

NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Norges Teknisk-Naturvitenskapelige Forskningsråd

Postadresse: Brekke 23 52 80
Postboks 333, Blindern
Oslo 3

Rapportnummer: 0-80003-02
Undernummer: V
Løpenummer: 1666
Begrenset distribusjon:

Rapportens tittel: Supplerende basisundersøkelser og rutineovervåking i Iddefjorden 1983. Testing av Iddefjordens termotolerante coliforme bakterieflora for innhold av termotolerante <i>Klebsiella</i> . Overvåkningsrapport 140/84	Dato: Sept. 1984
	Prosjektnummer: 0-80003-02
Forfatter(e): Kari Ormerod	Faggruppe:
	Geografisk område: Østfold
	Antall sider (inkl. bilag): 45

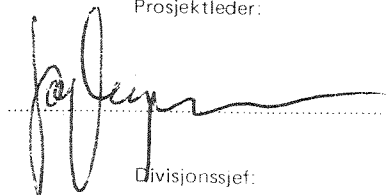
Oppdragsgiver: Statens forurensningstilsyn (Statlig program for forurensningsovervåking)	Oppdragsg. ref. (evt. NTNf-nr.):
--	----------------------------------

Ekstrakt: <p>Det er gjentatte somrer observert at antallet av termotolerante coliforme bakterier, TCB, i Iddefjorden synker i fellesferien når utslippene fra treforedlingsindustrien er midlertidig opphørt. Denne undersøkelsen viser at hovedmengden av TCB i Iddefjorden før fellesferien tilhørte slekten <i>Klebsiella</i> og <i>Enterobacter</i>, og at <i>Klebsiella</i> forsvant fra fjorden i løpet av fellesferien. Enkelte arter av <i>Klebsiella</i> forårsaker urin- og luftveisinfeksjoner hos mennesker, og utgjør derfor en annen hygienisk risiko enn den fekale indikator TCB.</p>
--

4 emneord, norske: Statlig program
1. <i>Klebsiella</i>
2. Coliforme bakterier
3. Treforedlingsutslipp
4. Sjøresipient
Overvåkningsrapport 140/84
Basisundersøkelse 1983

4 emneord, engelske:
1. <i>Klebsiella</i>
2. Coliform bacteria
3. Pulp and paper industry
4. Marine recipient

Prosjektleder:



Divisjonssjef:

For administrasjonen:



ISBN 82-577-0840-2

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING

0-80002-03

Supplerende basisundersøkelser og rutine-
overvåking i Iddefjorden 1983:

TESTING AV IDDEFJORDENS
TERMOTOLERANTE COLIFORME BAKTERIEFLORA
FOR INNHOLD AV TERMOTOLERANTE *KLEBSIELLA*

Prosjektleder: Jan Magnusson
Saksbehandler: Kari Ormerod
Medarbeidere: Harry Efraimsen, NIVA
Ellen Corneliussen, NIVA
Leidulf Farstad,
Byvet. i Halden
For administrasjonen: J.E. Samdal
L.N. Overrein

F O R O R D

Foreliggende rapport presenterer resultatene av en spesialundersøkelse av bakterier i Iddefjordens overflatevann. Arbeidet er en del av overvåkingsprogrammet for Iddefjorden og innenfor rammen av Statlig program for forurensningsovervåking med Statens forurensningstilsyn (SFT) som oppdragsgiver.

For gjennomførelsen av denne undersøkelse takker vi lokale medarbeidere ved Halden kommune, E. Høvik og Aa. Sjøberg for feltarbeid og byveterinær L. Farstad for bakteriologiske analyser. Videre takkes P. Hallan ved Saugbruksforeningen for prøver fra bedriftens avløpsvann.

Planlegging og rapportering er utført av Kari Ormerod. Analysearbeidet ved NIVA er utført av Ellen Corneliussen, Harry Efraimsen og Kari Ormerod.

Oslo, 8. mai 1984

Jan Magnusson

INNHALDSFORTEGNELSE

	<u>Side:</u>
SAMMENDRAG OG KONKLUSJON	4
1. INNLEDNING	6
1.1 Problemstilling og observasjoner i Iddefjorden	6
1.2 Utenlandske undersøkelser	7
2. PLAN FOR UNDERSØKELSEN	8
2.1 Opprinnelig plan, inkludert metodeutprøving	8
2.2 Alternativ plan	8
3. METODER	9
3.1 Kimtall	9
3.2 Termotolerante coliforme bakterier	9
3.3 Videre undersøkelser av de termotolerante coliforme bakteriekolonier	10
3.3.1 Typebestemmelse av kolonier på filtrere	10
3.3.2 Testing av kolonier fra membranfiltrere på andre vekstmedier	10
4. RESULTATER OG DISKUSJON	12
4.1 Vannets innhold av termotolerante bakterier som vokser på Endomedium ved 44 ⁰ C.	12
4.2 Prosentandel <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> og <i>Klebsiella</i> av det totale antall termotolerante kolonier	12
4.3 Prosentandel av funne arter innen slekten <i>Klebsiella</i>	19
4.4 Forekomst av de forskjellige bakterieslekter ved hvert prøvested	20
4.5 Sammenligning av desimeringshastigheten for <i>Klebsiella</i> i Iddefjorden med tilsvarende data fra en ferskvannsresipient	21
LITTERATUR	25
TILLEGG	27

FIGURFORTEGNELSE

	Side:
Figur 1 Prøvetakingsstasjoner	11
Figur 2. Prosentandel <i>Escherichia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> og andre bakterieslekter blant termotolerante bakteriekolonier fremkommet på membranfiltre med Endo-medium i løpet av 1 døgn ved 44 °C.	17
" 3. Fordeling av forskjellige bakterieslekter på de forskjellige prøvesteder i perioden 20.6. - 20.7.1983	20
" 4. Sammenligning av beregnet desimering i ferskvann ved 15°C og funnet desimering av <i>Klebsiella</i> i Iddefjorden	22

TABELLER I TEKSTEN

Tabell 1. Sammenligning av resultater for termotolerante coliforme bakterier fra byveterinæren i Halden og antall basert på fire kolonityper, analysert ved NIVA. Resultater fra toktet 20.6.1983.	13
" 2. Som tabell 1; fra toktet 27.6.1983.	14
" 3. Som tabell 1; fra toktet 13.7.1983.	15
" 4. Som tabell 1; fra toktet 20.7.1983.	16
" 5. Prosentandel <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> og <i>Klebsiella</i> , av det totale antall termotolerante kolonier	18
" 6. Prosentandel av funne arter innen slekten <i>Klebsiella</i>	20
" 7. Beregnet konsentrasjon av <i>Klebsiella</i> -bakterier på prøvestedene 10, 4 og 5.	24
Tabellene 8 til 24 er inkludert som tillegg.	27

SAMMENDRAG OG KONKLUSJON

Det er kjent bl.a. fra Finland, Sverige og USA at avløpsvann fra treforedlingsindustri inneholder klebsiella-bakterier. Klebsiella-bakterier kan bli termotolerante i det varme prosessvannet i papirproduksjonen. De kan da fremkomme som coliforme bakteriekolonier i analysemetoder for termotolerante coli, som indikerer fekal forurensning. Det er gjentatte somrer observert at antallet termotolerante coliforme bakterier i Iddefjorden synker radikalt i fellesferien når utslippene fra treforedlingsindustrien er midlertidig opphørt. En mulig forklaring kan være at en stor del av de funne coliforme bakterier i virkeligheten er klebsiella-bakterier, og at konsentrasjonen synker fordi utslippene fra treforedlingsindustrien i Halden stopper i fellesferien.

I 1983 ble det bevilget penger til å undersøke denne teori. Ved to tokt før og to tokt under fellesferien ble de fremkomne kolonier på membranfiltrene i analysen for termotolerante coliforme bakterier testet for slektstilhørighet.

1. Det viste seg at bare 10-30 % av de termotolerante coliforme koloniene besto av *E. coli*. Vanligvis forventes at 90-100 % av disse skal være *E. coli*. Termotolerante *Enterobacter* + *Klebsiella*-arter utgjorde mellom 50 og 90 % av de fremkomne coliforme kolonier, derav *Klebsiella* mellom 17 og 67 %, ved de tre første prøvetakingstidspunktene. Også mange av de termotolerante ikke-coliforme kolonier på membranfiltrene viste seg å være *Klebsiella* og *Enterobacter*.

Den siste uken av fellesferien lot *Klebsiella*-arter seg ikke påvise på membranfiltrene, mens termotolerante *Enterobacter* fremdeles utgjorde 20 % av koloniene.

2. De termotolerante klebsiella-bakteriene var til stede i hele fjorden ved de tre første toktene, men lot seg ikke påvise ved det siste toktet.
3. Av de testede klebsiella-kolonier dominerte *K. ozaenae* (70 - 75 %) ved de to toktene før fellesferien, mens *K. pneumoniae* dominerte (58 %) i fellesferiens 2. uke.

4. Basert på de beregnede konsentrasjoner av *Klebsiella* ved prøvestedene 10, 4 og 5, er tiden for 90 % reduksjon i innholdet av klebsiella-bakterier i Iddefjorden anslått til ca. 2 døgn.
5. Forekomst av klebsiella-bakterier i resipientvann for avløpsvann fra treforedlingsindustri bør undersøkes generelt i Norge. Den helsemessige risiko ved tilstedeværelse av disse bakteriene bør tas opp til vurdering av helsemyndighetene.

1. INNLEDNING

1.1 Problemstilling og observasjoner i Iddefjorden

I overvåkingsperioden fra 1977 har det hvert år under perioden med fellesferie blitt observert en nedgang i konsentrasjonen av termotolerante coliforme bakterier i Iddefjorden. Det er lite trolig at en så markert reduksjon skyldes reduksjon i mengde kommunalt avløpsvann fordi folk reiser bort på ferie.

Under fellesferien stopper imidlertid også driften og dermed utslippene fra treforedlingsindustrien i Halden. Det er kjent fra utlandet (1, 2, 3, 4, 5) at treforedlingsindustri, og særlig papirproduksjon, er forbundet med en sterk formering av slimdannende *Enterobacter*, *Citrobacter* og *Klebsiella*-bakterier. Bakterier tilhørende disse slekter er til stede i kloakkvann, men i fersk avføring fra mennesker forekommer de i små mengder i forhold til *Escherichia coli*. Sistnevnte bakterieart vokser godt ved temperaturer opp til 45°C, mens de tre førstnevnte har temperaturoptimum rundt 37°C, og de vokser normalt ikke godt ved 44°C.

