

# Kimtallsbestemmelse for drikkevann

Av Liv Fiksdal.

Liv Fiksdal er siv.ing. og dr.ing. fra NTH. Hun er ansatt som førsteamanuensis ved Institutt for vassbygging, NTH.

## Innledning

I Norge som mange steder ellers i verden er det vanlig å bestemme bakterieinnholdet i vann i form av en kimtallsbestemmelse. En bakterie gir når den formerer seg på fast medium opphav til en koloni, som telles som et kim. En mere korrekt betegnelse ville være å bruke kolonidannende enhet istedet for kim. Kimtallet vil sjelden eller aldri gi det totale bakterietall for vannet idet analysemetoden som benyttes vil påvirke kimtallets størrelse. Dette har sammenheng med at ulike bakterier krever ulike vekstbetingelser. En velger derfor betingelser som tillater vekst for flest mulig bakterietyper, men kan ikke regne med å oppdage alle de typer som finnes i vannet.

Vi ønsker generelt at bakterieinnholdet og dermed kimtallet, for det vannet som kommer ut av springen skal være så lavt som mulig. Dette har flere årsaker. Når bakterietallet er høyt, kan vi ikke før det er gjort nærmere undersøkelser, se bort fra at disse bakteriene kan forårsake skader i form av for eksempel sykdom, korrosjon på ledningsnett eller ubehagelig lukt og smak av vannet.

## Kimtallets påvirkning av koliformanalysen

Norske kvalitetskrav til drikkevann omfatter entydige bestemmelser med hensyn

på innhold av koliforme og termostabile koliforme bakterier (1), mens det ikke er satt tallmessige krav til det «totale» antall bakterier (kimtall). Begrunnelsen for dette er at kimtallet kan variere sterkt avhengig av lokale forhold som ikke har direkte hygienisk betydning. Resultatet av kimtallsundersøkelsen kan likevel være viktig. I tillegg til de effektene som allerede er nevnt, kan høyt kimtall også innvirke på analysen av koliforme bakterier (2, 3, 4). Undersøkelser tyder på at kimtall høyere enn 500/ml fører til at innholdet av koliforme bakterier blir satt for lavt (3, 4).

Norske retningslinjer for bakteriologisk bedømming av drikkevann sier at udesinfisert og desinfisert overflatevann ikke er brukbart uten nærmere undersøkelse dersom kimtallet er større enn henholdsvis 500/ml og 100/ml (5).

Inkubasjonstid og temperatur har mye å si, både for antall kolonier som vokser frem og for hvilke typer av bakterier disse koloniene består av. Når utenlandske arbeider viser at resultatet av koliformanalysen blir for lavt om kimtallet overstiger 500/ml, kan vi ikke uten videre overføre samme grenseverdi til norske forhold. For å kunne sammenligne resultater må både kimtall- og koliformanalysen være utført etter metoder som tilsvare dem vi bruker i Norge.

## Bakterietyper i drikkevann

Drikkevannskilder kan inneholde en rekke ulike bakterier som tilsammen utgjør kimtallet. Artene som finnes vil blant annet være avhengig av kildetype og geografisk beliggenhet. En norsk undersøkelse av en eutrof innsjø demonstrerte forekomst av orange og gule *Flavobacterium/Cytophag*bakterier, *Vibrio*lignende bakterier og *Pseudomonas*lignende bakterier. (6). Bakteriesammensetningen i for eksempel oligofe eller humusrike innsjøer vil en vente er forskjellig fra den som finnes i eutrofe innsjøer.

Vann fra ledningsnett vil generelt inneholde en rekke forskjellige bakterietyper, men ikke nødvendigvis de samme som råvannskilden. Amerikanske undersøkelser viser at følgende arter ofte forekommer: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Serratia*, *Corynebakterier*, *Arthrobacter*, *Clostridium*, *Gallionella*, *Leptotrix*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*. (7). Bakteriene forekommer både fastsittende og fritt i vannmassene. De fastsittende artene kan finnes i slim på røroverflaten, i bunn-sedimenter eller innkapslet i knoller på innsiden av rørene. Undersøkelser ved hjelp av scanning elektron mikroskopi har demonstrert hvordan bakterier forekommer på eller nær overflaten av slike knoller som antagelig representerer gunstige vekstmiljø for bakteriene (8).

