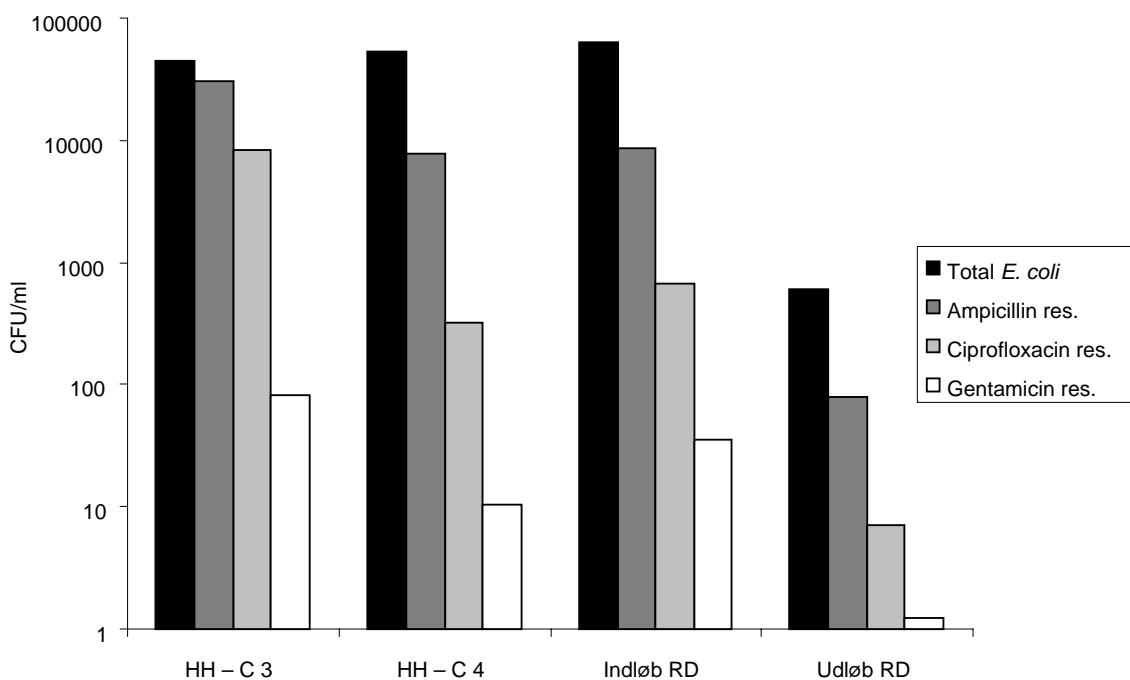
### 6.2.2 Resistensmønstre fra Hvidovre Hospital til Renseanlæg Damhusåen

Som tidligere nævnt er der store variationer i de målte koncentrationer af *E. coli* og enterokokker i døgnprøverne. I figur 6.2 er vist resultatet af ciprofloxacin-resistente *E. coli* målt i fire spildevandsprøver fra henholdsvis Center 3 og 4 på HH samt i indløb og udløb på RD. Data og kurver for de øvrige undersøgte resistenstyper er vist i Bilag E.



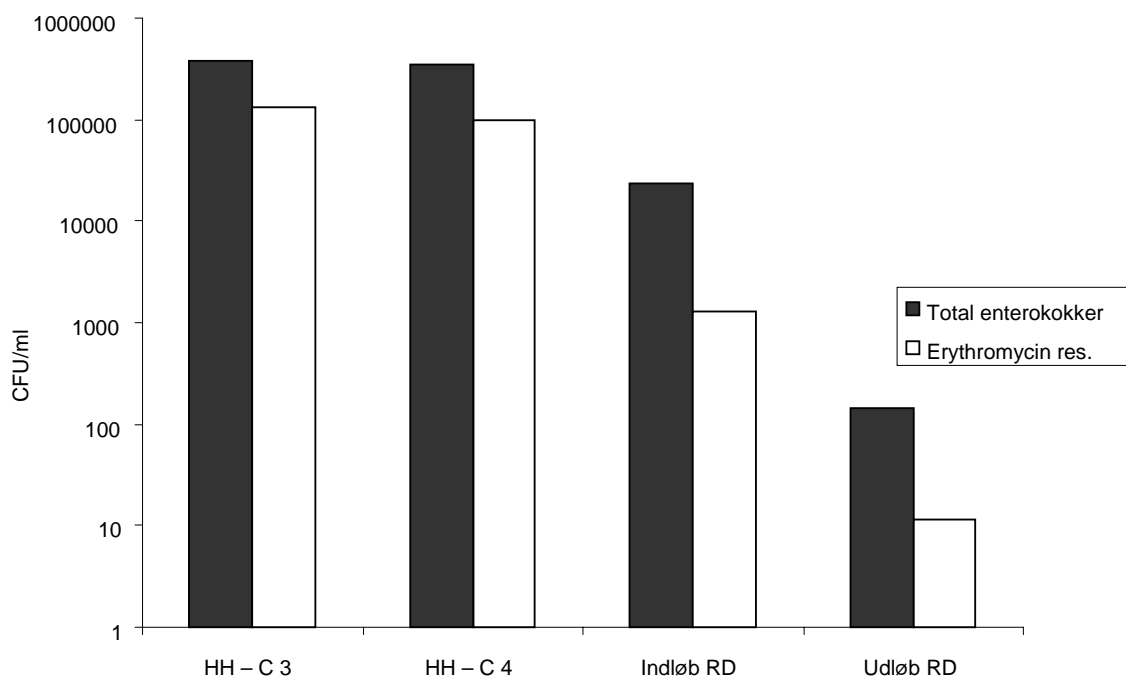
Figur 6.2 Gennemsnit af ciprofloxacin-resistente *E. coli* målt i fire døgnprøver i spildevand fra Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4) på Hvidovre Hospital (HH) samt i ind- og udløb på Renseanlæg Damhusåen (RD).

Som det fremgår af figur 6.2, er der overensstemmelse mellem variationerne mellem de enkelte dage, og i det følgende er anvendt gennemsnitlige værdier til at illustrere forholdene mellem de resistente *E. coli* og enterokokker og det totale indhold af *E. coli* og enterokokker målt i spildevandsprøver.



Figur 6.3 Gennemsnit af totale *E. coli* samt ampicillin-, ciprofloxacin- og gentamicin-resistente bakterier målt i spildevand fra henholdsvis Hvidovre Hospital's (HH) Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4) samt i ind- og udløb på Renseanlæg Damhusåen (RD).

Figur 6.3 viser, at der forekommer resistens over for alle de undersøgte antibiotika i alle de undersøgte målepunkter, og at der er samme tendens for alle tre typer af resistente bakterier. Den gennemsnitlige koncentration af resistente *E. coli* er størst i spildevandet fra Center 3 på HH. Antallet af resistente *E. coli* i spildevandet fra Center 4 ligger på samme niveau eller lavere end i indløbet til RD.



Figur 6.4 Gennemsnit af enterokokker og erythromycin-resistente enterokokker målt i spildevand fra henholdsvis Hvidovre Hospital's (HH) Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4) samt i ind- og udløb på Renseanlæg Damhusåen (RD).

I figur 6.4 er vist de gennemsnitlige koncentrationer af enterokokker og erythromycin-resistente enterokokker. Mønstret for såvel de resistente som de ikke-resistente enterokokker er ens, og indholdet ligger på samme niveau stabilt i afløbet fra henholdsvis Center 3 og 4. I indløbet til RD er koncentrationen af resistente enterokokker reduceret i forhold til hospitalsafløbene, og den reduceres yderligere gennem renseanlægget.

### 6.2.3 Procentvise andele af resistente *E. coli* og enterokokker

I tabel 6.5 er vist analyseresultaterne for hver enkelt resistenstype angivet som den procentvise andel af det totale indhold af *E. coli* og enterokokker i de analyserede spildevandprøver.

Tabel 6.5 Den procentvise andel af resistente *E. coli* samt enterokokker i forhold til det totale antal *E. coli* og enterokokker i spildevand fra Hvidovre Hospital's (HH) Center (C) 3 og 4 samt i Renseanlæg Damhusåens (RD) ind- og udløb.

| Resistens %                      | HH - Center 3 | HH - Center 4 | Indløb RD | Udløb RD  |
|----------------------------------|---------------|---------------|-----------|-----------|
| Ampicillin ( <i>E. coli</i> )    | 48-86         | 8,6-17        | 12-17     | 12-16     |
| Ciprofloxacin ( <i>E. coli</i> ) | 5,8-38        | 0,1-1,2       | 0,8- 1,3  | 1,0-1,7   |
| Gentamicin ( <i>E. coli</i> )    | 0,01-0,36     | 0,01-0,07     | 0,04-0,08 | 0,13-0,69 |
| Erythromycin (enterokokker)      | 8,2-49        | 12,8-61       | 3,2-7,4   | 6,8-12,5  |

Resistensandelen over for de enkelte antibiotika varierer mellem de undersøgte lokaliteter. Fra alle lokaliteter er det dog ampicillin-resistente *E. coli*, der udgør langt den største andel.

Den største andel stammer fra Center 3, hvor mellem 48 og 86% af *E. coli* bakterierne er ampicillin-resistente. Andelen af ampicillin-resistente *E. coli* fra Center 4 og i RD's



ind- og udløb ligger på samme niveau og udgør mellem 8,6 og 17% af det totale antal *E. coli*.

Det er ligeledes fra Center 3, at den største andel af ciprofloxacin-resistente *E. coli* (5,8%-38 %) afledes. Såvel antallet som andelen af ciprofloxacin-resistente *E. coli* fra de øvrige lokaliteter – henholdsvis Center 4 samt RD ind- og udløb – er til sammenligning lav og ligger på samme niveau med mellem 0,1% og 1,3% resistente.

Andelen af gentamicin-resistente *E. coli* ligger generelt lavt. For alle lokaliteter ligger de procentvise andele på samme niveau, dog højest på Center 3 med maksimum 0,36% og i RD's udløb med maksimum 0,69%.

For erythromycin-resistente enterokokker er det Center 4, der udgør den største andel med 61% i forhold til det totale antal enterokokker i spildevandet. Andelene på Center 3 ligger lidt lavere, men på samme niveau.

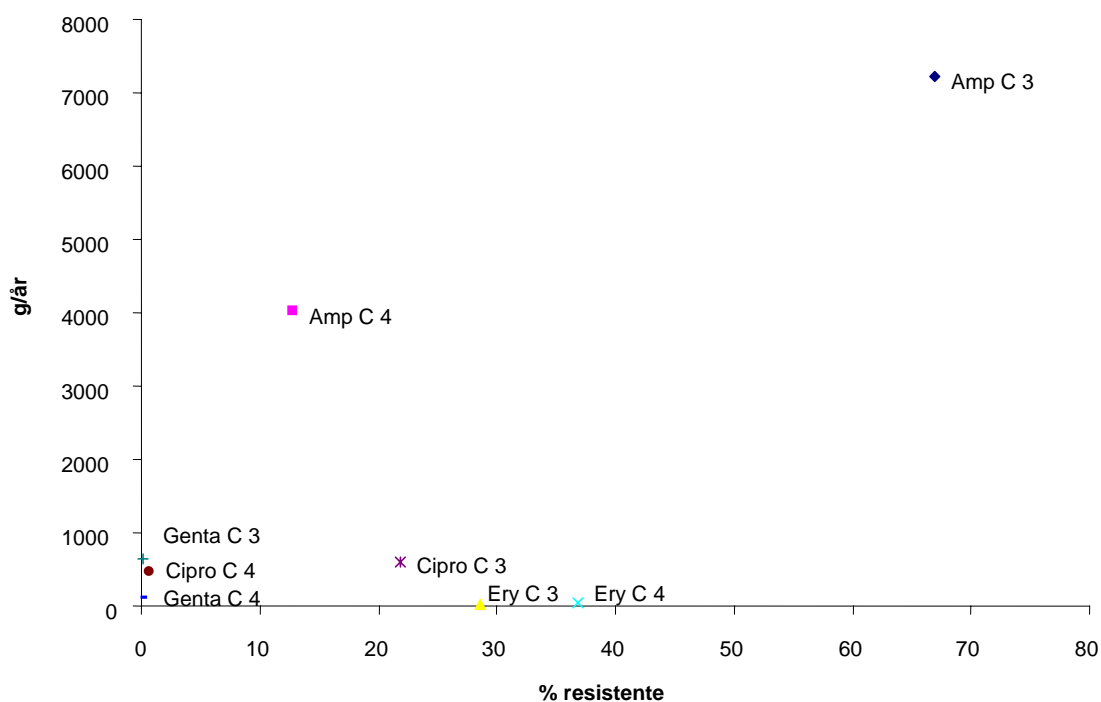
Der er krydsresistens mellem erythromycin og de andre anvendte makrolider: azithromycin, klarithromycin og roxithromycin /13/. Det betyder, at enterokokker, der er resistente over for makrolidet erythromycin, også er resistente over for andre typer af makrolider. Kryds- og co-resistensmekanismer er nærmere beskrevet i /1/.

I 2004-2005 var der i Danmark en *Mycoplasma pneumoniae* epidemi (lungebetændelse), som medførte en stigning i forbruget af roxithromycin. Få måneder senere blev i Københavns og Frederiksberg kommuner registreret en stigning i frekvensen af patienter med erythromycin-resistente infektioner (3-7%). Disse infektioner var bl.a. forårsaget af flere forskellige grampositive bakterier, fx pneumokokker, hæmolytiske streptokokker /18/ af grupperne A, C og G samt *Staphylococcus aureus* /13/.

Ifølge Statens Serum Institut viser disse erfaringer, at udsving selv i en enkelt stofgruppe kan føre til, at balancen ændres i ugunstig retning. Yderligere indikerer dette vigtigheden af, at antibiotikaforbruget kontinuerligt følges, så det i tilfælde af kritiske bakterielle epidemier, fx på hospitaler, er muligt at følge og om muligt kontrollere resistensforholdene. Mikrobiologiske undersøgelser af forskydninger i forholdet mellem forskellige resistenstyper i spildevandet afspejler umiddelbart effekten af ændringer i ordineringspraksis.

#### **6.2.4 Resistensandele i forhold til forbrug**

I figur 6.5 er den procentvise resistensandel for henholdsvis ampicillin-, ciprofloxacin- og gentamicin-resistente *E. coli* og erythromycin-resistente enterokokker vist i forhold til de estimerede antibiotikamængder, der ender i spildevandet. Mængden er estimeret ud fra forbruget ved hjælp af databasen "Antibiotics".

