

Resipientbakteriologi

Av Bjørn Kjos-Hanssen

Bj. Kjos-Hanssen er ansatt som sjef for Stavanger off. kjøtt- og næringsmiddelkontroll. Cand. med. vet. Kjøbenhavn 1938. Formann siden starten i Vannforurensningsgruppen under Jæren Regionplanråd.

I denne artikkel blir det presentert 3 bakteriologiske metoder, belyst ved noen eksempler som viser hvilken nytte en kan ha av metodene ved resipientundersøkelser. Metodene omfatter bestemmelse av:

1. Termotolerante koliforme bakterier pr. 100 ml.
2. 1. Clostridium (parfringens) pr. 100 ml.
2. 2. Clostridium (perfringens) pr. g sedimenttørstoff

Disse bakteriegrupper har mange av sporstoffenes egenskaper fordi de er naturens egne «øremerker» på fekal forurensning. De kan være et godt supplement til andre undersøkelser når en skal avgjøre f.eks. utstrekning og konsentrasjon av bykloakkens forekomst i ferskvanns- eller marine resipienter. Dreier det seg om avløpsvann fra intensivt dyrket jordbruksområde, kan resipientbakteriologien tjene til å belyse ansvarsforholdet mellom jordbruk og boligbebyggelse.

Siktemålet med anvendelsen av resipientbakteriologi er med andre ord a priori *ikke* *hygieniske* vurderinger.

1. *Termotolerante koliforme bakterier* er gram neg. staver som i det alt vesentlige er av fekal opprinnelse, derfor også betegnelsen «fekal koli». Ved rutinemessige undersøkelser har vi siden midten av femtiårene benyttet en modifisert membranfilterteknikk med dyrkning ved 44 °C etter Metropolitan Water Board, London (14). Om teknikken forøvrig henvises til NS 4751.

Anvendelsen av termotolerante koliforme bakterier til dette formål er benyttet i en rekke land (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Metoden er relativt lite anvendt her i landet, til tross for at den under mange forhold er den mest fintmerkende av samtlige metoder som anvendes ved resipientundersøkelser hvor forurensningen skyldes husholdningskloakk.

Disse bakterier kan ved den nevnte metode påvises i ubehandlet byspillvann i fortykning ned til 1 : 1 million (9). Dvs. under disse forutsetninger kan metoden registrere dette spillvann i en resipient i fortykning ned til ca. 1 ppm. Det er neppe noen andre metoder som

kan registrere primære forurensninger av byspillvann i så små mengder.

Metodens nøyaktighet.

- 1.1. Termotolerante koliforme bakterier finnes bare i resipienter når de er tilført som frisk fekal forurensning. De formerer seg ikke i vann, og avtar i antall med varierende hastighet. (5)

Tiden for prøvetaking til dyrking er meget viktig. Dreier det seg om sjøvann, bør dyrkingen helst skje innen 2-3 timer etter prøvetaking.

- 1.2. *Avstanden* fra utslippsstedet spiller en betydelig rolle. Fekal koli faller sterkt i antall med avstander over 3—4 km fra utslippsstedet og ved dyp under 10—15 m (5). Dette skyldes bl.a. vannets selvrensende evne. De faktorer som her kommer inn, er bl.a. kolibakterienes predatorene som zooplankton, parasittisme fra andre bakterier og bakteriofager

Disse biologiske prosesser er langt mer aktive i sommerhalvåret enn i vinterhalvåret. Egen-dødelighet, sedimentering og fortyningseffekt virker også redusere på bakterienes antall.

2. *Clostridier.*

Dette er anaerobe sporedannende, Gr.pos. staver. Av biokjemiske egenskaper skal nevnes at clostridiene reduserer sulfiter til sulfider. Derfor danner de sorte kolonier i sulfitholdige medier i nærvær av 2-verdig jern. Dyrking skjer i vannbad ved 48 °C.

Clostridier har tykktarmen hos mennesker og varmblodige dyr som et naturlig tilholdssted.

Ute i naturen deltar Clostridiene i nedbrytningen av organisk materiale under anaerobe forhold, når temperaturen kommer over 20 °C. Det *kan* skje ved f.eks. kompostering av søppel (15).

Vegetative former kan undertiden finnes i jord, men disse kilder kan en se bort fra under våre klimatiske forhold (9). *Bakteriesporene* er overmåte resistente, og de kan holde seg levende i sedimenter i årtier.

- 2.1. Clostridiene har som nevnt også noen av tracerens egenskaper. Reduksjonen i antallet i en resipient beror først og fremst på avstanden fra utslippsstedet. Reduksjonen skyldes i første rekke fortykning og sedimentering. I motsetning til kolibakteriene reduseres ikke clostridiene av de tidligere nevnte biologiske faktorer, og kan derfor påvises spesielt i sedimentene i stor avstand fra utslippsstedet. I kjerneprøvene fra sedimentlaget tas materialet til dyrkingen fra topplaget.