Slike undersøkelser understreker at antall frittsvevende bakterier bare representerer en del av det totale bakterietall. Som regel omfatter kimtallbestemmelsen bare de frittsvevende bakteriene.

Bakteriene i ledningsnett vann kan ha forskjellige slags uønskede virkninger. *Pseudomonas aeruginosa* og enkelte *Flavobacterium*-arter er patogene, spesielt

for pasienter som allerede er svekket av sykdom.

Dersom betingelsene for god vekst er tilstede, kan også andre patogene bakterier som for eksempel *Proteus*- og *Klebsiella*-arter bli infeksjonsårsak. Konsentrasjonene av disse bakteriene i drikkevann er vanligvis så små at de ikke representerer direkte helsefare. «Jernbakterier» (*Sphaerotilus*, *Leptotrix*, *Gallionella* m.fl. fører til ansamling av jernpartikler på innsiden av rørene. Disse bakteriene kan derved ha økonomisk og estetisk betydning idet de kan forårsake rustproblemer og grumset vann ut fra springen. De filamentære *Aktinomycetene* fører til ubehagelig lukt og smak.

Til spørsmålet om vi kjenner alle typene av bakterier som finnes i drikkevann, må det svares nei. Om det finnes hittil ukjente patogene arter er et åpent spørsmål. Det er imidlertid en utbredt oppfatning i dag at de vannbårne epidemier vi har i Norge som regel er forårsaket av virusinfeksjoner. Dersom en har problemer knyttet til bestemte typer av bakterier i drikkevannet, kan det være aktuelt å sette i verk tiltak som er spesielt virkningsfulle overfor disse artene. (9).

## Dyrkningsbetingelser

Som allerede nevnt har inkubasjonstid og -temperatur samt type næringsmedium som benyttes betydning for kimtallets størrelse og for hvilke bakterier som vokser opp. Et eksempel på mediets betydning er vist i tabell 1. Resultatene er hentet fra en undersøkelse av vann fra råvannskilder (Cedar og Tolt) og ledningsnett for Seattle i USA. I denne undersøkelsen ble blant annet innvirkningen av lagringstemperatur og -tid samt mediumtype og utsåingsmetode undersøkt.

Tabell 1. *Kimtall for klorert og ikke-klorert vann (fra Tolt- og Cedar-reservoirene, Seattle, USA).*

Prøvestasjon	Medium	Kimtall	$q_{n-1}$	Plating Index <sup>e</sup>
<u>Tolt</u>	R2A	340	90	2.6
Råvann	CPS	240	50	1.8
	SMA	130	40	1.0
Klorert vann A1	R2A	7460	1670	1.3
	CPS	7410	850	1.3
	SMA	5640	2120	1.0
A4	R2A	2840 <sup>b</sup>	--	2.0
	CPS	3280 <sup>c</sup>	360	2.3
	SMA	1410 <sup>c</sup>	180	1.0
B3	R2A	6430 <sup>c</sup>	2130	1.1
	CPS	6140 <sup>c</sup>	1020	1.0
	SMA	5940 <sup>c</sup>	1160	1.0
D2 <sup>d</sup>	R2A	124000 <sup>c</sup>	43610	3.1
	CPS	77330 <sup>c</sup>	45380	2.0
	SMA	39550 <sup>c</sup>	28050	1.0
E2 <sup>d</sup>	R2A	41500 <sup>c</sup>	--	5.1
	CPS	37120 <sup>c</sup>	20480	4.5
	SMA	8210 <sup>c</sup>	6290	1.0
<u>Cedar</u>	R2A	--	--	--
Råvann CPRI	DP	1130	60	1.4
	CPS	1520	230	1.9
	SMA	820	70	1.0
Klorert vann I3	R2A	90	60	1.5
	DP	100	40	1.7
	CPS	90	30	1.5
	SMA	60	60	1.0
K3	R2A	430	120	3.9
	DP	220	80	2.0
	CPS	250	20	2.3
	SMA	110	20	1.0
L3	R2A	1140	260	10.4
	DP	3330	660	30.3
	CPS	2980	830	27.1
	SMA	110	110	1.0
P1	R2A	150	10	2.5
	DP	110	50	1.8
	CPS	30	30	0.5
	SMA	60	20	1.0

- Gjennomsnittlig verdi av tre kimtallsplater etter 13 døgns inkubering dersom ikke annet er angitt.
- Kimtall på én plate etter 14 døgns inkubering.
- Gjennomsnittlig verdi av tre kimtallsplater etter 14 døgns inkubering.
- Blanding av klorert Tolt- og Cedar-vann.
- Forhold mellom kimtall på fortynnete medier (R2A, CPS eller DP) og konsentrert medium (SMA).