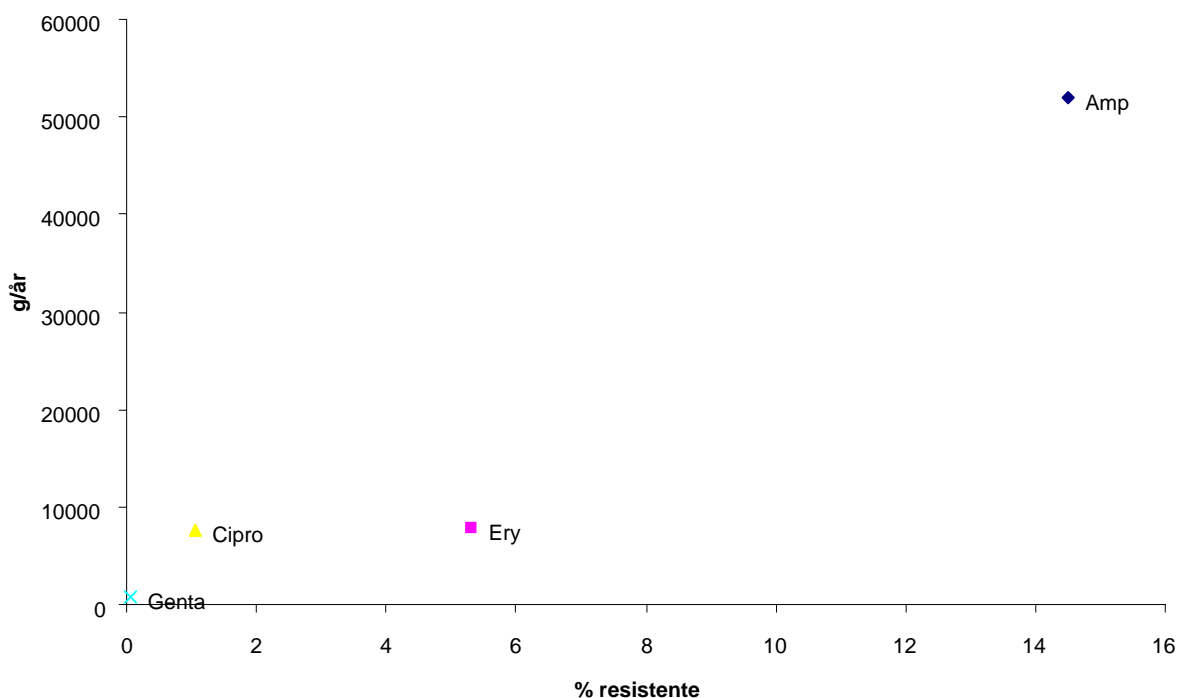


Figur 6.5 Den beregnede mængde antibiotika i g/år som funktion af den procentvise andel af resistente *E. coli* og enterokokker på Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4).

Det fremgår af figur 6.5, at stiger den beregnede mængde af antibiotika afledt til spildevandet, sker der en stigning i andelen af resistente bakterier i spildevand fra henholdsvis Center 3 og 4. Det fremgår således, at på Center 3, hvor forbruget af ciprofloxacin er størst, er andelen af ciprofloxacin-resistente *E. coli* også størst. For Ciprofloxacin er der en antydning af, at når forbruget af antibiotika når over en vis størrelse og dermed også koncentrationen af antibiotika i spildevandet, øges andelen af resistente bakterier. Koncentrationen af ciprofloxacin blev i middel målt til 31,5 og 8,2 µg/l fra henholdsvis Center 3 og 4. Andelen af ciprofloxacin-resistente *E. coli* var de to steder ca. 22% og 3%.

Krydsresistens er af væsentlig betydning ved kortlægningen af sammenhængen mellem antibiotikakoncentrationer og andelen af resistente bakterier i spildevand. Figur 6.5 og 6.6 viser en simplificeret sammenhæng, hvor der kun er medtaget forbruget af enkeltstofferne. Dog er der på baggrund af den udbredte krydsresistens mellem alle makrolider, jf. 6.2.3, taget hensyn til, at forbruget af disse kan være medvirkende til den observerede erythromycin-resistens. Forbruget af de øvrige makrolider (clarithromycin, roxithromycin, azithromycin og clindamycin) er derfor medregnet i figurene 6.5 og 6.6.

I figur 6.6 er de procentvise resistensandele samt de estimerede mængder vist i indløbet til RD. Der er overensstemmelse mellem den mængdemæssige afledning af de fire udvalgte antibiotika og andelen af de tilhørende resistente bakterier, som er målt i spildevandet.



Figur 6.6 Den beregnede mængde antibiotika, der tilføres spildevandet (g/år) som funktion af den procentvise andel af resistente *E. coli* og enterokokker i indløbet til Renseanlæg Damhusåen.

### 6.3 Antibiotikaanalyser

Analyseresultaterne fra bestemmelse af antibiotika i afløb fra Center 3 og 4 samt fra indløb og afløb på RD fremgår af tabel 6.6. I det følgende er analyseresultaterne kommenteret for hvert enkelt af de analyserede antibiotika. Analyserne er udført på døgnprøver, men for HH gælder, at døgnvariationer ikke afspejles i koncentrationerne, fordi de indsamlede prøver er udtaget tidsproportionalt. Ved store variationer i spildevandsflowet kan det betyde, at de afledte antibiotikakoncentrationer bliver understimeret. Prøver fra RD blev udtaget flowproportionalt.

Tabel 6.6 Antibiotikakonzentrationer målt i spildevand fra Center 3 og 4 (C 3 og C 4) på Hvidovre Hospital (HH) samt i ind- og udløb på Renseanlæg Damhusåen (RD). Enheden er µg/l.

| Dato       | Sulfamethizol        |                     | Erythromycin         |                     | Amoxicillin          |                     | Ampicillin           |                     | Ciprofloxacin        |                     |
|------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
|            | HH<br>C 3            | HH<br>C 4           | HH<br>C 3            | HH<br>C 4           | HH<br>C 3            | HH<br>C 4           | HH<br>C 3            | HH<br>C 4           | HH<br>C 3            | HH<br>C 4           |
| 30.10.2006 | 1,1                  | <0,1                | <0,2                 | <0,2                | 1,1                  | <1                  | 11                   | 0,15                | 13                   | 11                  |
| 31.10.2006 | 2,5                  | 0,18                | <0,2                 | <0,2                | <1                   | <1                  | 3,1                  | <0,1                | 26                   | 9,1                 |
| 06.11.2006 | <0,1                 | 0,13                | <0,2                 | <0,2                | <1                   | <1                  | 1,2                  | <0,1                | 33                   | 5,3                 |
| 07.11.2006 | 6,9                  | 3,2                 | 0,23                 | <0,2                | <1                   | <1                  | 2,6                  | 0,12                | 54                   | 7,3                 |
| Middel     | 2,6                  | 0,89                | <0,2                 | <0,2                | <1                   | <1                  | 4,5                  | <0,1                | 31,5                 | 8,2                 |
|            | RD <sub>indløb</sub> | RD <sub>udløb</sub> | RD <sub>indløb</sub> | RD <sub>udløb</sub> | RD <sub>indløb</sub> | RD <sub>udløb</sub> | RD <sub>indløb</sub> | RD <sub>udløb</sub> | RD <sub>indløb</sub> | RD <sub>udløb</sub> |
| 30.10.2006 | 1,5                  | 0,99                | <0,2                 | <0,2                | <1                   | <1                  | <0,1                 | <0,1                | 0,23                 | <0,1                |
| 31.10.2006 | 0,9                  | 1,3                 | <0,2                 | <0,2                | <1                   | <1                  | <0,1                 | <0,1                | <0,1                 | <0,1                |
| 06.11.2006 | 0,98                 | 1,3                 | <0,2                 | <0,2                | <1                   | <1                  | <0,1                 | <0,1                | 0,24                 | <0,1                |
| 07.11.2006 | 3,3                  | 2,2                 | <0,2                 | <0,2                | <1                   | <1                  | <0,1                 | <0,1                | 0,33                 | <0,1                |
| Middel     | 1,7                  | 1,4                 | <0,2                 | <0,2                | <1                   | <1                  | <0,1                 | <0,1                | 0,27                 | <0,1                |

### Sulfamethizol

Sulfamethizol blev målt i koncentrationer mellem <0,1 og 6,9 µg/l i prøverne fra HH. Koncentrationerne var generelt højest i prøverne fra Center 4, hvorfra der også er beregnet den højeste PEC. PEC var sammenlignet med den målte koncentration (MEC) 10-17 gange højere. Idet  $\log K_{ow} = 0,5$  for sulfamethizol, forventes det ikke, at stoffet bindes til SS i spildevandet. Den mest nærliggende forklaring på forskellen mellem PEC og MEC er variationer i forbruget over året og en eventuelt metabolisme af sulfamethizol, der har en forholdsvis simpel kemisk struktur (en benzenring og en fem-ledet ring med kvælstof og svovl). De beregnede PEC/PNEC for Center 3 og 4 var >1, mens MEC/PNEC var <1. Baseret på koncentrationsmålinger er risikoen for, at udviklingen af resistente bakterier fremmes, ringe.

Middelkoncentrationen af sulfamethizol for indløb og udløb på RD var henholdsvis 1,7 og 1,4 µg/l. To af de fire prøvesæt fra RD viste højere koncentrationer af sulfamethizol i udløbet sammenlignet med indløbet. Dette tyder på, at sulfamethizol forbliver i vandfasen, hvilket den lave  $\log K_{ow}$  værdi på 0,5 også indikerer. Samtidig antyder den lave  $\log K_{ow}$ , at stoffet ikke er bioakkumulerbart. MEC/PNEC og PEC/PNEC er <1 i udløb fra RD, og dermed vurderes risikoen lav for, at koncentrationen fremmer dannelsen af resistente bakterier i spildevandet. EMEA guidelinen /17/ om miljøvurdering af nye lægemidler, der skal godkendes, kræver imidlertid, at stoffer, der kan forventes at være til stede i koncentrationer >0,01 µg/l, skal miljøvurderes. Skulle sulfamethizol derfor igen gennem en godkendelsesproces, ville der blive krævet en miljøvurdering af stoffet.

Tabel 6.7 Målte gennemsnitskoncentrationer af antibiotika i spildevand fra Hvidovre Hospital (MEC  $\mu\text{g/l}$ ) og beregnede koncentrationer ud fra forbrug (PEC  $\mu\text{g/l}$ ) samt beregnede risikoforhold.

| Antibiotika   | Hvidovre Hospital – Center 3 |      |          |          | Hvidovre Hospital – Center 4 |      |          |          |
|---------------|------------------------------|------|----------|----------|------------------------------|------|----------|----------|
|               | MEC                          | PEC  | MEC/PNEC | PEC/PNEC | MEC                          | PEC  | MEC/PNEC | PEC/PNEC |
| Sulfamethizol | 2,6                          | 26   | 0,52     | 5,2      | 0,89                         | 15   | 0,178    | 3        |
| Erythromycin  | <0,2                         | 0,34 | -        | 8,37     | <0,2                         | 1,28 | -        | 32       |
| Amoxicillin   | <1,0                         | 23,2 | -        | 237      | <1,0                         | 27,6 | -        | 276      |
| Ampicillin    | 4,5                          | 231  | 60       | 3.080    | <0,1                         | 188  | -        | 2.511    |
| Ciprofloxacin | 31,5                         | 18,1 | 1.577    | 906      | 8,2                          | 13,2 | 410      | 661      |

- = MEC/PNEC ikke beregnet, fordi MEC er målt til under detektionsgrænsen.

### Erythromycin

Erythromycin blev i alle prøver fra både HH og RD – undtagen én prøve fra Center 3 – målt i koncentrationer <0,2  $\mu\text{g/l}$ . Af tabel 6.7 fremgår, at  $\log K_d = 2,22$  og  $\log K_{ow} = 3,06$ , hvilket indikerer, at erythromycin binder sig til SS. Da antibiotikaanalyserne er udført på filtrerede prøver eller prøver med lav koncentration af SS (udløbet fra RD <10 mg/l), forklarer dette, hvorfor koncentrationen af erythromycin er lavere i alle de analyserede prøver sammenlignet med de beregnede PEC for Center 3 og 4 (0,34 og 1,28  $\mu\text{g/l}$ , se tabel 6.4). Ekskretionsraten for erythromycin er 80% fordelt med 70% via fæces og 10% via urin. Når langt den største del af erythromycin udskilles med fæces, er denne oplysning med til at understøtte antagelsen om, at stoffet adsorberes til SS.

På grund af at koncentrationerne for erythromycin overvejende er <0,2  $\mu\text{g/l}$  i de indsamlede prøver, er MEC/PNEC ikke beregnet. De beregnede PEC/PNEC både for HH og for RD må med baggrund i analyseresultaterne betragtes som overvurderet.

Der er i den gennemgåede litteratur fundet en enkelt koncentrationsmåling af erythromycin for spildevand fra et hospital i Tyskland /11/. Her blev der målt erythromycin i en koncentration på 27  $\mu\text{g/l}$ . Da det ikke samtidig er oplyst, hvad forbruget af erythromycin var på hospitalet, er det vanskeligt at sammenligne med resultaterne i denne undersøgelse.

Tabel 6.8 Målte gennemsnitskoncentrationer af antibiotika i spildevand fra ind- og udløb på Renseanlæg Damhusåen (RD) (MEC  $\mu\text{g/l}$ ) og beregnede koncentrationer ud fra forbrug (PEC  $\mu\text{g/l}$ ) samt beregnede risikoforhold.

| Antibiotika   | RD            | RD           | RD            | RD           | RD                 | RD                | RD                 | RD                |
|---------------|---------------|--------------|---------------|--------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
|               | Indløb<br>MEC | Udløb<br>MEC | Indløb<br>PEC | Udløb<br>PEC | Indløb<br>MEC/PNEC | Udløb<br>MEC/PNEC | Indløb<br>PEC/PNEC | Udløb<br>PEC/PNEC |
| Sulfamethizol | 1,7           | 1,4          | 2,54          | 0,25         | 0,34               | 0,28              | 0,509              | 0,051             |
| Erythromycin  | <0,2          | <0,2         | 0,27          | 0,027        | -                  | -                 | 6,8                | 0,7               |
| Amoxicillin   | <1            | <1           | 2,36          | 0,24         | -                  | 1,33              | 33,6               | 3,4               |
| Ampicillin    | <0,1          | <0,1         | 1,83          | 0,18         | -                  | -                 | 24,3               | 2,4               |
| Ciprofloxacin | 0,27          | <0,1         | 0,27          | 0,03         | 13,5               | -                 | 13,4               | 1,3               |

- = Den analyserede koncentration (MEC) lå under detektionsgrænsen, og derfor kan MEC/PNEC ikke beregnes.