Enterobacter- og *klebsiella*-bakterier finner egnede næringsstoffer i prosessvann fra treforedlingsindustri, mens det samme ikke er tilfelle for *E. coli*. Temperaturen på prosessvannet, især for papirproduksjon, er ofte over 37°C, og de to nevnte bakterietyper venner seg til den høye temperaturen, de blir termotolerante slik som *E. coli*.

Temperaturen er den eneste faktor som hindrer *Citrobacter*, *Enterobacter* og *Klebsiella* fra å vokse til synlige kolonier på Endo Agar ved 44°C. Bli de termotolerante, kan de vokse til synlige kolonier. Disse koloniene vil bli medregnet blant de termotolerante coliforme bakteriekolonier dersom de utseendemessig ligner de "typisk coliforme" kolonier på dette medium.

Innholdet av "termotolerante coliforme bakterier" i Iddefjorden er så høyt at vannet sjelden tilfredsstiller kvalitetskravet til godt badevann (6, 7). Hvis det nå viser seg at de funne termotolerante coliforme bakterier ikke stammer fra utslipp av kloakkvann, medfører konsentrasjonsnivået ikke samme hygieniske risiko som forutsatt ved fastleggelse av grensen for god badevannskvalitet. Med *klebsiella*-bakterier til stede

i vannet, vil en ny risikovurdering være nødvendig, fordi noen arter av denne slekten medfører sykdom hos mennesker (luft- og urinveisinfeksjoner).

1.2 Utenlandske undersøkelser

Man har lenge kjent til at klebsiella-bakterier formerer seg i prosessvann i treforedlingsindustrien og skaper slimproblemer innen papirproduksjonen. Det er imidlertid ikke rapportert at arbeiderne i slik industri er mer utsatt for luft- og urinveisinfeksjoner enn andre. De Forenede Staters "Environmental Protection Agency" (EPA) fikk utført en epidemiologisk undersøkelse av *Klebsiella pneumoniae* blant tremasse- og papirindustriarbeidere i USA. Undersøkelsen varte i ett år og ble rapportert i 1981 (8). De fant at i gjennomsnitt var over 50 % av konsentrasjonen av termotolerante coliforme bakterier i prosessvannet i virkeligheten *Klebsiella*, med *K. pneumoniae* som antallsmessig dominerende art. Denne bakterie er funnet å kunne utvikle seg i prosessvannet, helt fra starten med vasking av trestokkene, til avløpsvannet forlater fabrikken (5), men formeringsevnen var størst i tremasse- og papirfabrikker som benyttet resirkulasjon av prosessvannet (8).

Ved undersøkelse av arbeiderne i fabrikkene ble klebsiella-bakterier påvist i deres øvre luftveier. Bakteriene var av samme biotype som dem som ble funnet i tilsvarende fabrikkers prosessvann. Det var også overensstemmelse mellom klebsiella-biotyper i de forskjellige fabrikkers prosessvann og i deres sanitærløp. Dette viser at arbeiderne får i seg klebsiella-bakterier i fabrikken.

Karakteristiske tall fra fabrikker med stor "produksjon" av *Klebsiella* er mindre enn 10 slike bakterier pr. 100 ml innløpsvann, og $(2,7-20)10^6$ bakterier pr. 100 ml utløpsvann (8). Niemelä og Väätänen (9) rapporterer fra Finland at produksjonsstopp i en papirfabrikk førte til en merkbar reduksjon av klebsiella-bakterier i en innsjø som mottok avløpsvann fra fabrikken. Før avbrekket i papirproduksjonen inneholdt avløpsvannet $3,7 \cdot 10^6$ klebsiella-bakterier pr. 100 ml, mens det 21. døgn etter (uten drift) bare inneholdt 16 slike bakterier pr. 100 ml. Produksjonsstoppene ble i den nevnte undersøkelsen benyttet til å beregne desimeringstiden for *Klebsiella* i ferskvann.

Observasjonene i Iddefjorden, sammenholdt med det som var observert i utlandet, tydet på at det var meget sannsynlig at Iddefjorden inneholdt større mengder klebsiella-bakterier. En spesialbevilgning for 1983 (7) muliggjorde at dette kunne bli gjenstand for undersøkelse i løpet av sommerperioden, da bakteriologisk overvåkning av fjorden vanligvis utføres.

2. PLAN FOR UNDERSØKELSEN

For å få klarhet i om det var en kvalitativ forskjell i fjordens innhold av såkalte termotolerante coliforme bakterier før og under driftsstopp ved Saugbruksforeningen, var det nødvendig å undersøke fjordvannet i en periode før, såvel som under fellesferien. Fellesferien var fastsatt til uke 27, 28 og 29, dvs. fra 4. til 22. juli 1983.

2.1 Opprinnelig plan, inkludert metodeutprøving

Den opprinnelige plan var å få innsamlet ekstra vannprøver til bakteriologisk analyse ved NIVA, under rutinetektene i de aktuelle periodene. Prøvene skulle analyseres for termotolerante coliforme bakterier ved en membranfiltermetode med m-FC medium (10). I tillegg skulle to nye membranfiltermetoder for selektiv bestemmelse av *Klebsiella* benyttes. I den ene av disse metodene benyttes MacConkey-inositol-carbenicillin-agar (11) som selektivt vekstmedium, i den andre benyttes m-FC-inositol-carbenicillin-agar (9). Det var meningen å utprøve metodene på forhånd, slik at bare den ene skulle benyttes for Iddefjorden. Det viste seg imidlertid å være svært vanskelig å finne fram til produsenter av carbenicillin, og i tillegg viste det seg å være restriksjoner for salg av dette produktet. Vi kunne derfor ikke basere oss på bruken av disse metodene, og måtte planlegge undersøkelsen på nytt. Carbenicillinet ankom imidlertid etter undersøkelsesperioden. Metodene er nå utprøvd ved NIVA, og det viser seg at metoden basert på m-FC agar egner seg best for bestemmelse av termotolerante klebsiellabakterier.

2.2 Alternativ plan

Fordi det tidlig ble klart at den beskrevne plan kanskje ikke kunne gjennomføres, ble det laget en alternativ plan. Den baserte seg på bruk av de prøvene som ble analysert i Halden, slik at de fremkomne resultater lettere

kunne sammenlignes med data fra foregående år. Skålene med membranfiltre skulle, etter telling i Halden av fremkomne termotolerante coliforme bakteriekolonier, snarest sendes til NIVA, der koloniene skulle testes videre for slektstilhørighet etter Lassens trerørs-identifikasjonstest for Gram-negative stavbakterier (12). Denne testen ble innarbeidet ved NIVA i god tid før start av undersøkelsen, men henblikk på bruk i Iddefjordprosjektet. Fordi det nye opplegget var meget mer arbeidskrevende enn den opprinnelige plan, måtte programmet reduseres til bare 4 serier, 2 før og 2 under fellesferien. Følgende serier ble undersøkt: 20. og 27. juni, 13. og 20. juli.

3. METODER

3.1 Kimtall

Utført hos byveterinæren i Halden.

Antall aerobe, heterotrofe kim, kimtall, ble bestemt ved innstøpning i Difco Nutrient Agar og inkubering ved 30°C i 2 døgn.

3.2 Termotolerante coliforme bakterier

Utført hos byveterinæren i Halden.

Disse bakteriene ble bestemt ved filtrering av 1 eller 100 ml vannprøve gjennom membranfiltre som ble lagt på Difco Endo Agar og inkubert ved 44°C i 1 døgn.

De fremkomne "typisk coliforme" kolonier ble deretter telt. De fleste forskrifter beskriver "typiske" kolonier som "mørkerøde, store kolonier med fuksinglans" (metallglans). For å være på den sikre siden har man i den variant av metoden som er beskrevet i NS 4751 (13) bestemt at alle mørkerøde kolonier skal telles som positive i metoden. "Mørkerøde kolonier" er kolonier som er mørkere enn bakgrunnsrødfargen på filteret. Uansett hvilke kriterier som benyttes for "typisk coliforme kolonier" vil dette kunne tolkes forskjellig fra person til person og for samme person fra gang til gang. Dette er grunnen til at koloniene på filterne ble delt inn i forskjellige typer i det etterfølgende.

3.3 Videre undersøkelser av de termotolerante coliforme bakteriekolonier

Utført ved NIVA.

Etter at koloniene på filterne var telt i Halden morgenen etter analysestart, ble eskene med filterne pakket og sendt til Oslo med toget, der de ble hentet på stasjonen av NIVAs medarbeider. Kolonitestingen startet ved lunsjtid samme dag de ankom Oslo.

3.3.1 Typebestemmelse av koloniene på filterne

Ved hjelp av binokularlupe ble alle filterne gjennomgått, og 4 hovedtyper av kolonier ble fastlagt. Type 1 var alltid de typiske flate, store, mørkerøde kolonier med metallglans, slike som er helt typiske for *E. coli* på dette medium. Type 2 var som oftest store, mørke kolonier med metallglans, men med konveks overflate slik som for *Enterobacter*-kolonier i 37°C - coliformanalysen.

Type 3 var tenkt å skulle være slike mørkerøde kolonier som ikke vanligvis regnes som coliforme kolonier i de fleste forskrifter, men som er medtatt som coliforme i NS 4751.

Type 4 skulle inkludere andre kolonityper som forekom i stor mengde.

Hvis ikke kolonitypene 2 og 3 var til stede på filterne i en serie, ble andre kolonityper medtatt.

