



**NIBIO**

NORSK INSTITUTT FOR  
BIOØKONOMI



# Kildesporing av fekal vannforurensing med molekylærbiologiske metoder

Eksempler på undersøkelser i Norge

NIBIO RAPPORT | VOL. 3 | NR. 66 | 2017



Adam M. Paruch, Lisa Paruch og Trond Mæhlum  
Divisjon for miljø og naturressurser

## TITTEL/TITLE

Kildesporing av fekal vannforurensing med molekylærbiologiske metoder – Eksempler på undersøkelser i Norge

## FORFATTER(E)/AUTHOR(S)

Adam M. Paruch, Lisa Paruch og Trond Mæhlum

DATO/DATE:	RAPPORT NR./ REPORT NO.:	TILGJENGELIGHET/AVAILABILITY:	PROSJEKTNR./PROJECT NO.:	SAKSNR./ARCHIVE NO.:
07.04.2017	3/66/2017	Åpen	8843	17/01476
ISBN:		ISSN:	ANTALL SIDER/ NO. OF PAGES:	ANTALL VEDLEGG/ NO. OF APPENDICES:
978-82-17-01851-3		2464-1162	70	

## OPPDRAUGSGIVER/EMPLOYER:

Norsk Vann

## KONTAKTPERSON/CONTACT PERSON:

Kjetil Furuberg

## STIKKORD/KEYWORDS:

*Bacteroidales* 16S rRNA gener, DNA-tester, *E. coli*, fekal vannforurensing

*Bacteroidales* 16S rRNA genes, DNA-tests, *E. coli*, faecal water contamination

## FAGOMRÅDE/FIELD OF WORK:

Vannkvalitet

Water quality

## SAMMENDRAG/SUMMARY:

Fekal forurensning i vann kan spre mikroorganismer som utgjør en helserisiko. For å finne de riktige tiltakene er det vesentlig å finne ut hvor forurensingen kommer fra og hva som er den dominerende kilden. NIBIO har introdusert mikrobiell kildesporing for å undersøke opprinnelsen av fekal vannforurensing i forskjellige typer vassdrag som omfatter jordbruk, viktige drikkevannskilder og urbane område. Metoden omfatter standard tester for påvisning av fekal indikatorbakterien *E. coli* i første trinn. Videre benyttes molekylærbiologiske DNA tester av vertsspesifikke genetiske markører fra bakteriegruppen *Bacteroidales* 16S rRNA for sporing av fekale forurensning i prøver hvor *E. coli* ble påvist. Ved hjelp av bioinformatikk utformes en bidragsprofil for hvilke dyregrupper som bidrar prosentvis i vannprøven. Det kan skilles mellom bidrag fra mennesker, drøvtyggere, hest og gruppen "andre dyr". Rapporten presenterer undersøkelser fra perioden 2013 – 2016. NIBIO mener metoden er egnet til å bli implementert i overvåkingen av - og tiltak mot fekal vannforurensning.

## GODKJENT /APPROVED

Håkon Borch

NAVN/NAME

## PROSJEKTLEDER /PROJECT LEADER

Adam M. Paruch

NAVN/NAME



**NIBIO**

NORSK INSTITUTT FOR  
BIOØKONOMI

# Forord

NIBIO har utviklet og tatt i bruk molekylærbiologiske metoder for sporing av fekal vannforurensning. Metoden ble anvendt til å skille i hvilken grad fekal forurensningen kommer fra mennesker eller dyr og i så fall hvilke arter. Metoden ble testet ut i ulike typer nedbørfelt som blant annet omfatter naturområder, landbruk, bebyggelse og urban aktivitet og et utvalg dyr som typisk ferdes i slike nedbørfelt.

Prosjektene har blitt gjennomført i nært samarbeid med Oslo, Trondheim, Bergen og Oppegård kommuner. Rapporten presenterer også data fra EØS-prosjektet AQUARIUS som NIBIO deltar i (Norway Grants: Norwegian Financial Mechanism 2009–2014 under Project Contract no. 7F14341 *“Assessing water quality improvement options concerning nutrient and pharmaceutical contaminants in rural watersheds”*).

Formålet med hvert prosjekt var primært å benytte og vurdere molekylærbiologiske metoder for sporing av fekale forurensningskilder i store nedbørfelt med vannkilder til konsum, også bading og/eller vanning. Det andre målet var å forsøke å verifisere metoden i nedbørfelt som er dominert av mennesker eller dyr, samt validere molekylærbiologiske tester for forskjellige dyrearter. I rapporten skilles det mellom «mennesker» og «dyr» når resultater vurderes selv om mennesker også er et varmblodig pattedyr.

Analysearbeidet som rapporten bygger på er i sin helhet finansiert av deltakende kommuner foruten finansieringsstøtten fra EØS midler. Arbeidet med sammenstilling av data fra de ulike NIBIO prosjektene for å evaluere erfaringer med metoden i et større perspektiv og gjøre dette arbeidet tilgjengelig, er finansiert av Norsk Vann Prosjekt «Kildesporing av fekal forurensning med nye molekylærbiologiske metoder» etter forslag fra kommuner.

Styringsgruppen som har bidratt i prosjektet gjennom blant annet deltakelse i møter, med prøvetaking og som kontakter består av følgende:

Anna-Lena Beschorner, Oslo kommune

Anna Walde, Bergen kommune

Erlend Nygård, Trondheim kommune

Randi Aamodt, Oppegård kommune

Kjetil Furuberg, Norsk Vann

Deler av rapporten som omtaler mikrobiologiske og molekylærbiologiske metoder i innledningen vil være tungt tilgjengelige uten kjennskap til de begreper som benyttes på fagområdet. Hoveddelen av rapporten med de enkelte delprosjekt er skrevet slik at stoffet er tilgjengelig forutsatt grunnleggende kjennskap til mikrobiologien i fekal vannforurensning.

NIBIO retter en takk til våre samarbeidspartnere fra Oslo, Trondheim, Bergen og Oppegård kommuner som har stilt data til rådighet og Norsk Vann for finansiering av rapporten.

Ås,

April 2017

# Innhold

1	Fekal forurensing .....	9
2	Kildesporing av fekal forurensing .....	11
3	Metode for mikrobiell kildesporing .....	13
3.1	Mikrobiologiske analyser .....	13
3.2	Molekylærbiologiske tester .....	13
3.3	Bidragsprofil av genetiske markører .....	14
4	Mikrobiell kildesporing i jordbrukslandskap .....	15
4.1	Mørdrebekken i Nes .....	15
4.1.1	Prøvetaking .....	16
4.1.2	Resultater .....	16
4.1.3	Vurderinger .....	16
4.2	Grytelandsbekken i Ås .....	18
4.2.1	Prøvetaking .....	18
4.2.2	Resultater .....	18
4.2.3	Vurderinger .....	20
5	Mikrobiell kildesporing i nedbørsområder til drikkevann .....	23
5.1	Maridalsvannet i Oslo .....	23
5.1.1	Prøvetaking .....	24
5.1.2	Resultater .....	26
5.1.3	Vurderinger .....	30
5.2	Jonsvannet i Trondheim .....	30
5.2.1	Prøvetaking .....	31
5.2.2	Resultater .....	33
5.2.3	Vurderinger .....	37
5.3	Jordalsvatnet og Svartediket i Bergen .....	37
5.3.1	Prøvetaking .....	38
5.3.2	Resultater .....	40
5.3.3	Vurderinger .....	40
5.4	Gjersjøen i Oppegård .....	43
5.4.1	Prøvetaking .....	43
5.4.2	Resultater .....	44
5.4.3	Vurderinger .....	53
6	Mikrobiell kildesporing i urbane vassdrag .....	54
6.1	Akerselva i Oslo .....	54
6.1.1	Prøvetaking .....	54
6.1.2	Resultater .....	55
6.1.3	Vurderinger .....	55
6.2	Blåveisbekken i Ski .....	57
6.2.1	Prøvetaking .....	57
6.2.2	Resultater .....	57
6.2.3	Vurderinger .....	58

7 Oppsummering og diskusjon av funn .....	61
8 Konklusjoner .....	64
Litteraturreferanse .....	66

# Sammendrag

For å finne kilden til vannforurensinger slik at målrettede tiltak kan gjennomføres er det i de senere årene utviklet ulike metoder for kildesporing av forurensninger. Forurensninger kan ha en kjemisk eller biologisk signatur som skiller den fra andre forurensninger. Kildesporing omfatter kjemiske og biologiske analysemetoder av vannprøver tatt ut på strategiske plasser i et nedbørfelt med formål å finne kilden. Mikrobiologiske metoder som benytter indikatororganismer som bakteriegruppen *E. coli* har lenge blitt benyttet som en metode for å påvise fekal forurensning. Om det er mennesker eller dyr som er opphav til forurensningen kan være viktig å få kunnskap om. NIBIO har testet ut molekylærbiologiske metoder for sporing av fekale forurensningskilder i vann som kan avdekke om avføringen kommer fra mennesker og/eller dyr. DNA-testene er baserte på *real-time quantitative polymerase chain reaction – qPCR*. Det er også utviklet en metode for å angi bidraget i prosent hvor det er flere kilder til fekal forurensning i en vannforekomst. Rapporten oppsummerer erfaringer med metoden i ulike NIBIO prosjekter gjennomført i perioden 2013 – 2016.

I noen prosjekter har det vært ønskelig å skille mellom mennesker og dyr som en felles gruppe. NIBIO har også utviklet genetiske markører som gjør det mulig å skille mellom ulike dyregrupper som hest, drøvtyggere, gris og en felles gruppe som omfatter andre dyr. Utvikling av genetiske markører for aktuelle dyregrupper som forekommer i Norge er tidkrevende laboratoriarbeid. Dette er et arbeid som vil foregå i tiden fremover for å skille mellom flere dyregrupper. I noen prosjekter har det også blitt analysert for humanpatogene varianter av *E. coli*, foruten kjemiske forbindelser som typisk forekommer i husholdningsavløp. Mer spesifikke analyser er tid- og ressurskrevende og derfor relativt kostbare analyser.

Metoden som omtales i rapporten ble første gang benyttet i Norge i 2013 i et typisk jordbrukslandskap på Østlandet med dyrket mark og utslipp fra avløpsanlegg og husdyr på beite. Resultatene fra mikrobiell kildesporing viste en geografisk forskjell med hensyn til hvem som er største bidragsyter til fekal vannforurensning med *E. coli* samt til patogene bakterier, særlig shigatoksinproduserende *E. coli* (STEC). Syv STEC serogrupper (O26, O45, O103, O111, O121, O145 og O157) ble påvist i de undersøkte vannprøvene og disse viste høy korrelasjon med fekal forurensing fra drøvtyggende husdyr. Generelt avhenger fekal forurensing fra husdyr (hester og drøvtyggere) av hvor dyrene er, når dyrene er ute på beite, samt nedbør og avrenningsforhold.

For å vurdere de molekylærbiologiske metodene for sporing av fekale forurensningskilder i store nedbørfelt med vannkilder til konsum, også bading og/eller vanning, har NIBIO invitert Vann- og avløpsetaten ved Oslo, Vikelvdalen Vannbehandlingsanlegg i Trondheim og Vann- og avløpsetaten ved Bergen kommune til å delta i et samarbeidsprosjekt. Formålet med prosjektet var å forsøke å verifisere mikrobiell kildesporing metoden i nedbørfelt som er dominert av mennesker eller dyr, samt validere molekylærbiologiske tester for forskjellige dyrearter. Oslo, Bergen og Trondheim er de første kommunene som tatt initiativ til å se på nivået av- og kilder til fekal vannforurensing i sine drikkevannskilder. I 2014-2015 ble det etablert tre delprosjekter med disse kommunene som deltok med sine spesifikke problemstillinger der metoden benyttes.

Vann- og avløpsetaten ved Oslo kommune har engasjert NIBIO til å utføre en undersøkelse gjennom et 1-års prosjekt på kildesporing av fekal vannforurensing i tre viktige tilløpsbekker til Maridalsvannet – Oslos største innsjø og viktigste drikkevannskilde, og utløp Akerselva. Formålet med dette delprosjektet var primært å benytte molekylærbiologiske metoder for sporing av fekale forurensningskilder og å definere hvor i nedbørfeltet fekal forurensing fra mennesker, hester og/eller andre dyr dominerer. Fekal forurensing med *E. coli* ble funnet i 11 av 12 prøver tatt ut i tilløpsbekkene til Maridalsvannet. Også brakkvannet fra Akerselvas utløp var fekal forurenset. Resultatene viste en trend som ble observert i nær alle vannprøvene der det var et klart bidrag i fekal forurensingen fra



mennesker i den kalde perioden og forsommeren, generelt november - mai og høyest bidraget fra dyr i den varme perioden, generelt juni – september.

Vikelvdalen Vannbehandlingsanlegg i Trondheim gjennomførte en undersøkelse på kildesporing av fekal vannforurensing i fire viktige tilløpsbekker til Jonsvannet – hovedkilden for drikkevannet i Trondheim kommune. Formålet med dette prosjektet var primært å benytte molekylærbiologiske metoder for sporing av fekale forurensningskilder og å definere hvor i nedbørfeltet fekal forurensing fra mennesker, drøvtyggere og hester dominerer. Fekal forurensing med *E. coli* ble funnet i de fleste ferskvannsprøver. Det var også her et klart bidrag i fekal forurensingen fra mennesker i den kalde perioden (generelt forsommeren og forvinteren) og høyest bidraget fra dyr (særlig drøvtyggere) i den varme perioden (generelt juni - september).

Vann- og avløpsetaten ved Bergen kommune gjennomførte en undersøkelse med drikkevannskilden Jordalsvatnet, som har et sammensatt nedbørfelt med bebyggelse og private og kommunale avløpsanlegg, landbruk og mindre næringsvirksomheter. Det ble også tatt ut stikkprøver fra et prøvepunkt i nedbørfeltet til drikkevannskilden Svartediket, som bare ble analysert med hensyn på fekal forurensning fra mennesker/dyr. Fekal forurensing med *E. coli* ble funnet i de fleste ferskvannsprøver tatt ut rundt Jordalsvatnet. *E. coli* ble også påvist i alle prøvene tatt ut ved Svartediket. Det var også her en trend som viste bidrag i fekal forurensing fra mennesker om forsommeren (mai), forvinteren (oktober) og vinteren (desember), og høyest bidraget fra dyr i den varmeste perioden (juni og august).

Generelt viser resultatene fra mikro- og molekylærbiologiske kildesporing tester at dominerende kilde til fekal forurensing kommer fra dyr i den varme perioden av året og fra mennesker i kalde perioder (inkludert forsommer og sein høst). I vannprøver tatt ut i den varme perioden var drøvtyggere, andre dyrearter og sporadisk hester den dominerende kilden til fekal vannforurensing. Med animalsk fekal opprinnelse kan en trussel om sykdomsfremkallende *E. coli* utgjøre en helserisiko, særlig STEC representert av de viktigste humanpatogene variantene som enterohemoragiske *E. coli* (EHEC), f.eks. *E. coli* O157:H7. Disse patogene bakteriene kan vise en høy korrelasjon med genetisk markør for drøvtyggende husdyr. Det kan derfor være nyttig å bruke flere vertsspesifikke genetiske markører for utvalgte dyr som er til stede i et nedbørfelt. I tillegg kan det være også nyttig å teste ut STEC serogrupper, dersom animalsk fekal opprinnelse påvises, spesielt i drikkevannskilder. Til tross for de sykdomsfremkallende varianter av *E. coli* er det svært viktig å være klar over at forekomsten av *E. coli* bakterier i miljøet ikke nødvendigvis medfører en trussel om sykdom da de fleste varianter er harmløse og har viktige fysiologiske funksjoner så lenge de forekommer i tarmene til mennesker og (andre) dyr.