### Amoxicillin

Koncentrationen af amoxicillin lå i alle prøverne under detektionsgrænsen på 1  $\mu\text{g/l}$ . Amoxicillin udskilles for 80% vedkommende via urin, derfor er det nærliggende at forvente, at koncentrationen ville være i nærheden af den beregnede værdi for PEC på 23 og 28  $\mu\text{g/l}$  for henholdsvis Center 3 og 4. Den eneste umiddelbare forklaring på, at kon-



centrationen er under 1 µg/l, er, at forbruget i måleperioden har ligget under den PEC, der er beregnet på baggrund af det årlige forbrug. Den beregnede PEC for indløbet på RD er 2,4 µg/l. Her kan variationer i forbruget i oplandet have stor betydning for, om der detekteres amoxicillin eller ej, når detektionsgrænsen er så høj som 1 µg/l.

Mange lægemidler udskilles fra kroppen som transformerede metabolitter og/eller som konjugeret til hydrofile grupper. Dette kan være forklaringen på, at amoxicillin ikke kan detekteres i spildevandet fra HH og i RD. De konjugerede former bliver ofte i renseanlæg spaltet, og de originale molekyler gendannes og kan medføre højere koncentrationer i udløb end i indløb. Dette forhold kan ikke med den aktuelle detektionsgrænse bekræftes at være gældende for amoxicillin.

For renseanlæg, hvor slamalderen er op til 50 døgn, omsættes <10% af amoxicillin gennem biologisk nedbrydning, mens <10% adsorberes til slam, og ca. 90% af den indkomne mængde amoxicillin passerer udløbet /13/.

Tabel 6.9 Antibiotikakoncentrationer i rensed spildevand i forskellige lande (Frankrig (F), Grækenland (GR), Italien (I), Sverige (S), Tyskland (D), Storbritannien (UK), Canada (CAN) og USA samt Renseanlæg Damhusåen (RD). Koncentrationerne (µg/l) er anført som medium/maksimumværdier /11/.

| Antibiotika     | F, GR, I, S | D        | UK        | CAN       | USA       | RD      |
|-----------------|-------------|----------|-----------|-----------|-----------|---------|
| Sulfamethoxazol | 0,050/0,090 | 0,12/4,7 | <DG/0,130 | 0,24/0,87 | 1,4/2,0   |         |
| Sulfamethizol   |             |          |           |           |           | 1,4/2,2 |
| Trimethoprim    | 0,04/0,130  | 0,04/1,5 | 0,07/1,3  | 0,07/0,19 | 0,55/1,9  |         |
| Erythromycin    |             | 0,14/6,0 | <DG/1,8   | 0,08/0,84 | 0,27/0,3  | <0,2    |
| Ciprofloxacin   | 0,06/0,07   | <DG/0,14 |           | 0,12/0,4  | 0,17/0,86 | <0,1    |

DG = Detektionsgrænse.

### Ampicillin

Koncentrationen af ampicillin blev i middel målt til 4,5 µg/l i spildevandet fra Center 3 på HH, mens koncentrationen i to af de fire prøver lå under detektionsgrænsen i spildevandet fra Center 4. Ud fra forbruget af ampicillin forventes langt højere koncentrationer af ampicillin i spildevandet (henholdsvis ca. 230 og 190 µg/l fra de to centre).

Der er ikke i den gennemgåede litteratur fundet data for ampicillinkoncentrationer i hospitalsspildevand eller spildevand fra renseanlæg. Dette hænger sandsynligvis sammen med, at det generelt er svært at genfinde penicilliner i spildevand, fordi disse stoffer har en kort halveringstid (<1 døgn) i vandmiljøet /1/. Med en  $\log K_{ow} = 1,45$  forventes ampicillin ikke at være bioakkumulerbart.

Tabel 6.10 Fordelingskoefficienter for antibiotika mellem slam og vand ( $K_d$ ) og octanol-vand fordelingskoefficient ( $\log K_{ow}$ ). Stoffer med ( $\log K_{ow} > 3$ ) er potentielt bioakkumulerbare /12/.

| Antibiotika   | $K_d$ slam-vand | Log $K_d$ slam-vand | Log $K_{ow}$ |
|---------------|-----------------|---------------------|--------------|
| Sulfamethizol |                 |                     | 0,5          |
| Erythromycin  | 164,76          | 2,22                | 3,06         |
| Amoxicillin   | 1,06            | 0,03                | 0,87         |
| Ampicillin    |                 |                     | 1,45         |
| Ciprofloxacin | 416,9           | 2,62                | 0,4          |



### *Ciprofloxacin*

Gennemgående var koncentrationen af ciprofloxacin højere i spildevandet fra Center 3 (middelværdi 31,5 µg/l) sammenlignet med koncentrationen fra Center 4 (8,2 µg/l). De beregnede koncentrationer (PEC) var for de to centre henholdsvis 18,1 og 13,2 µg/l. Forskellene er dog ikke større end, at de vil kunne forklares ud fra variationer i forbruget over året. Ud fra de analyserede stofkoncentrationer kan MEC/PNEC beregnes til henholdsvis 1.577 og 410 for de to centre.

På et svensk hospital /11/, hvor der har været udtaget spildevandsprøver med fire timers mellemrum, blev det konstateret, at over en 24 timers prøvetagningsperiode varierede koncentrationen af ciprofloxacin og norfloxacin henholdsvis mellem 17,2 og 29,4 µg/l og 2,6 og 7,9 µg/l. Variationer i afledningen over døgnet har således betydning, og derfor bør der anvendes flowproportional prøvetagning.

I indløbet til RD var koncentrationen af ciprofloxacin i middel 0,27 µg/l, men koncentrationen i udløbet lå under detektionsgrænsen på 0,1 µg/l. Den beregnede PEC er lig med den målte koncentration, og derfor svarer MEC/PNEC til PEC/PNEC = 13,4 (se tabel 6.8).

I en finsk undersøgelse /13/, hvor der blev analyseret for ciprofloxacin i indløbet og udløbet fra 12 renselanlæg, blev der målt en middelværdi på 0,6 µg/l i indløbet. LOQ (Limit Of Quantification) var 163 ng/l. Minimumkoncentrationen lå under detektionsgrænsen, og maksimumkoncentrationen blev målt til 4,2 µg/l. De målte koncentrationer i indløbet til RD lå inden for dette interval. I den samme undersøgelse er oplyst, at 33% af ciprofloxacin udskilles uforandret fra kroppen, og at  $\log K_d = 4,2$ , hvilket indikerer, at ciprofloxacin binder sig til slam, men samtidig kan 30.000 mg opløses pr. liter. Dette er i overensstemmelse med den fjernelsesgrad, der blev observeret for RD, og den fjernelsesgrad på mere 80% der blev konstateret i den finske undersøgelse.

I en svejtsisk undersøgelse /13/ blev konstateret en fjernelse af fluoroquinoloner på 88-92%. Fjernelsen skyldtes hovedsagelig adsorption til slammet, idet  $12\% \pm 3\%$  af indløbsmængden blev genfundet i udløbet fra renselanlægget. Der blev genfundet  $83 \pm 14\%$  i slamfasen.

Koncentrationerne for ciprofloxacin i rensat spildevand, der er præsenteret i tabel 6.9, stemmer godt overens med, at der i udløbet fra RD ikke blev målt koncentrationer over detektionsgrænsen på 0,1 µg/l.

Sammenholdes de målte koncentrationer af ciprofloxacin med de beregnede koncentrationer ud fra forbruget, er der overensstemmelse mellem beregnede og analyserede koncentrationer. Dette indikerer, at det er muligt at benytte forbrugsdata til at følge udviklingen i belastningen med ciprofloxacin og vurdere den miljømæssige risiko, der er ved udledning af lægemiddelstoffet til vandområder.

Opgørelser over udviklingen i registrerede tilfælde af ciprofloxacin-resistens hos patienter og andelen af resistente *E. coli*, der er til stede i spildevandet fra et eller flere af centrene på HH sammenholdt med forbruget af ciprofloxacin, kan indgå i en sundhedsmæssig vurdering af spredningen af ciprofloxacin-resistens.



## 7 KONKLUSIONER

Dette projekt er udført i umiddelbar forlængelse af projektet om ”Kortlægning og vurdering af spildevand med antibiotika og resistente bakterier fra hospitaler – eksemplificeret ved Hvidovre Hospital” /1/. Det overordnede formål med projektet, som er rapporteret her, var at skaffe viden om sammenhængen mellem forbruget af antibiotika, andelen af resistente bakterier i spildevandet afledt fra to af HH’s centre samt koncentrationen af udvalgte antibiotika i spildevandet. Tilsvarende var det formålet for RD at verificere sammenhængen mellem forbruget af antibiotika i kloakoplandet, tilstedeværelsen af resistente bakterier og koncentrationer af antibiotika i ind- og udløb på RD.

Bearbejdningen af data vedrørende spildevandets sammensætning fra HH’s to centre (Center 3 og Center 4) samt ind- og udløb på RD har ført til følgende konklusioner:

### *Vandmængder og almindelige spildevandsparametre*

- De afledte vandmængder fra HH udgør ca. 0,5% af indløbsvandmængden på RD, mens belastningen med organisk stof (COD) udgør ca. 0,75% af belastningen i indløbet til RD
- Belastningen med organisk stof (COD) og suspenderet stof (SS) i spildevandet er generelt større fra de to centre end sammenlignet med almindeligt husspildevand

### *Resistensbestemmelser*

- Der forekommer resistente mikroorganismer over for alle de undersøgte antibiotika
- For alle de undersøgte antibiotikaresistenstyper ses samme tendens. Størst resistensforekomst på Center 3 og derefter faldende resistensforekomst på Center 4 til RD<sub>indløb</sub> og mindst i RD<sub>udløb</sub>
- Resistensandelen for de enkelte antibiotika synes i høj grad at være relateret til forbruget, og ændringer/tendenser i forbrugsmønsteret vil afspejle sig i resistensmønsteret
- I spildevand fra Center 3 er der fundet ampicillin-resistens hos *E. coli* i op til 86% af det totale indhold af *E. coli*
- Der ses udbredt erythromycin-resistens (50-60%) over for enterokokker i spildevand fra begge centre på HH
- Der er krydsresistens mellem erythromycin og de andre anvendte makrolider: azithromycin, clarithromycin og roxithromycin. Det betyder, at enterokokker, der er resistente over for stoffet erythromycin, også er resistente over for andre typer af erythromycin-præparater
- Der sker en væsentlig fjernelse (98-99%) af henholdsvis *E. coli* og enterokokker i RD
- Indholdet af totale *E. coli* i spildevand fra Hvidovre Hospital svarer til det forventede indhold i indløbet til danske renselanlæg
- Indholdet af totale enterokokker i spildevand fra HH ligger højere end i spildevand fra et boligområde samt i indløbsspildevand til renselanlæg
- Set i forhold til arbejdsmiljø og risikoen, som er forbundet med kloakarbejde, indeholder hospitalsspildevandet fra HH forhøjede koncentrationer af enterokokker, herunder erythromycin-resistente enterokokker. Andelen af resistente *E. coli* er også forhøjede i hospitalsspildevandet



### Antibiotika

- Der blev målt højere koncentrationer af sulfamethizol, ampicillin og ciprofloxacin i spildevandet fra Center 3 sammenlignet med Center 4. Dette stemmer overens med, at forbruget for alle tre antibiotika var størst på Center 3
- Middelkoncentrationen for ampicillin i spildevandet fra Center 3 var 4,5 µg/l og <0,1 µg/l for Center 4. De målte koncentrationer ligger langt under de beregnede koncentrationer af ampicillin i spildevandet fra Center 3 og 4 (ca. 230 og 190 µg/l). Da ampicillin er delvist bionedbrydeligt, kan dette være en af årsagerne til, at ampicillinkoncentrationerne er lavere sammenlignet med koncentrationerne beregnet ud fra forbrug
- Koncentrationerne af erythromycin og amoxicillin (detektionsgrænse 0,2 og 1 µg/l) lå i alle prøverne fra Center 3 og 4 samt ind- og udløb på RD under detektionsgrænserne. De beregnede koncentrationer for erythromycin og amoxicillin i spildevandet fra Center 4 var henholdsvis 1,3 og 28 µg/l. Forskellene mellem beregnede og målte koncentrationer tilskrives væsentligst nedbrydning af stofferne og variationer i forbruget
- For sulfamethizol og ciprofloxacin var det muligt at beregne MEC/PNEC for Center 3 og 4 (for sulfamethizol <1, for ciprofloxacin > 400) samt for ind- og udløb på RD (for sulfamethizol <1, for ciprofloxacin >13 for indløb). Desuden kunne MEC/PNEC beregnes for ampicillin for Center 3 (60) og udløbet på RD (1,33). Det vil sige, at i forhold til resistensdannelse i vandmiljøet er ampicillin det stof med den største risiko
- For ciprofloxacin var MEC/PNEC for Center 3 1,7 gange den beregnede værdi og for Center 4 0,6 gange den beregnede værdi. For indløbet til RD var MEC/PNEC = PEC/PNEC. Risikofaktoren PEC/PNEC ser ud til at være et brugbart mål i forhold til at vurdere risikoen for udviklingen af ciprofloxacin-resistente bakterier i spildevandet
- Ca. 90% af ciprofloxacin fjernes fra vandfasen på RD. Lægemiddelstoffet forventes at blive adsorberet til slam
- For ciprofloxacin er der en antydning af sammenhæng mellem andelen af resistente *E. coli* og den målte koncentration af ciprofloxacin i spildevandet i de fire målepunkter på HH og RD
- For sulfamethoxazol lå MEC/PNEC for Center 3 og 4 henholdsvis en faktor 10 og en faktor 17 under de beregnede PEC/PNEC-forhold, hvilket betyder en nedsat risiko for resistensdannelse i forhold til den beregnede risiko
- Beregninger viser, at for alle de analyserede antibiotika sulfamethizol, erythromycin, amoxicillin, ampicillin og ciprofloxacin kan koncentrationen af stofferne forventes at ligge over 0,01 µg/l ved udledning fra RD. Lægemiddelkoncentrationer på >0,01 µg/l er grænsen for, hvornår der ifølge EMEA-guidelinen skal gennemføres miljøvurdering af nye lægemidler. Detektionsgrænsen for alle de analyserede antibiotika var imidlertid højere end 0,01 µg/l. Det kan derfor ikke udelukkes, at lægemiddelstofferne forekommer i højere koncentrationer ved udledning fra RD
- Antibiotikaanalyserne er gennemført på filtrerede prøver undtagen prøver fra udløbet fra RD (SS-koncentration <10mg/l). Dette faktum gør, at totalkoncentrationen af antibiotika i spildevandet kan være højere end de analyserede koncentrationer viser. Generelt er der behov for forbedrede analysemetoder med lavere detektionsgrænser og mulighed for totalbestemmelser (måling af både opløste og adsorberede stoffer)



## 8 ANBEFALINGER

Anbefalinger skal både ses i lyset af resultaterne, der er præsenteret i denne rapport og rapporten ”Kortlægning og vurdering af spildevand med antibiotika og resistente bakterier fra hospitaler – eksemplificeret ved Hvidovre Hospital” /1/. Der blev i kortlægningsrapporten udpeget fire antibiotikahovedgrupper, som er kritiske i forhold til arbejdsmiljø og vandmiljøet samt kritiske i forhold til sygdomsbekæmpelse: De fire hovedgrupper er:

- Quinoloner (primært ciprofloxacin)
- Andre beta-lactam antibiotika (primært cefuroxim)
- Andre antibiotika (primært metronidazol og vancomycin)
- Aminoglycosider (primært gentamicin)

Som en underbygning af hvilke hovedgrupper og specifikke antibiotika der er kritiske, viste det gennemførte måleprogram, at det er muligt gennemføre analyser af ciprofloxacin i spildevand, der afspejler forbruget i RD’s opland og på HH. I de samme spildevandsprøver blev andelen af ciprofloxacin-resistente *E. coli* bestemt. På HH foregår der en registrering af antallet af ciprofloxacin-resistente isolater fra patienter.