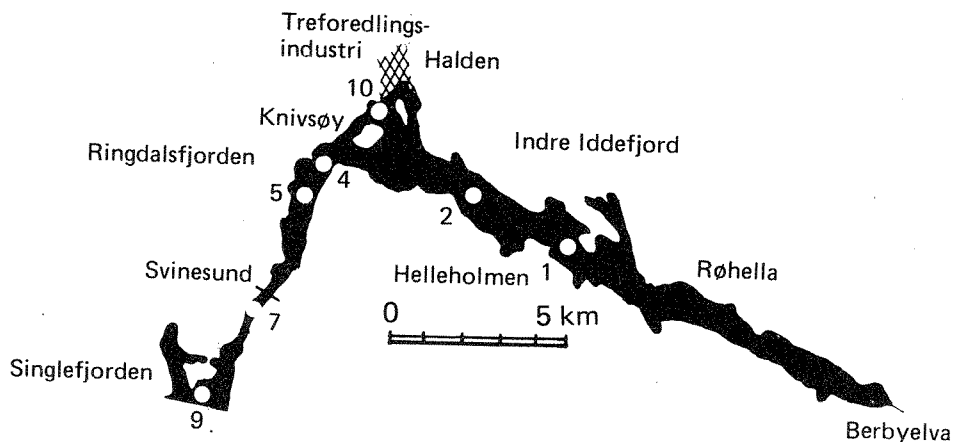
3.3.2 Testing av kolonier fra membranfilterne på andre vekstmedier

Et praktisk passende antall av hver kolonitype, fra alle filterne i en serie, ble overført til petriskåler med to forskjellige typer medium; Difcos m-FC Broth + agar, og Oxoids Nutrient Broth CMI + agar (NA). Så godt det lot seg gjøre, ble separate kolonier på filterne utvalgt, og utstrykningen på begge agartyper ble utført med materiale fra samme koloni.

Platene med m-FC-agar ble inkubert ved 44°C i 18-24 t. Den fremkomne vekst ble vurdert utseendemessig i forhold til utseende av typisk fekale coliforme bakterier på dette medium (10).

Platene med NA ble inkubert ved 37°C i 18-24 timer. Separate kolonier ble valgt ut for videre testing. Selv om separate kolonier var valgt ut også fra membranfiltrene, var bakterietettheten på noen av dem så stor at det ikke kan utelukkes at noen av disse koloniene inneholdt mer enn en art bakterier. Det fremkom imidlertid ikke kolonier med tydelige forskjeller i morfologi på Nutrient agar (NA). Der koloniene var meget små, måtte flere uttas til videre testing for å få tilstrekkelig mengde inokulum. Det kan derfor ikke utelukkes at blandkulturer kan ha vært testet. For kolonier fra Type 1 og 2 er dette lite sannsynlig, da alle disse vokste godt slik at inokulum ble tatt fra en koloni på NA.

Koloniene på NA ble testet for oksidasereaksjon (14) og reaksjon i Lassens tre-rørs identifikasjonstest for Gram-negative staver (12). Koloniene ble imidlertid ikke testet for Gram-reaksjon. Siden de opprinnelig var selektert på Endo-medium, var sannsynligheten for at de var Gram-positive meget liten.



Figur 1. Prøvetakingsstasjoner

4. RESULTATER OG DISKUSJON

Resultatene fra analysene "Kimtall" og "Termotolerante coliforme bakterier" hos byveterinæren i Halden er medtatt som bakgrunnsmateriale i tabell 24 i tillegget.

4.1 Vannets innhold av termotolerante bakterier som vokser på Endo-medium ved 44 °C

For hver prøvetakingsdato er det for hvert prøvested, på grunnlag av 4 kolonityper pr. membranfilter, beregnet konsentrasjonen pr. 100 ml av disse 4 antatt forskjellige bakterietypene. Resultatene er presentert i tabell 1-4. Resultatene oppnådd med de samme filtrene, telt hos byveterinæren i Halden, er vist i de samme tabellene. Som nevnt under metoder (3.2), er det sjelden at to personer vurderer "typisk coliforme kolonier" helt likt. Tabellene viser at resultatene fra byveterinæren i Halden stort sett baserer seg på den konservative vurdering av "typisk coliforme" kolonier, bortsett fra for prøvetakingsserien den 20.7., da det viste seg å være mange mørke røde, ikke-coliforme bakterier på filtrene. Både byveterinærens og NIVAs personale tok disse for å være coliforme kolonier. Tabellene viser også at det er mange flere termotolerante bakteriekolonier på filtrene enn dem som telles som "konservativt typisk coliforme". Hvis dette også har vært tilfelle de foregående år, vil totalantall termotolerante bakterier i Iddefjorden ligge langt høyere enn det de oppgitte data for termotolerante coliforme bakterier tilsier.

4.2 Prosentandel *Escherichia coli*, *Enterobacter* og *Klebsiella* av det totale antall termotolerante kolonier

For å komme fram til disse prosentandeler, er det foretatt en rekke beregninger. Resultatene fra beregningene er gitt i form av tabeller i tillegget.

For hver prøvetakingsserie ble koloniene på filtrene karakterisert i 4 hovedtyper. Et representativt utvalg av hver type ble uttatt til testing for slekts/artstilhørighet. Resultatene fra denne testingen er vist i tilleggets tabeller 12 til 15 og 16 til 19.

Tabell 1. Sammenligning av resultater fra termotolerante coliforme bakterier fra byveterinæren i Halden og antall basert på fire kolonityper, analysert ved NIVA. Resultater fra toktet 20.6.1983.

Prøvested	Antall bakterier pr. 100 ml						
	Kolonitype				Konservativt coliforme kolonier 1 + 2	Ifølge NS-4751 1 + 2 + 3	Byveterinæren i Halden
	1	2	3	4			
1	1 000	100	1 200	mange	1 100	2 300	900
2	0	300	300	"	300	600	100
10	600	100	300	"	700	1 000	600
4	1 700	300	800	"	2 000	2 800	1 300
5	400	600	800	"	1 000	1 800	600
7	800	0	1 700	"	800	2 500	700
9	ca. 17	ca. 20	> 200	svært mange	ca. 37	> 240	11
Totalt	4 517	1 420	5 300	FMT			

Tabell 2. Sammenligning av resultater fra termotolerante coliforme bakterier fra byveterinæren i Halden og antall basert på fire kolonityper, analysert ved NIVA. Resultater fra toktet 27.6.1983.

Prøvested	Antall bakterier pr. 100 ml				Konservative coliforme kolonier 1 + 2	Ifølge NS-4751 1 + 2	Byveterinæren i Halden
	Kolonitype						
	1	2	3	4			
1	ca. 35	> 200	> 200	0	> 200	Som	38
2	100	200	> 200	0	300	konser-	300
10	1 700	300	400	700	2 000	vativ	1 500
4	> 80	0	300	2 300	> 80	telling	70
5	100	200	ca. 122	500	300		300
7	ca. 44	0	ca. 100	300	ca. 44		35
9	ca. 28	0	ca. 25	0	ca. 28		25
Totalt	> 2 087	> 900	> 1 347	3 800			

Tabell 3. Sammenligning av resultater fra termotolerante coliforme bakterier fra byveterinæren i Halden og antall basert på fire kolonityper, analysert ved NIVA. Resultater fra toktet 13.7.1983.

Prøve- sted	Antall bakterier pr. 100 ml							Byveterinæren i Halden
	Kolonitype				Konservative coliforme kolonier 1 + 2	Ifølge NS-4751 1 + 2		
	1	2	3	4				
1	600	300	0	2 200	900		800	
2	700	100	0	> 20 000	800	Som	1 100	
10	7 400	300	300	5 100	7 700	konser-	7 500	
4	4 600	400	200	1 000	5 000	vativ	4 700	
5	700	300	0	1 800	1 000	telling	700	
7	400	200	0	3 700	600		600	
9	7	1	38	43	8		7	
Totalt	14 407	1 601	538	33 843				

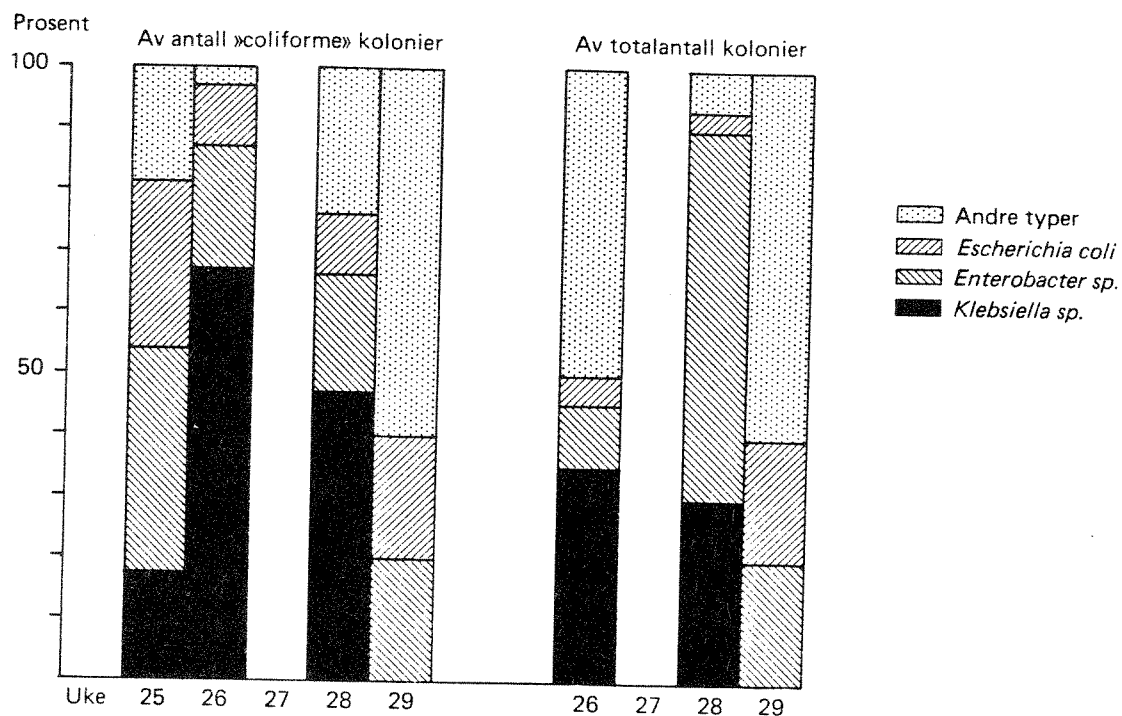
Tabell 4. Sammenligning av resultater fra termotolerante coliforme bakterier fra byveterinæren i Halden og antall basert på fire kolonityper, analysert ved NIVA. Resultater fra toktet 20.7.1983

Prøvested	Antall bakterier pr. 100 ml						
	Kolonitype				Konservative coliforme kolonier 1 + 2	Ifølge NS-4751 1 + 2 + 3	Byveterinæren i Halden
	1	2	3	4			
1	12	7	18	> 200	19	36	61
2	15	56	0	50	71	71	78
10	1 500	200	0	1 400	1 700	1 700	1 900
4	1 200	700	0	600	1 900	1 900	1 500
5	1 000	0	0	300	1 000	1 000	1 300
7	0	28	0	11	28	28	24
9	0	10	0	7	10	10	10
Totalt	3 727	1 001	18	2 568			

Prosentandel av de tre foran nevnte slekter innen hver kolonitype ble utregnet, se tilleggets tabeller 20 til 23.