Tabell 2. *Sammensetning av næringsmedier.*

Medium	Komponenter
R2A	0.5g casamino acids, 0.5g proteose peptone 3, 0.5g glucose, 0.5g soluble starch, 0.5g sodium pyruvate, 0.5g yeast extract, 0.3g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.05g MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, 15.0g agar. Distilled water to 1 liter. pH=7.0.
CPS	0.5g sodium caseinate, 0.5g peptone, 0.5g soluble starch, 1.0ml glycerol, 0.2g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.05g MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, four drops of 0.01% FeCl <sub>3</sub> solution, 15.0g agar. Distilled water to 1 liter. pH=7.1.
SMA	5.0g peptone-tryptone, 1.0g glucose, 2.5g yeast extract, 15.0g agar. Distilled water to 1 liter. pH=7.0.
DP	0.1g Bacto Peptone (Difco), 10.0 ml vitamin solution, 20.0ml Hutner's modified mineral salt solution (except 12.67mg sodium molybdate is used). Distilled water to 1 liter. pH=7.0.

(10). Den såkalte plating index (tabell 1) viser at de fortynnede mediene R2A, CPS og DP (tabell 2) med to unntak ga høyere kimtall (etter 13 dagers vekst ved 20°C) enn det mere konsentrerte SMA-mediet. SMA-mediet tilsvare det standardmediet som benyttes for kimtallsbestemmelse i Norge. Inkuberingstidens innvirkning er vist i fig. 1.

Det fremgår av figuren at økningen i kolonitallet fra råvannsprøver (ikke klorerte prøver) stoppet opp tidligere enn for prøver av klorert vann. Var inkuberingstiden lang nok (> 12 døgn v/20°C), kom kolonitallet fra klorerte prøver opp til samme nivå som for råvannet. Årsaken til den langsommere kimtallsøkningen for klorerte prøver kan være flere. Bakterier som overlevde kloreringen kan for eksempel ha trengt en viss tid (2—6 døgn) for å reparere skader før de igjen er i stand til å vokse normalt. En annen forklaring kan være at klorert og ikke klo-

ret vann inneholder ulike grupper av bakterier som har to ulike vekstmønstre.

Det fremgår også av fig. 1 at etter kort inkuberingstid (2 døgn) var kimtallet på det konsentrerte næringsmediet (SMA) høyest. Når inkuberingsperioden ble forlenget, ga de fortynnede mediene som ventet høyest kimtall, både for klorerte og ikke klorerte vannprøver. Fordi dyringsbetingelsene som velges vil innvirke på kimtallets størrelse, er det ved rutineundersøkelser viktig å holde seg til én analysemetode dersom resultatene skal kunne sammenlignes.

### Oppsummering

Kimtallsbestemmelsen har ikke samme betydning i hygienisk sammenheng som analysen av koliforme og termostabile koliforme bakterier. Likevel gir kimtallet nyttig informasjon. Høye kimtallsverdier for vann fra ledningsnett kan innebære ulemper av ulike slag, og tiltak som for