- 2.2. For å registrere mengden og utbredelsen av kloakkvann, har vi bestemt clostridietallet dels i de fri vannmasser og dels i sedimentlaget etter samme metode som bl.a. Bonde i Danmark (1) og Mellgren i Sverige (9).

2.5. *Bakgrunnsverdier:*

Både når det gjelder termotolerante koliforme bakterier og Clostridier, har det tross gjentatte *vannprøver* fra Nordsjøen

utenfor sydvest-kysten av Norge ikke lykkes oss å påvise disse bakterier ute i åpen sjø.

Med den anvendte metodikk har det heller ikke lykkes å finne Clostridier i 1 g *sediment* i de nevnte geografiske områder. Men i enkelte grunne fjordavsnitt med liten vannutskifting og rik organisk produksjon, dog uten anaerobe forhold, har vi funnet Clostridier i mengder under 100 pr. g uten at *boligkloakkvann slippes ut*.

Dette tall er vi tilbøyelig til å betrakte som en naturlig øvre «bakgrunnsverdi» av Clostridier i fjordsedimenter.

Hydrologiske forhold.

I et fjordsystem varierer forureningsparametrene i de frie vannmassene på de samme stasjoner i betydelig grad bl.a. som følge av strømforholdene. Følgen er at det i praksis må tas et stort antall vannprøver til forskjellige tider av året for å fange opp de naturlige variasjoner.

Følgende eksempel på anvendelse av resipientbakteriologiske undersøkelser fra Vågen i Stavanger viser hvordan en bestemmelse av Clostridier i kjerneprøver av sedimentlaget på Vågens bunn gir et sikrere kvantitativt uttrykk for belastningen med byspillvann enn kjemiske og bakteriologiske analyser av vannprøver.

Eks. 1. Vågen i Stavanger.

- a) *Termotolerante Koliforme bakterier pr. 100 ml. i vannprøve.*

Gjennomsnitt av 200 prøver: 300 $\left\{ \begin{array}{l} > 1\ 000 \text{ pr. } 100 \text{ ml.} = 8\ \% \\ < 100 \text{ pr. } 100 \text{ ml.} = 29\ \% \end{array} \right.$

- b) *Clostridier pr. 100 ml sjøvann.*

Gjennomsnitt av 164 prøver: 11 pr. 100 ml. $\left\{ \begin{array}{l} > 100 = 11\ \% \\ < 10 = 14\ \% \end{array} \right.$

- c) *Ortofosfat $\mu\text{g P/l}$ sjøvannprøver.*

Gjennomsnitt av 135 vannprøver 24 $\mu\text{g P/l}$ $\left\{ \begin{array}{l} > 40 = 5\ \% \\ 10-40 = 88\ \% \\ < 10 = 7\ \% \end{array} \right.$

- d) *Clostridier pr. g tørrsediment.*

Vågsbunn: Gjennomsnitt 60 000 $\left\{ \begin{array}{l} h = 80\ 000 \\ l = 40\ 000 \end{array} \right.$

Kommentar:

Gjennomsnittstallene i a, b og c viser at Vågen er belastet i en viss grad med kloakkvann. Variasjonsbredden i de nevnte parameter viser tydelig hvordan de hydrologiske forhold påvirker analyseresultatene.

Clostridietallene i kjerneprøvene (d) er relativt konstante, lette å reprodusere og uavhengige av de hydrologiske forhold og årstidene. De gir derfor et mer pålitelig bilde av belastningen av kloakkvann i Vågen.

Eks. 2. Resipientbakteriologi — Ortofosfat $\mu\text{g P/l}$.

Marine resipienter.

<i>Stasjon</i>	<i>Termotol kolif. bakt. pr. 100 ml.</i>	<i>Clostridier pr. 100 ml.</i>	<i>Clostridier pr. g. tørresediment</i>	<i>Ortofosfat $\mu\text{g} - \text{P/l}$</i>
1. <i>Nordsjøen</i>	0	0	0	15
<i>Byfjorden</i>				
2. <i>Åmøyfjord</i>	0	24	<1 000	14
3. <i>Stavanger havn</i>	300	540	30 000	24
<i>Gandsfjord</i>				
4. <i>Ytre Gandsfjord</i>	0	20	—	14
5. <i>Hillevågsvann</i>	5 000	3 000	250 000	150
6. <i>Forus</i>	90	130	1 200	18
7. <i>Sandnes havn</i>	1 400	400	4 000	80
<i>Hafrsfjord</i>				
8. <i>Indre basseng</i>	45	12	4 000	34
9. <i>Midtre basseng</i>	4	8	2 000	28
10. <i>Ytre basseng</i>	15	8	200	22

Kommentar:

Eksemplene og fig. 1 viser at jo lenger vekk en kommer fra spillvannutslipp, desto mindre fekale bakterier kan påvises i prøvene. Videre kan en se at jo lenger borte det aktuelle kloakkutslipp er, desto sterkere gjør clostridiene i vannprøvene seg gjeldende i forhold til kolibakteriene. Clostridietallet i sedimentene gjenspeiler kloakkbelastningen spesielt hvor det er lite strøm i sjøen. (Hillevågsvannet).