Ciprofloxacin er et eksempel på et antibiotikum, hvor der har vist sig gode muligheder for, at stoffet kan anvendes som modelstof for hovedgruppen quinoloner. Andelen af ciprofloxacin, der anvendes på HH, er 25% af det samlede forbrug i oplandet, og derfor er det en væsentlig kilde til belastningen på RD.

Gentamicin er et antibiotikum, der udelukkende anvendes i hospitalssektoren. De mikrobiologiske undersøgelser viste, at gentamicin-resistente *E. coli* tilsyneladende overlever i spildevandet fra hospitaler og til renseanlæggets indløb og udløb.

Der forventes tilsvarende at være behov for – i forhold til regulering af andre kritiske hovedgrupper af antibiotika og lægemidler generelt – at identificere modelstoffer. I forhold til en regulering af hospitalers spildevand og indholdet af lægemiddelrester med PTB-egenskaber (Persistens, Toksicitet, Bioakkumulerbarhed) anbefales det at gennemføre to projekter under hovedoverskrifterne:

### *Pilotprojekt for opstilling af handlingsplaner for forbedring af spildevandskvalitet fra hospitaler*

Projektets formål er at konkretisere, hvordan hospitalerne kan reducere afledningen af miljø- og sundhedsskadelige stoffer/mikroorganismer. Projektet tager udgangspunkt i de specifikke parametre, som de hidtil gennemførte projekter har identificeret. Dvs. de udvalgte kritiske antibiotika og resistente patogene mikroorganismer samt de kirurgiske afdelinger, hvor der er det største forbrug af de kritiske antibiotika. Projektet udføres konkret i samarbejde med Hvidovre Hospital og Rigshospitalet. Projektet kan dermed benyttes som pilotprojekt for, hvordan hospitalerne i samarbejde med kommunerne kan forbedre hospitalernes spildevandskvalitet.

Pilotprojektet foreslås endvidere at omfatte opstilling af en liste over miljøskadelige lægemidler (dvs. lægemidler med PBT-egenskaber), som anvendes på hospitalerne. En sådan liste er et vigtigt værktøj til at forbedre spildevandskvaliteten via ændret ordinationspraksis. Det hidtidige arbejde har identificeret fire hovedgrupper af kritiske



antibiotika (og fem specifikke stoffer). Det foreslås, at denne liste – på baggrund af bl.a. svenske erfaringer – udvides til også at omfatte andre typer af miljøskadelige lægemidler. Listen kan anvendes til at ændre ordineringspraksis for de mest kritiske lægemidler i samarbejde med lægestaben. Dette arbejde kan ske parallelt med et lignende initiativ på Sønderborg Sygehus.

*Samarbejdsprojekt om udvikling af metoder til at karakterisere forbedringer af spildevandskvaliteten (egenkontrol)*

Når hospitalerne gennemfører ændringer, som kan forbedre spildevandskvaliteten, er det vigtigt at kunne måle forbedringerne. Målingerne skal både kunne anvendes af hospitalerne til at dokumentere forbedringerne og af kommunerne til at kontrollere afledningen. Der foreslås gennemført et samarbejdsprojekt med Hvidovre Hospital og Rigshospitalet, hvor en metode til at måle forbedringer af spildevandskvaliteten opstilles. Metoden kan omfatte beregnede estimater af medicinrester i spildevand på baggrund af forbrugsdata, spildevandsanalyser for resistente patogene mikroorganismer, analyser af indikator-lægemidler, dokumentation af ændrede arbejdsgange m.m. Projektet foreslås gennemført i forlængelse af ovenstående projekt om opstilling af handlingsplaner.



## 9 REFERENCER

- /1/ Lynettefællesskabet I/S  
*Kortlægning og vurdering af spildevand med antibiotika og resistente bakterier fra hospitaler – eksemplificeret ved Hvidovre Hospital*  
Rapport udarbejdet af DHI - Institut for Vand, Miljø og Sundhed. Marts 2007
- /2/ Lynettefællesskabet I/S  
*Måleprogram – antibiotikaresistens i spildevand fra sygehuse og boligområder*  
Rapport udarbejdet af DHI - Institut for Vand og Miljø og Statens Serum Institut.  
Februar 2004
- /3/ Lynettefællesskabet I/S  
*Estimering af mængder og koncentrationer af antibiotika afledt fra sygehuse og den primære sundhedssektor i Lynettefællesskabets kloakoplande*  
Rapport udarbejdet af DHI - Institut for Vand og Miljø. Marts 2005
- /4/ Lynettefællesskabet I/S  
*Visualisering af antibiotikabelastning og risiko for selektion af resistente bakterier – Dokumentation for databasen Antibiotics*  
Rapport udarbejdet af DHI – Institut for Vand og Miljø. Maj 2006
- /5/ Jakobsen, L.  
*Karakterisering og overførsel af gentamicin resistente Escherichia coli fra hospital til miljø*  
Specialerapport i biologi. Udarbejdet på SSI. Januar 2006
- /6/ Lynettefællesskabet I/S  
*Handlingsplaner for 2006 Begrænsning af afledning af miljø- og sundhedsskadelige stoffer til kloaknettet i Lynettefællesskabets opland*  
Rapport udarbejdet af DHI – Institut for Vand og Miljø. Marts. 2006
- /7/ Antibiotikapolitik 2005  
*Rationel anvendelse af antibiotika*  
Udarbejdet i af Klinisk Mikrobiologisk Afdeling 445, Hvidovre Hospital.  
<http://www.hvidovre-hospital.dk>
- /8/ WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology – Norwegian Institute of Public Health [www.whocc.no/atcddd/](http://www.whocc.no/atcddd/)
- /9/ Årsrapport 2005: Klinisk Mikrobiologisk afdeling 445, H:S Hvidovre Hospital, udgivet i juli 2006 på [www.hosp.dk](http://www.hosp.dk)
- /10/ Miljøstyrelsen  
*Miljøfremmede stoffer i husholdningsspildevand*  
Miljøprojekt nr. 357, 1007, 1997
- /11/ Kümmerer, Klaus (editor)  
*Pharmaceuticals in the Environment – Source, Fate, Effects and Risks*  
Springer Second edition, 2004



- /12/ Beausse, Johanne  
*Selected drugs in solid matrices: A review of environmental occurrence, determination and properties of principal substances*  
HORIZONTAL -26 pharmaceuticals, July 2004
- /13/ Ternes, Thomas A. and Adriano Joss (Editors)  
*Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances. The challenge of micropollutants in urban water management*  
IWA Publishing, 2006
- /14/ Miljøstyrelsen  
*Etablering af badevandsprofiler og varslingsystemer i henhold til EU's nye badevandsdirektiv*  
Miljøprojekt nr. 1101, 2006
- /15/ WHO  
*Guidelines for drinking-water quality*  
Third edition. Volume 1. WHO Geneva, 2004
- /16/ Miljøstyrelsen  
*Begrænsning af humane lægemiddelrester og antibiotikaresistens i spildevand med fokus på reduktion ved kilden*  
(Endnu ikke publiceret februar, 2007)
- /17/ European Medicine Agency  
*Pre-Authorisation Evaluation of Medicine for Human Use*  
Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medical Products for Human Use 01 June, 2006
- /18/ DANMAP 2005  
*Antibiotikaforbrug og -resistens*  
Årsrapport udarbejdet af Statens Serum Institut, Fødevarestyrelsen, Lægemiddelstyrelsen, Veterinærinstituttet og Fødevareinstituttet  
[www.danmap.org](http://www.danmap.org)



## **B I L A G A**

### ***Antibiotikaforbrug og afledte mængder fra Hvidovre Hospital Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4)***



| 2005 Center | Hovedgruppe                     | ATC-kode | Stofnavn                  | DDD             | LOAD g/år       |
|-------------|---------------------------------|----------|---------------------------|-----------------|-----------------|
| C 3         | <b>Tetracykliner</b>            | J01AA07  | Tetracycline              |                 |                 |
| C 3         |                                 | J01AA02  | Doxycycline               | 10              | 0,4             |
| C 3         |                                 | J01AA04  | Lymecycline               | 10              | 1,8             |
| C 3         | <b>Penicilliner</b>             | J01CA04  | Amoxicillin               | 960             | 768             |
| C 3         |                                 | J01CA11  | Mecillinam                | 19,998          | 15,59844        |
| C 3         |                                 | J01CA01  | Ampicillin                | 4508,75         | 7214            |
| C 3         |                                 | J01CE01  | Benzylpenicillin          | 604,967         | 1742,305        |
| C 3         |                                 | J01CF01  | Dicloxacillin             | 3972,5          | 7150,5          |
| C 3         |                                 | J01CF05  | Flucloxacillin            | 25              | 20              |
| C 3         |                                 | J01CR02  | Amoxicillin m/enz. Inhib. | 30              | 24              |
| C 3         |                                 | J01CE02  | Phenoxymethylpen.         | 3800,489        | 4560,587        |
| C 3         |                                 | J01CR05  | Piperacillin              | 225,156         | 2521,747        |
| C 3         |                                 | J01CA02  | Pivampicillin             | 652,956         | 514,2029        |
| C 3         |                                 | J01CA08  | Pivmecillinam             | 4546,622        | 2182,379        |
| C 3         | <b>Andre Beta-lactam</b>        | J01DF01  | Aztreonam                 |                 |                 |
| C 3         |                                 | J01DB01  | Cefalexin                 | 3,5             | 6,3             |
| C 3         |                                 | J01DD02  | Ceftazidim                | 39,375          | 141,75          |
| C 3         |                                 | J01DD04  | Ceftriaxon                | 25              | 35              |
| C 3         |                                 | J01DD01  | Cefotaxim                 | 80              | 192             |
| C 3         |                                 | J01DC02  | Cefuroxime                | 6993,332        | 3321,833        |
| C 3         |                                 | J01DH02  | Meropenem                 | 532,5           | 745,5           |
| C 3         | <b>Sulfonamid/Trimethoprim</b>  | J01EB02  | Sulfamethizol             | 362,5           | 870             |
| C 3         |                                 | J01EA01  | Trimethoprim              | 175             | 42              |
| C 3         |                                 | J01EE01  | Sulfamet/Trimet.          | 25              | 31,2            |
| C 3         | <b>Macrolider, Lincosamider</b> | J01FA10  | Azithromycin              | 27              | 0,648           |
| C 3         |                                 | J01FA09  | Clarithromycin            | 1086            | 108,6           |
| C 3         |                                 | J01FF01  | Clindamycin               | 18,828          | 11,86164        |
| C 3         |                                 | J01FA01  | Erythromycin              | 140             | 11,2            |
| C 3         |                                 | J01FA06  | Roxithromycin             | 180             | 5,4             |
| C 3         | <b>Aminoglycosider</b>          | J01GB03  | Gentamicin                | 2996,153        | 647,169         |
| C 3         |                                 | J01GB01  | Tobramycin                |                 |                 |
| C 3         |                                 | J01GB07  | Netilmicin                |                 |                 |
| C 3         | <b>Quinoloner</b>               | J01MA02  | Ciprofloxacin             | 3031,5          | 606,3           |
| C 3         |                                 | J01MA01  | Ofloxacin                 |                 |                 |
| C 3         |                                 | J01MA14  | Moxifloxacin              | 152             | 27,36           |
| C 3         | <b>Andre antibiotika</b>        | J01XC01  | Fusidic acid              | 619,316         | 2005            |
| C 3         |                                 | J01XX08  | Linezolid                 | 95              | 68,4            |
| C 3         |                                 | J01XD01  | Metronidazole             | 3104,967        | 1862,98         |
| C 3         |                                 | J01XE01  | Nitrofurantoin            | 325             | 36,4            |
| C 3         |                                 | J01XA02  | Teicoplanin               |                 |                 |
| C 3         |                                 | J01XA01  | Vancomycin                | 499             | 898,2           |
| C 3         |                                 | J01XX    | Methenamin                |                 |                 |
| C 3         | <b>Total</b>                    |          |                           | <b>39877,41</b> | <b>38390,62</b> |