NIBIO har også inkludert kildesporingsmetoden i EØS-prosjektet AQUARIUS ("*Assessing water quality improvement options concerning nutrient and pharmaceutical contaminants in rural watersheds*", <http://www.ng-aquarius.org/>), hvor det har blitt foretatt undersøkelser av vannforurensing i tilløpsbekkene til Gjersjøen som er drikkevannskilde for Oppegård og Ås kommuner, og i landbruksavrenning fra jordbruksområder med spredt avløp innen nedbørfelt til Grytelandsbekken i Ås. I disse prosjektene ble mikro- og molekylærbiologiske tester av fekale bakterier og DNA-markører kombinert med kjemiske analyser av legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter. Resultatene av prosjektet viste sterke positive korrelasjoner mellom forekomsten av disse kjemikalier og bidraget fra mennesker til fekal vannforurensning. Dette er resultater som forventet og styrker treffsikkerheten til den molekylærbiologiske metoden.

Oppegård kommune har fra 2016 samarbeidet med NIBIO om kildesporing av fekal vannforurensing i utvalgte bekker i nedbørfeltene til Gjersjøen og Kolbotnvannet. Formålet med prosjektet var primært å definere hvor i nedbørfelter fekal forurensing fra mennesker, drøvtyggere, hester og/eller andre dyrearter dominerer. Resultatene viste store variasjoner av *E. coli* konsentrasjoner i prøvene og klare dominerende bidrag i fekal forurensingen fra mennesker og visse dyrearter i utvalgte prøvetakingssteder.

I prosjektene som rapporten beskriver er det ikke foretatt noen direkte sammenlikning av funn fra kildesporingen og registrert aktivitet i undersøkte nedbørfelt i form av type og antall husdyr som kan påvirke vannkvaliteten gjennom året og mulige kilder til fekalier fra hus, hytter og lekkasjer fra ledningsnett. Slike registreringer har ikke blitt utført i prosjektene. Funn av fekal forurensning fra kilder, som f.eks. mennesker, hest, drøvtyggere og andre dyr, har likevel blitt bekreftet av oppdragsgivere/samarbeidspartnere i etterkant som sannsynlige ut fra generell kjennskap til aktiviteten i de undersøkt områdene. Resultatene benyttes av kommunene til å prioritere tiltak i nedbørfeltene i forhold til å begrense fekal smitte til vassdragene.

Ut fra de tester som NIBIO har omtalt i rapporten - der undersøkelser er foretatt i sammensatte nedbørfelt fra ulike geografiske regioner med utslipp fra landbruk, spredt bosetting og urbant overvann - gir grunnlag for å konkludere at kildesporing med molekylærbiologiske metoder er egnet til å bli implementert i standard tester for overvåkingen av-, og tiltak mot fekal forurensning i vannforekomster. Kildesporing basert på molekylærbiologiske metoder kan beskytte mennesker og miljø fra potensielt sykdomsfremkallende organismer og andre helsefarlige stoffer som finnes i fekalier fra både mennesker og dyr. Vannforekomster som benyttes til drikkevann, bading og jordbruksvanning er spesielt aktuelle for denne metoden. Et større utvalg av vertsspesifikke genetiske markører for dyregrupper som for eksempel sau, geit, hjortedyr, fugler, hunder, katter og rotter bør fremskaffes for å gjøre metoden enda mer treffsikker.

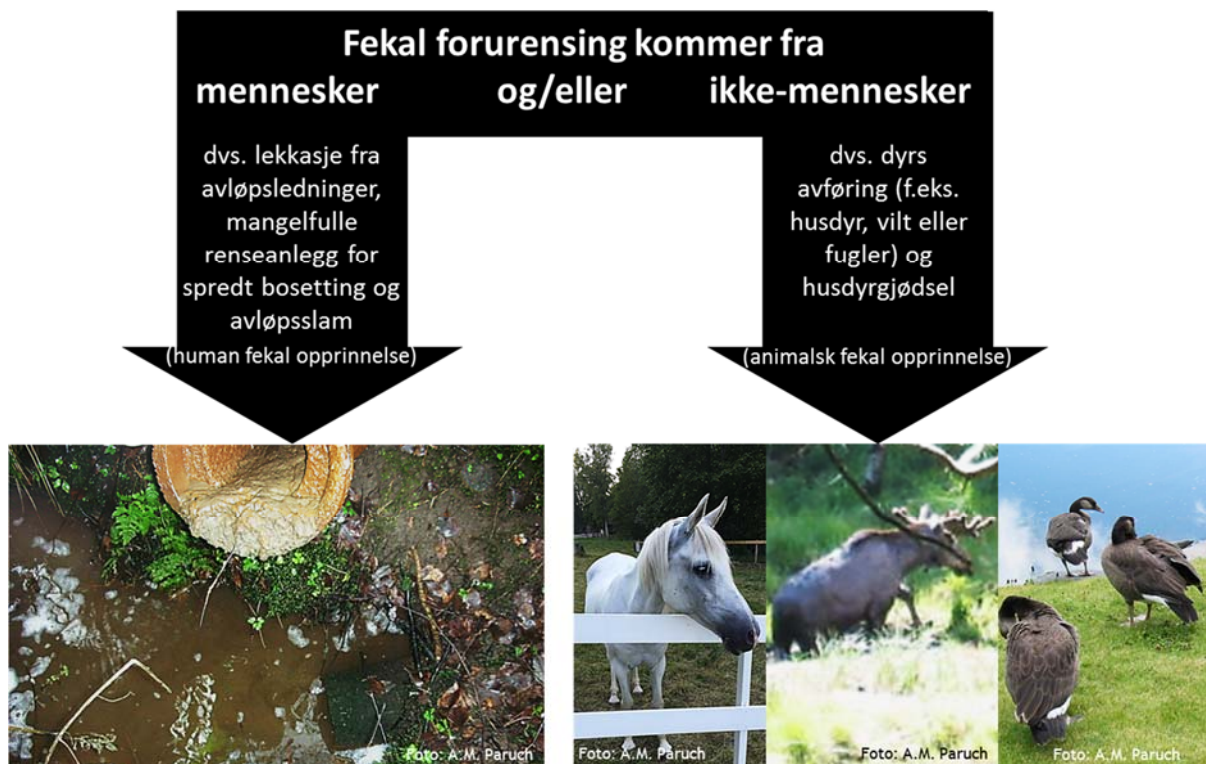
Resultatene fra noen av delprosjektene omtalt finnes i åpne rapporter tilgjengelige online:

- Oslo: NIBIO Rapport 2(27) 2016  
Link til nettside: <http://hdl.handle.net/11250/2392445>  
Direkte til dokument: <http://hdl.handle.net/11250/2392446>
- Bergen: NIBIO Rapport 2(34) 2016  
Link til nettside: <http://hdl.handle.net/11250/2392629>  
Direkte til dokument: <http://hdl.handle.net/11250/2392630>
- Trondheim: NIBIO Rapport 2(49) 2016  
Link til nettside: <http://hdl.handle.net/11250/2392631>  
Direkte til dokument: <http://hdl.handle.net/11250/2392632>



# 1 Fekal forurensing

Fekal forurensing betyr at forurensingen kommer fra avføring fra mennesker eller dyr (f. eks. husdyr, vilt eller fugler). Forurensingen fra mennesker skjer hovedsakelig via lekkasje fra avløpsledninger, overløp fra pumpestasjoner, utslipp fra kommunale renseanlegg og mangelfulle renseanlegg for spredt bosetting. Også avløpsslam, husdyrgjødsel og annen avføring med animalsk fekal opprinnelse kan utgjøre en risiko for forurensing i nærliggende vann og vassdrag (Figur 1).



Figur 1. Opprinnelse til fekal forurensing.

Fra alle disse kildene kan et høyt antall av fekale bakterier forurense vannkilder direkte (drikkevann, vanning og bading) eller indirekte fra jord og vegetasjon via jordbruksavrenning, vanning og gjødsling med organisk materiale, særlig etter kraftig nedbør med påfølgende avrenning (Paruch et al. 2014). Det er derfor viktig å vurdere andre kilder til fekal forurensning enn kun avløpsvann.

En rekke sektorer kan bidra til vannforurensing, blant annet næringsliv, bebyggelse og landbruk, foruten naturlig avrenning. I forhold til bebyggelse og landbruk, er det spesielt fokus på fekale indikatorbakterier og næringsstoff som påvirker vannkvaliteten. Det er derfor viktig å bruke gode indikatorbakterier i vannovervåkingsprogrammer. Siden det i flere vannundersøkelser foretas referanser til koliforme bakterier som fekalindikatorer, kan en få inntrykk av at det er en viss mangel på kunnskap om grupperinger innen koliforme bakterier og hvilke grupper som faktisk har en fekal opprinnelse.

Det er både fellestrekk og karakteristiske egenskaper av koliforme (fra latin: *colon* – tykktarm) bakterier (KB), termotolerante koliforme bakterier (TKB) og *Escherichia coli* (*E. coli*). Koliforme bakterier beskriver en stor gruppe av gram-negative stavformede bakterier som ikke danner sporer. Disse tilhører en enkelt taksonomisk familie Enterobacteriaceae som omfatter mange slekter og arter. *Salmonella* og *Shigella* er også slekter i denne familien, men de er ikke regnet som KB. Foruten form og utseende er det spesifikke biokjemiske (enzymbaserte) reaksjoner som benyttes til å skille de ulike gruppene. Definisjonen av koliforme bakterier har gjennomgått ulike stadier de siste tiårene.

Konsekvensen av dette er at gruppen av koliforme bakterier omfatter stadig flere arter. Mange av disse bakteriene finnes i hovedsak i miljøet. De kan påvises i vannprøver, i forurenset og ikke-forurenset jord og planter, samt i avføringen til mennesker og andre varmblodige dyr (pattedyr og fugler). Derfor representerer KB ikke bare tarmbakterier (fekal opprinnelse), men også andre frittlevende koliforme bakterier (ikke fekal opprinnelse). De kan derfor forenklet omtales som «*miljøbakterier*» (Paruch & Mæhlum 2011a, b, Paruch & Mæhlum 2012).

TKB blir ofte definert som fekale koliforme bakterier, men er en upresis definisjonen. TKB er en undergruppe av KB, de er resistente mot høye temperaturer og dermed i stand til å vokse og gjære laktose ved 44 °C. Forholdene med høy temperatur skulle undertrykke bakterier av ikke-fekal opprinnelse. Men selv under disse forholdene er tilstedeværelsen av ikke-fekale (frittlevende, miljø-) bakterier som for eksempel arter av *Klebsiella*, *Enterobacter* og *Citrobacter* fortsatt mulig. Derfor er det mer relevant å kalle dem TKB i stedet for fekale koliforme bakterier (Paruch & Mæhlum 2011a, b, Paruch & Mæhlum 2012).

En av de mest anvendte indikatorbakterier for fekal forurensing er *E. coli* som er den viktigste bakteriegruppen innenfor TKB. *E. coli* er til stede i stort antall i avføringen der den kan finnes i konsentrasjoner på 10<sup>9</sup>/g (Paruch & Mæhlum 2011a, b, Paruch & Mæhlum 2012). Disse bakterier vokser vanligvis i tykktarmen hos varmblodige dyr og mennesker, og formerer seg ikke nevneverdig i miljøet utenom tarmen. *E. coli* har derfor en eksklusiv fekal opprinnelse (Paruch & Mæhlum 2011a, b, Paruch & Mæhlum 2012).

De fleste stammer av *E. coli* er ufarlige, men det er også mange typer som forårsaker sykdommer (også dødelige) hos mennesker og dyr, som f. eks. shigatoksinproduserende *E. coli* (STEC) også kjent som verotoksinproduserende *E. coli* (VTEC). STEC/VTEC gruppen har over 200 ulike serotyper og de fleste er ikke sykdomsfremkallende. De viktigste humanpatogene variantene av STEC er enterohemoragiske *E. coli* (EHEC) som forårsaker hemoragisk kolitt med blodig diaré og hemolytisk uremisk syndrom (HUS). I tillegg representerer STEC den eneste gruppen som overføres mellom dyr og mennesker (zoonotiske bakterier) gjennom mat- og vannbåren smitte (Bolton et al. 2009, WHO 2004). Det finnes også andre patogene som sammen med STEC er klassifisert etter sykdomsfremkallende mekanismer i seks ulike patotyper av diaréassosiert *E. coli* (DEC). De seks DEC patotyper er: STEC, enterotoksigene *E. coli* (ETEC) som forårsaker reisende diaré, enteropatogene *E. coli* (EPEC) som forårsaker infantile diaré, enteroinvasive *E. coli* (EIEC) som forårsaker inflammatorisk diaré, enteroaggregative *E. coli* (EAEC) som forårsaker langvarig diaré, og diffust-adherente *E. coli* (DAEC) som forårsaker vedvarende diaré (Paruch & Mæhlum 2011a, b, Paruch & Mæhlum 2012). Til tross for de sykdomsfremkallende varianter er det svært viktig å være klar over at forekomsten av *E. coli* i miljøet ikke nødvendigvis medfører en trussel om slike alvorlige sykdommer, men indikerer at fekal forurensing er til stede.

For at de riktige tiltakene skal kunne settes inn, er det vesentlig å finne ut hva som er forurensningskilden. Ofte er det tatt for gitt at det som kommer fra kloakksystemet kun inneholder fekal forurensing fra mennesker. En kloakkledning er også et godt miljø for kloakkrotter som hele året trives og formerer seg veldig bra med matrester og fett-avleiring i avløpssystemet (Adressa 2015, Bergens Tidende 2015, Fettvett 2016, Moss Avis 2015, VAnytt 2013). Særlig i store byer er det et megaproblem med et utall (sannsynligvis titusenvis) rotter i avløpsnett, f. eks. i København er det ca. 4 kloakkrotter pr. 100 m avløpsledninger (Fettvett 2016). Det er dokumentert at avføring fra kloakkrotter er en helsefare siden den har både zoonotiske- og multiresistente bakterier (Guenther et al. 2013). Patogene bakterier havner i avløpssystemet hovedsakelig fra (i) husholdning- og industriavløpsvann, (ii) ekskrementer fra hunder og katter gjennom tilsig og infiltrasjon, og (iii) avføring fra rotter som lever i kloakksystemet (Gerardi 2006). Også, utbredelsen av matbårne menneskelige patogener er høy for dyr som spiser eller lever rundt mennesker og husdyravfall, f. eks. rotter eller måker (Scheffe 2007).

## 2 Kildesporing av fekal forurensing

Informasjon om kildene til vannforurensningen er avgjørende for å kunne iverksette effektive tiltak mot tilførsler av fekale bakterier til vannforekomster og dermed redusere eksponering og helserisiko. Hittil har det ikke vært vanlig å angi om det er dyr eller mennesker som er forurensningskilden. Det har gjort det vanskelig å iverksette effektive tiltak mot smitekilder, og dermed også vanskelig å redusere eksponering og helserisiko. Det er derfor av stor betydning å utvikle effektive metoder som raskt kan oppdage og spore kilden til en del bakteriesmitte for å redusere eksponering og minimalisere helserisiko. Dette gjelder alle områder som ligger i risikozonen for fekal forurensing, særlig vannforekomster som benyttes til drikkevann og bading. Også innen matproduksjon (agroindustri og landbruk med vanning og gjødsling med organisk materiale), og i kartlegging av forurensningskilder i forbindelse med tiltaksgjennomføring i regi av Vannforskriften, kan dette være viktig.