Antall kolonier/100 ml for hver kolonitype på hver prøvetakingsstasjon, ble summert for hvert enkelt tokt. Resultatene er vist i tabellene 1 til 4. Prosentandelen av *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter* og "andre" bakterieslekter fås fra de foran nevnte tabellene 16 og 19. Med dette som grunnlag var det mulig å beregne den sannsynlige prosentandel av de tre bakterieslekter og andre slekter i Iddefjorden som helhet ved de fire forskjellige prøvetakingstidspunkt. Dette er vist i tabell 5. Andelen av de forskjellige slekter er beregnet både som prosent av antall kolonier med utseende som coliforme kolonier, og som prosent av det totale antall kolonier på filterne. Dersom *Klebsiella* også forekommer blant de ikke-coliforme koloniene, er det viktig at de telles med.

Den hermed fremkomne prosentfordeling til slekt er også illustrert på figur 2.



Figur 2. Prosentandel *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* og andre bakterieslekter blant termotolerante bakteriekolonier fremkommet på membranfilter med Endo-medium i løpet av 1 døgn ved 44 °C.

Tabell 5. Prosentandel *Escherichia coli*, *Enterobacter* og *Klebsiella* av det totale antall termotolerante kolonier

Bakteriegenus	Prosentfordeling av koloniene fra hele serien av membranfiltre med termotolerante bakterier									
	Coliforme kolonier på filter					Alle kolonier på filter				
	Før fellesferien		Under fellesferien		20/7	Før fellesferien		Under fellesferien		20/7
	20/6	27/6	13/7	20/7	20/6	27/6	13/7	20/7	20/6	27/6
<i>Escherichia</i>	27	10	10	20	-	5	3	20	-	20
<i>Enterobacter</i>	37	20	19	20	-	10	60	20	-	20
<i>Klebsiella</i>	17	67	47	0	-	35	30	0	-	0
Andre	19	3	24	60	-	50	7	60	-	60
Antall bakt./100 ml som utgjør 100%	>9,8·10 ³	>4·10 ³	17·10 ³	4,7·10 ³	FMT	>7,8·10 ³	57·10 ³	7,3·10 ³		

FMT betyr: for mange til å telle.
 "Større enn" ble regnet som "lik" ved prosentutregningen

I de to ukene før fellesferien, uke 25 (20/6) og 26 (27/6), og den andre uken av fellesferien (13/7), utgjorde summen av termotolerante *Klebsiella* og *Enterobacter* over 50 % av de "coliforme" kolonityper. *E. coli* utgjorde mellom 30 og 10 %. Den siste uken av fellesferien (20/7) forsvant klebsiella-bakteriene, *E. coli* og *Enterobacter* utgjorde 20 % hver, og de resterende 60 % var andre typer bakterier, hovedsakelig oksidase positive arter.

Basert på andel i forhold til det totale antall termotolerante kolonier på filtrere, tabell 5, viser *Klebsiella* og *Enterobacter* forskjellig utvikling i fjorden etter opphør av industriutslippene i fellesferien. Prosentandelen av *Klebsiella* holdt seg konstant på ca. 30 til siste uke av fellesferien, da denne bakterieslekt ikke lenger lot seg påvise. Prosentandelen av *Enterobacter* steg først fra 10 før, til 60 i 2. uke av fellesferien, og ble så redusert til 20 i 3. ferieuke. Oppgangen i 2. ferieuke kan tyde på at *Enterobacter* har evnen til å formere seg på organisk stoff i vannet når vanntemperaturen stiger om sommeren. De fleste enterobacter-koloniene i uke 28 fremkom på filtrere som lyserøde, ikke-typisk coliforme kolonier. Dette tyder på at de enterobacterartene som vokser i fjorden etterhvert mister evnen til å danne typisk coliforme kolonier ved 44 °C. *Enterobacter* fra kommunalt avløpsvann vokser normalt ikke ved 44 °C. De termotolerante, nær beslektede bakteriene *Enterobacter* og *Klebsiella* stammer derfor begge høyst sannsynlig fra avløpsvannet fra treforedlingsindustrien, men *Enterobacter* har størst evne til å overleve i fjorden.

De termotolerante, oksidase positive bakteriene var dominert av arten *Aeromonas hydrophilus*, som Niemelä og Väättänen (9) også fant som dominerende oksidase positive art i en finsk innsjø som mottok avløpsvann fra treforedlingsindustri.

4.3 Prosentandeler av funne arter innen slekten *Klebsiella*

Disse prosentandeler er utregnet i tabellene 12 til 15 i tillegget, og presentert i tabell 6. Før fellesferien dominerte *K. ozaenae*, mens *K. pneumoniae* dominerte i fellesferiens 2. uke, kort før klebsiella-bakteriene forsvant fra vannmassene.

Høsten 1982 ble en prøve av avløpsvannet fra en av papirmaskinene ved treforedlingsindustrien i Halden undersøkt for innhold av termotolerante coliforme bakterier.

Tabell 6. Prosentandel av funne arter innen slekten *Klebsiella*

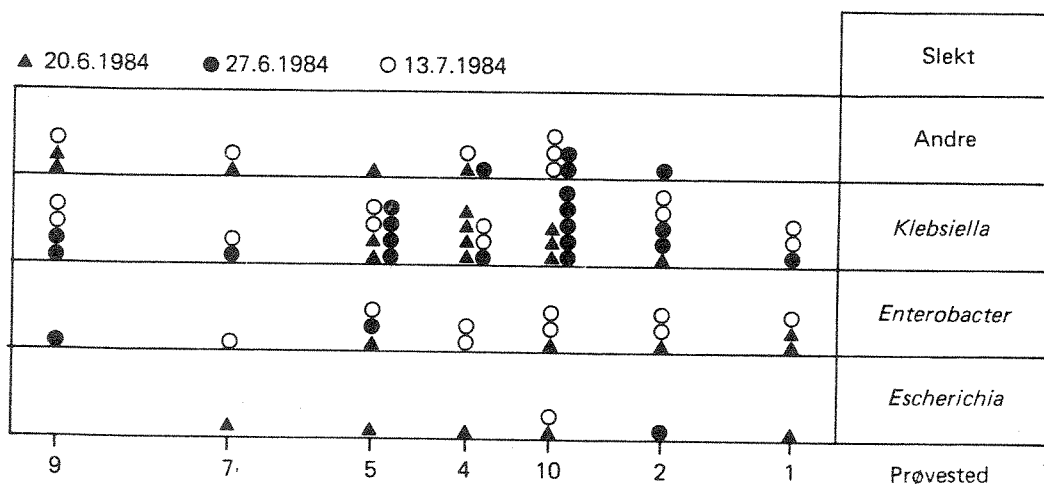
Dato	<i>K. ozaenae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i> var. <i>oxytoca</i>
20.6.	75	25	0
27.6.	70	30	0
13.7.	34	58	8
20.7.	0	0	0

Slike bakterier ble påvist, og noen av de fremkomne kolonier ble ren- dyrket og siden testet i Lassens test (12).

Av 11 testede kolonier var 8 *Klebsiella*, med *K. ozaenae* som dominerende art, 1 var *Enterobacter*, og 2 tilhørte gruppen "andre bakterier". Kvan- titativ analyse for termotolerante coliforme bakterier ble ikke utført.

4.4 Forekomst av de forskjellige bakterieslekter ved hvert prøvested

Det er mulig å belyse dette til en viss grad med de oppnådde data, selv om analysene ikke ble planlagt med henblikk på dette. Det ble ansett som viktigst å få en oversikt over forekomst av *Klebsiella* i fjorden som helhet med de økonomiske midler som sto til disposisjon.



Figur 3. Fordeling av forskjellige bakterieslekter på de forskjellige prøvesteder i perioden 20. juni til 20. juli 1983.

Et visst innblikk i om klebsiella-bakterier fra Tista (prøvested 10) sprer seg både innover og utover fjorden, gir illustrasjonen i figur 3. De testede kolonier fra hvert prøvested er sortert til slekt og tegnet inn i figuren, med ett punkt for hver testet koloni. Alle prøvestedene viste tilstedeværelse av *Klebsiella*. At prøvested 9 ikke ga utslag for *E. coli* kan skyldes en kombinasjon av lavere innhold av denne bakterie, samt færre testede kolonier ved dette prøvestedet. Prøvested 10 viste en stor andel både av *Klebsiella* og "andre" kolonityper.

4.5 Sammenligning av reduksjonshastigheten for *Klebsiella* i Iddefjorden med tilsvarende data fra en ferskvannsresipient