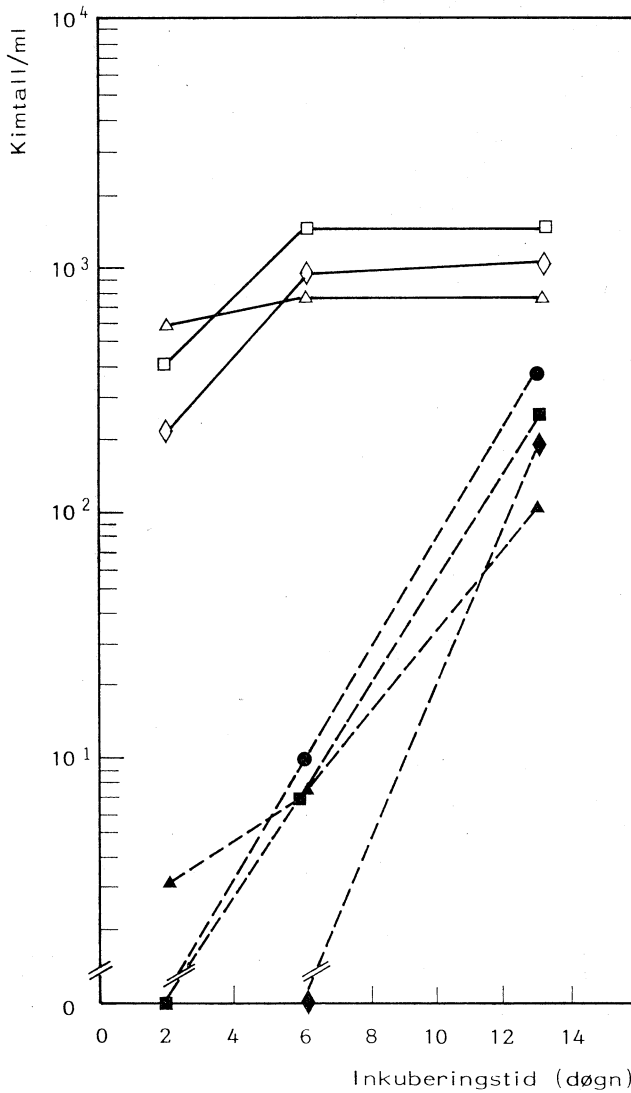


FIG. 1. Inkuberingstid og næringsmediers innflytelse på kimtall fra råvann og klorert vann (Cedar).

Klorert vann ● - R2A, ■ - CPS, ▲ - SMA, ◆ - DP  
 Råvann □ - CPS, △ - SMA, ◇ - DP.

eksempel spyling og ekstra klorering brukes gjerne for å redusere kimtallet. Om problemet gjentar seg, er det viktig å finne ut hvilke bakterier kimtallet består av for derved å finne årsaken til bakterieutviklingen.

Norske standardmedier for kimtallsbestemmelse inneholder likesom standardmedier benyttet i utlandet relativt mye

næringsstoffer og favoriserer vekst av bakterier som er vant til næringsrike vekstmiljø. Vann fra ledningsnettet er ofte fattig på næringsstoffer, og i slike tilfeller kan det lønne seg å bruke mere fortynnede medier og forlenget analysetid dersom en ønsker et mål for det totale antall bakterier i vannet.

### LITTERATUR

- (1) Kvalitetskrav til vann. Statens Institutt for Folkehelse. Nov. 1976.
- (2) *Hutchinson, D., Weaver, R. H. og Scherago, M.* The Incidence and Significance of Microorganisms Antagonistic to *Escherichia coli* in Water. *J. Bact.* 45, s. 29, 1943.
- (3) *Geldreich, E. E., Nash, H. D., Reasoner, D. J. og Taylor, R. H.* The Necessity of Controlling Bacterial Populations in Potable Waters: Community Water Supply. *J. AWWA* 64, s. 596, (1972).
- (4) *Lamka, K. G., Le Chevallier, M. W. og Seidler, R. J.* Bacterial Contamination of Drinking Water Supplies in a Modern Rural Neighbourhood. *Appl. Environ. Microbiol.* 39, s. 734 (1980).
- (5) Norsk Standard 4751.
- (6) *Ormerod, K.* Biologiske forhold og prosesser i vann. *Vann*, 14, nr. 1B, s. 16, 1979.
- (7) *Colwell, R. R., Austin, G. og Wan, L.* Public Health Considerations of the Microbiology of «Potable» Water, i : Evaluation of the Microbiology Standards for Drinking Water. *EPA* — 570/9 — 78 — 00C. 1978.
- (8) *Allen, M. J., Taylor, R. H. og Geldereich, E. E.* The occurrence of microorganisms in water main, encrustations. *J. AWWA*, 72, s. 614. 1980.
- (9) *Erlandsson, B.* Förändringar av den bakteriologiska kvaliteten i rörnätet i: Vattendistribution från hygienisk synspunkt problem, kontroll och åtgärder. *VAV M32*, feb. s. 70 (1981).
- (10) *Fiksdal, L., Vik, E. A., Mills, Aa. og Staley, J.* Non-Standard Methods for Enumeration of Bacteria in Drinking Water. *J. AWWA* under trykking.