| 2005 Center | Hovedgruppe                     | ATC-kode | Stofnavn                 | DDD             | LOAD g/y        |
|-------------|---------------------------------|----------|--------------------------|-----------------|-----------------|
| C 4         | <b>Tetracykliner</b>            | J01AA07  | Tetracycline             | 60              | 36              |
| C 4         |                                 | J01AA02  | Doxycycline              | 60              | 2,4             |
| C 4         |                                 | J01AA04  | Lymecycline              | 50              | 9               |
| C 4         | <b>Penicilliner</b>             | J01CA04  | Amoxicillin              | 540             | 432             |
| C 4         |                                 | J01CA11  | Mecillinam               | 19,998          | 15,59844        |
| C 4         |                                 | J01CA01  | Ampicillin               | 2510            | 4016            |
| C 4         |                                 | J01CE01  | Benzylpenicillin         | 1154,909        | 3326,138        |
| C 4         |                                 | J01CF01  | Dicloxacillin            | 2145,95         | 3862,71         |
| C 4         |                                 | J01CF05  | Flucloxacillin           |                 |                 |
| C 4         |                                 | J01CR02  | Amoxicillin m/enz.Inhib. | 662,5           | 530             |
| C 4         |                                 | J01CE02  | Phenoxymethylpen.        | 3558,49         | 4270,188        |
| C 4         |                                 | J01CR05  | Piperacillin             | 168,868         | 1891,322        |
| C 4         |                                 | J01CA02  | Pivampicillin            | 3264,771        | 2571,007        |
| C 4         |                                 | J01CA08  | Pivmecillinam            | 3173,303        | 1523,185        |
| C 4         | <b>Andre Beta-lactam</b>        | J01DF01  | Aztreonam                |                 |                 |
| C 4         |                                 | J01DB01  | Cefalexin                | 53,5            | 96,3            |
| C 4         |                                 | J01DD02  | Ceftazidim               | 11,25           | 40,5            |
| C 4         |                                 | J01DD01  | Cefotaxim                | 10              | 24              |
| C 4         |                                 | J01DD04  | Ceftriaxon               | 297,5           | 416,5           |
| C 4         |                                 | J01DC02  | Cefuroxime               | 5590,154        | 2655,323        |
| C 4         |                                 | J01DH02  | Meropenem                | 642,5           | 899,5           |
| C 4         | <b>Sulfonamid/Trimethoprim</b>  | J01EB02  | Sulfamethizole           | 450             | 525             |
| C 4         |                                 | J01EA01  | Trimethoprim             | 80              | 19,2            |
| C 4         |                                 | J01EE01  | Sulfamet/Trimet.         | 218,75          | 561,6           |
| C 4         | <b>Macrolider, Lincosamider</b> | J01FA10  | Azithromycin             | 459,33          | 11,02392        |
| C 4         |                                 | J01FA09  | Clarithromycin           | 127             | 12,7            |
| C 4         |                                 | J01FF01  | Clindamycin              | 28,311          | 17,83593        |
| C 4         |                                 | J01FA01  | Erythromycin             | 560             | 44,8            |
| C 4         |                                 | J01FA06  | Roxithromycin            | 220             | 6,6             |
| C 4         | <b>Aminoglucosider</b>          | J01GB03  | Gentamicin               | 530,101         | 114,5018        |
| C 4         |                                 | J01GB01  | Tobramycin               | 9,999           | 2,159784        |
| C 4         |                                 | J01GB07  | Netilmicin               |                 |                 |
| C 4         | <b>Quinoloner</b>               | J01MA02  | Ciprofloxacin            | 2311,642        | 462,5           |
| C 4         |                                 | J01MA01  | Ofloxacin                |                 |                 |
| C 4         |                                 | J01MA14  | Moxifloxacin             | 14              | 2,52            |
| C 4         | <b>Andre antibiotika</b>        | J01XC01  | Fusidic acid             | 82,316          | 1,23474         |
| C 4         |                                 | J01XX08  | Linezolid                | 15              | 10,8            |
| C 4         |                                 | J01XD01  | Metronidazole            | 1152,74         | 691,644         |
| C 4         |                                 | J01XE01  | Nitrofurantoin           | 175             | 19,6            |
| C 4         |                                 | J01XA02  | Teicoplanin              | 5,5             | 1,1             |
| C 4         |                                 | J01XA01  | Vancomycin               | 89              | 160,2           |
| C 4         | <b>Total</b>                    |          |                          | <b>30502,38</b> | <b>29282,69</b> |



## **B I L A G B**

### ***Data for spildevandspumper på Hvidovre Hospital***



## Driftstid for spildevandspumper på Hvidovre Hospital's Center 3 og 4

| 2006         | Center 1 |             |        |             | Center 2 |             |        |             | Center 3 |             |       |             | Center 4 |             |        |             | SIGN |
|--------------|----------|-------------|--------|-------------|----------|-------------|--------|-------------|----------|-------------|-------|-------------|----------|-------------|--------|-------------|------|
| DATO         | P1       | timer       | P2     | timer       | P1       | timer       | P2     | timer       | P1       | timer       | P2    | timer       | P1       | timer       | P2     | timer       |      |
| 29.09        | 1139     |             | 1532   |             | 4010     |             | 4668   |             | 709      |             | 795   |             | 839      |             | 1956   |             | PN   |
| 02.10        | 1140     | 1           | 1533   | 1           | 4012     | 2           | 4670   | 2           | 711      | 2           | 797   | 2           | 842      | 3           | 1959   | 3           | PN   |
| 06.10        | 1141     | 1           | 1534   | 1           | 4014     | 2           | 4672   | 2           | 713      | 2           | 798   | 1           | 844      | 2           | 1961   | 2           | PN   |
| 09.10        | 1141,7   | 0,7         | 1534,7 | 0,7         | 4015,2   | 1,2         | 4673,7 | 1,7         | 714,2    | 1,2         | 799,9 | 1,9         | 845,9    | 1,9         | 1963,4 | 2,4         | TA   |
| 13.10        | 1142,6   | 0,9         | 1535,6 | 0,9         | 4016,9   | 1,7         | 4675,4 | 1,7         | 716,1    | 1,9         | 801,6 | 1,7         | 848,6    | 2,7         | 1966,2 | 2,8         | TA   |
| 16.10        | 1143,1   | 0,5         | 1536,1 | 0,5         | 4018,1   | 1,2         | 4676,8 | 1,4         | 717,4    | 1,3         | 802,7 | 1,1         | 850,1    | 1,5         | 1967,9 | 1,7         | BL   |
| 20.10        | 1143,8   | 0,7         | 1536,8 | 0,7         | 4019,6   | 1,5         | 4678,8 | 2           | 719      | 1,6         | 804,1 | 1,4         | 852,3    | 2,2         | 1970,4 | 2,5         | BL   |
| 23.10        | 1144,5   | 0,7         | 1537,5 | 0,7         | 4020,5   | 0,9         | 4679,8 | 1           | 720,1    | 1,1         | 805,2 | 1,1         | 853,7    | 1,4         | 1971,8 | 1,4         | JA   |
| 24.10        | 1144,7   | 0,2         | 1537,7 | 0,2         | 4021     | 0,5         | 4680,4 | 0,6         | 720,5    | 0,4         | 805,6 | 0,4         | 854,3    | 0,6         | 1972,5 | 0,7         | JA   |
| 25.10        | 1145     | 0,3         | 1538   | 0,3         | 4021,5   | 0,5         | 4681   | 0,6         | 720,9    | 0,4         | 806   | 0,4         | 854,9    | 0,6         | 1973,1 | 0,6         | JA   |
| 26.10        | 1145,2   | 0,2         | 1538,2 | 0,2         | 4021,9   | 0,4         | 4681,6 | 0,6         | 721,3    | 0,4         | 806,4 | 0,4         | 855,5    | 0,6         | 1973,7 | 0,6         | JA   |
| 27.10        | 1145,4   | 0,2         | 1538,4 | 0,2         | 4022,2   | 0,3         | 4682   | 0,4         | 721,6    | 0,3         | 806,7 | 0,3         | 856,1    | 0,6         | 1974,3 | 0,6         | JA   |
| 28.10        | 1145,7   | 0,3         | 1538,6 | 0,2         | 4022,5   | 0,3         | 4682,8 | 0,8         | 722,2    | 0,6         | 807,2 | 0,5         | 856,9    | 0,8         | 1974,9 | 0,6         | JA   |
| 29.10        | 1145,9   | 0,2         | 1538,8 | 0,2         | 4022,9   | 0,4         | 4683   | 0,2         | 722,4    | 0,2         | 807,4 | 0,2         | 857,1    | 0,2         | 1975,3 | 0,4         | JA   |
| 30.10        | 1146,1   | 0,2         | 1539   | 0,2         | 4023,3   | 0,4         | 4683,4 | 0,4         | 722,7    | 0,3         | 807,9 | 0,5         | 857,6    | 0,5         | 1975,9 | 0,6         | FB   |
| 31.10        | 1146,2   | 0,1         | 1539,1 | 0,1         | 4023,6   | 0,3         | 4683,8 | 0,4         | 723      | 0,3         | 808,4 | 0,5         | 858,2    | 0,6         | 1976,5 | 0,6         | FB   |
| 01.11        | 1146,5   | 0,3         | 1539,3 | 0,2         | 4023,9   | 0,3         | 4684,3 | 0,5         | 723,4    | 0,4         | 808,8 | 0,4         | 858,8    | 0,6         | 1977   | 0,5         | FB   |
| 02.11        | 1146,7   | 0,2         | 1539,5 | 0,2         | 4024,3   | 0,4         | 4684,7 | 0,4         | 723,8    | 0,4         | 809,5 | 0,7         | 859,4    | 0,6         | 1977,8 | 0,8         | FB   |
| 03.11        | 1146,8   | 0,1         | 1539,7 | 0,2         | 4024,9   | 0,6         | 4685,3 | 0,6         | 724,3    | 0,5         | 810,1 | 0,6         | 860      | 0,6         | 1978,5 | 0,7         | FB   |
| 04.11        | 1146,9   | 0,1         | 1539,9 | 0,2         | 4025,1   | 0,2         | 4685,7 | 0,4         | 724,5    | 0,2         | 810,4 | 0,3         | 860,4    | 0,4         | 1978,9 | 0,4         | FB   |
| 05.11        | 1147     | 0,1         | 1540   | 0,1         | 4025,3   | 0,2         | 4686,1 | 0,4         | 724,7    | 0,2         | 810,7 | 0,3         | 860,8    | 0,4         | 1979,3 | 0,4         | FB   |
| 06.11        | 1147,3   | 0,3         | 1540,2 | 0,2         | 4025,8   | 0,5         | 4686,7 | 0,6         | 725,1    | 0,4         | 811,2 | 0,5         | 861,3    | 0,5         | 1980   | 0,7         | JJ   |
| 13.11        | 1148,9   | 1,6         | 1541,8 | 1,6         | 4028,2   | 2,4         | 4689,8 | 3,1         | 727,7    | 2,6         | 814,4 | 3,2         | 865,1    | 3,8         | 1984,6 | 4,6         | PN   |
| 20.11        | 1150,2   | 1,3         | 1543,1 | 1,3         | 4030,7   | 2,5         | 4693   | 3,2         | 730,2    | 2,5         | 817,5 | 3,1         | 868,6    | 3,5         | 1988,4 | 3,8         | PN   |
| 27.11        | 1151,7   | 1,5         | 1544,6 | 1,5         | 4033,1   | 2,4         | 4696,9 | 3,9         | 732,4    | 2,2         | 820,5 | 3           | 871,7    | 3,1         | 1991,9 | 3,5         | TA   |
| <b>I ALT</b> |          | <b>12,7</b> |        | <b>12,6</b> |          | <b>23,1</b> |        | <b>28,9</b> |          | <b>23,4</b> |       | <b>25,5</b> |          | <b>32,7</b> |        | <b>35,9</b> |      |



## **B I L A G C**

### ***Data for prøvetagning på Hvidovre Hospital og Renseanlæg Damhusåen***



## Prøvetagningsdata for spildevand - Hvidovre Hospital 2006

| Hvidovre Hospital 2006 Pumpesump |             |             |                             |               |                   |             |          |                       |
|----------------------------------|-------------|-------------|-----------------------------|---------------|-------------------|-------------|----------|-----------------------|
| Center 3                         |             |             |                             |               |                   |             |          |                       |
| Identifikation                   | Start       | Slut        | Beregnet prøvevolumen liter | Udtaget liter | Frekvens minutter | Delprøve ml | Temp. °C | Bemærkning            |
| HH3 2006-01                      | 30-10 13:15 | 31-10 13:05 | 6,2                         | 6,5           | 15,0              | 65          | 20,5     | OK                    |
| HH3 2006-02                      | 31-10 13:05 | 01-11 13:10 | 6,2                         | 6,5           | 15,0              | 65          | 20,7     | OK                    |
| HH3 2006-03                      | 06-11 12:47 | 07-11 12:52 | 6,2                         | 6,0           | 15,0              | 65          | 20,5     | OK                    |
| HH3 2006-04                      | 07-11 13:02 | 08-11 12:49 | 6,2                         | 6,0           | 15,0              | 65          | 19,8     | OK                    |
| Center 4                         |             |             |                             |               |                   |             |          |                       |
| HH4 2006-01                      | 30-10 13:25 | 31-10 13:30 | 6,8                         | 2,5           | 15,0              | 70          | 20,0     | Slange-tilstopning    |
| HH4 2006-02                      | 31-10 13:30 | 01-11 13:20 | 6,8                         | 6,0           | 15,0              | 70          | 20,3     | OK                    |
| HH4 2006-03                      | 06-11 13:04 | 07-11 13:02 | 6,8                         | 6,5           | 15,0              | 70          | 21,2     | OK                    |
| HH4 2006-04                      | 07-11 13:02 | 08-11 13:15 | 6,8                         | 2,5           | 15,0              | 70          | 21,1     | Prøvetager gået i stå |
| HH4 2006-05                      | 08-11 13:15 | 09-11 13:15 | 7,2                         | 7,0           | 15,0              | 75          | 21,5     | OK                    |

## Almindelige spildevandsparametre for Center 3 og 4

| Spildevandspumpesump Center 3 |      |             |            |             |
|-------------------------------|------|-------------|------------|-------------|
| Identifikation                | pH   | COD<br>mg/l | SS<br>mg/l | VSS<br>mg/l |
| HH3 2006-01                   | 7,95 | 553         | 215        | 199         |
| HH3 2006-02                   | 7,9  | 441         | 169        | 148         |
| HH3 2006-03                   | 8,08 | 396         | 248        | 234         |
| HH3 2006-04                   | 8,15 | 454         | 203        | 187         |
| Spildevandspumpesump Center 4 |      |             |            |             |
| HH4 2006-01                   | 8,33 | 1154        | 640        | 607         |
| HH4 2006-02                   | 8,29 | 523         | 236        | 215         |
| HH4 2006-03                   | 8,7  | 625         | 414        | 388         |
| HH4 2006-04                   | 8,75 | 1059        | 893        | 848         |
| HH4 2006-05                   | 7,99 | 733         | 296        | 284         |



### ***Indløbsdata for Renseanlæg Damhusåen***

| <b>Dato</b> | <b>Tilløb<br/>m<sup>3</sup>/d</b> | <b>COD<br/>mg/l</b> | <b>BOD<br/>mg/l</b> | <b>Total-N<br/>mg/l</b> | <b>Total-P<br/>mg/l</b> | <b>SS<br/>mg/l</b> |
|-------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------|
| 30-10-2006  | 88.189                            |                     |                     |                         |                         |                    |
| 31-10-2006  | 169.567                           | 330                 | 160                 | 23                      | 4                       | 220                |
| 06-11-2006  | 77.363                            |                     |                     |                         |                         |                    |
| 07-11-2006  | 70.540                            | 400                 | 190                 | 37                      | 6                       | 220                |

### ***Udløbsdata for Renseanlæg Damhusåen***

| <b>Dato</b> | <b>Udløb<br/>m<sup>3</sup>/d</b> | <b>COD<br/>mg/l</b> | <b>BOD<br/>mg/l</b> | <b>Total-N<br/>mg/l</b> | <b>Total-P<br/>mg/l</b> | <b>SS<br/>mg/l</b> |
|-------------|----------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------|
| 30-10-2006  | 89.707                           |                     |                     |                         |                         |                    |
| 31-10-2006  | 126.683                          | 28                  | <0,3                | 5,3                     | 0,8                     | 7                  |
| 06-11-2006  | 78.965                           |                     |                     |                         |                         |                    |
| 07-11-2006  | 74.507                           | 18                  | 0,6                 | 4,1                     | 0,3                     | 5                  |



## **B I L A G D**

### ***Resistensbestemmelse – protokol og analyseresultater***



## Intern rapportering

B-59,60,61 og 64-06

Prøver til bestemmelse af resistens modtaget af JOH fra OLP. Dato for modtagelse fremgår af nedenstående resultatskema.