Eks. 3. Orrevassdraget. (Ferskvannsresipient)

Termotol. koliforme bakterier pr. 100 ml.

	1961	1973	1975
1. <i>Utløp Frøylandsvann</i>	145	220	20
2. <i>Roslandsåna (R.44)</i>	18 000	600	45
3. <i>Roslandsånas utløp i Horpestadvann</i>	32 000	100	275
4. <i>Bru mellom Erga og Orrevann</i>	390	20	11
5. <i>Orre bru (R.5 0 7)</i>	77	100	4

Kommentar:

Bryne stasjonsby ligger mellom 1 og 2. Vassdraget ble i tidsrommet 1961 til 1973 skjermet ved en avskjærende kloakk som ble ført rett til havs. De bakteriologiske analysene gir et meget godt bilde av den forbedring av vassdragets bakteriologiske status som dette resulterte i. Se figur 2.

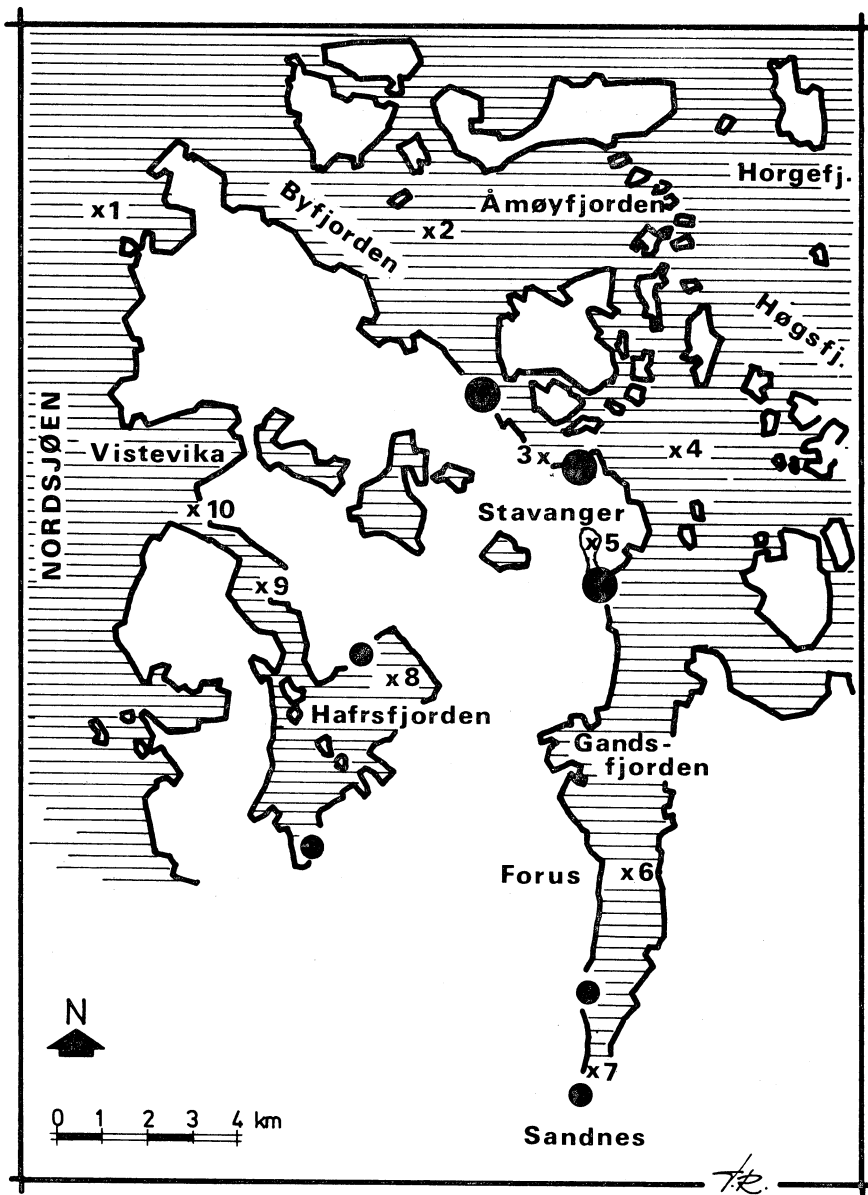


Fig. 1. Prøvestasjoner angitt med x og nr.
 Store kloakkutslipp merket med utfylt svart sirkel.