For å spore hva som er kilden til mikrobiell fekal forurensing har det blitt utviklet en verktøyboks med forskjellige metoder for mikrobiell kildesporing (microbial source tracking – MST). Det er to hovedkategorier innenfor MST: kulturbaserte og kulturuavhengige metoder. Begge kan videre deles inn i bibliotekavhengige og bibliotekuavhengige metoder (Hagedorn et al. 2011). Spesielt i henhold til den første kategorien benyttes kartlegging av antibiotika resistens (Olivas et al. 2008) og andre fenotypiske metoder, som for eksempel profilering av karbonkilde utnyttelse (CUP) (Smith et al. 2010) og fettsyremetyler (FAME) profilering (Duran et al. 2009) der kildesporing utnytter biologiske egenskaper (fenotyper) til å klassifisere kilden. Genotypiske bibliotekavhengige metoder, som ribotyping, REP-PCR, PFGE er liksom metoder med DNA-fingeravtrykk basert på etablerte molekylære bibliotek. Sortering / gruppering av de mikrobielle gruppene blir oppnådd ved direkte å sammenligne genererte DNA-polymorfismer (Carson et al. 2003). Metoden er imidlertid svært teknisk krevende og resultatet er mindre reproducerbart. Så langt er kultur- og bibliotekuavhengige metoder vesentlig mer tidsbesparende, krever mindre arbeidsintensitet og er mer nøyaktig i forhold til kultur- og bibliotekavhengige metoder.

Kjemisk kildesporing i form av deteksjon av spesifikke kjemiske forbindelser kan kombineres med mikrobiell kildesporing (Staley et al. 2016; Harrault et al. 2014; Hartel et al. 2008). Koffein, fekal steroler og stanoler, gallesyrer, vaskemidler, legemidler og parfymmer kan brukes som kjemiske indikatorer og molekylære sporstoff for å hjelpe til med identifisering av fekal tilførsel. Siden det er stor variasjon i bruken av slike stoffer og mange miljøfaktorer kan påvirke forekomsten anbefales det at slike analyser anvendes i kombinasjon med andre MST (Tran et al. 2015).

Molekylære kultur- og bibliotekuavhengig metoder omfatter også et utvalg fekale virus som kandidater for påvisningsformål, der for eksempel menneskespesifikk adenovirus, enterovirus (Bambic et al. 2015) og storfe/sau adenovirus (Ahmed et al. 2013) har høye vertsspesifikasjoner. Siden virus er svært små organismer og ofte forekommer i lave mengder kreves store mengder vannprøver som rutine for å få frem en prøve til laboratoriet. Metoden krever også et oppformeringstrinn.

Anaerobe bakteriegener som *Bifidobacterium dentium*, *B. adolescentis* og noen andre dyrespesifikke *Bifidobacterium* arter har også blitt benyttet i utvikling av markører (Venegas et al. 2015). Til sammenligning er *Bacteroidales* vertsspesifikke markører for tiden de genetiske signaturer som er meste testet og optimalisert og som i fleste tilfeller har fremvist geografisk stabilitet i blant annet USA, Canada, Europa, New Zealand og Japan (Sowah et al. 2017; Mieszkin et al. 2013; Kobayashi et al. 2013). *Bacteroidales* er en bakteriegruppe som er svært vanlig i tarmsystemet hos mennesker og dyr. I tillegg er vertsspesifikke toksin gener i *E. coli* og *Enterokokker* regnet for å være målrettet for kildebedømmelse, slik som humanspesifikke ST1b toksin (Moyo et al. 2007) og gris-spesifikke ST1b toksin (Khatib et al. 2003) og *Enterokokker* overflateprotein (ESP) (Scott et al. 2005). Etersom slike toksin-gener sjelden forekommer i miljøet og dermed trenger ekstra oppformeringsprosedyrer,

medføres det kun semi-kvantifikasjon på gen målinger til en prøve. Det forekommer også ustabilitet som skyldes horisontal overføring av gener (Böhm et al. 2015).

Selv om det er forskjellige markører som kan benyttes i en MST verktøyboks er mange av metodene fortsatt under sammenlignende testing og verifisering, mens andre er mindre anvendt i praksis. Molekylær diagnostikk ved bruk av genetiske markører avledet fra *Bacteroidales* 16S rRNA gensekvenser er av de metoder som for tiden er mest utbredt til identifikasjon av fekale forurensningskilder i vann. Stadig økende antall vertsspesifikke *Bacteroidales* genetiske markører har blitt utviklet for å skille fekale forurensning mellom menneske og andre varmblodige dyrearter.

For første gang i Norge ble MST verktøyboks med molekylærbiologiske metoder testet ut av NIBIO for sporing av fekale forurensningskilder som kan avdekke om avføringen kommer fra mennesker eller dyr. De molekylærbiologiske metodene (DNA-tester baserte på real-time quantitative polymerase chain reaction – qPCR) anvender vertsspesifikke genetiske markører som stammer fra *Bacteroidales* 16S rRNA gener for fekalkildesporing i vann.

Metoden har et stort potensial for anvendelse i både FoU-prosjekter og overvåkningsprogrammer for forurensinger som truer helse og miljø. Vann til konsum, bading og vanning kan spores for fekalkilder. Vertsspesifikke genetiske markører (f.eks. drøvtyggere, hester, griser, fugler, osv.) kan bli implementert i standard tester. Slike analysemetoder kan benyttes som underlag for å iverksette tiltak som kan begrense utslipp av fekal forurensning. Dette kan beskytte mennesker og miljø fra potensielt sykdomsfremkallende organismegrupper som finnes i fekalier fra mennesker og dyr.

NIBIO har videreutviklet MST metodikken og validert i en evalueringsmodell som sammen med bioinformatikk kan estimere betydningen av ulike kilder til fekal forurensning i en vannprøve, altså å profilere bidragssamspill fra hver forurensningskilde (Paruch et al. 2014). Dette bør derfor være av interesse for miljøinstanser og kommuner som sliter med fekalforurensede vannforekomster og for myndigheter som har ansvar for miljø, helse og trygg mat. Metoden er spesielt interessant i forhold til bruk av vann der hygienisk kvalitet er viktig, som drikkevannskilder, badevann og vanningsvann til jordbruket.

## 3 Metode for mikrobiell kildesporing

Metoden med mikrobiell kildesporing (microbial source tracking – MST method) er godt dokumentert og detaljert beskrevet i en rekke faglig internasjonale publikasjoner, blant annet Foley et al. (2009), Hagedorn et al. (2011), Layton et al. (2006), Reischer et al. (2006), Reischer et al. (2007) og Shanks et al. (2008).

I Norge ble MST metoden først testet ut og benyttet av NIBIO i forskjellige vannkvalitetstester (Paruch et al. 2014, Paruch et al. 2015, Paruch et al. 2016). Metoden består av tre steg:

1. Mikrobiell påvisning av fekal forurensing gjennom analyser av *E. coli*. Dette gjennomføres med hurtigmetoden Colilert<sup>®</sup>-18 Quanti-Tray<sup>®</sup> og Colilert<sup>®</sup>-18 Quanti-Tray<sup>®</sup>/2000 (IDEXX Laboratories Incorporated, Westbrook, Maine, USA) som i tillegg påviser koliforme bakterier.
2. Molekylærbiologiske DNA-tester baserte på kvantitativ real-time PCR analyser ved anvendelse av såkalte vertsspesifikke genetiske markører som stammer fra *Bacteroidales* 16S rRNA gener for sporing av fekale forurensningskilder.
3. Bidragsprofil av genetiske markører basert på kvantitative resultater av enhver markør i den aktuelle prøven.

Alle vannprøver som skal gjennomgå metoden med mikrobielle kildesporing tas etter standard metodikk og prosedyrer i henhold til standard NS-EN ISO 19458 Vannundersøkelse – Prøvetaking for mikrobiologisk analyse (ISO 19458:2006).

### 3.1 Mikrobiologiske analyser

Colilert<sup>®</sup>-18 Quanti-Tray<sup>®</sup> og Colilert<sup>®</sup>-18 Quanti-Tray<sup>®</sup>/2000 metoden brukes for screening av vannprøver for *E. coli*. Konsentrasjonene av bakterier vises som MPN verdier. MPN (Most Probable Number) angir sannsynlig antall bakterier per 100ml vannprøve. Colilert<sup>®</sup>-18 Quanti-Tray<sup>®</sup> har 200.5 MPN/100ml som målegrense for uforynnet prøve, mens Colilert<sup>®</sup>-18 Quanti-Tray<sup>®</sup>/2000 har 2419.6 MPN/100ml som målegrense for uforynnet prøve. Metoden ble benyttet for undersøkelsen av mikrobiologisk vannkvalitet i Norge tidligere og er beskrevet bla. i Paruch et al. (2015). Colilert<sup>®</sup>-18 Quanti-Tray<sup>®</sup> metoden er den International Organization for Standardization (ISO) standard 9308-2: 2012. Den er også US EPA-godkjent og inkludert i "Standardmetoder for Undersøkelse av Vann og Avløp" ("Standard Methods for Examination of Water and Wastewater").

Påvisning av *E. coli* er en sikker fekal indikator og vil gi et positivt signal om hvilke av vannprøvene som er fekal forurenset (Paruch & Mæhlum 2012) og derfor også hvilke prøver som skal tas videre til kildesporing av fekal forurensing. Colilert-testen brukes derfor kun for indikasjon av fekal forurensing og for å vurdere hvilke prøvene som skal tas til steg 2. Dette er også en standard prosedyre for alle som benytter MST i fekal vannforurensing (Shahryari et al. 2014, Tambalo et al. 2012, Åström et al. 2015).

### 3.2 Molekylærbiologiske tester

I steg 2 tar en bare hensyn til de prøvene som har slått ut positivt for fekal forurensing. I dette steget brukes det andre fekale bakterier siden *E. coli* ikke er egnet for ytterligere identifikasjon av den bestemte forurensningskilden. *E. coli* oppfyller ikke kravene for en kildeidentifikator på en tilfredsstillende måte på grunn av sin lave vertsspesifisitet, replikasjon i miljøet og geografisk og tidsmessig variasjon (Farnleitner et al. 2010, Field and Samadpour 2007, USEPA 2005). Derfor, brukes det bakterier fra *Bacteroidetes* rekken, spesielt arter av *Bacteroidales* orden, siden det er svært mange av disse bakteriene i tarmen av verter. Arter av *Bacteroides* slekten omfatter vanligvis omtrent 1/3 del av fekale bakterier (Layton et al. 2006). Disse bakteriene er vertsspesifikke og egner seg svært



godt som en indikator for fekal forurensning (Bernhard and Field 2000, Dick et al. 2005, Hold et al. 2002, Shanks et al. 2006).

### 3.3 Bidragsprofil av genetiske markører

*Bacteroidales* vertsspesifikke markører er utviklet og vellykket anvendt i qPCR studier over hele verden for å påvise avføringskilder fra mennesker, drøvtyggere, hester og andre dyrearter. DNA-markører har blitt testet og dokumentert med høy sensitivitet og spesifisitet i mange forskjellige forsøk, både i laboratorieskala og i feltstudier globalt (Dick et al. 2005, Lamendella et al. 2009, Layton et al. 2006, Reischer et al. 2007, Shanks et al. 2008, Tambalo et al. 2012).

Det er ikke noen gode korrelasjoner mellom *E. coli* og de vertsspesifikke genetiske markører som stammer fra *Bacteroidales* 16S rRNA gener (Harwood et al. 2014). Derfor har ikke *E. coli* bidraget blitt benyttet i NIBIOs metodikk til kildeprosporing av fekalforurensninger i vann. Alle resultatene fra mikrobiell kildeprosporing undersøkelser er derfor presentert som bidragsprofil av markører (ikke *E. coli*) i fekale vannforurensninger.

NIBIO har videreutviklet MST metodikken og validert i en evalueringsmodell som sammen med bioinformatikk kan estimere betydningen av ulike kilder til fekal forurensning i en vannprøve, altså å profilere bidragssamspill fra hver forurensningskilde (Paruch et al. 2014, 2015, 2016). Hvor det er flere kilder til fekal forurensning i en vannforekomst angis bidraget i prosent fra hver kilde der prøven tas ut. Nivået gir en indikasjon på hvilke fekale bidrag som er viktige under de forhold hvor og når prøven tas. Denne metoden er det så langt vi kjenner til ingen andre som tilbyr i dag. Siden det pågår en prosess med patentvurdering oppgis det ingen detaljer om prosedyren for å utforme en slik bidragsprofil foreløpig.

Videre i rapporten vises norske eksempler på prosjekter med på mikrobiell kildeprosporing med metodikk som beskrevet over. Eksemplene omfatter nedbørfelt med jordbrukslandskap, viktige drikkevannskilder og urbane vassdrag. Et utvalg av resultater fra hvert prosjekt som illustrerer spesielle forhold og viser metodens nytteverdi presenteres separat. Rapporten har en samlet diskusjon av viktige data og oppsummering av resultatene.

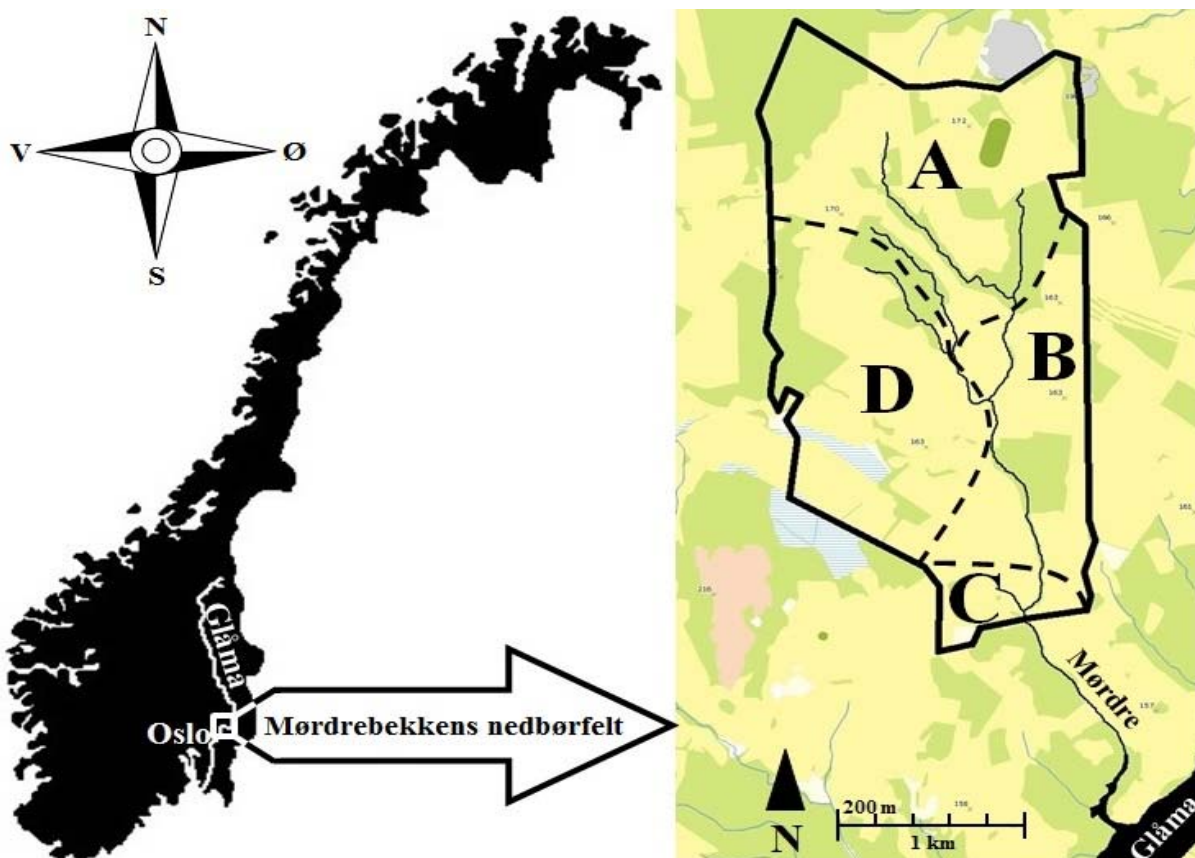


## 4 Mikrobiell kildesporing i jordbrukslandskap

En rekke sektorer kan bidra til vannforurensing, blant annet næringsliv, bebyggelse og landbruk (særlig med vanning og gjødsling med organisk materiale). I jordbruksdominerte nedbørfelt er det ofte flere kilder av fekal forurensing som påvirker mikrobiologisk vannkvaliteten. Ofte er det tatt for gitt at denne forurensingen i jordbrukslandskapet hovedsakelig kommer fra dyrs avføring (husdyr, vilt og fugler) eller husdyrgjødsel. Men det er stor variasjon i fekal forurensing fra jordbruksområder i løpet av året, og i perioder med liten eller ingen avrenning fra jordbruksarealer kan bidraget fra spredt avløp utgjøre mye av denne forurensingen til vassdragene. For å kunne igangsette riktige tiltak mot forurensing er det nødvendig å ha god kjennskap til hva som er de opprinnelige kildene, hvor de er og hvor mye de bidrar, samt en nødvendig kunnskap til å definere kildene. Nedenfor presenteres eksempler på undersøkelser i jordbruksdominerte nedbørfelter.