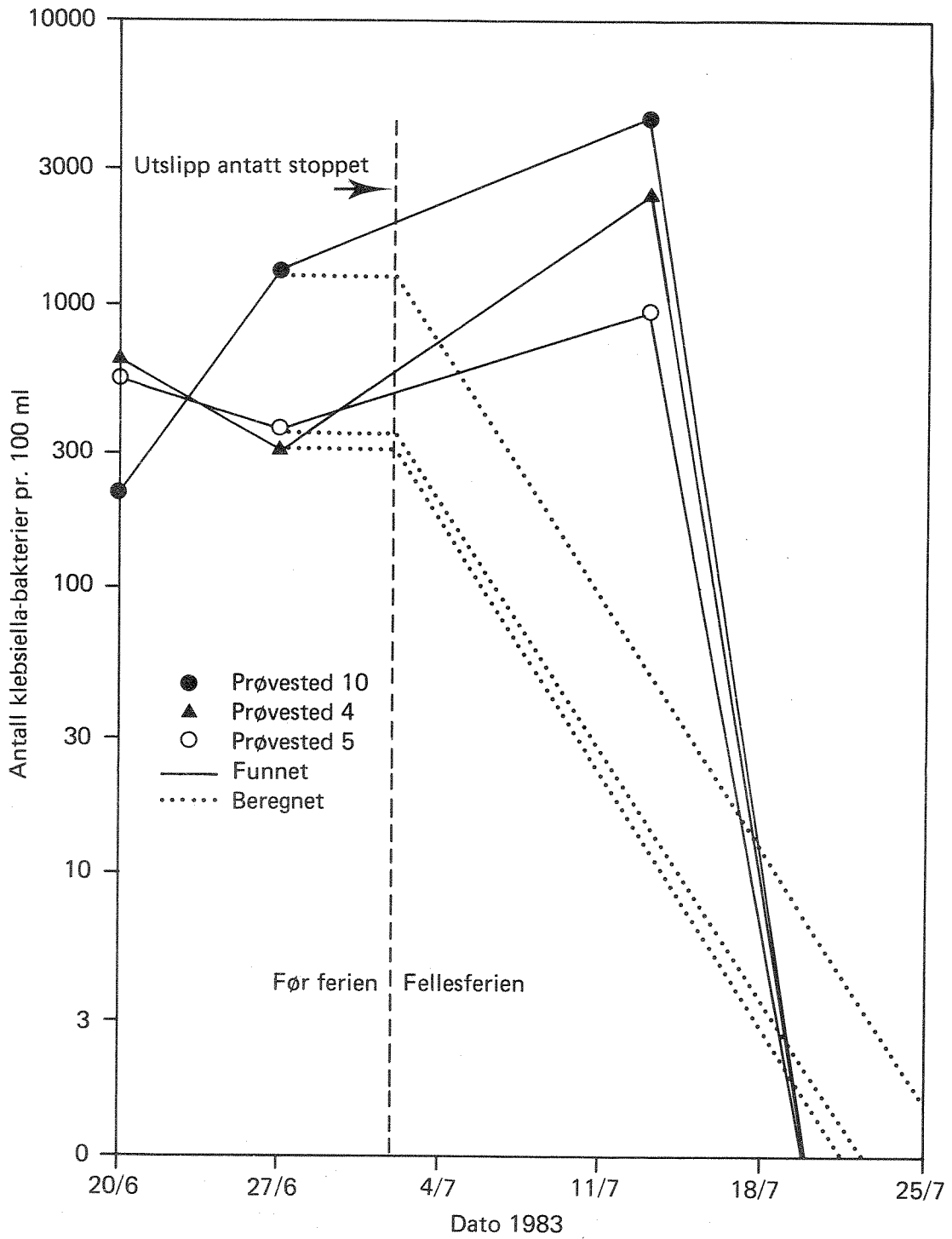
Niemelä og Väätänen (9) har beregnet reduksjonshastigheten for *Klebsiella* fra treforedlingsutslipp i en finsk innsjø. De fant at hastigheten var temperaturavhengig. Tiden for 90% reduksjon av *K. pneumoniae* var ca. 24 døgn ved 0 °C og ca. 5 døgn ved 20 °C. I nevnte publikasjon er formelen for utregning av T_{90} ved forskjellige temperaturer gitt.

Ut fra koloniernes prosentfordeling på de forskjellige bakterieslekter, tabell 16 til 19, og konsentrasjonen av de forskjellige kolonityper for prøvestedene 10, 4 og 5, kunne tilnærmede verdier for konsentrasjonen av *Klebsiella* / 100 ml beregnes for hvert av de tre mest forurensede prøvestedene. Disse data er presentert i tabell 7. Hvis utslippene fra Haldens treforedlingsindustri ble stanset i løpet av fredag 1. - lørdag 2. juli, skulle ikke nye klebsiella-bakterier bli tilført Tista, og Iddefjorden ved prøvested 10, etter dette tidspunkt. Konsentrasjonen av klebsiella-bakterier den 27.6. for hvert av de tre prøvestedene ble brukt som utgangspunkt for beregningene. Temperaturen i overflate-laget i Iddefjorden i de tre fellesferieukene ble satt lik 15 °C.

Ifølge litt. 9 har man

$$\log(-K) = -1,3719 + 0.0317 t$$

der K er den spesifikke reduksjonshastighet i logaritmiske enheter pr. døgn, og t er temperaturen i °C.



Figur 4. Sammenligning av beregnet reduksjon i ferskvann ved 15 °C og funnet reduksjon av *Klebsiella* i Iddefjorden.

For $t = 15$ får vi:

$$-K = 0.127$$

Tiden i døgn for desimal reduksjon, dvs. en reduksjon fra 100 \rightarrow 10, 10 \rightarrow 1; eller 90% reduksjon, beregnes som følger:

$$T_{90} = \frac{1}{0.127} = 7,9, \text{ dvs. ca. 8 døgn.}$$

Den forventede desimering ifølge disse beregninger er tegnet inn i figur 4, der også de beregnede konsentrasjoner av *Klebsiella* fra tabell 7 er inntegnet. Figuren viser at de funne konsentrasjoner av *Klebsiella* i Iddefjorden stiger istedenfor å synke i løpet av de to første ferieuken, mens den deretter avtar mye raskere enn desimeringskurvene for ferskvann tilsier. Niemelä og Väätänen (9) skriver at sollysets inaktiverende evne er større i saltvann enn i ferskvann, og dette kan være en medvirkende årsak til den bratte reduksjonskurven for Iddefjorden.

Årsaken til at *Klebsiella* -konsentrasjonen tilsynelatende steg i fellesferiens første uker har trolig sammenheng med at utgangskonsentrasjonen like etter produksjonsstopp i treforedlingsindustrien var høyere enn den var 27. juni. Årsaken kan også være at bakteriene er istand til å formere seg i resipientvannet, og derfor ikke begynner å forsvinne samtidig med at utslippet stoppes. Sammenlignes helningen på desimeringskurvene, finner man at den funne T_{90} for Iddefjorden er på mellom 2 og 2,2 døgn, mens den beregnede for $t = 15$ °C var på ca. 8 døgn. For 20 °C vil den ifølge Niemelä og Väätänen være ca. 5 døgn. Fortynningen av resipientvannet kan være større i Iddefjorden, som er utsatt for tidevannspåvirkning, enn i den undersøkte finske innsjøen. Da det også er forventet at desimeringshastigheten er større i sjøvann enn i ferskvann, passer data fra Iddefjorden godt inn med data funnet for tilsvarende problemstilling i ferskvann i Finland.

Tabell 7. Beregnet konsentrasjon av klebsiella-bakterier på prøvestedene 10, 4 og 5

Dato	Type koloni	% andel Klebs.	Prøvested 10		Prøvested 4		Prøvested 5	
			Totalantall pr. 100 ml	Ant. Klebsiella pr. 100 ml	Totalantall pr. 100 ml	Ant. Klebsiella pr. 100 ml	Totalantall pr. 100 ml	Ant. Klebsiella pr. 100 ml
20.6.	1	22	$5 \cdot 10^2$	100	$17 \cdot 10^2$	374	$4 \cdot 10^2$	36
	2	63	$1 \cdot 10^2$	63	$3 \cdot 10^2$	189	$6 \cdot 10^2$	378
	3	12.5	$3 \cdot 10^2$	38	$8 \cdot 10^2$	100	$8 \cdot 10^2$	100
			$9 \cdot 10^2$	211	$28 \cdot 10^2$	663	$18 \cdot 10^2$	566
27.6.	1	40	$16 \cdot 10^2$	640	>80 (100)	40	$1 \cdot 10^2$	40
	2	100	$3 \cdot 10^2$	300	0	0	$2 \cdot 10^2$	200
	3	89	$4 \cdot 10^2$	356	$3 \cdot 10^2$	267	122	109
	4	0	$23 \cdot 10^2$	0	$5 \cdot 10^2$	0	$3 \cdot 10^2$	0
			$46 \cdot 10^2$	1296	$9 \cdot 10^2$	307	$7 \cdot 10^2$	349
13.7.	1	45	$74 \cdot 10^2$	3330	$46 \cdot 10^2$	2070	$7 \cdot 10^2$	315
	2	86	$3 \cdot 10^2$	258	$4 \cdot 10^2$	344	$3 \cdot 10^2$	258
	3	0	$3 \cdot 10^2$	0	$2 \cdot 10^2$	0	0	0
	4	22	$51 \cdot 10^2$	1122	$10 \cdot 10^2$	220	$18 \cdot 10^2$	396
			$131 \cdot 10^2$	4710	$62 \cdot 10^2$	2634	$28 \cdot 10^2$	969
20.7.	1	0	$15 \cdot 10^2$	0	$12 \cdot 10^2$	0	$10 \cdot 10^2$	0
	2	0	$2 \cdot 10^2$	0	$7 \cdot 10^2$	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	$14 \cdot 10^2$	0	$6 \cdot 10^2$	0	$3 \cdot 10^2$	0
			$31 \cdot 10^2$	0	$25 \cdot 10^2$	0	$13 \cdot 10^2$	0

LITTERATUR

1. Duncan, D.W., and W.E. Razzell. 1972. *Klebsiella* biotypes among coliforms isolated from forest environments and farm produce. *Appl. Microbiol.* 24: 933-938.
2. Huntley, B.E., A.C. Jones, and V.J. Cabelli. 1976. *Klebsiella* densities in waters receiving wood pulp effluents. *J. Water Pollut. Control Fed.* 48: 1766-1771.
3. Knittel, M.D., R.J. Seidler, C. Aby, and L.M. Cabe. 1977. Colonization of the botanical environment by *Klebsiella* isolates of pathogenic origin. *Appl. Environ. Microbiol.* 34: 557-763.
4. Neilson, A.H., and L. Sparell. 1976. Acetylene reduction (nitrogen fixation) by *Enterobacteriaceae* isolated from paper mill process waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 32: 197-205.
5. Caplenas, N.R., Kanarek, M.S., and Dufour, A.P. 1981. Source and Extent of *Klebsiella pneumoniae* in the Paper Industry. *Appl. Environ. Microbiol.* 42, 779-785.
6. Magnusson, J., Ormerod, K., og Skei, J. 1981. Nasjonalt program for overvåking av vannressurser. Pilotprosjekt Iddefjorden 1979. NIVA-rapport 0-8000302, ISBN 82-577-0425-3.
7. Magnusson, J. et al. 1982. Forslag til arbeidsprogram og budsjett 1983 for supplerende basisundersøkelser og overvåking i IDDEFJORDEN. NIVA-prosjekt 0-8000302 (Inneholder bl.a. liste over utgitte overvåkingsrapporter for dette prosjektet).
8. Karanek, M.S., and Caplenas, R. Epidemiological Study of *Klebsiella pneumoniae* Among Pulp and Paper Mill Workers. Project Summary. EPA-600/SI-81-023 Apr. 1981.
9. Niemelä, S.I., and Väättänen, P., 1982. Survival in Lake Water of *Klebsiella pneumoniae* discharged by a Paper Mill. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 264-269.

10. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 15th Ed. 1980. APHA - AWWA - WPCF (USA).
11. Bagley, S.T., and R.J. Seidler. 1978. Primary *Klebsiella* identification with MacConkey-inositol-carbenicillin agar. Appl. Environ. Microbiol. 36: 536-538.
12. Lassen, J. 1975. Rapid identification of Gram-negative rods using a three-tube method combined with a dichotomic key. Acta path. microbiol. scand. Sect. B, 83, 525-533.
13. NS 4751 Vannundersøkelser. Metoder for bakteriologisk undersøkelse av drikkevann. 1.utg. aug. 1976. Norges Standardiseringsforbund.
14. Daubner, I. & Mayer, J. Die Anwendung des Oxydase-Testes bei der hygienische-bakteriologischen Wasseranalyse. Arch. Hyg. (Berl.), 152: 302-305 (1968).

TILLEGG

På grunn av at det selektive antibiotikum carbenicillin ikke ankom i tide, måtte undersøkelsen foretas med mer kompliserte metoder enn opprinnelig planlagt, se kapittel 2.2.

Dermed fremkom en rekke opplysninger som vi ikke ville ha fått ved direkte membranfilteranalyse. Disse detaljerte opplysninger blir derfor presentert som tillegg til rapporten i tabellene 8 til 11, slik at de kan benyttes dersom problemet skal undersøkes videre. De originale testdata fra Lassens test er imidlertid ikke presentert, men blir tatt vare på ved NIVA. Resultatene fra denne testen er presentert som navn på bakteriearter eller -slekt.

Tabeller i tillegget

Tabell	Tekst	Side
8	Karakterisering av kolonier fra Endo-membranfiltre etter overføring til og vekst på Nutrient agar og m-FC-agar. Tokt 20.6.1983.	29
9	Som tabell 8, tokt 27.6.1983	30
10	Som tabell 8, tokt 13.7.1983	31
11	Som tabell 8, tokt 20.7.1983	32
12	Identifikasjonsresultater etter Lassens test (12). Tokt 20.6.1983	33
13	Som tabell 12, tokt 27.6.1983	34
14	Som tabell 12, tokt 13.7.1983	35
15	Som tabell 12, tokt 20.7.1983	36
16	Testing av termotolerante kolonier fra 20.6.1983 for slektstilhørighet	37
17	Som tabell 16, tokt 27.6.1983	38
18	Som tabell 16, tokt 13.7.1983	39
19	Som tabell 16, tokt 20.7.1983	40

Tabell	Tekst	Side
20	Prosentandel av termotolerante coliforme og andre bakterier i Iddefjorden den 20.6.1983	41
21	Som tabell 20, tokt 27.6.1983	42
22	Som tabell 20, tokt 13.7.1983	43
23	Som tabell 20, tokt 20.7.1983	44
24	Bakteriekonsentrasjoner i Iddefjorden i sommerperioden 1983	45

Tabell 8. Karakterisering av kolonier fra endo-membranfiltre etter overføring til og vekst på nutrient agar og M-FC agar, 20.6.1983.

Prøvested stasjon	Filter nr.	Bakt.kode	Type på oppr.filter	Kolonier på NA	Kolonier på M-FC		Oxidase-test	Identifikasjon ifølge Lassens metode
					37 °	44-45 °		
1	1	T1/1	Fuksinglans	Hvit	Hvit, slimet, blå kant	Blå, litt hvit på toppen	-	E. coli
10	3	T1/3a	"	"	Hvitgrå, slim., blå kant	Blå	-	K.oz.
10	3	T1/3b	"	"	Flat, blå, tørr	"	-	E.aerog.
4	4	T1/4a	"	"	Flat, blå, tørr	"	-	K.oz.
4	4	T1/4b	"	"	Flat, blå, tørr	"	-	E.coli
5	5	T1/5	"	"	Flat, blå, tørr	"	-	E.aerog.
7	6	T1/6	"	"	Flat, blå, tørr	"	-	E.coli
9	7	T1/7	"	"	Flat, blå, tørr	"	-	Yers. ent.? (K.pn.)
1	1	T2/1	Stor, rød, Mucoid, glans	Hvit	Lys blå, slimete, hvit kant	Hvit oppå, blå under	-	E.cloac.
2	2	T2/2	"	Voldsomt slimete	"	"	-	K.pn.
10	3	T2/3	"	Hvit	Hvit	Hvit	-	K.oz. el. K.pn.
4	4	T2/4a	"	Gul	Lys blå, slimete, hvit kant	"	+	E.aerog. Ox. +
4	4	T2/4b	"	Hvit	"	Hvit oppå, blå under	-	K.pn.
5	5	T2/5a	"	"	Hvit med blå kant	Blå	-	K.oz.
5	5	T2/5b	"	"	Lys blå m/ hvit kant	Lys blå oppå-grå under	-	K.oz.
9	7	T2/7	"	Gul	Lys rød m/blå kant, spreder	Blå	-	Ser.rub.
1	1	T3/1	Mørke, røde, små	Gul	Grå, hvit, mucoid	Hvit	-	E.aerog.
2	2	T3/2	"	"	"	"	-	E.aerog. el. E.cloac.
10	3	T3/3a	"	Hvit	Hvit, mucoid, blå kant, blå under	Lys blå oppå, grå under	-	E.coli
10	3	T3/3b	"	Gul	"	Blå m/hvit topp	-	K.oz.
4	4	T3/4a	"	"	Hvitgrå, mucoid	Hvit	-	E.aerog.
4	4	T3/4b	"	"	"	"	-	E.aerog.
5	5	T3/5	"	Hvit	Lys rød el. blank mucoid	Lys rød	+	Ox. +
7	6	T3/6	"	"	Gråhvit, spreder	Hvit, lys rød under	-	Enterob. sp. Serr.sp. Salmon. sp.
10	3	T4/3	Blanke, små, bakgr.	"	Gråhvit, tett vekst	Hvit, lys rød under	+	Ox. +
4	4	T4/4	"	"	Rød skål, blank kol.	"	+	Ox. +

Tabell 9. Karakterisering av kolonier fra endo-membranfiltre etter overføring til og vekst på nutrient agar og M-FC agar, 27.6.1983.

Prøvesteds nr.	Filter nr.	Koloni-kode	Utseende av kolonier		Nutrient agar oksydase test	Identifikasjon ifølge Lassens metode
			Endofilter	m-FC agar 44°C		
2	2	T1/2	Fuksinglans, > 1 mm diam., hele kolonien mørk rød	Blå, flat	-	E.coli
10	3	T1/3a	"	"	-	K.oz.
		T1/3b	"	"	-	K.oz.
5	5	T1/5	Mindre kol. enn T1/1	"	-	E.cloac.
9	7	T1/7	Mørk rød	Grå med blå kant, blå under	-	E.aerog.
2	2	T2/2	Metallglans i rød kjerne, gråviolett ring	Hvit oppå, mucoid, blå under	-	K.oz.
10	3	T2/3a	"	Hvit oppå, blågrå under	-	K.oz.
		T2/3b	"	Hvit oppå og under	-	K.pn.
		T2/3c	"	Blå, flat	-	K.pn.
5	5	T2/5a	"	Hvit, mucoid, blå under	-	K.oz.
		T2/5b	"	"	-	K.oz.
1	1	T3/1	Konveks, stor rød koloni, ikke rødere enn bakgrunn	Hvit, grå under	-	K.pn.
2	2	T3/2	"	"	-	K.pn.
10	3	T3/3	"	Rød hvit koloni, mucoid	-	Uident.
4	4	T3/4	"	Hvit, mucoid, blå under	-	K.oz.
5	5	T3/5a	"	Hvit, kornet, blå under	-	K.oz.
		T3/5b	"	"	-	K.oz.
7	6	T3/6	Meget slimet, seig	Blå, blå sone i agar	-	K.oz.
9	7	T3/7a	Som T3/1, (enkel koloni)	Grå med blå kant, mucoid, blå under	-	K.pn.
		T3/7b	Fra overgr.filter	Blå, tørr, blå sone i agar	-	K.oz.
2	2	T4/2	Rød kjerne, lys periferi	Hvit, mucoid, rød sone i agar	+	Flavo.b.
10	3	T4/3	"	Blågrå med grå sone, mucoid, grå under	-	Serratia
4	4	T4/4	"	Grå, mucoid, grå under	-	(K.oz. el.) Serratia
10	3	T5/3	Fuksin "prikk" med flat, rød sone	Hvit, mucoid, rød sone i agar	+	Pseudom.

Tabell 10. Karakterisering av kolonier fra endo-membranfiltre etter overføring til og vekst på nutrient agar og M-FC agar, 13.7.1983.

Prøvesteds nr.	Filter nr.	Koloni-kode	Utseende av kolonier		Nutrient agar oksydase test	Identifikasjon ifølge Lassens metode
			Endofilter	m-FC agar 44°C		
1	1	T1/1	Flate, mørke røde kolonier med metallglans	Tørr, blå	-	K.oz.
2	2	T1/2	"	"	-	E.cloac.
10	3	T1/3a	"	"	-	E.aerog. el. Citrob.
		T1/3b	"	"	-	E.coli
4	4	T1/4a	"	Ingen vekst	-	K.pn.
		T1/4b	"	Tørr, blå	-	E.aerog.
5	5	T1/5	"	"	-	K.pn.
7	6	T1/6	"	"	+	Ox. +
9	7	T1/7	"	"	-	K.pn., oxytoca
1	1	T2/1	Mørke røde, konvekse kolonier	Tørr, blå	-	K.oz.
2	2	T2/2	"	Grå, mucoid	-	K.pn.
10	3	T2/3	"	Blå	+	Ox. +
4	4	T2/4	Metallglans	Grå, mucoid	- +	K.pn.
5	5	T2/5	"	"	-	K.pn.
7	6	T2/6	"	Ingen vekst	-	K.pn.
9	7	T2/7	"	Grå, mucoid	-	K.pn.
10	3	T3/3	Røde kolonier, ikke mørkere enn bakgrunnen	Grå, mucoid	- +	Serratia
4	4	T3/4	"	"	+	Ox. +
9	7	T3/7	"	Ingen vekst	+	A.hydr. (ox. +)
1	1	T4/1	Kolonier, av farge som T3, men med lys periferi	Ingen vekst	-	E.aerog.
2	2	T4/2a	"	Grå, mucoid	-	K.oz.
		T4/2b	"	Grå, flat	-	E.aerog.
10	3	T4/3a	"	Grå, mucoid	-	E.cloac.
		T4/3b	"	"	-	E.aerog.
4	4	T4/4	"	"	-	E.aerog.
5	5	T4/5	"	"	-	Enterob. sp.
7	6	T4/6	"	"	-	Ent. sp.
9	7	T4/7	"	Grå med rødlig sone	-	K.oz. el. E.hafniae

Tabell 11. Karakterisering av kolonier fra endo-membranfiltre etter overføring til og vekst på nutrient agar og M-FC agar, 20.7.1983.