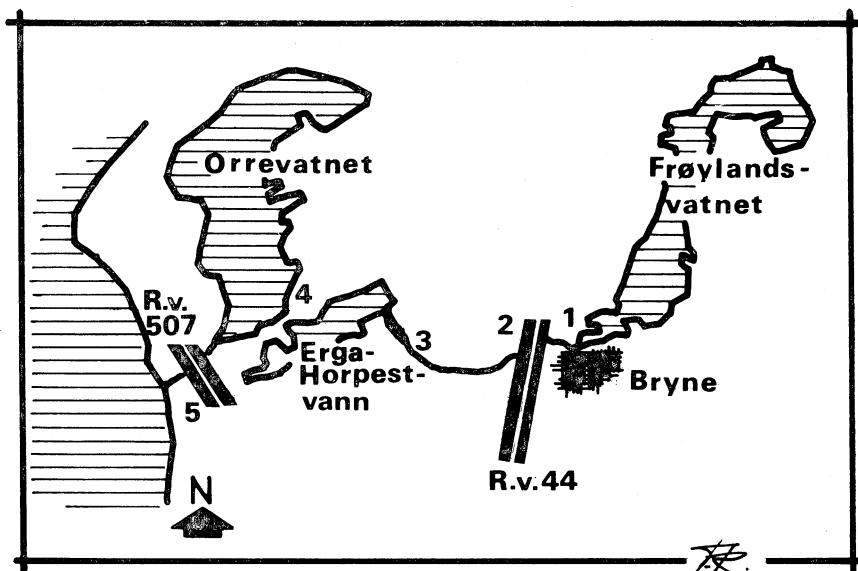


Fig. 2. Orrevassdraget med nr. på prøvestasjonene.

LITTERATUR

1. *Bonde, G. J.*: Bacterial Indicators of Water Pollution. Teknisk Forlag, Copenhagen 1962.
2. *Bonde, G. J.*: Heterotrophic Bacteria in a Polluted Marine Environment. Third Intern. Conf. on Water Pollution Research, Section III, Munich, Germany, 1966.
3. *Bonde, G. J.*: Studies on the Dispersion and Disappearance phenomena of Enteric Bacteris in the marine Environment. Rev. Intern. Oceanogr. Med. TOME IX. 1968.
4. *Bonde, G. J.*: Methode for estimation of Eschericha. Coli in receiving waters and sewage. Rev. int. d'ocean. Med. VVIV, 1971.
5. *Bonde, G. J.*: T-90, Criterium or Chimaera? Concluding Remarks at Session: Microbial Pollutions-Marine Microbiology, 2nd Oct. 1969. Rev. Intern. Oceanogr. Med. TOME XXV, 1972.
6. *Jepsen, Aa.*: Jord/Vand Hygiejne, København 1972.
7. *Kampelmacher, E. H.*: Thermotolerante E. coli in zeewater langs de Nederlandske kust, 1971. H₂O(5), nr. 6.
8. Meddelanden från Kungl. Medicinalstyrelsen: Bakteriologiske vattenundersökninger. Meddelanden från Kungl. Medicinalstyrelsen. Sverige, nr. 112 (1965).

9. *Mellgren, L.*: Clostridium perfringens and coliform bacteria as indicators of faecal pollution. OIKOS Supplementum 15: 195—201.
10. Taylor et al. (1955): Membrane Filtration Technique applied to the Routine Bacteriological Examination of Wter. Journal of the Institution of Water Engineers, Vol. 9, No. 3, May 1955 London.
11. Taylor et al. (1964): The Application of Membrane Filtration Techniques to the Bacteriological Examination of Water. J. appl. Bact. 27 (2), 194—303. London.
12. Taylor et al.: Progress with Membrane Filtration. Extract from 38th report (1957—58). Department of membrane Filtration, Metropolitan Water Board, London.
13. Taylor et al: Progress with Membrane Filtration Extract from 4th Report (1963—64). Department of Membrane Filtration. Metropolitan Water Board, London.
14. Grunnet K. & A., S. P. Gundstrup: A. Shortcut Method for Estimation of Esherichia coli in Sewage and Receiving Water — Nord.Vet.Med. 1976, 28,430—433.
15. K. Haaland & B. Kjos-Hanssen: Sigevann fra kommunal fyllplass i Dusevik, Tasta. Vann — 1976-1, 1—9.