### 4.1 Mørdrebekken i Nes

I nedbørfeltet til Mørdrebekken ble det benyttet molekylærbiologiske metoder for å avdekke om avføringen kommer fra mennesker og/eller dyr, samt definere bidragsprofilen av mennesker og forskjellige dyrearter. Nedbørfeltet representerer et typisk norsk jordbrukslandskap med dyrket mark og utslipp fra avløpsanlegg og husdyr på beite. Mørdrebekken er en liten sideelv som munner ut i Glomma. Mørdrebekken har fire forgreininger som hver har sitt avgrensede delnedbørfelt (A, B, C og D, Figur 2). Feltene A - D utgjør nedbørfeltet til Mørdrebekken med et totalt areal på 6,8 km<sup>2</sup>, hvorav 65% (4.4 km<sup>2</sup>) utgjør dyrket mark, 32 % (2.2 km<sup>2</sup>) skog og myr og 3% (0,2 km<sup>2</sup>) boligområder. Alle feltene har landbruksaktivitet og spredt bosetting, A og C har boligområder.



Figur 2. Mørdrebekken i Nes med delnedbørfelt A, B, C og D (Paruch et al. 2015).

### 4.1.1 Prøvetaking

Prøvetakingen ble gjennomført i hvert delnedbørfelt (dvs. felt A, B, C og D, Figur 2) ved tre anledninger i mai, juni og oktober 2013. Denne perioden ble valgt med hensyn til å inntreffe samtidig en typisk vekstsesong og landbruksvirksomhet. Det ble testet ut om vannet inneholdt *E. coli* og deretter om i de fekale forurenset prøver påvises det patogene bakterier (7 STEC serogrupper, dvs. O26, O45, O103, O111, O121, O145 og O157). For STEC analyser ble positiv/negativ tester utført. For kildesporing av fekal vannforurensing, ble vertsspesifikke markører for mennesker (BacH) og utvalgte dyr, særlig drøvtyggere (BacR) og hester (BacHor) benyttet.

### 4.1.2 Resultater

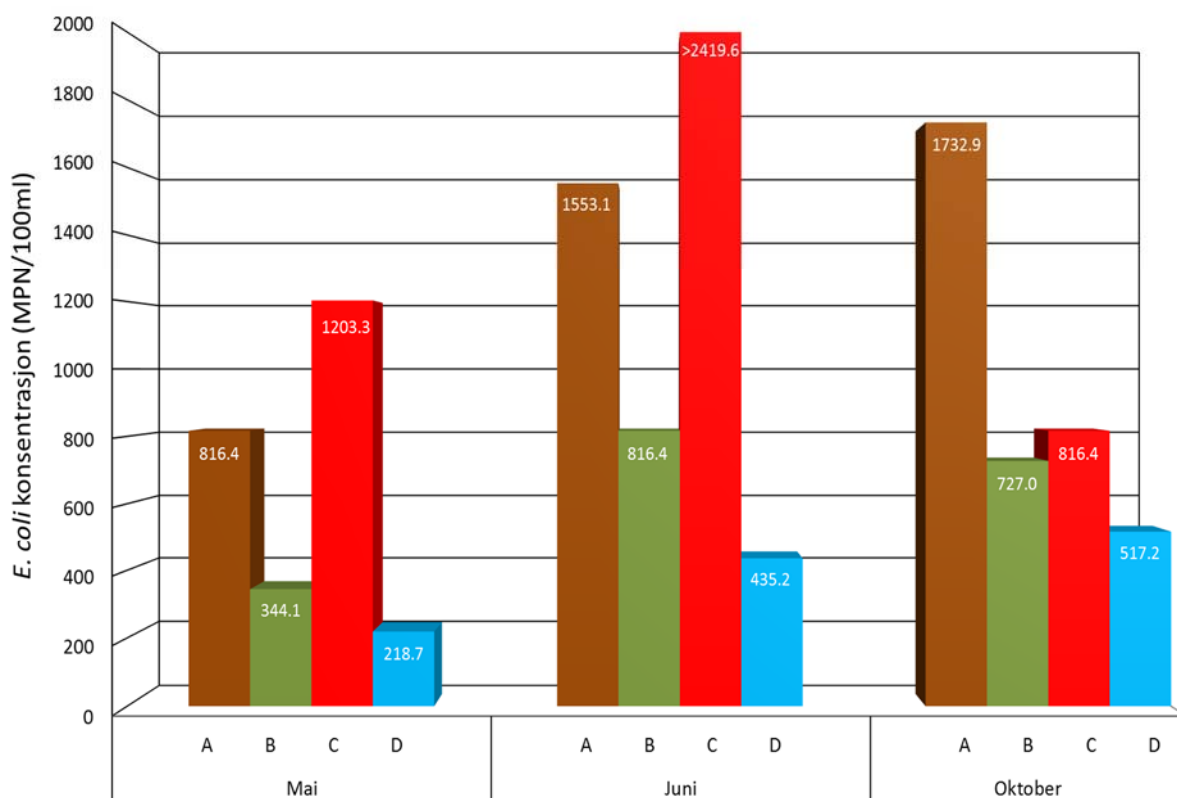
Detaljerte resultatene for hvert prøvetakingssted og anledning ble offentliggjort ved en publisert artikkel (Paruch et al. 2015). Her presenteres eksempler på resultatene fra mikrobiologiske undersøkelser og molekylærbiologiske tester i en relativ compilert versjon.

*E. coli* ble påvist i alle ferskvannsprøver tatt ut ved alle tre anledninger. I tillegg ble også patogene bakterier (STEC) identifisert i disse prøver. Konsentrasjoner av *E. coli* varierte fra 218 MPN/100ml til over 2400 MPN/100ml (Figur 3). Høyest *E. coli* konsentrasjonen (>2420 MPN/100ml) ble funnet i vannprøven tatt ut fra C feltet i juni. Også i mai var det høyeste antall av bakterier (1203 MPN/100ml) i vannet fra det samme feltet. I oktober, når den kalde årstiden var påbegynt, ble det påvist høyest *E. coli* konsentrasjon (1733 MPN/100ml) i vannprøven tatt ut fra feltet A (Figur 3). Resultatene viste at i prøvene fra den denne kalde perioden var mennesker dominerende kilde til fekal vannforurensing (Figur 4).

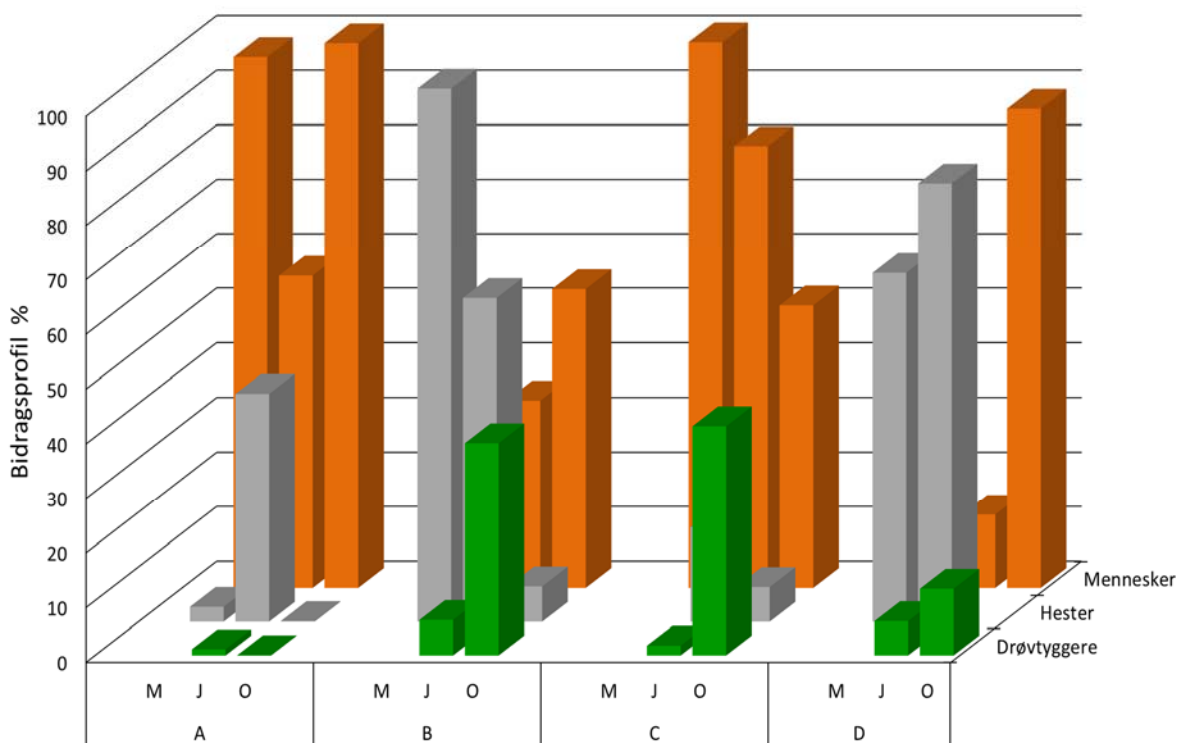
Mennesker var også den mest dominerende kilden til forurensingen i vannprøver tatt ut ved alle anledninger fra felter A og C. I tillegg ble det definert mer presisert hvilke kilder bortsett fra mennesker som bidrar til fekal forurensing i vannprøver. Det ble funnet spor av genetiske markører for hester og drøvtyggere med en dominant trend i felter B og D. I begge tilfeller indikerte analysene at det var hester som bidro mest i fekale utslipp til vann (Figur 4). Selv om drøvtyggere bidro minst i fekal forurensingen i hele Mørdrebekken nedbørfelt, viste de vertsspesifikke genetiske markørene høy korrelasjon ( $R^2 = 0.928$ ) med STEC-bakterier (Paruch et al. 2015).

### 4.1.3 Vurderinger

Undersøkelser av kilder til fekal vannforurensing i Mørdrebekken nedbørfelt viste at vannet var forurenset av tarmbakterier og den fekale vannforurensingen kommet fra mennesker, drøvtyggere og hester. Resultatene viste at det er en geografisk forskjell i jordbrukslandskapet med hensyn til hva som er største bidragsyter til forurensingen. Fekal forurensing som kommer med spredt avløp og dyr varierer i perioder av året. Forurensingen fra husdyr avhenger mye av når og hvor dyrene er ute på beite, samt klima- og avrenningsforhold. Generelt ble det funnet at i den kalde årstiden var det dominerende fekale bidraget fra mennesker, mens i den varme perioden var det dyr som bidro mest. Bidraget fra dyr viste høy korrelasjon med patogene bakterier.



Figur 3. Konsentrasjoner av *E. coli* i ferskvannsprøver fra Mørdrebekkens delnedbørfelt A, B, C og D i mai (M), juni (J) og oktober (O).



Figur 4. Bidragsprofil av markører i fekal vannforurensning i mai (M), juni (J) og oktober (O) i Mørdrebekkens delnedbørfelt A, B, C og D.

## 4.2 Grytelandsbekken i Ås

Nedbørfelt til Grytelandsbekken (Skuterud, Figur 5) har et areal på ca. 4.5 km<sup>2</sup> fordelt på dyrket mark (2.7 km<sup>2</sup>), skog og myr (1.4 km<sup>2</sup>) og boligområder (0.4 km<sup>2</sup>). Grytelandsbekken mottar forurensningen fra punktkilder som spredt bebyggelse og diffuse kilder fra arealer med husdyr og kornproduksjon. En fangdam på 2.3 km<sup>2</sup> ble etablert i nedre del av bekken i 2000 for å redusere forurensningen fra jordbruket. Vannflaten i fangdammen utgjør 0.09% av dyrket mark og 0.05% av hele nedbørfeltet. Gjennomsnittlig oppholdstiden i dammen er ca. 5 timer (Paruch et al. 2016).

### 4.2.1 Prøvetaking

Grytelandsbekken inngår som en lokalitet i EØS-prosjektet AQUARIUS hvor det har vært foretatt undersøkelser av kjemisk kvalitet (bl.a. organiske forbindelser, næringsstoffer og legemidler) og mikro- og molekylærbiologiske tester (fekale bakterier og DNA-tester). I løpet av prosjektperioden ble det tatt ut vannprøver ved to prøvetakingsrunder, først månedlig (f.o.m. november 2014 t.o.m. april 2015) og deretter (f.o.m. juni 2015) kvartalsvis. Prøvetakingssteder ble lokalisert ved inn- og utløpet av fangdammen (Figur 5).

Det ble testet ut om forurensningen kommer fra mennesker og/eller dyr (samlet gruppe). I tillegg ble vannprøver fra den kvartalsvis prøvetakingsrunden analysert for legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter.

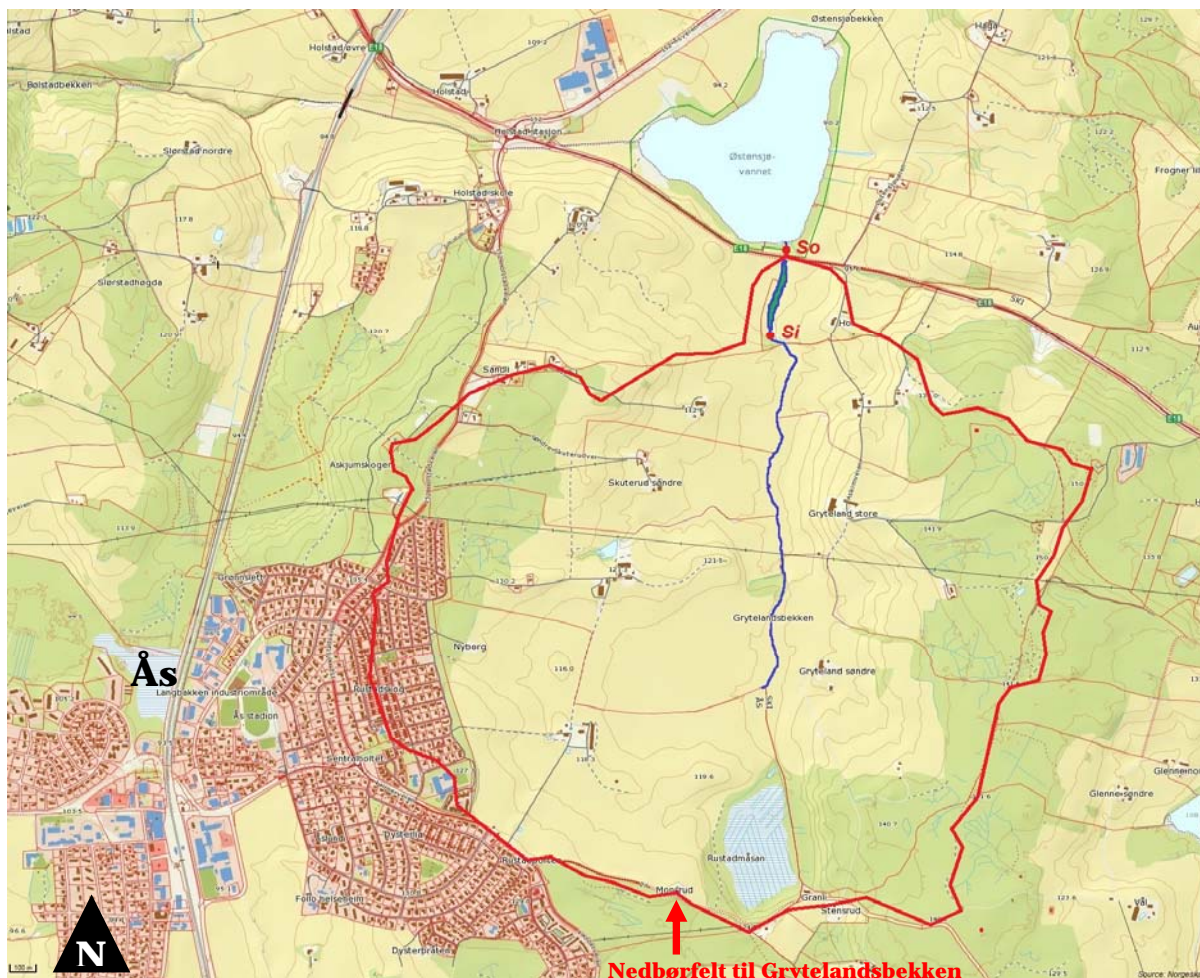
### 4.2.2 Resultater

Resultatene fra denne lokaliteten er presentert av Paruch et al. (2016). Her presenteres et utvalg av resultatene fra mikrobiologiske og molekylærbiologiske undersøkelser.