Prøvesteds nr.	Filter nr.	Koloni-kode	Utseende av kolonier		Nutrient agar oksydase test	Identifikasjon ifølge Lassens metode
			Endofilter	M-FC agar 44°C		
2	2	T1/2	Flate, mørke kolonier med metallglans	Mørke blå, tørr, blå sone i agar	+	A. hydr.
10	3	T1/3	"	"	+	A. hydr.
4	4	T1/4	"	Lysere blå, tørr	-	E. coli
5	5	T1/5	"	"	-	E. aerog.
2	2	T2/2	Mørk kjerne med metallglans, lys periferi	Som T1/4	+	A. hydr.
10	3	T2/3	"	Gråblå koloni	+	Ox. +
4	4	T2/4	"	Blå koloni	+	Ox. +
7	6	T2/6	"	Lys brun, glatt koloni	+	A. hydr.
1	1	T3/1	Mørke rød, utflytende koloni	Lys grå, mucoid koloni	+	A. hydr.
2	2	T4/2	Lyse røde kolonier	Mørk grå koloni	+	Serratia
10	3	T4/3	"	"	+	Ox. +
4	4	T4/4	"	Blå, mucoid koloni	-	E. aerog.
7	6	T4/6	"	"	-	E. coli
4	4	T5/4	Mørk rød koloni med lys kjerne	"	+	A. hydr.

Tabell 12. Identifikasjonsresultater etter Lassens test.
Tøkt 20.6.1983.

Koloni- type nr.	Tekst	Testet pr. filter pr. prøvested nr.						
		1	2	10	4	5	7	9
1	Antall	1	0	2	2	1	1	1
	Resultat	<i>E.coli</i>		<i>K.oz.</i> <i>Ent.</i>	<i>K.oz.</i> <i>E.coli</i>	<i>Ent.</i>	<i>E.coli</i>	<i>Yersini- na (K.pn)</i>
2	Antall	1	1	1	2	2	0	1
	Resultat	<i>Ent.</i>	<i>K.pn.</i>	<i>K.oz.</i> eller <i>K.pn.</i>	0x + <i>K.pn.</i>	<i>K.oz.</i> <i>K.oz.</i>		<i>Serratia</i>
3	Antall	1	1	2	2	1	1	0
	Resultat	<i>Ent.</i>	<i>Ent.</i>	<i>E.coli</i> <i>K.oz.</i>	<i>Ent.</i> <i>Ent.</i>	0x +	Uidenti- fisert	
4	Antall	0	0	1	1	0	0	0
	Resultat			0x +	0x +			
Tekst		<i>K.ozaenae</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>K.pneumoniae</i> var. <i>oxytoea</i>		Totalt
Antall		6 (5)		2 (3)		0		8
Prosent		75 (63)		25 (37)		0		100

Tabell 13. Identifikasjonsresultater etter Lassens test.
Tøkt 27.6.1983.

Koloni- type nr.	Tekst	Testet pr. filter pr. prøvested nr.						
		1	2	10	4	5	7	9
1	Antall	0	1	2	0	1		1
	Resultat		<i>E.coli</i>	<i>K.oz.</i> <i>K.oz.</i>		<i>Ent.</i>		<i>Ent.</i>
2	Antall	0	1	3	0	2	0	0
	Resultat		<i>K.oz.</i>	<i>K.oz.</i> <i>K.pn.</i> <i>K.pn.</i>		<i>K.oz.</i> <i>K.oz.</i>		
3	Antall	1	1	1	1	2	1	2
	Resultat	<i>K.pn.</i>	<i>K.pn.</i>	Uident.	<i>K.oz.</i>	<i>K.oz.</i> <i>K.oz.</i>	<i>K.oz.</i>	<i>K.pn.</i> <i>K.oz.</i>
4	Antall	0	1	1	1	0	0	0
	Resultat		<i>Flavob.</i> Ox +	<i>Serr.</i>	<i>Serr.</i> eller <i>K.oz.</i>			
Tekst		<i>K. ozaenae</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>K. pneumoniae</i> var. <i>oxytoca</i>		Totalt
Antall		12 (13)		5		0		17 (18)
Prosent		70 (72)		30 (28)				100

Tabell 14. Identifikasjonsresultater etter Lassens test.
Tøkt 13.7.1983.

Koloni- type nr.	Tekst	Testet pr. filter pr. prøvested nr.						
		1	2	10	4	5	7	9
1	Antall	1	1	2	2	1	1	1
	Resultat	<i>K.oz.</i>	<i>Ent.</i>	<i>E.coli</i> <i>Citrob.</i>	<i>Ent.</i> <i>K.pn.</i>	<i>K.pn.</i>	Ox +	<i>K.pn.</i> <i>oxytoca</i>
2	Antall	1	1	1	1	1	1	1
	Resultat	<i>K.oz.</i>	<i>K.pn.</i>	Ox +	<i>K.pn.</i>	<i>K.pn.</i>	<i>K.pn.</i>	<i>K.pn.</i>
3	Antall			1	1		1	
	Resultat			Ox +	Ox +	Ox +	(<i>A.hydr.</i>)	
4	Antall	1	2	2	1	1	1	1
	Resultat	<i>Ent.</i>	<i>K.oz.</i> <i>Ent.</i>	<i>Ent.</i> <i>Ent.</i>	<i>Ent.</i>	<i>Ent.</i>	<i>Ent.</i>	<i>K.oz.</i>
Tekst		<i>K.ozaenae</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>K.pneumoniae</i> var. <i>oxytoca</i>		Totalt
Antall		4		7		1		12
Prosent		34		58		8		100

Tabell 15. Identifikasjonsresultater etter Lassens test.
Tokt 20.7.1983.

Koloni- type nr.	Tekst	Testet pr. filter pr. prøvested nr.						
		1	2	10	4	5	7	9
1	Antall	0	1	1	1	1	0	0
	Resultat		<i>A. hyd.</i> OX +	<i>A. hyd.</i> OX +	<i>E. coli</i>	<i>Ent.</i>		
2	Antall	0	1	1	1	0	1	0
	Resultat		<i>A. hyd.</i> OX +	OX +	OX +		<i>A. hyd.</i> OX +	
3	Antall	1	0	0	0	0	0	0
	Resultat	<i>A. hyd.</i> OX +						
4	Antall	0	1	1	1	0	1	1
	Resultat		<i>Serra- tia</i>	OX +	<i>Ent.</i>		<i>E. coli</i>	<i>A. hydr.</i> OX +
Tekst		<i>K. ozaenae</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>K. pneumoniae</i> var. <i>oxytoea</i>		Totalt
Antall		0		0		0		0
Prosent								

Tabell 16. Testing av termotolerante kolonier fra 20.6.1983 for slektstilhørighet.

Tekst	Prøve- sted	Antall testede kolo- nier	Kolonier tilhørende slekten			
			<i>Esche- richia</i>	<i>Entero- bacter</i>	<i>Kleb- siella</i>	Andre
<u>Kolonitype 1</u>	1	1	1			
Mørkerøde, flate med metallglans	10	2		1	1	
	4	2	1		1	
	5	2	1	1		
	7	1	1			
	9	1				1
Totalantall		9	4	2	2	1
Prosentfordeling		100	45	22	22	11
<u>Kolonitype 2</u>	1	1		1		
Mørkerøde, konvek- se med metallglans	2	1			1	
	10	1			1	
	4	2			1	1
	5	2			2	
	9	1				1
Totalantall		8	0	1	5	2
Prosentfordeling		100	0	12	63	25
<u>Kolonitype 3</u>	1	1		1		
Mørkerøde	2	1		1		
	10	2	1		1	
	4	2		2		
	5	1				1
	7	1				1
Totalantall		8	1	4	1	2
Prosentfordeling		100	12.5	50	12.5	25
<u>Kolonitype 4:</u> Lyserøde og blanke	For mange til å telle (og teste)					

Tabell 17. Testing av termotolerante kolonier fra 27.6.1983 for slektstilhørighet.

Tekst	Prøvested	Antall testede kolonier	Kolonier tilhørende slekten			
			<i>Escherichia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	Andre
<u>Kolonitype 1</u>	2	1	1			
Mørkerøde, flate med metallglans	10	2			2	
	5	1		1		
	9	1		1		
Totalantall testet		5	1	2	2	0
Prosentfordeling		100	20	40	40	0
<u>Kolonitype 2</u>	2	1			1	
Mørkerøde, konkave med metallglans	10	3			3	
	5	2			2	
Totalantall testet		3			3	
Prosentfordeling		100			100	
<u>Kolonitype 3</u>	1	1			1	
Mørkerøde	2	1			1	
	10	1				1
	4	1			1	
	5	2			2	
	7	1			1	
	9	2			2	
Totalantall testet		9			8	
Prosentfordeling		100			89	11
<u>Kolonitype 4</u>	2	1				1
Rødt center, lys periferi	10	1				1
	4	1				1
Totalantall testet		3				3
Prosentfordeling		100				100

Tabell 18. Testing av termotolerante kolonier fra 13.7.1983 for slektstilhørighet.

Tekst	Prøve- sted	Antall testede kolo- nier	Kolonier tilhørende slekten			
			<i>Esche- richia</i>	<i>Entero- bacter</i>	<i>Kleb- siella</i>	Andre
<u>Kolonitype 1</u> Mørkerøde, flate	1	1			1	
	2	1		1		
	10	2	1			1
	4	2		1		
	5	1			1	
	7	1				1
	9	1			1	
Totalantall testet		9	1	2	4	2
Prosentfordeling		100	11	22	45	22
<u>Kolonitype 2</u> Mørkerøde, konka- ve med metallglans	1	1			1	
	2	1			1	
	10	1				1
	4	1			1	
	5	1			1	
	6	1			1	
	7	1			1	
Totalantall testet		7			6	1
Prosentfordeling		100			86	14
<u>Kolonitype 3</u> Mørke røde	10	1				1
	4	1				1
	9	1				1
Totalantall testet		3				3
Prosentfordeling		100				100
<u>Kolonitype 4</u> Rødt center, lys periferi	1	1		1		
	2	2		1		
	10	2		2	1	
	4	1		1		
	5	1		1		
	7	1		1		
	9	1			1	
Totalantall testet		9	0	7	2	0
Prosentfordeling		100	0	78	22	0

Tabell 19. Testing av termotolerante kolonier fra 20.7.1983 for slektstilhørighet.