Bestemmelse af resistens mod ampicillin, ciprofloxacin og gentamycin hos suspekterede *E. coli* og Erythromycin hos Enterokokker.


Metode: Se bilag.

Resultater: Se omstående resultattabeller

### Bemærkning:

I resultat tabellen er antallet af suspekterede *E. coli* angivet som totalt antal. En del af de talte bakterier har et grønt metallisk skær, hvilket er en indikation af, at der er tale om *E. coli*. Disse er angivet som antal med grønt skær. Endvidere er difference mellem de 2 angivet som laktosepositive uden grønt skær. For udvalgte prøver er andelen af de laktosepositive coliforme bakterier der er *E. coli* angivet i resultat tabellen. De laktose positive der ikke er *E. coli* tilhører formentlig Enterobakter og Klebsiella.

Prøverne modtaget den 7-11 og 8-11 blev udsået på en agar, der blev produceret 6-11. Det viste sig, at den følsomme kontrol stamme voksede på denne agar. Prøverne modtaget den 8-11 blev derfor yderligere sået ud på agaren produceret den 30/10. Den følsomme kontrol voksede ikke på agaren produceret, den 30/10. Bestemmelsen af antallet af eryt resistente på prøverne den 7-11 er derfor ikke anvendelige. I stedet er antallet af eryt-resistente suspekterede enterokokker estimeret på baggrund af analysen udført på prøver udført den 8-11.

  
Claus Jørgensen

  
Jørgen Hansen

|  | dato modtaget   | EMB   | Ampi      | Cipro | Genta | Slanetz | Erythro-mycin          |
|--|-----------------|-------|-----------|-------|-------|---------|------------------------|
| <b>Totalt antal (pr. ml)</b>                       |                 |       |           |       |       |         |                        |
| WPT 53918 HH3-2006-1 30-31/10 06                   | 31-10-2006      | 25000 | 17000     | 5000  | 25    | 52000   | 26000                  |
| WPT 53918 HH4-2006-1 30-31/10 06                   | 31-10-2006      | 29000 | 2500      | 150   | 20    | 780000  | 100000                 |
| WPT 53918 DAMI-2006-1 30-31/10 06 Indløb Damhusåen | 31-10-2006      | 34000 | 6800      | 400   | 25    | 24000   | 950                    |
| WPT 53918 DAMI-2006-1 30-31/10 06 Indløb Damhusåen | 31-10-2006      | 35000 | 5100      | 480   | 23    | 32000   | 840                    |
| WPT 53918 DAMU-2006-1 30-31/10 06 Udløb Damhusåen  | 31-10-2006      | 290   | 46        | 5     | 2     | 88      | 11                     |
|  |                 |       |           |       |       |         |                        |
| <b>Antal med grønt skær (pr. ml)</b>               |                 |       |           |       |       |         |                        |
| WPT 53918 HH3-2006-1 30-31/10 06                   | 31-10-2006      | 10000 | 150       | 2000  | <1    |         | 1) % <i>E. coli</i> 70 |
| WPT 53918 HH4-2006-1 30-31/10 06                   | 31-10-2006      | 12000 | 680       | <10   | 1     |         |                        |
| WPT 53918 DAMI-2006-1 30-31/10 06 Indløb Damhusåen | 31-10-2006      | 8600  | 960       | 68    | 10    |         |                        |
| WPT 53918 DAMI-2006-1 30-31/10 06 Indløb Damhusåen | 31-10-2006      | 10000 | 1000      | 41    | 12    |         |                        |
| WPT 53918 DAMU-2006-1 30-31/10 06 Udløb Damhusåen  | 31-10-2006      | 68    | 7         | <1    | 2     |         |                        |
|  |                 |       |           |       |       |         |                        |
| <b>Laktose positive uden grønt skær (pr. ml)</b>   |                 |       |           |       |       |         |                        |
| WPT 53918 HH3-2006-1 30-31/10 06                   | 31-10-2006      | 15000 | 16850     | 3000  | 25    |         | 80                     |
| WPT 53918 HH4-2006-1 30-31/10 06                   | 31-10-2006      | 17000 | 1820      | 150   | 19    |         |                        |
| WPT 53918 DAMI-2006-1 30-31/10 06 Indløb Damhusåen | 31-10-2006      | 25400 | 5840      | 332   | 15    |         |                        |
| WPT 53918 DAMI-2006-1 30-31/10 06 Indløb Damhusåen | 31-10-2006      | 25000 | 4100      | 439   | 11    |         |                        |
| WPT 53918 DAMU-2006-1 30-31/10 06 Udløb Damhusåen  | 31-10-2006      | 222   | 39        | 5     | 0     |         |                        |
| QC:  |                 |       |           |       |       |         |                        |
| Kontrolstamme                                      | + angiver vækst |       |           |       |       |         |                        |
| DS16C-1  | slanetz eryt    |       |           |       |       |         |                        |
| ATCC 29212   | + +             |       | resistent |       |       |         |                        |
| ATCC 25922   | + EMB           |       | Følsom    |       |       |         |                        |
|  | + Ampicilin     |       | Cipro     |       |       |         |                        |
|  | + genta         |       | genta     |       |       |         |                        |
|  | + følsom        |       | følsom    |       |       |         |                        |

1) Andel af Oxidase neg. gas dannelse i L.T.S. bouillon, Indol positive kolonier isoleret fra EMB uden antibiotikum. (6.-10 isolater)



|  | dato<br>modtaget | EMB        | Ampi      | Cipro | Genta  | Slanetz | Erythro-<br>mycin |
|--|------------------|------------|-----------|-------|--------|---------|-------------------|
| <b>Totalt antal (pr. ml)</b>                         |                  |            |           |       |        |         |                   |
| WPT 53918 HH3-2006-2.31/10-1/11.06 OLP               | 01-11-2006       | 80000      | 69000     | 4600  | 290    | 680000  | 56000             |
| WPT 53918 HH4-2006-2.31/10-1/11.06 OLP               | 01-11-2006       | 32000      | 4000      | 380   | 11     | 460000  | 250000            |
| WPT 53918 DAMI-2006-2.31/10-1/11.06 Indløb Damhusåen | 01-11-2006       | 48000      | 6000      | 540   | 35     | 20000   | 830               |
| WPT 53918 DAMU-2006-2.31/10-1/11.06 Udløb Damhusåen  | 01-11-2006       | 39000      | 4700      | 420   | 35     | 19000   | 1200              |
|  | 01-11-2006       | 580        | 81        | 10    | 1      | 160     | 13                |
| <b>Antal med grønt skær (pr. ml)</b>                 |                  |            |           |       |        |         |                   |
| WPT 53918 HH3-2006-2.31/10-1/11.06 OLP               | 01-11-2006       | 21000      | 18000     | 1600  | 120    |         |                   |
| WPT 53918 HH4-2006-2.31/10-1/11.06 OLP               | 01-11-2006       | 13000      | 550       | < 10  | < 1    |         |                   |
| WPT 53918 DAMI-2006-2.31/10-1/11.06 Indløb Damhusåen | 01-11-2006       | 12000      | 1200      | 95    | 11     |         |                   |
| WPT 53918 DAMU-2006-2.31/10-1/11.06 Udløb Damhusåen  | 01-11-2006       | 12000      | 1000      | 50    | 14     |         |                   |
|  | 01-11-2006       | 170        | 13        | 2     | 1      |         |                   |
| <b>Laktose positive uden grønt skær (pr. ml)</b>     |                  |            |           |       |        |         |                   |
| WPT 53918 HH3-2006-2.31/10-1/11.06 OLP               | 01-11-2006       | 59000      | 51000     | 3000  | 170    |         |                   |
| WPT 53918 HH4-2006-2.31/10-1/11.06 OLP               | 01-11-2006       | 19000      | 3450      | 380   | 11     |         |                   |
| WPT 53918 DAMI-2006-2.31/10-1/11.06 Indløb Damhusåen | 01-11-2006       | 36000      | 4800      | 445   | 24     |         |                   |
| WPT 53918 DAMU-2006-2.31/10-1/11.06 Udløb Damhusåen  | 01-11-2006       | 27000      | 3700      | 370   | 21     |         |                   |
| QC:  | 01-11-2006       | 410        | 68        | 8     | 0      |         |                   |
|  | + angiver vækst  |            |           |       |        |         |                   |
| Kontrolstamme  | slanetz          | eryt       |           |       |        |         |                   |
| DS16C-1  | +                | -          | resistent |       |        |         |                   |
| ATCC 29212   | +                | -          | Følsom    |       |        |         |                   |
| ATCC 25922   | EMB              | Ampicillin | Cipro     | genta |        |         |                   |
|  | +                | -          | -         | genta | følsom |         |                   |



|   | dato modtaget   | EMB       | Ampi       | Cipro | Genta     | Slanetz | 2) Erythro-mycin    | 3) Eryt Estimeret |
|---|-----------------|-----------|------------|-------|-----------|---------|---------------------|-------------------|
| <b>Totalt antal (pr. ml)</b>                        |                 |           |            |       |           |         |                     |                   |
| WPT 53918 HH3-2006-03 6-7/11 2006 OLP               | 07-11-2006      | 52000     | 25000      | 16000 | 6         | 350000  | 310000              | 131154            |
| WPT 53918 HH4-2006-03 6-7/11 2006 OLP               | 07-11-2006      | 77000     | 12000      | 670   | 5         | 65000   | 63000               | 37385             |
| WPT 53918 DAMI-2006-03 6-7/11 2006 Indløb Damhusåen | 07-11-2006      | 70000     | 8700       | 780   | 31        | 20000   | 18000               | 1523              |
| WPT 53918 DAMI-2006-03 6-7/11 2006 Indløb Damhusåen | 07-11-2006      | 60000     | 7600       | 910   | 33        | 17000   | 1600                | 135               |
| WPT 53918 DAMU-2006-03 6-7/11 2006 Udløb Damhusåen  | 07-11-2006      | 780       | 100        | 8     | 1         | 185     | 180                 | 11                |
| <b>Antal med grønt skær (pr. ml)</b>                |                 |           |            |       |           |         |                     |                   |
| WPT 53918 HH3-2006-03 6-7/11 2006 OLP               | 07-11-2006      | 3000      | < 1000     | < 100 | < 1       |         | 1) % <i>E. coli</i> | 100               |
| WPT 53918 HH4-2006-03 6-7/11 2006 OLP               | 07-11-2006      | 16000     | 2400       | 20    | < 1       |         |                     | 100               |
| WPT 53918 DAMI-2006-03 6-7/11 2006 Indløb Damhusåen | 07-11-2006      | 14000     | 870        | 82    | 7 til 13  |         |                     | 90                |
| WPT 53918 DAMI-2006-03 6-7/11 2006 Indløb Damhusåen | 07-11-2006      | 13000     | 1000       | 82    | 3         |         |                     | 70                |
| WPT 53918 DAMU-2006-03 6-7/11 2006 Udløb Damhusåen  | 07-11-2006      | 190       | 4          | 1     | < 1       |         |                     |                   |
| <b>Laktose positive uden grønt skær (pr. ml)</b>    |                 |           |            |       |           |         |                     |                   |
| WPT 53918 HH3-2006-03 6-7/11 2006 OLP               | 07-11-2006      | 49000     | 25000      | 16000 | 6         |         |                     | 60                |
| WPT 53918 HH4-2006-03 6-7/11 2006 OLP               | 07-11-2006      | 61000     | 9600       | 650   | 5         |         |                     | 70                |
| WPT 53918 DAMI-2006-03 6-7/11 2006 Indløb Damhusåen | 07-11-2006      | 56000     | 7830       | 698   | 20 til 26 |         |                     | 100               |
| WPT 53918 DAMI-2006-03 6-7/11 2006 Indløb Damhusåen | 07-11-2006      | 47000     | 6600       | 828   | 30        |         |                     |                   |
| WPT 53918 DAMU-2006-03 6-7/11 2006 Udløb Damhusåen  | 07-11-2006      | 590       | 96         | 7     | 1         |         |                     | 60                |
| QC:   |                 |           |            |       |           |         |                     |                   |
| Kontrolstamme                                       | + angiver vækst |           |            |       |           |         |                     |                   |
| DS16C-1   | slanetz         | eryt      |            |       |           |         |                     |                   |
| ATCC 29212  | +               | +         | resistent  |       |           |         |                     |                   |
|   | +               | +         | Følsom     |       |           |         |                     |                   |
| ATCC 25922  | EMB             | Ampicilin | Cipro      | genta |           |         |                     |                   |
|   | +               | -         | svag vækst | -     | følsom    |         |                     |                   |

2) Vækst af positiv kontrol. Resultat ikke anvendeligt. Senere undersøgelse viste reduceret antibakteriel aktivitet i de anvendte plader.

3) Estimeret fra forholdet mellem antallet af resistente på agar fra 30/10 og 6/11 som målt i prøver modtaget den 8-11-2006







## Bilag:

### Protokol for bestemmelse af resistens mod ampicillin og ciprofloxacin hos suspekterede *Escherichia coli*.

#### Definition

Suspekterede "E. coli" defineres som mørke/sorte/grønt skinnende kolonier på EMB efter inkubation ved 44 °C ± 0,5 °C i 18-24 timer. *E. coli* er oxidase negative, indol positive stammer der producerer gas i Laurylsulfat bouillon.

#### Prøvetagning og transport

Prøveflasken må ikke fyldes helt så prøven kan homogeniseres ved udrystning. Prøverne opbevares koldt (< 5 °C) indtil de analyseres (inden 24 timer).

#### Reagenser:

Pepton-saltvand (ISO8199:1988)  
Pepton 1,0 g, natriumklorid 8,5 g

EMB (Oxoid) med og uden antibiotika. (Agar tilsættes 7 mg/l af fungicidet cyclohexamid (Fluka) for at hæmme vækst af svampe.

#### Udførelse

Der laves 10-fold fortyndingsrække  
Der spredes 0,1 ml af prøve og fortyndinger af prøve i dublikat på EMB uden antibiotika.  
Der spredes 0,1 ml af prøve og fortyndinger af prøve i dublikat på EMB tilsat ampicillin (30 µg/ml), Ciprofloxacin (3 mg/l) Gentamicin (10 mg/l). Der spredes yderligere 1 ml på 14 cm plade.

Plader inkuberes ved 44 °C i 20-22 timer.

Alle mørke/sorte kolonier tælles som suspekterede E. coli.