Det ble funnet fekal forurensning i alle vannprøver tatt ut fra Grytelandsbekken hvor bidragsprofilen tydelig indikerte animalsk opprinnelsen i de fleste vannprøvene (Figurene 6-9). Generelt ble det funnet lavere *E. coli* konsentrasjoner i vannprøver tatt ut ved utløpet (So) i forhold til innløpsvannprøver (Si). To vesentlige unntak med høyere *E. coli* konsentrasjoner i utløpsvannprøver ble observert våren 2015 og 2016 (henholdsvis april og mars). Årsaken kan være utslipp av urensset husholdningsavløp siden det var et tydelig bidrag i fekal forurensningen fra mennesker i både innløps- og utløpsvannprøver (henholdsvis 89% og 94% i april 2015 og 97% og 93% i mars 2016, Figurene 7 og 9). Funn av legemidler og personlige pleieprodukter og andre hjemmebruk kjemikalier som vanligvis oppspores i kloakksystemer bekrefter også at det her er husholdningsavløp, sannsynligvis fra boligområder og ikke spredt bosetting.

Åtte forskjellige kjemikalier som representerer legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter ble påvist i vannprøver tatt ut fra Grytelandsbekken (Tabell 1). De høyeste konsentrasjonene blant de påviste kjemikalier ble funnet for legemiddelet ibuprofen (et legemiddel mot bl.a. feber) i innløpsvannprøver tatt ut i mars 2016 (Tabell 1). På samme prøvetakingsdato ble også de høyeste konsentrasjoner av 4 andre kjemikalier i innløpsvannprøver oppdaget. De fleste av disse kjemikaliene ble også påvist i utløpet i mars 2016 (Tabell 1). I samme periode var mennesker dominerende kilde til fekal vannforurensning (Figurene 7 og 9). Gabapentin (et legemiddel mot bl.a. epilepsi og smerte) ble påvist i alle prøver og hadde konsentrasjoner som varierte sammen med fekal bidraget fra mennesker.





Figur 5. Prøvetaking inn og ut av fangdammen i Grytelandsbekken (Si og So) som passerer området Skuterud i Ås.

Basert på alle de øvrige observasjoner ble det gjennomført en statistisk vurdering av mulige relasjoner mellom den human/ animalsk fekal opprinnelse og påviste legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter i alle vannprøver. Pearson korrelasjonstest ble anvendt for denne vurderingen. Både prosenter av kjemikalier påvist ved hver anledning og faktiske konsentrasjoner av gabapentin, siden den var påvist i alle vannprøvene tatt ut ved alle anledninger, ble testet. Testen indikerte en sterk korrelasjon mellom forekomsten av kjemikalier i vannprøvene og bidraget fra mennesker til fekal forurensning i disse prøvene. Pearson korrelasjoner viste en positiv sammenheng med høye koeffisienter i både inn- og utløpsvannet (0,722 og 0,893, henholdsvis, Paruch et al. 2016). Det var negative korrelasjoner med bidraget fra dyr til fekal forurensning i alle vannprøver. Enda sterkere positive korrelasjoner ble funnet mellom konsentrasjoner av gabapentin og bidraget fra mennesker til fekal forurensning hvor korrelasjonskoeffisienter var tilnærmet 1 (dvs. 0,953 og 0,983 i innløps- og utløpsvannet, henholdsvis, Paruch et al. 2016).

Tabell 1. Konsentrasjoner av legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter (ng/l) påvist i vannprøver tatt ut ved innløpet (øvre verdi) og utløpet (nedre verdi) fra fangdammen i Grytelandsbekken. LOQ – limit of quantification.

Kjemikalier	LOQ	November 2014	Februar 2015	Juni 2015	September 2015	Desember 2015	Mars 2016
Ibuprofen	20	270	120				2500
		73					35
2-hydroxy-ibuprofen	30						76
							45
Carboxy-ibuprofen	20						34
							47
Gabapentin	10	30	18	40	21	37	79
		24	21	25	22	36	87
Paracetamol	10		28	24			
		21	17				32
Koffein	100			280			390
				440		120	640
Sakkarin	50			80			
				74			
Bisfenol A	50					160	

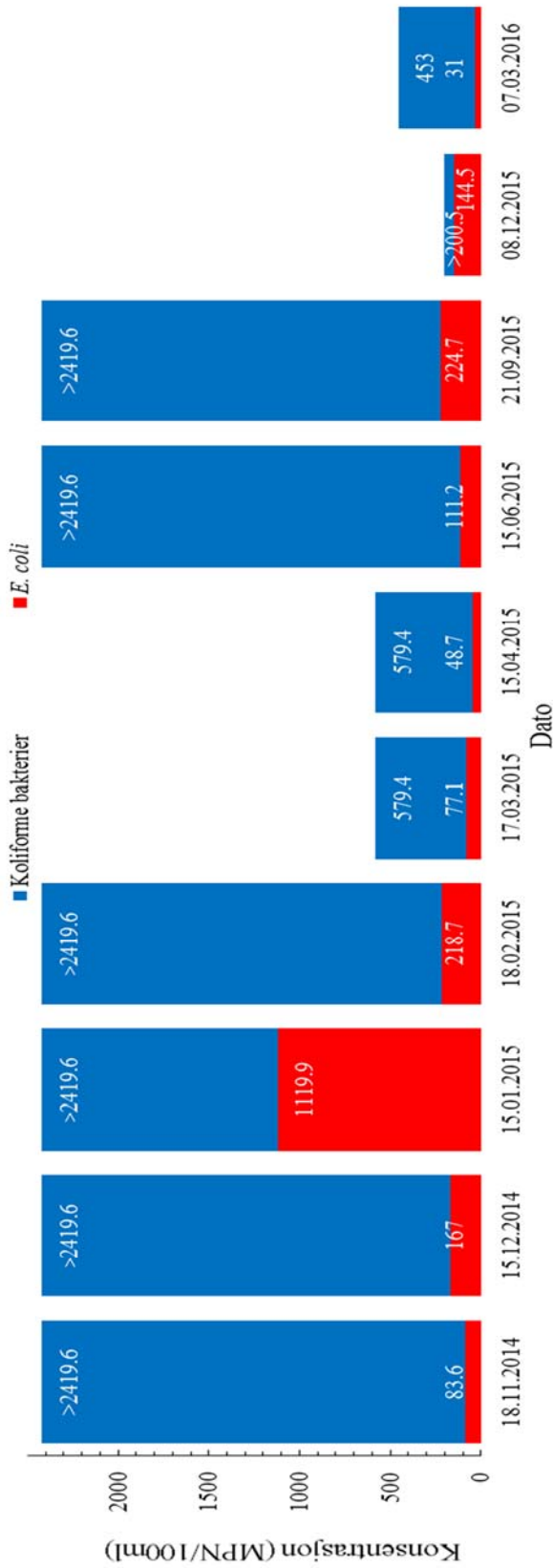
#### 4.2.3 Vurderinger

Undersøkelser av mikrobiell kildesporing i Grytelandsbekken viste at vannet var fekal forurenset hovedsakelig fra andre kilder enn mennesker. I perioder under prøvetakingsperioden ble det også definert tydelige bidrag i fekal forurensingen fra mennesker, stort sett i den kalde årsperioden. Bidraget av mennesker gjennom hele prøvetakingsperiode var sterk korrelert med forurensingen av legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter i alle vannprøver.

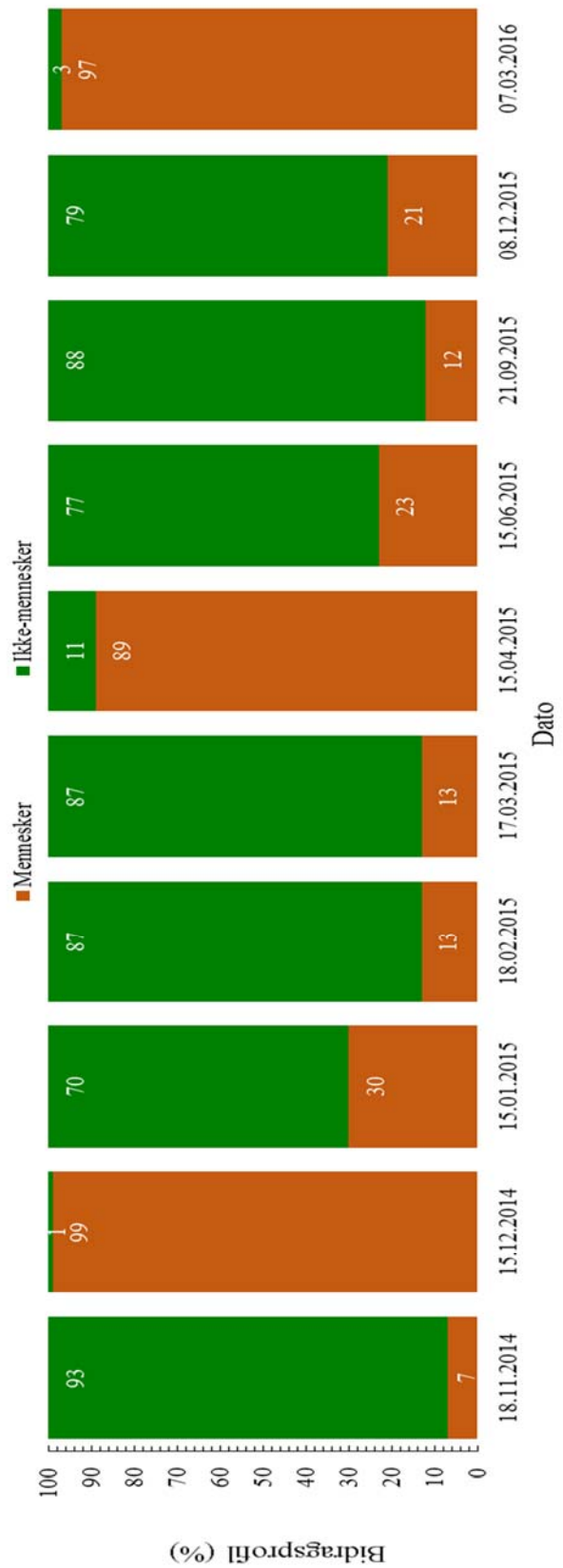
Selv om fangdammen i Grytelandsbekken ble designet for oppsamling og rensing av landbruksavrenning forurenset av sedimenter og næringsstoffer, viser undersøkelsen av fangdammer med våtmarksvegetasjon også kan redusere konsentrasjoner av *E. coli* bakterier samt kjemikalier som legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter. Leiraggregater har en stor overflate for binding av ulike forbindelser og når aggregatene sedimenterer kan ulike stoffer følge med. I perioder med lang oppholdstid kan det også forventes at andre renseprosesser virker påvirker skjebnen bakterier og kjemikalier.

Undersøkte kjemiske forbindelser ble påvist ved forskjellige anledninger i løpet av testperioden, men en interessant observasjon er at disse stoffene ikke var korrelert med høye *E. coli* konsentrasjoner.

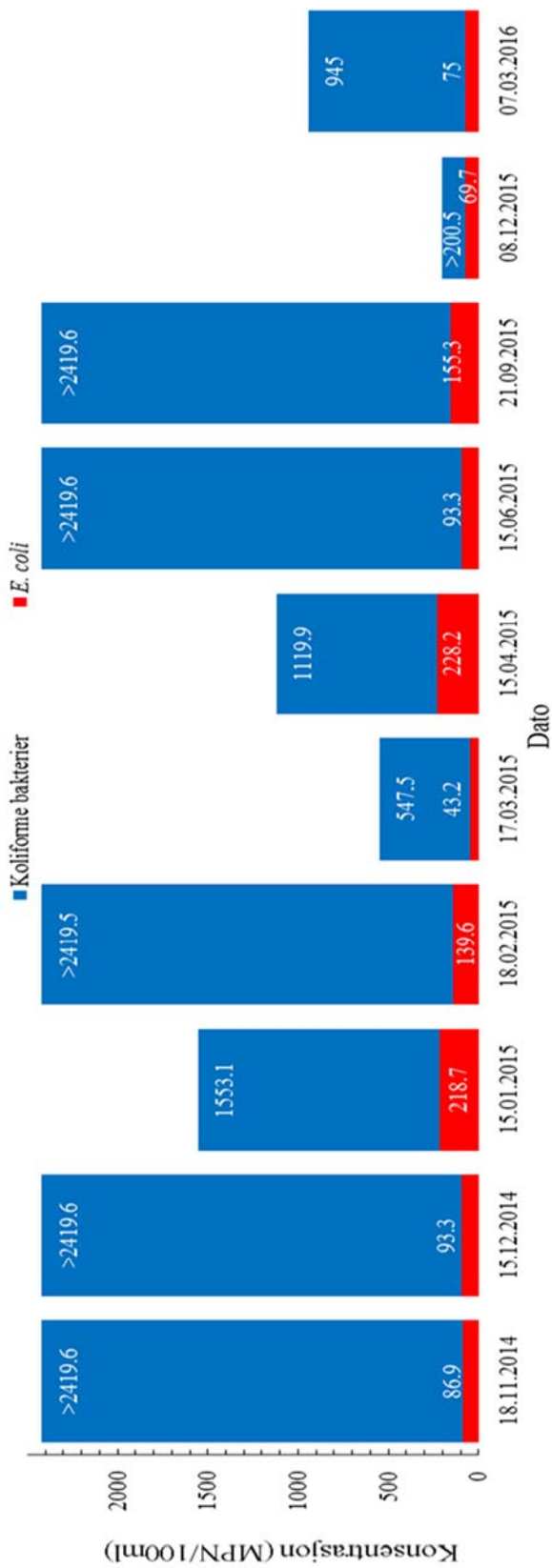




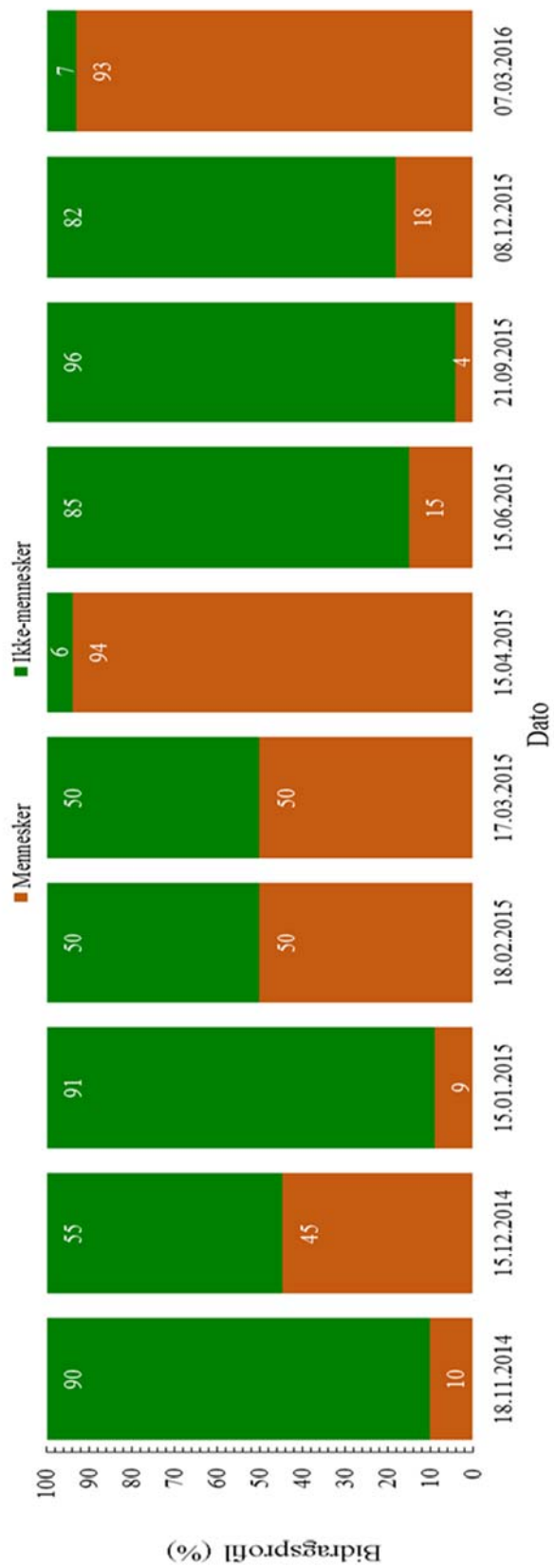
Figur 6. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i innløpsvannet (Si) til fangdammen i Grytelandsbekken.