Tekst	Prøvested	Antall testede kolonier	Kolonier tilhørende slekten			
			<i>Escherichia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	Andre
<u>Kolonitype 1</u>	2	1				1
Mørkerøde, flate	10	1				1
	4	1	1			
	5	1		1		
Totalantall testet		4	1	1	0	2
Prosentfordeling		100	25	25	0	50
<u>Kolonitype 2</u>	2	1				1
Mørkerøde, kjerner med metallglans,	10	1				1
	4	1				1
	7	1				1
Totalantall testet		4	0	0	0	4
Prosentfordeling		100	0	0	0	100
<u>Kolonitype 3</u>						
Mørkerøde, mucoside	1	1	0	0	0	1
Prosentfordeling		100	0	0	0	100
<u>Kolonitype 4</u>	2	1				1
Lyserøde kolonier	10	1				1
	4	1		1		
	7	1	1			
	9	1				1
Totalantall testet		5	1	1	0	3
Prosentfordeling		100	20	20	0	60

Tabell 20. Prosentandel av termotolerante coliforme og andre bakterier i Iddefjorden den 20.6.1983.

KOLONITYPE	Summen av antall kolonier pr. 100 ml fra hvert prøvested	Kolonier tilhørende genus			
		<i>Escherichia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	Andre
Type 1 Mørke røde, flate med metallglans	4517	2033	993	993	498
Type 2 Mørke røde, konvekse m. metallglans	34		4	21	9
Type 3 Mørke røde	> 5200	> 650	> 2600	> 650	> 1300
Sum coliforme, antall	> 9800	> 2683	> 3597	> 1664	> 1807
Prosentfordeling	100	27	37	17	19
Type 4 Lyse røde og blanke	For mange til å telle (FMT)	-	-	-	-

Escherichia coli er den bakterietype vi ønsker å bestemme som "termotolerante coliforme bakterier". *Enterobacter* er en coliform bakterie som ikke vanligvis er termotolerant. *Klebsiella* regnes vanligvis ikke som coliform bakterie, men den finnes i fæces. "Andre kolonier" kan være *Citrobacter* som også finnes i fæces, eller andre, vesentlig oksidase +, bakterier.

Tabell 21. Prosentandel av termotolerante coliforme og andre bakterier i Iddefjorden den 27.6.1983.

KOLONITYPE	Summen av antall kolonier pr. 100 ml fra hvert prøvested	Kolonier tilhørende genus			Andre
		<i>Escherichia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	
Type 1 Mørke røde, flate med metallglans	ca. 2000	400	800	800	0
Type 2 Mørke røde, konvekse med metallglans	> 1000	0	0	> 1000	0
Type 3 Mørke røde	> 1000	0	0	> 890	> 110
Sum coliforme kolon., antall	> 4000	400	800	> 2690	> 110
Prosentfordeling	100	10	20	67	3
Type 4 Røde centre, blank periferi	3800				3800
Totalt i fjorden, antall	> 7800	400	800	> 2690	> 3910
Prosentfordeling	100	5	10	35	50

Escherichia coli er den bakterietype vi ønsker å bestemme som "termotolerante coliforme bakterier". *Enterobacter* er en coliform bakterie som ikke vanligvis er termotolerant. *Klebsiella* regnes vanligvis ikke som coliform bakterie, men den finnes i fæces. "Andre kolonier" kan være *Citrobacter* som også finnes i fæces, eller andre, vesentlig oksidase +, bakterier.

Tabell 22. Prosentandel av termotolerante coliforme og andre bakterier i Iddefjorden den 13.7.1983.

KOLONITYPE	Summen av antall kolonier pr. 100 ml fra hvert prøvested	Kolonier tilhørende genus			
		<i>Escherichia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	Andre
Type 1 Mørke røde, flate med metallglans	14 408	1585	3170	6480	3170
Type 2 Mørke røde, konvekse med metallglans	1 600			1376	224
Type 3 Mørke røde	538				538
Sum coliforme kolonier, antall	16 547	1729	3170	7715	3932
Prosentandel	100	10	19	47	24
Type 4 Rødt center, lys periferi	ca. 40 000	0	31200	8800	0
Totalt i fjorden, antall	ca. 57 000	1729	34370	16515	3932
	100	3	60	30	7

Escherichia coli er den bakterietype vi ønsker å bestemme som "termotolerante coliforme bakterier". *Enterobacter* er en coliform bakterie som ikke vanligvis er termotolerant. *Klebsiella* regnes vanligvis ikke som coliform bakterie, men den finnes i fæces. "Andre kolonier" kan være *Citrobacter* som også finnes i fæces, eller andre, vesentlig oksidase +, bakterier.

Tabell 23. Prosentandel av termotolerante coliforme og andre bakterier i Iddefjorden den 20.7.1983.

KOLONITYPE	Summen av antall kolonier pr. 100 ml fra hvert prøvested	Kolonier tilhørende genus			
		<i>Escherichia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	Andre
Type 1 Mørke røde, flate med metallglans	3727	932	932	0	1863
Type 2 Mørk rød kjerne med metallglans, lys periferi	1000				1000
Type 3 Mørke røde, mucoide	18				18
Sum coliforme kolonier, antall	4745	932	932	0	2881
Prosentandel	100	20	20	0	60
Type 4 Lyse røde kolonier	ca. 2600	520	520	0	1560
Totalt i fjorden, antall	7345	1452	1452	0	4441
Prosentandel	100	20	20	0	60

Escherichia coli er den bakterietype vi ønsker å bestemme som "termotolerante coliforme bakterier". *Enterobacter* er en coliform bakterie som ikke vanligvis er termotolerant. *Klebsiella* regnes vanligvis ikke som coliform bakterie, men den finnes i fæces. "Andre kolonier" kan være *Citrobacter* som også finnes i fæces, eller andre, vesentlig oksidase +, bakterier.

Tabell 24. Bakteriekonsentrasjoner i Iddefjorden i sommerperioden 1983.

Dato	Bakteriekonsentrasjonen ved stasjon nr.:													
	1		2		4		5		7		9		10	
	CoLi/ 100 ml	Kim/ ml	CoLi/ 100 ml	Kim/ ml	CoLi/ 100 ml	Kim/ ml	CoLi/ 100 ml	Kim/ ml	CoLi/ 100 ml	Kim/ ml	CoLi/ 100 ml	Kim/ ml	CoLi/ 100 ml	Kim/ ml
1983														
24.5.	20	230	16	190	1600	5400	93	390	200	260	17	180	300	910
1.6.	400	770	110	1500	2400	28000	1300	34000	100	13000	16	330	2200	6800
7.6.	27	550	200	1300	200	4900	600	6200	100	4800	20	340	1000	22000
16.6.	300	35000	200	11000	500	200000	600	56000	400	57000	7	12000	400	28000
20.6.	900	5600	100	5100	1300	5600	600	940	700	1600	11	600	600	4800
27.6.	38	5000	300	13000	70	5500	300	4100	35	11000	25	4500	1500	96000
6.7.	39	240	58	270	1100	4000	1000	1800	400	1500	26	1200	1400	25000
13.7.	800	8000	1100	7000	4700	30000	700	8000	600	5000	7	140	7500	60000
20.7.	61	530	78	940	1500	10000	1300	8800	24	480	10	270	1900	3200
27.7.	2	120	200	3200	6100	56000	9900	36000	18	470	8	690	2300	68000
4.8.	30	470	90	2300	3200	24000	2800	39000	20	2100	31	1500	2600	9800
15.8.	50	960	20	1900	4200	43000	5000	61000	25	8000	77	610	3000	32000
18.8.	3700	39000	1000	34000	300	16000	300	36000	700	17000	27	3500	13000	97000
25.8.	800	18000	900	26000	1300	24000	1700	20000	1000	19000	105	15000	25000	57000
17.9.	<100	400	<100	290	300	2500	800	15000	300	2100	<100	350	-	-
20.10.	100	8800	1300	15000	100	2600	100	4400	35	2500	23	1500	1000	12000



Statlig program for forurensningsovervåking

Det statlige programmet omfatter overvåking av forurensningsforholdene i

**luft og nedbør
grunnvann
vassdrag og fjorder
havområder**

Overvåkingen består i langsiktige undersøkelser av de fysiske, kjemiske og biologiske forhold.

Hovedmålsettingen med overvåkingsprogrammet er å dekke myndighetenes behov for informasjon om forurensningsforholdene med sikte på best mulig forvaltning av naturressursene.

Hovedmålet spenner over en rekke delmål der overvåkingen bl.a. skal:

gi informasjon om tilstand og utvikling av forurensningssituasjonen på kort og lang sikt.

registrere virkningen av iverksatte tiltak og danne grunnlag for vurdering av nye forurensningsbegrensende tiltak.

påvise eventuell uheldig utvikling i resipienten på et tidlig tidspunkt.

over tid gi bedre kunnskaper om de enkelte vannforekomsters naturlige forhold.

Sammen med overvåkingen vil det føres kontroll med forurensende utslipp og andre aktiviteter.

For å sikre den praktiske koordineringen av overvåkingen av luft, nedbør, grunnvann, vassdrag, fjorder og havområder og for å få en helhetlig tolkning av måleresultatene er det opprettet et arbeidsutvalg.

Følgende institusjoner deltar i arbeidsutvalget:

Direktoratet for vilt og ferskvannsfisk (DVF)

Fiskeridirektoratets Havforskningsinstitutt (FHI)

Norges Geologiske Undersøkelser (NGU)

Norsk institutt for luftforskning (NILU)

Norsk institutt for vannforskning (NIVA)

Statens forurensningstilsyn (SFT)

Overvåkingsprogrammet finansieres i hovedsak over statsbudsjettet. Statens forurensningstilsyn er ansvarlig for gjennomføring av programmet.

Resultater fra de enkelte overvåkingsprosjekter blir publisert i årlige rapporter.

Henvendelser vedrørende programmet kan i tillegg til de aktuelle institutter rettes til Statens forurensningstilsyn, Postboks 8100, Dep. Oslo 1, tlf. 02 - 22 98 10.