På udvalgte prøver bestemmes andelen af *E. coli* på grønne skinnende kolonier og laktose positive ikke grønne skinnende kolonier.

Andelen af suspekterede E. coli der vokser på agar med antibiotika beregnes.

Fra

#### Kontroller

*E. coli* ATCC 25922 er følsom for Ampicillin (MIC = 2 – 8 mg/l) Ciprofloxacin (MIC < 0,015 mg/l) Gentamicin (MIC = ?) er anvendt som positiv kontrol.



## Protokol for bestemmelse af resistens mod erythromycin hos enterococcer

### **Definition**

Enterokker defineres her som bakterier der ved  $44\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$  kan vokse på Slanetz & Bartley Agar (Oxoid) under reduktion af TTC. Der gennemføres normalt ikke yderligere verifikation.

### **Prøvetagning og transport**

Prøveflasken må ikke fyldes helt så prøven kan homogeniseres ved udstyrning. Prøverne opbevares koldt ( $< 5\text{ °C}$ ) indtil de analyseres (inden 24 timer).

### **Reagenser:**

Pepton-saltvand (ISO8199:1988)  
Pepton 1,0 g, natriumklorid 8,5 g

Slanetz & Bartley (Oxoid) med og uden antibiotika.

### **Udførelse**

Der modtages spildevandsprøver fra WPT i flasker. Flaskerne er ikke helt fyldt.

Der laves 10-fold fortyndingsrække

Der spredes 0,1 ml af prøve og fortyndinger af prøve i dublikat på Slanetz Agar uden antibiotika.

Der spredes 0,1 ml af prøve og fortyndinger af prøve i dublikat på Slanetz agar erythromycin (16  $\mu\text{g/ml}$ ). Der spredes yderligere 1 ml på 14 cm Slanetz agar plade med erythromycin (16  $\mu\text{g/ml}$ ).

Plader inkuberes ved  $44\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$  i  $44 \pm 4$  timer.

Alle kolonier, der vokser frem, tælles.

Andelen af "Enterokker" der vokser på agar med antibiotika beregnes.

### **Kontroller**

*Enterococcus faecalis* DS16C-1 som er resistent over for Erythromycin (MIC = ?? mg/l) anvendes som negativ kontrol. Leveret af SSI.

*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 er følsom for Erythromycin (MIC = ?? mg/l) anvendes som positiv kontrol.



## **B I L A G E**

### ***Bearbejdede resistensdata og figurer***



Det totale antal *E. coli* og antallet af ampicillin-resistente *E. coli* i spildevand fra Hvidovre Hospital's (HH) Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4) samt i Renseanlæg Damhusåens (RD) ind- og udløb. Andel resistente *E. coli* i forhold til det totale antal er angivet i %. Enhed CF U/ml.

| <i>E. coli</i> | HH - Center 3 |            | HH - Center 4 |            | Indløb RD |            | Udløb RD |            |
|----------------|---------------|------------|---------------|------------|-----------|------------|----------|------------|
|                | Total         | Ampicillin | Total         | Ampicillin | Total     | Ampicillin | Total    | Ampicillin |
| 30. okt. 2006  | 25.000        | 17.000     | 29.000        | 2.500      | 34.500    | 5.950      | 290      | 46         |
| 31. okt. 2006  | 80.000        | 69.000     | 32.000        | 4.000      | 43.500    | 5.350      | 580      | 81         |
| 6. nov. 2006   | 52.000        | 25.000     | 77.000        | 12.000     | 65.000    | 8.150      | 780      | 100        |
| 7. nov. 2006   | 21.000        | 12.000     | 73.000        | 13.000     | 112.500   | 15.000     | 750      | 89         |
| Middel         | 44.500        | 30.750     | 52.750        | 7.875      | 63.875    | 8.612,5    | 600      | 79         |
| Min.           | 21.000        | 12.000     | 29.000        | 2.500      | 34.500    | 5.350      | 290      | 46         |
| Max.           | 80.000        | 69.000     | 77.000        | 13.000     | 112.500   | 15.000     | 780      | 100        |
| Resistens %    |               | 48-86      |               | 8,6-17     |           | 12-17      |          | 12-16      |

Det totale antal *E. coli* og antallet af ciprofloxacin-resistente *E. coli* i spildevand fra Hvidovre Hospital's (HH) Center 3 (C 3) og Center (C 4) samt i Renseanlæg Damhusåens (RD) ind- og udløb. Andel resistente *E. coli* i forhold til det totale antal er angivet i %. Enhed CFU/ml.

| <i>E. coli</i> | HH - Center 3 |               | HH - Center 4 |               | Indløb RD |               | Udløb RD |               |
|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------|---------------|----------|---------------|
|                | Total         | Ciprofloxacin | Total         | Ciprofloxacin | Total     | Ciprofloxacin | Total    | Ciprofloxacin |
| 30. okt. 2006  | 25.000        | 5.000         | 29.000        | 150           | 34.500    | 440           | 290      | 5             |
| 31. okt. 2006  | 80.000        | 4.600         | 32.000        | 380           | 43.500    | 480           | 580      | 10            |
| 6. nov. 2006   | 52.000        | 16.000        | 77.000        | 670           | 65.000    | 845           | 780      | 8             |
| 7. nov. 2006   | 21.000        | 7.900         | 73.000        | 100           | 112.500   | 885           | 750      | 5             |
| Middel         | 44.500        | 8.375         | 52.750        | 325           | 63.875    | 662,5         | 600      | 7             |
| Min.           | 21.000        | 4.600         | 29.000        | 100           | 34.500    | 440           | 290      | 5             |
| Max.           | 80.000        | 16.000        | 77.000        | 670           | 112.500   | 885           | 780      | 10            |
| Resistens %    |               | 5,8-38        |               | 0,1-1,2       |           | 0,8- 1,3      |          | 1,0-1,7       |



Det totale antal *E. coli* og antallet af gentamicin-resistente *E. coli* i spildevand fra Hvidovre Hospital's (HH) Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4) samt i Renseanlæg Damhusåens (RD) ind- og udløb. Andel resistente *E. coli* i forhold til det totale antal er angivet i %. Enhed CFU/ml.

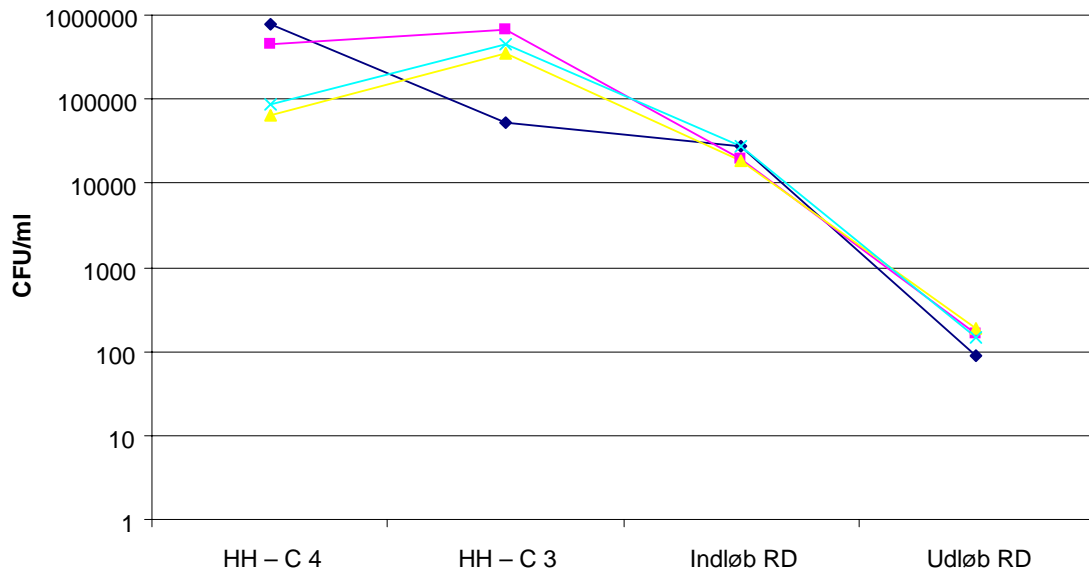
| <i>E. coli</i> | HH - Center 3 |            | HH - Center 4 |            | Indløb RD |            | Udløb RD |            |
|----------------|---------------|------------|---------------|------------|-----------|------------|----------|------------|
|                | Total         | Gentamicin | Total         | Gentamicin | Total     | Gentamicin | Total    | Gentamicin |
| 30. okt. 2006  | 25.000        | 25         | 29.000        | 20         | 34.500    | 24         | 290      | 2          |
| 31. okt. 2006  | 80.000        | 290        | 32.000        | 11         | 43.500    | 35         | 580      | 1          |
| 6. nov. 2006   | 52.000        | 6          | 77.000        | 5          | 65.000    | 32         | 780      | 1          |
| 7. nov. 2006   | 21.000        | 3          | 73.000        | 5          | 112.500   | 50         | 750      | 1          |
| Middel         | 44.500        | 81         | 52.750        | 10,25      | 63.875    | 35,25      | 600      | 1,25       |
| Min.           | 21.000        | 3          | 29.000        | 5          | 34.500    | 24         | 290      | 1          |
| Max.           | 80.000        | 290        | 77.000        | 20         | 112.500   | 50         | 780      | 2          |
| Resistens %    |               | 0,01-0,36  |               | 0,01-0,07  |           | 0,04-0,08  |          | 0,13-0,69  |

Det totale antal enterokokker og antallet af erythromycin-resistente enterokokker i spildevand fra Hvidovre Hospital's (HH) Center 3 (C 3) og Center 4 (C 4) samt i Renseanlæg Damhusåens (RD) ind- og udløb. Andel resistente enterokokker i forhold til det totale antal er angivet i %. Enhed CFU/ml.

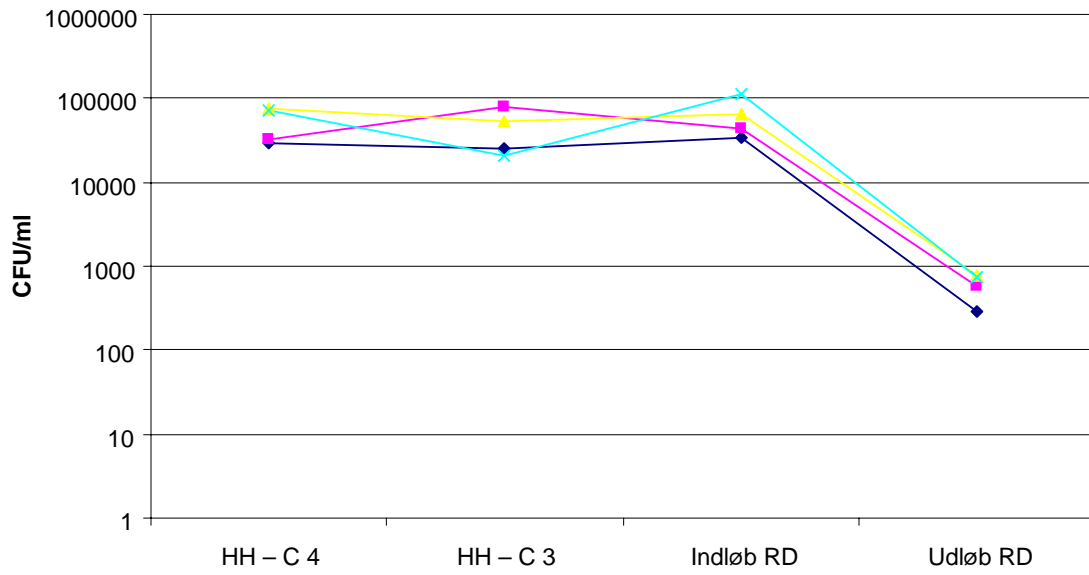
| Enterokokker  | HH - Center 3 |              | HH - Center 4 |              | Indløb RD |              | Udløb RD |              |
|---------------|---------------|--------------|---------------|--------------|-----------|--------------|----------|--------------|
|               | Total         | Erythromycin | Total         | Erythromycin | Total     | Erythromycin | Total    | Erythromycin |
| 30. okt. 2006 | 52.000        | 26.000       | 780.000       | 100.000      | 28.000    | 895          | 88       | 11           |
| 31. okt. 2006 | 680.000       | 56.000       | 460.000       | 250.000      | 19.500    | 1.015        | 160      | 13           |
| 6. nov. 2006  | 350.000       | -            | 65.000        | -            | 18.500    | -            | 185      | -            |
| 7. nov. 2006  | 450.000       | 220.000      | 88.000        | 54.000       | 27.000    | 2.000        | 148      | 10           |
| Middel        | 383.000       | 100.667      | 348.250       | 134.667      | 23.250    | 1.303        | 145      | 11           |
| Min.          | 52.000        | 26.000       | 65.000        | 54.000       | 18.500    | 895          | 88       | 10           |
| Max.          | 680.000       | 220.000      | 780.000       | 250.000      | 28.000    | 2.000        | 185      | 13           |
| Resistens %   |               | 8,2-49       |               | 12,8-61      |           | 3,2-7,4      |          | 6,8-12,5     |

- ikke angivet på grund af fejl i kontrolprøven.