Figur 7. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i innløpsvannet (Si) til fangdammen i Grytelandsbekken.



Figur 8. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i utløpsvannet (So) fra fangdammen i Grytelandsbekken.



Figur 9. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i utløpsvannet (So) fra fangdammen i Grytelandsbekken.

## 5 Mikrobiell kildesporing i nedbørsområder til drikkevann

For innsjøer som benyttes som kilde for drikkevann er det et mål å minimalisere fekal forurensning fra nedbørsfeltet for å sikre best mulig råvannskvalitet før vannbehandlingen. Mange slike innsjøer ligger nær bebyggelsen, og da vil arealbruk som omfatter landbruk, avløpssystemer og urbant overvann kunne utgjøre en potensiell risiko dersom det ikke gjøres spesielle tiltak. Fekal forurensning kan også komme fra ville dyr som ferdes området, som fugler og større pattedyr.

NIBIO har samarbeidet med Vann- og avløpsetaten i Oslo, Vikelvdalen Vannbehandlingsanlegg i Trondheim og Vann- og avløpsetaten ved Bergen om å vurdere molekylærbiologiske metoder for sporing av fekale forurensningskilder i nedbørfelt til store og viktige drikkevannsforkomster. Mål for prosjektene har blant annet vært å teste metoden i nedbørfelt hvor det potensielt kan forekomme fekal forurensning fra mennesker og dyr og finne nivå til ulike kilder, samt validere molekylærbiologiske tester for forskjellige dyrearter.

Vann- og avløpsetatene i de tre kommunene har ansvar for å beskytte råvannskildene mot forurensning fra omgivelsene. Målet er best mulig råvannskvalitet. Nedbørfeltene er derfor klausulert. Det er ikke tillatt med ny boligbebyggelse, ny industri tillates ikke, det er forbud mot lagring og bruk av stoffer som kan gjøre vannet uegnet til drikkevannskilde, avløp skal føres ut av nedbørfeltet, jordbruket skal utføres med minimal forurensning og organiserte fritidsaktiviteter, bading, fiske og motorisert ferdsel på vannet/isen er forbudt.

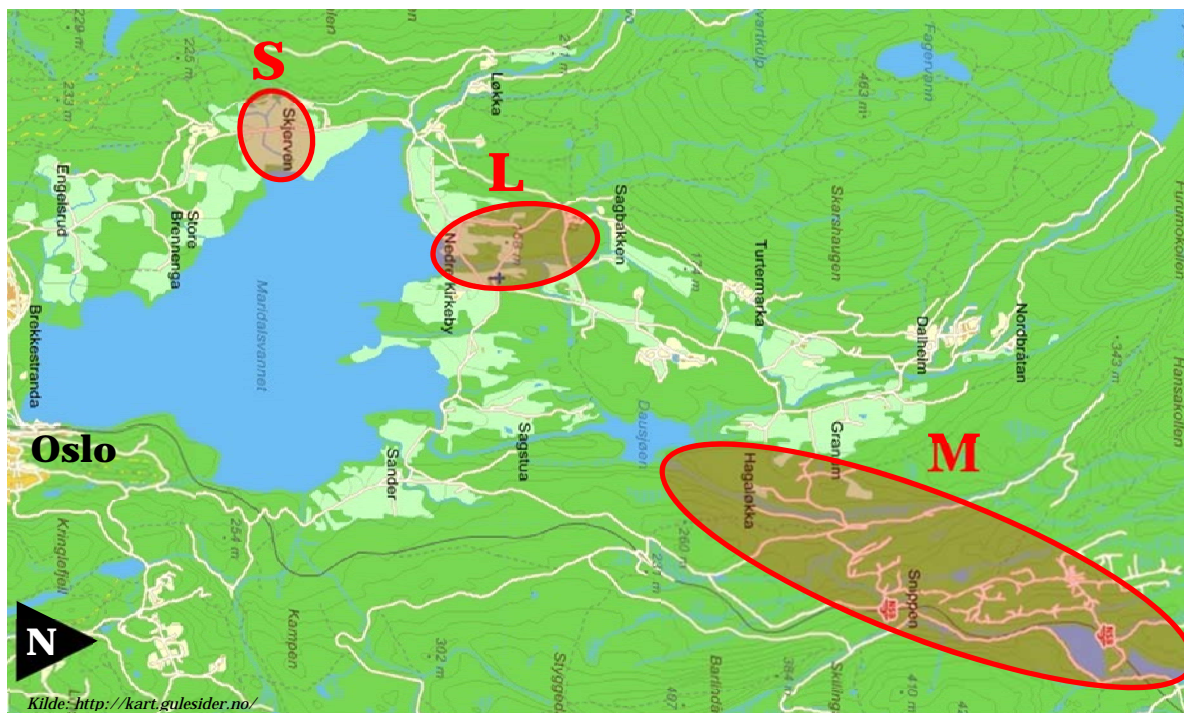
Prosjektene ble gjennomført i perioden 2014-2015 hvor hver kommune deltok med sine spesifikke problemstillinger hvor molekylærbiologiske metoder for kildesporing av fekal vannforurensning ble benyttet. Prøvetakingsprogrammene ble tilpasset aktuelle problemstillinger i forhold til sporing av fekale forurensningskilder. Prøvetakingen ble også tilpasset klimatiske forhold der det ble vektlagt å ta ut prøver både i varm og kald årstidsperiode, i tørrvær og i forbindelse med mye nedbør.

Fra 2016 har NIBIO også blitt engasjert av Oppegård kommune til å samarbeide om kildesporing av fekal vannforurensning i utvalgte bekker i nedbørfelter til Gjersjøen som er drikkevannskilde for Oppegård og Ås kommuner. Dette arbeidet bygger videre på NIBIOs deltakelse i EØS-prosjektet *AQUARIUS* omtalt i kapittel 6.2, hvor det har vært undersøkelser i tilløpsbekkene til Gjersjøen med hensyn til vannforurensning av kjemiske parametere (bl.a. organiske, næringsstoffer og legemidler) og evalueringen av vannkvaliteten gjennom mikro- og molekylærbiologiske tester (bl.a. fekale bakterier og DNA analyser).

I kapittel 5 presenteres utvalgte resultatene fra Oslo, Bergen, Trondheim og Oppegård hvor det er vektlagt å vise hvordan mikrobiell kildesporing av fekal vannforurensning kan være til nytte i beskyttelse av viktige drikkevannskilder.

### 5.1 Maridalsvannet i Oslo

Vann- og avløpsetaten ved Oslo kommune har engasjert NIBIO til å utføre en undersøkelse gjennom et 1-års prosjekt på kildesporing av fekal vannforurensning i tre bekker (Movannsbekken, Lautabekken og bekken ved Skjerven) innen Maridalsvannet nedbørsfeltet (Figur 10).



Figur 10. Maridalsvannet med Movannsbekken (M), Lautabekken (L) og bekken ved Skjerven (S).

Maridalsvannet er Oslos største og viktigste drikkevannskilde siden 1867. Vannet dekker 90% av Oslos vannforbruk, dvs. drikkevann til over 600 000 mennesker i Oslo. Maridalsvannet har et areal på nesten 4 km<sup>2</sup>, ligger ca. 150 moh og er en del av Nordmarksvassdraget. Vannet er den største innsjøen i Oslo kommune og har et nedbørsfelt som omfatter deler av Lillomarka, Nordmarka og Krokskogen og berører syv kommuner foruten Oslo (Oslo kommune 2016).

Siden har det vært et økende press i nedbørsfeltet til Maridalsvannet med blant annet en del utbygging på Sørbråten, har Oslo kommune ønsket til å se på nivået av fekal vannforurensing og kilder til denne forurensingen.

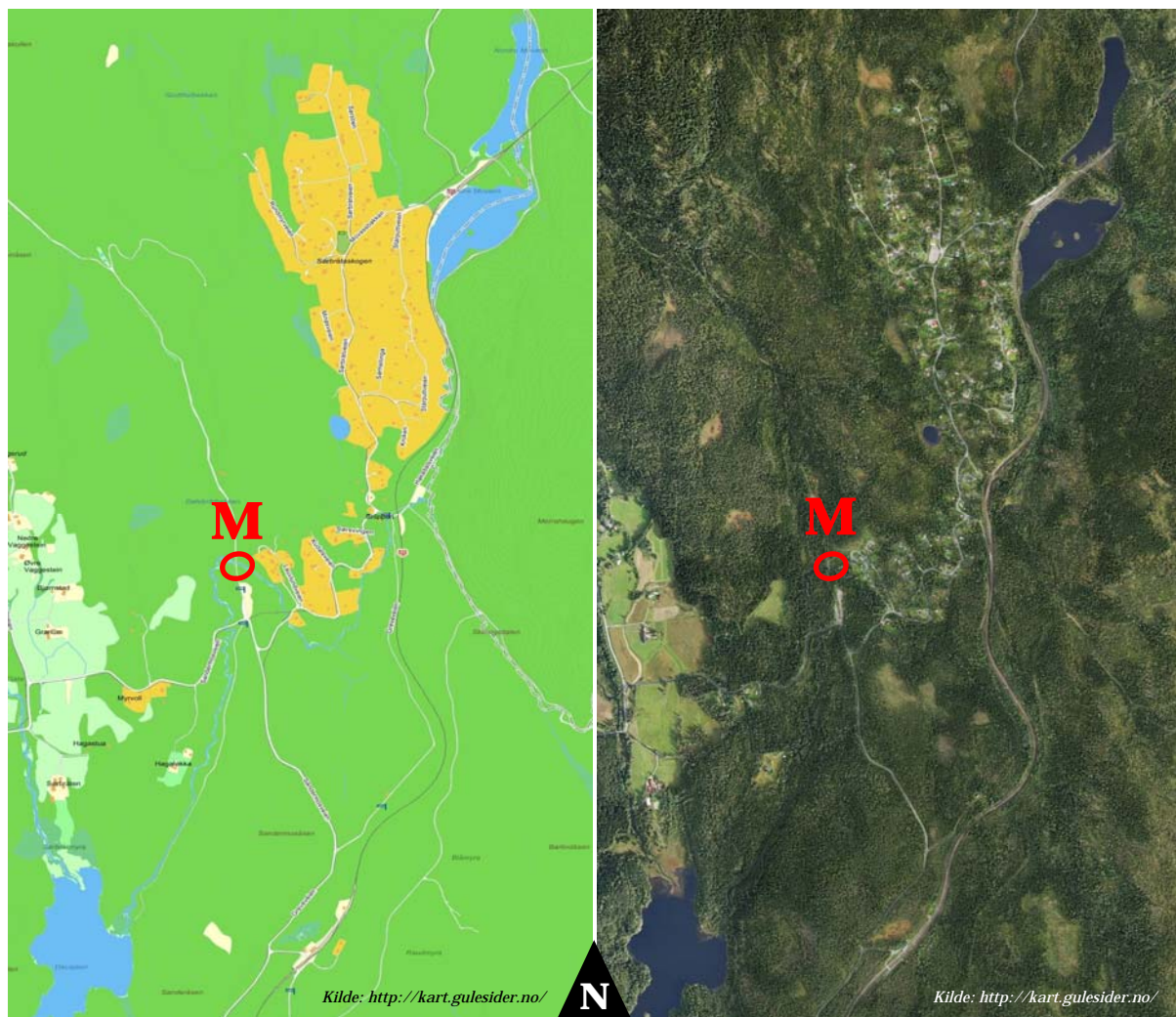
### 5.1.1 Prøvetaking

Etter ønske fra VAV ble det tatt ut prøver fra Skjerven, Lautabekken og Movannsbekken (Tabell 2, Figur 11) ved 12 anledninger som dekket et kalenderår med månedlig prøver. Prøvetakingssteder er vist i Figurene 11, 12 og 13. Det ble testet ut om forurensingen kommer fra mennesker og/eller dyr (felles gruppe) i alle tre prøver og fekalforurensing fra hester i to prøver (Skjerven og Lautabekken). Alle prøvene ble analysert uten fortynning.

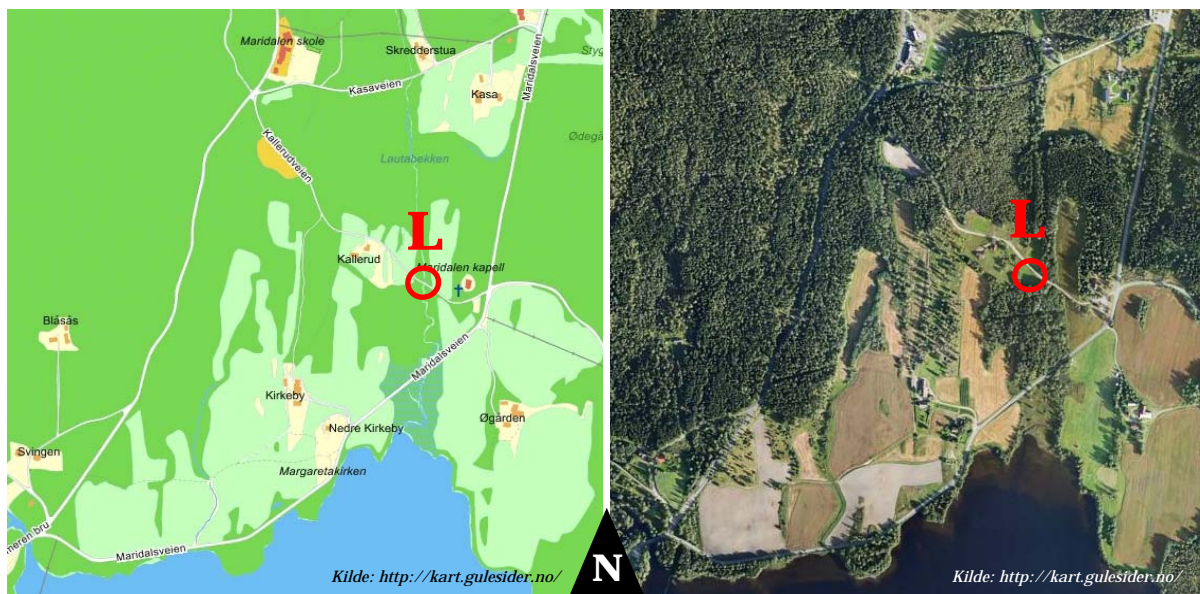


Tabell 2. Prøvetakingssteder i Maridalsvannets nedbørsfelt.

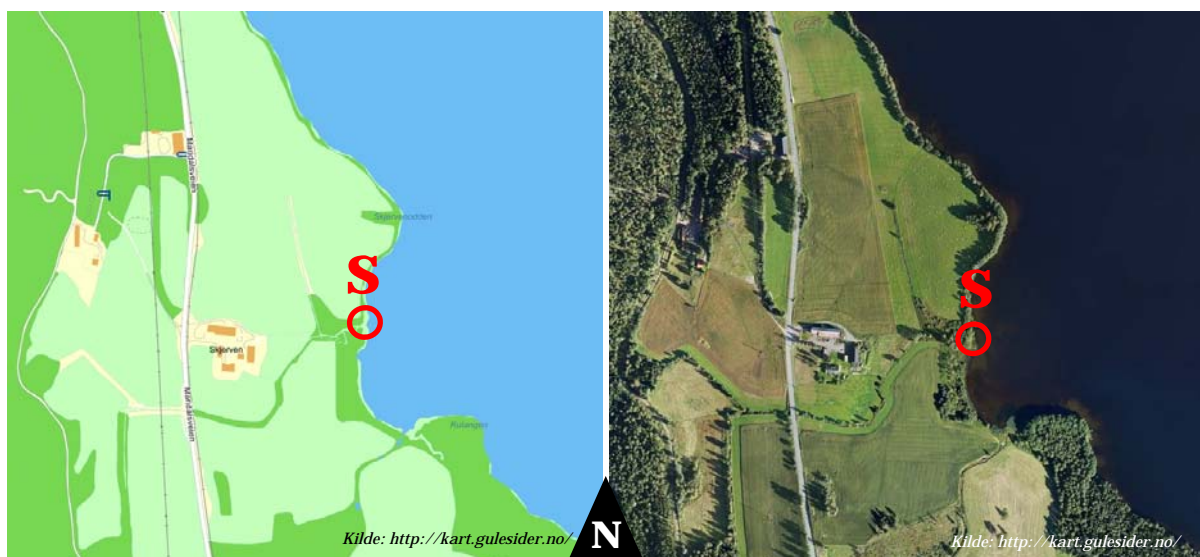
Område	Prøvetakingssted	Symbol
Maridalsvannet	Movannsbekken	M
	Lautabekken	L
	Bekken ved Skjerven	S



Figur 11. Lokaliteten til prøvetaking fra Movannsbekken (M) nedenfor bebyggelsen på Sørbråten. Movannsbekken munner ut i Dausjøen og ligger 1 km nord for Maridalsvannet.



Figur 12. Lokalteten til prøvetaking fra Lautabekken (L) som munner ut i en bukt nord i Maridalsvannet.

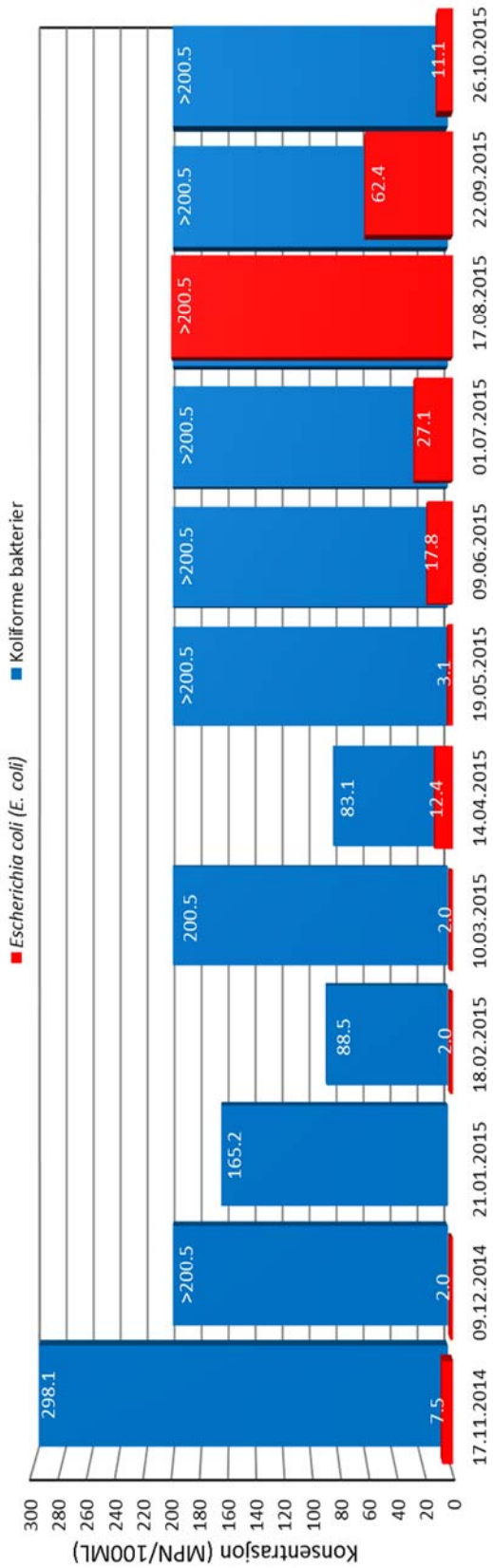


Figur 13. Lokalteten til prøvetaking fra bekken ved Skjervan (S) som munner ut vest i Maridalsvannet.

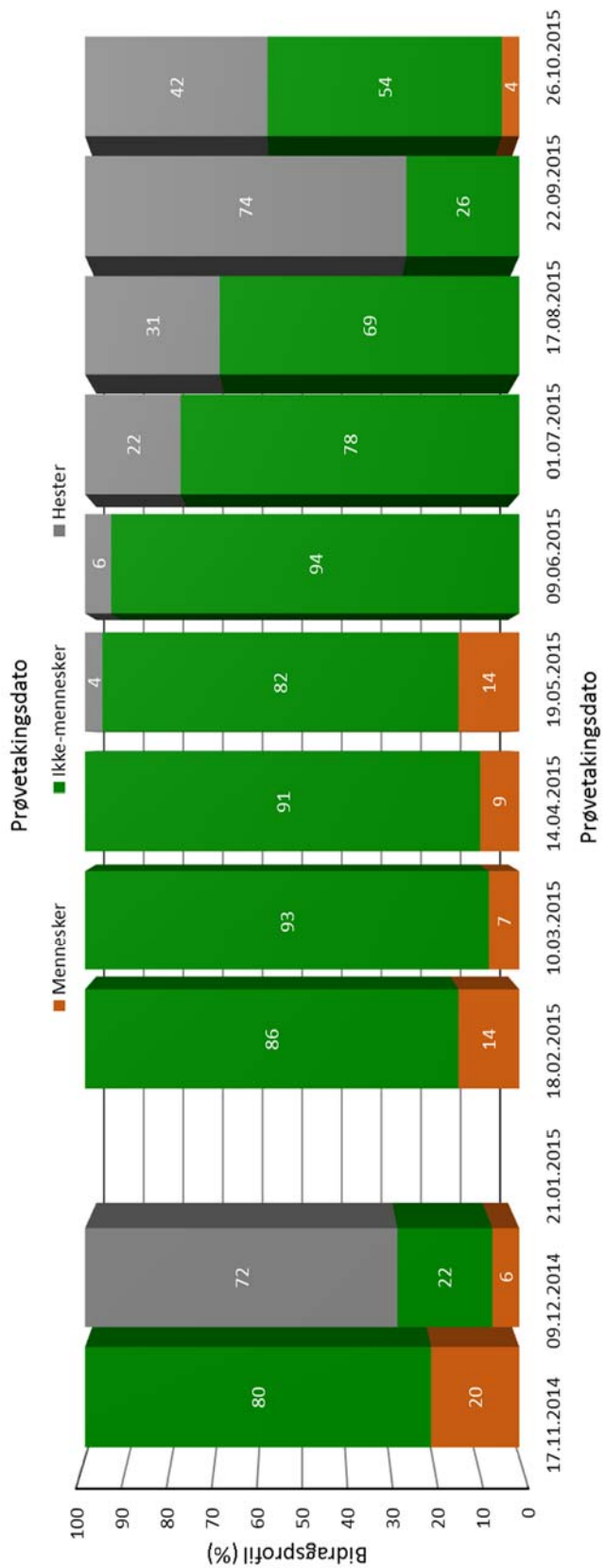
### 5.1.2 Resultater

Resultatene fra mikrobiologiske undersøkelser og molekylærbiologiske tester fra Skjervan, Lautabekken og Movannsbekken er vist i Figurene 14 - 19. Fekal forurensing med *E. coli* ble funnet i 11 av 12 prøver tatt ut ved hvert prøvested i de tre tilløpsbekkene til Maridalsvannet. Høyest *E. coli* konsentrasjon (over målingsgrensen for uforynnet prøve, dvs. >200 MPN/100ml) ble funnet i vannprøven fra bekken ved Skjervan i august 2015. Nest høyest konsentrasjon (101.3 MPN/100ml) ble funnet i vannprøve fra Lautabekken i september 2015.

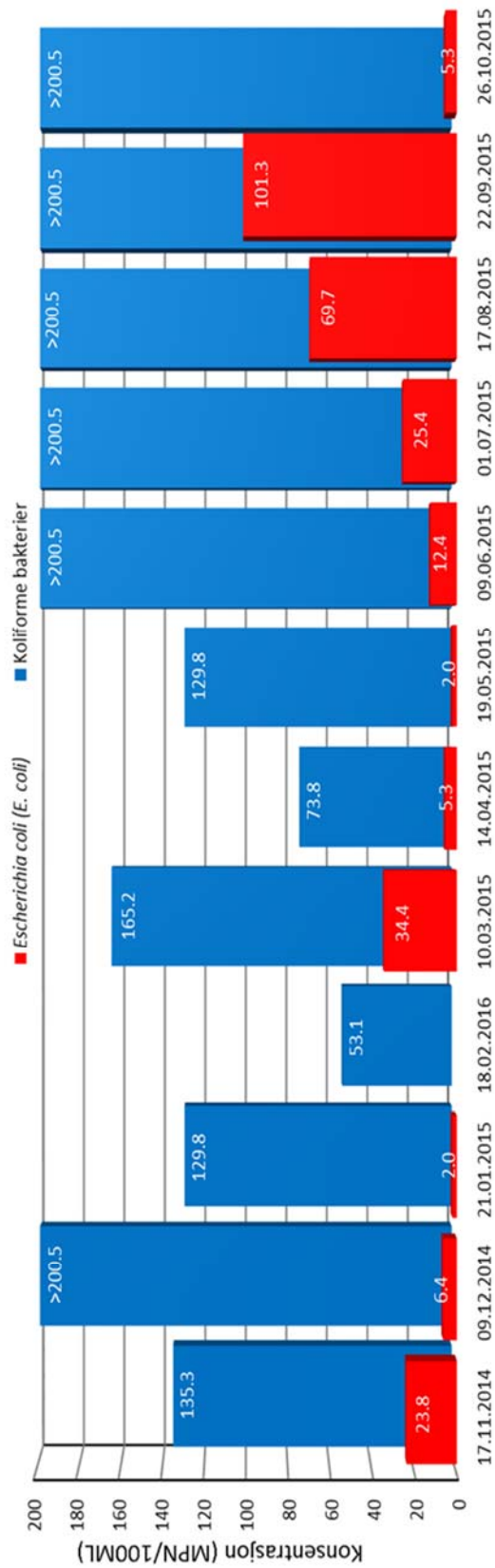




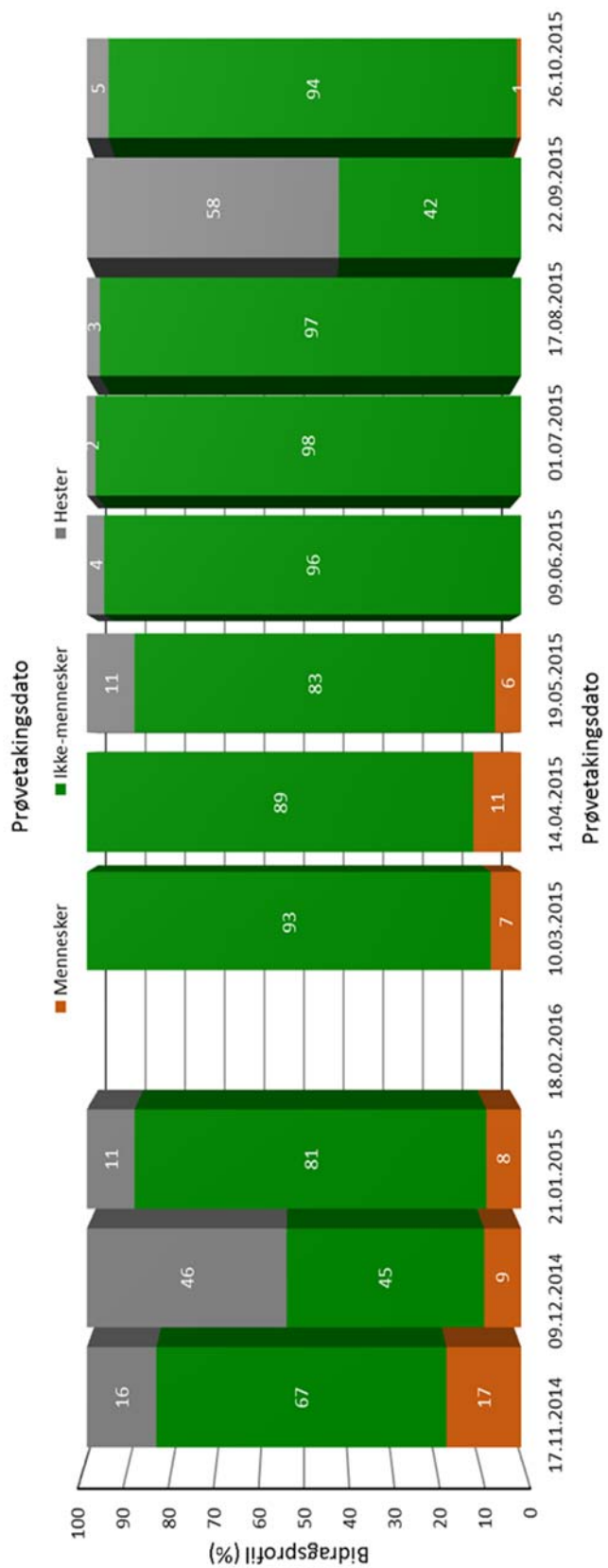
Figur 14. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (E. coli) i prøvene fra bekken ved Skjerven.