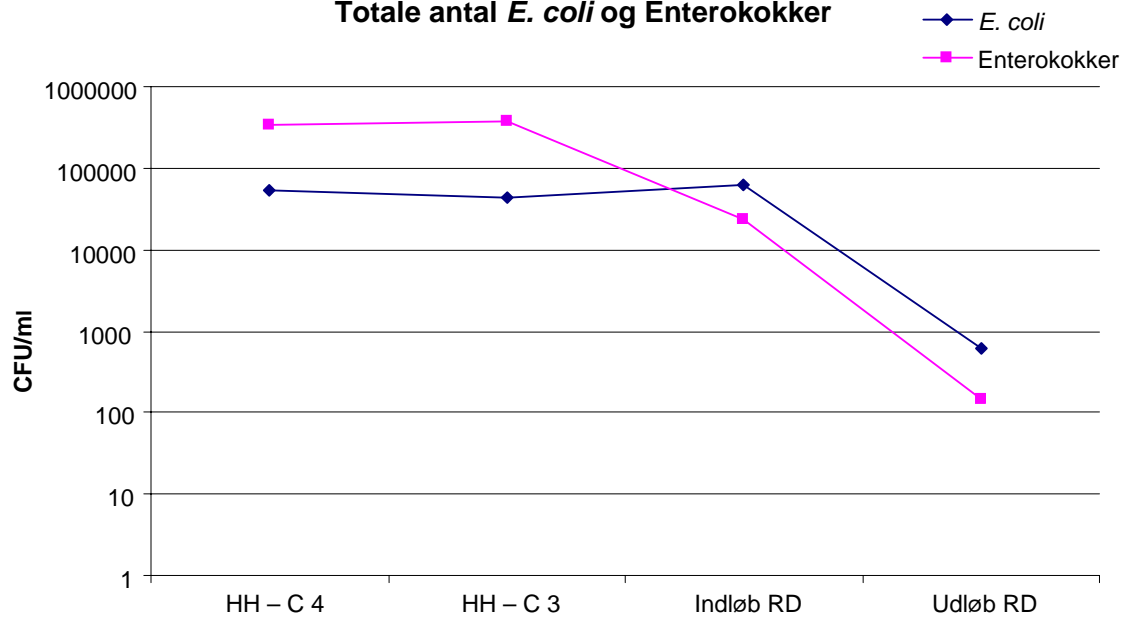
### Enterokokker



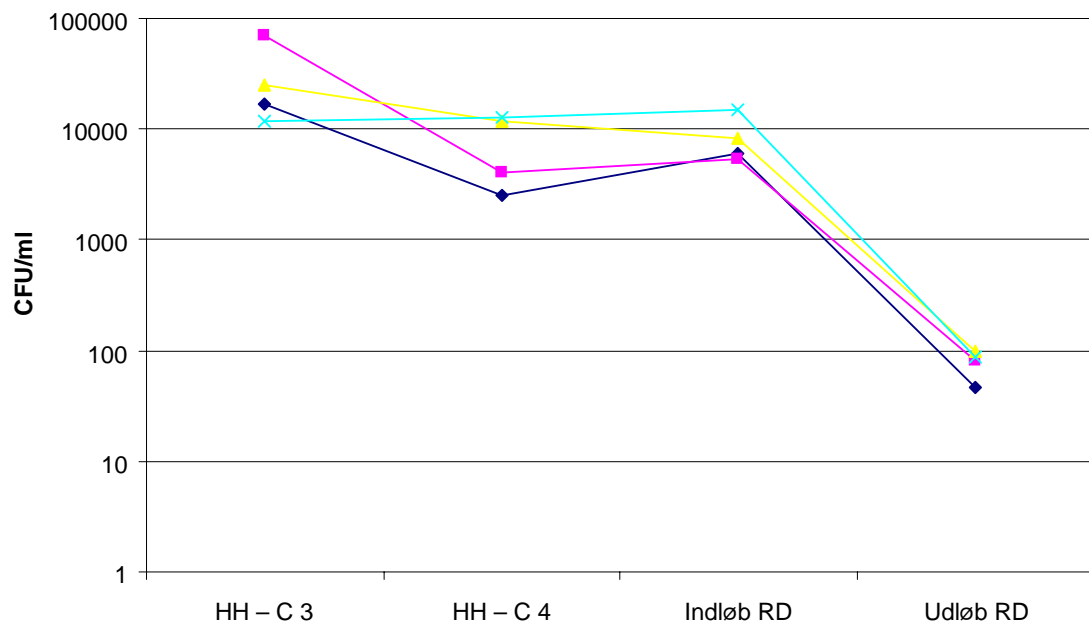
### *E. coli* bakterier



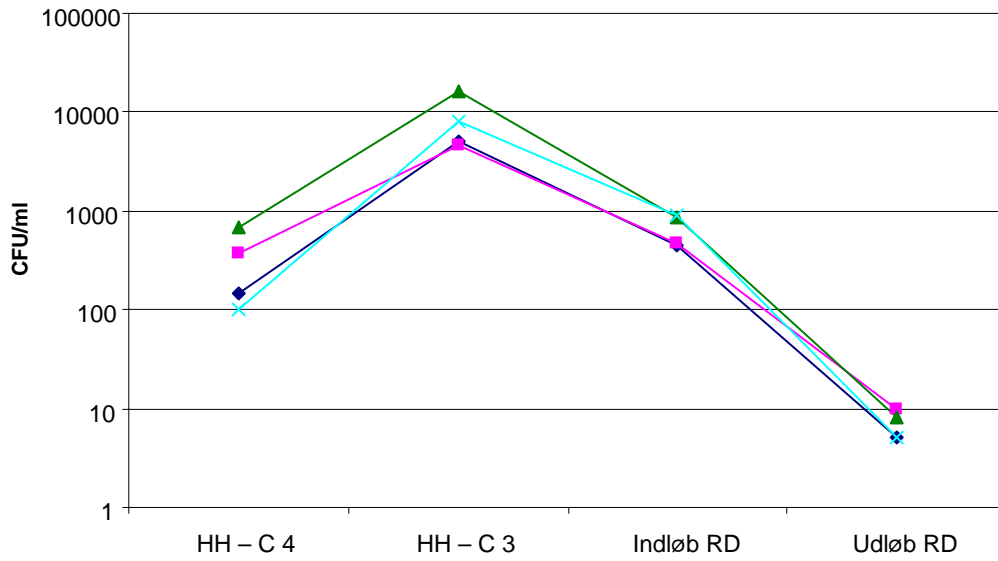
### Totale antal *E. coli* og Enterokokker



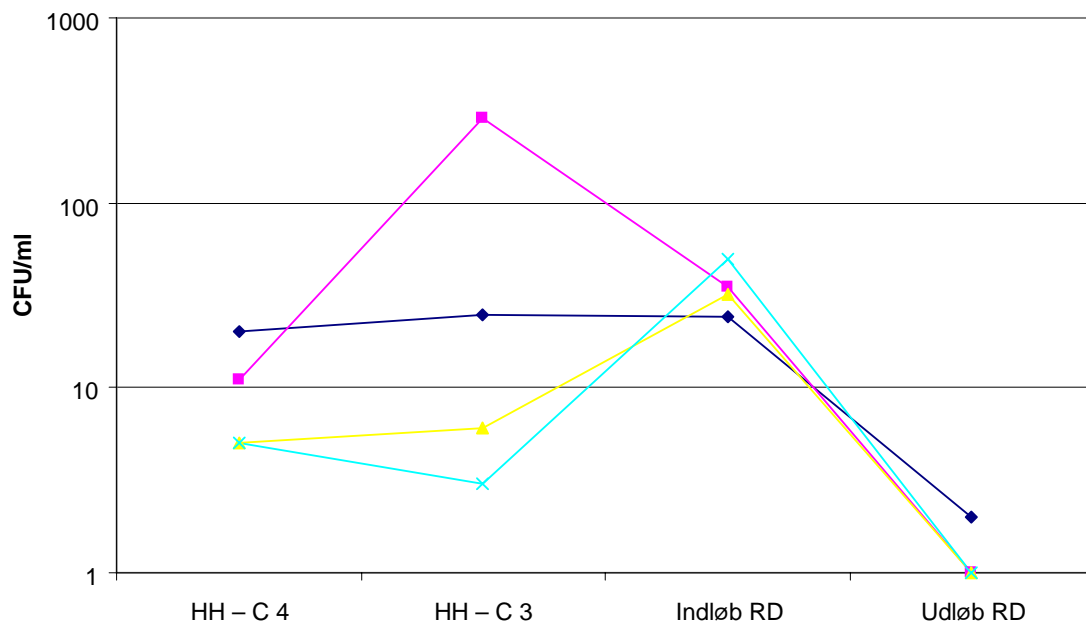
### Ampicillin-resistente bakterier



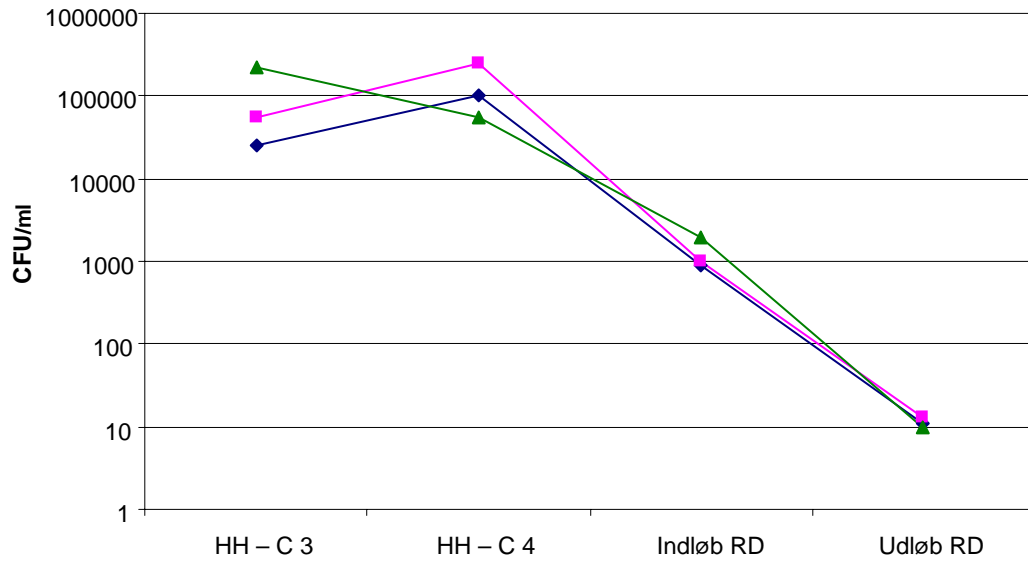
### Ciprofloxacin-resistente bakterier



### Gentamicin-resistente bakterier



## Erythromycin-resistente bakterier



## **B I L A G F**

### ***Kemiske analyser af antibiotika***

**DHI**  
 Bodil Mose Pedersen  
 Institut for Vand og Miljø  
 Agern Allé 5  
 2970 Hørsholm

|     |              |
|-----|--------------|
| Id  |              |
|     | DHI/         |
| Ind | 15 DEC. 2006 |
| CC  |              |
| CS  |              |

## Analyserapport Spildevand

### Prøvemateriale

|                     |                     |
|---------------------|---------------------|
| Modtaget i lab.:    | 10. november 2006   |
| Antal og prøvetype: | 16 stk., spildevand |
| Prøveemballage:     | prøveflaske, glas   |
| Analyseperiode:     | 16.11.06 – 12.12.06 |

### Metode

|             |                     |                                    |
|-------------|---------------------|------------------------------------|
| Antibiotika | Husmetode, LC-MS/MS | Analyseusikkerhed (RSD): 20 – 25 % |
|-------------|---------------------|------------------------------------|

## Resultater

### Spildevand

| Enhed: µg/liter | Prøvemærkning      |                    |                      |                      | Det. grænse |
|-----------------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|-------------|
|                 | DAM I,<br>30-31/10 | DAM U,<br>30-31/10 | DAM I,<br>31/10-1/11 | DAM U,<br>31/10-1/11 |             |
| Sulfamethizol   | 1,5                | 0,99               | 0,90                 | 1,3                  | 0,1         |
| Erythromycin    | -                  | -                  | -                    | -                    | 0,2         |
| Amoxycillin     | -                  | -                  | -                    | -                    | 1           |
| Ampicillin      | -                  | -                  | -                    | -                    | 0,1         |
| Ciprofloxacin   | 0,23               | -                  | -                    | -                    | 0,1         |

Note.

"-" betyder: Mindre end den anførte detektionsgrænse.

Prøvningsresultaterne gælder udelukkende for de(n) undersøgte prøve(r)

Rapporten må ikke gengives, undtagen i sin helhed, uden prøvningslaboratoriets skriftlige godkendelse

S:\PROJEKTER\2006\20245 DHI ANTIBIOTIKA\926841-SPILDEVAND.DOC

## Resultater (fortsat)

### Spildevand

| Enhed: µg/liter | Prøvemærkning    |                  |                  |                  | Det. grænse |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
|                 | DAM I,<br>6-7/11 | DAM U,<br>6-7/11 | DAM I,<br>7-8/11 | DAM U,<br>7-8/11 |             |
| Sulfamethizol   | 0,98             | 1,3              | 3,3              | 2,2              | 0,1         |
| Erythromycin    | -                | -                | -                | -                | 0,2         |
| Amoxycillin     | -                | -                | -                | -                | 1           |
| Ampicillin      | -                | -                | -                | -                | 0,1         |
| Ciprofloxacin   | 0,24             | -                | 0,33             | -                | 0,1         |

### Spildevand

| Enhed: µg/liter | Prøvemærkning     |                   |                     |                     | Det. grænse |
|-----------------|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------|-------------|
|                 | HH 3,<br>30-31/10 | HH 4,<br>30-31/10 | HH 3,<br>31/10-1/11 | HH 4,<br>31/10-1/11 |             |
| Sulfamethizol   | 1,1               | -                 | 2,5                 | 0,18                | 0,1         |
| Erythromycin    | -                 | -                 | -                   | -                   | 0,2         |
| Amoxycillin     | 1,1               | -                 | -                   | -                   | 1           |
| Ampicillin      | 11                | 0,15              | 3,1                 | -                   | 0,1         |
| Ciprofloxacin   | 13                | 11                | 26                  | 9,1                 | 0,1         |

Note.

"-" betyder: Mindre end den anførte detektionsgrænse.

Prøvningsresultaterne gælder udelukkende for de(n) undersøgte prøve(r)  
 Rapporten må ikke gengives, undtagen i sin helhed, uden prøvningslaboratoriets skriftlige godkendelse  
 S:\PROJEKTER\2006\20245 DHI ANTIBIOTIKA\926841-SPILDEVAND.DOC

## Resultater (fortsat)

### Spildevand

| Enhed: µg/liter | Prøvemærkning   |                 |                 |                 | Det. grænse |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------|
|                 | HH 3,<br>6-7/11 | HH 4,<br>6-7/11 | HH 3,<br>7-8/11 | HH 4,<br>8-9/11 |             |
| Sulfamethizol   | -               | 0,13            | 6,9             | 3,2             | 0,1         |
| Erythromycin    | -               | -               | 0,23            | -               | 0,2         |
| Amoxycillin     | -               | -               | -               | -               | 1           |
| Ampicillin      | 1,2             | -               | 2,6             | 0,12            | 0,1         |
| Ciprofloxacin   | 33              | 5,3             | 54              | 7,3             | 0,1         |

Note.

"-" betyder: Mindre end den anførte detektionsgrænse.


### Kommentar.

Prøverne er partikelfiltreret før analyse, pånær de fire prøver mærket hhv. "DAM U, 30-31/10", "DAM U, 31/10-1/11", "DAM U, 6-7/11" og "DAM U, 7-8/11". Disse fire prøver er efter aftale med rekvirenten analyseret direkte på ufiltreret prøve.

Eurofins Miljø A/S  
Strandesplanaden 110, DK-2665 Vallensbæk Strand

Vallensbæk, den 13. december 2006

  
Benny Køppen  
analysekemiker, lic.pharm.

  
Nis Hansen  
Udviklingschef, civilingeniør

Prøvningsresultaterne gælder udelukkende for de(n) undersøgte prøve(r)

Rapporten må ikke gengives, undtagen i sin helhed, uden prøvningslaboratoriets skriftlige godkendelse

S:\PROJEKTER\2006\20245 DHI ANTIBIOTIKA\926841-SPILDEVAND.DOC