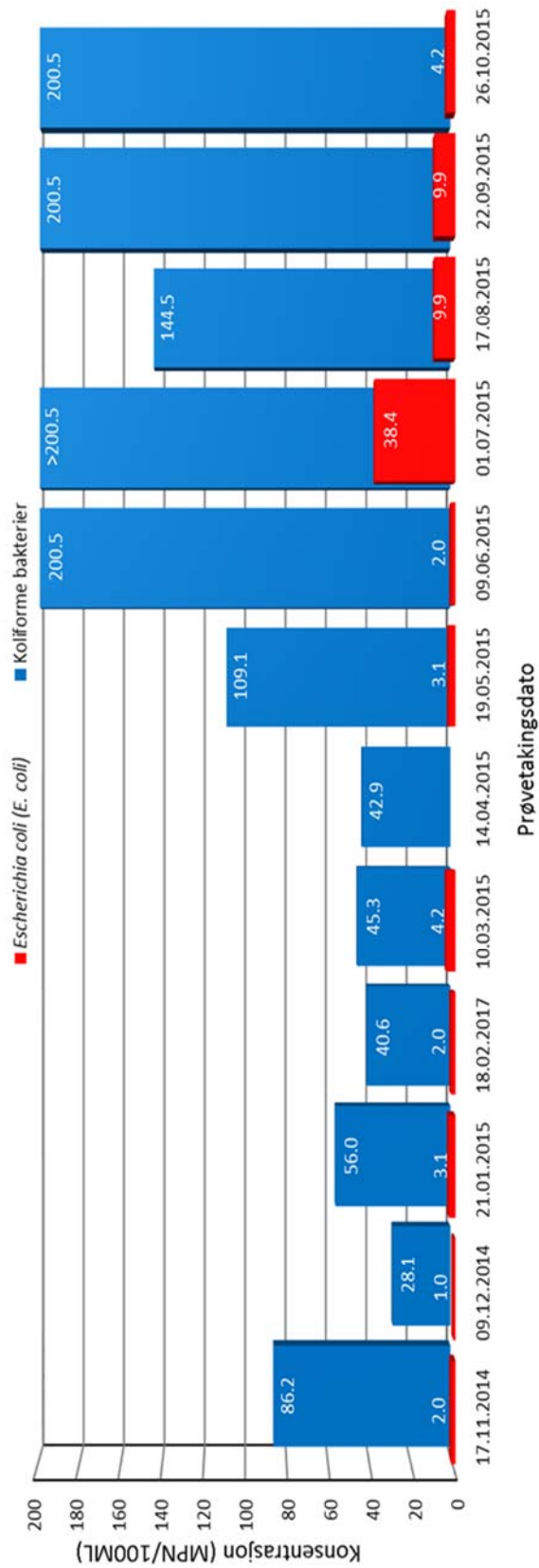
Figur 15. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i bekken ved Skjerven.



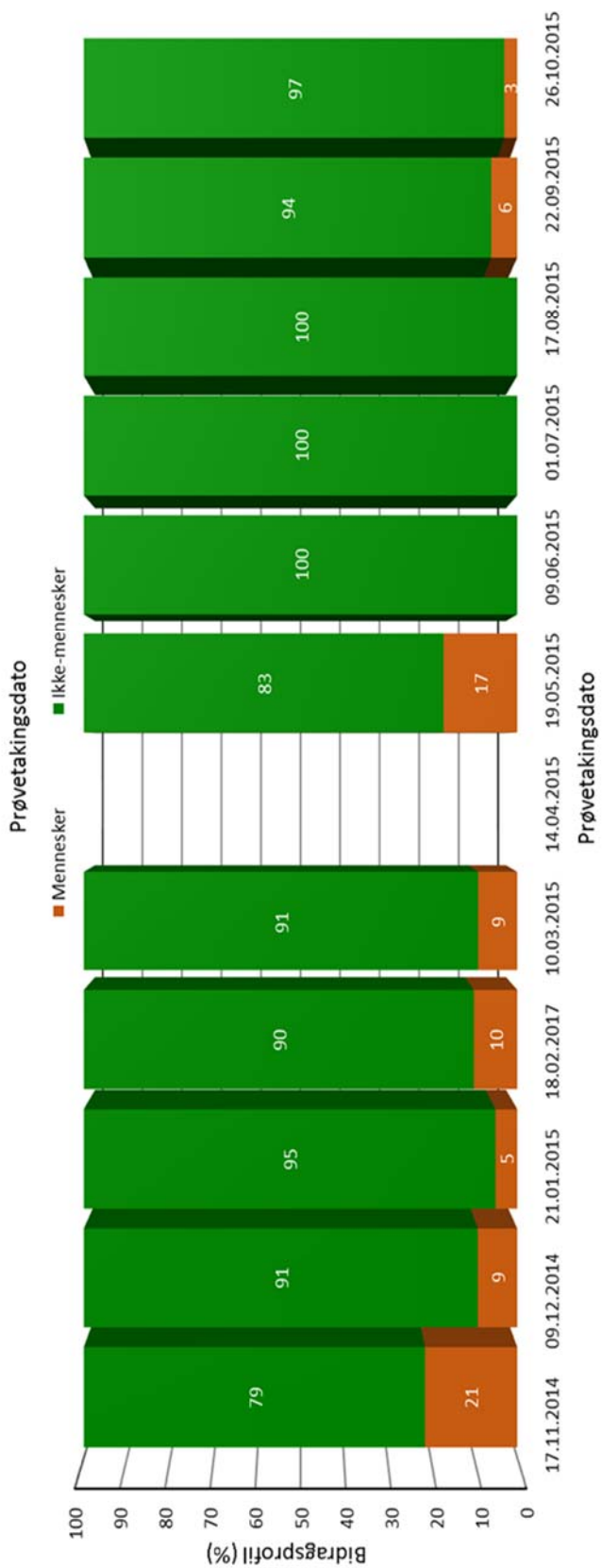
Figur 16 Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i prøvene fra Lautabekken.



Figur 17. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Lautabekken.



Figur 18 Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (E. coli) i prøvene fra Movannsbekken.



Figur 19. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Movannsbekken.

I vannprøven fra Movannsbekken ble høyest *E. coli* konsentrasjon (38 MPN/100ml) funnet i juli 2015. Høye *E. coli* konsentrasjoner ble funnet i den varme perioden, generelt juni - september. I denne perioden var dominerende kilde til fekal forurensing fra dyr (gruppen "ikke-mennesker"). Kun vannprøven fra Movannsbekken tatt ut i september 2015 viste et lite bidrag fra mennesker (6%), ellers ble det definert 100% bidrag fra dyr i vannprøver tatt ut i den varme perioden (juni - september). Også i alle prøvene fra bekken ved Skjerven og Lautabekken var dominerende kilder til fekal forurensing fra dyr. I tillegg ble bidraget fra hester påvist (høyest i vannprøver tatt ut i september 2015, dvs. 74% i Skjerven og 58% i Lautabekken).

I den kalde perioden og forsommeren (november - mai) var konsentrasjoner av *E. coli* lav i alle bekkeprøver, høyest 34 MPN/100ml i vannprøve fra Lautabekken tatt ut i mars 2015, deretter 12 MPN/100ml i vannprøve fra bekken ved Skjerven tatt ut i april 2015 og 4 MPN/100ml i vannprøve fra Movannsbekken tatt ut i mars 2015. I denne kalde perioden viste alle de fekal forurensende vannprøvene et klart bidrag i forurensingen fra mennesker, høyest opp til 21% i Movannsbekken, 20% i bekken ved Skjerven og 17% i Lautabekken.

Mer detaljerte resultatene for hvert prøvested og anledning er presentert i NIBIO Rapport 2(27) (Paruch et al. 2016a).

### 5.1.3 Vurderinger

Undersøkelser av kilder til fekal vannforurensing i tilførselsbekkene til Maridalsvannet viste at bekkene er forurenset av tarmbakterier og at denne forurensingen hovedsakelig kommer fra andre kilder enn mennesker. Analysene indikerer at fekal bidrag fra hest i perioder kan være viktig. Mulige kilder kan avrenning fra beiteområder eller utendørs gjødsellagre. Dette er ikke undersøkt, heller ikke forekomst av hest i delnedbørsfeltene. Hvilke øvrige grupper av dyr utenom hest og mennesker som bidro med fekal forurensing ble heller ikke undersøkt. Det ble observert en generell trend ved at den dominerende kilde til fekal forurensing kommer fra dyr i den varme årstiden, mens i den kalde perioden er det bidrag i forurensingen fra mennesker.

De funn som er omtalt her utgjør ingen direkte trussel mot kvaliteten til drikkevannet fra Maridalsvannet. Drikkevannet til Oslos befolkning sikres ved to hygieniske barrierer i Oset vannbehandlingsanlegg før det leveres til mottakeren. For å sikre at råvannets kvalitet har høy standard er det ønskelig at nivået av fekal smitte er lavest mulig. Mikrobiell kildeoppsporing gir grunnlag for å vurdere fekal smitterisiko og prioritere tiltak i Maridalsvannets nedbørfelt.

## 5.2 Jonsvannet i Trondheim

Jonsvannet er hovedkilden for drikkevannet i Trondheim kommune. Vannet dekker 99% av Trondheims befolkning samt Malvik kommune og er drikkevann til ca. 170 000 innbyggere, næringsliv og industri (Trondheim kommune 2016). Vikelvdalen Vannbehandlingsanlegg i Trondheim engasjerte NIBIO til å utføre en undersøkelse med kildeoppsporing av fekal vannforurensing i fire tilløpsbekker til Jonsvannet. Prosjektets formål var å undersøke nivået av- og kilder til fekal vannforurensing i kommunes drikkevannskilde. Undersøkelsen omfattet Jervbekken, Valsetbekken, Lykkjbekken og Sagelva (Figur 20).

Jonsvannet har et areal på over 14 km<sup>2</sup> og ligger ca. 150 moh sørøst for Trondheim. Vannet er den største innsjøen i Trondheim kommune og har et nedbørsfelt på nesten 79 km<sup>2</sup> som berører tre kommuner (Malvik, Selbu og Klæbu) foruten Trondheim. Den største andelen av nedbørsfeltet tilhører Trondheim (over 64 km<sup>2</sup> – 81%), deretter Klæbu (over 11 km<sup>2</sup> – 15%), Malvik (over 2 km<sup>2</sup> – 3%) og Selbu (0,5 km<sup>2</sup> – 1%). Total vannmengde i Jonsvannet er ca. 519 mill m<sup>3</sup> (Trondheim kommune 2016).





Figur 20. Jonsvannet med Valsetbekken (V), Jervbekken (J), Sagelva (S) og Lykkjebekken (L).

## 5.2.1 Prøvetaking

Etter innspill fra Vikelvdalen Vannbehandlingsanlegg ble det tatt ut flere prøver i to prøvetakingsrunder, dvs. den første f.o.m. april t.o.m. juni 2015 og den andre f.o.m. september t.o.m. desember 2015. Totalt var det prøvetakinger ved 15 anledninger som dekker en 9-månedperiode, unntatt 2 sommermåned (juli – august) 2015.

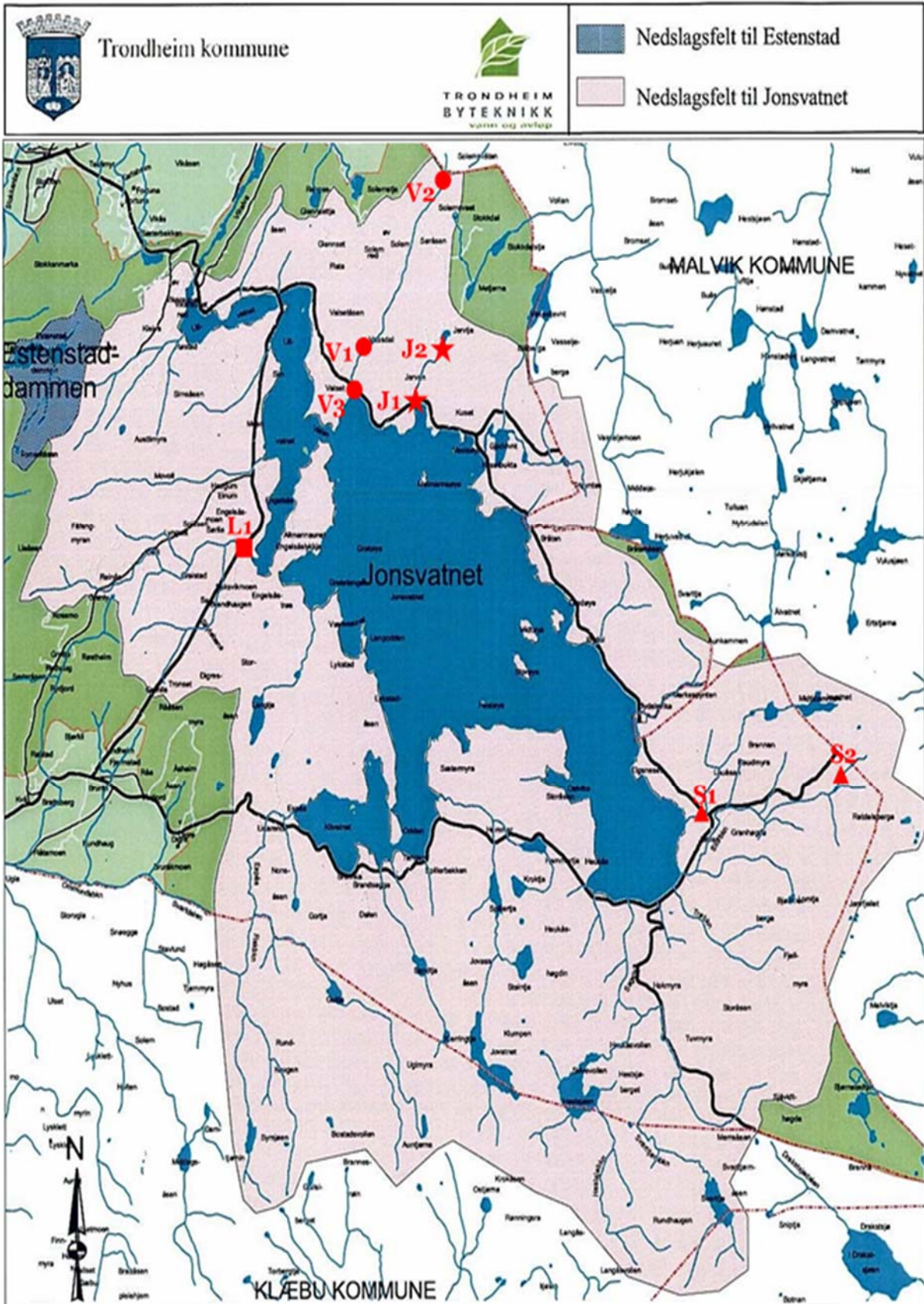
I den første prøvetakingsrunden (april – juni 2015) ble det tatt ut tre prøver fra Valsetbekken (V1, V2 og V3), to prøver fra Jervbekken (J1 og J2) og to prøver fra Sagelva (S1 og S2) ved 11 anledninger som dekker en 3-måned periode fra april til juni. Det ble tatt 77 prøver til sammen.

I den andre prøvetakingsrunden (september – desember 2015) ble det tatt ut tre prøver fra Valsetbekken (V1, V2 og V3), to prøver fra Jervbekken (J1 og J2) og en prøve fra Lykkjebekken (L1) ved 4 anledninger i en 4-måned periode (september - desember). Det ble tatt 24 prøver til sammen.

I hele prosjektperioden (to prøverunder) ble det tatt ut til sammen 101 vannprøver fra åtte prøvetakingssteder (V1, V2, V3, J1, J2, S1, S2 og L1) i Jonsvannets nedbørsfelt (Figur 21, Tabell 3.). Alle prøvene ble analysert uten fortynning.

Det ble testet ut om fekal vannforurensning kommer fra mennesker, hester og drøvtyggere (f.eks. kyr, sauer og geiter).





Figur 21. Lokaliteten til prøvetaking fra Valssetbekken (V1, ● V2 ● og V3 ●), Jervbekken (J1 ★ og J2 ★), Sagelva (S1 ▲ og S2 ▲) og Lykkjebekken (L1 ■). Kilde til kart: Trondheim kommune (2016).

Tabell 3. Prøvetakingssteder i Jonsvannets nedbørfelt.

Område	Prøvetakingssted	Symbol
Jonsvannet	Valsetbekken 1	V1
	Valsetbekken 2	V2
	Valsetbekken 3	V3
	Jervbekken 1	J1
	Jervbekken 2	J2
	Sagelva 1	S1
	Sagelva 2	S2
	Lykkjebekken	L1

## 5.2.2 Resultater

Detaljerte resultatene for hvert prøvetakingssted og anledning er presentert i NIBIO Rapport 2(34) (Paruch et al. 2016c). Her presenteres utvalgte eksempler på resultatene fra mikrobiologiske undersøkelser og molekylærbiologiske tester i prøvene som ble tatt ut fra hver bekk ved munningen til Jonsvannet (dvs. V3, J1, S1 og L1, Figur 21).

*E. coli* ble påvist i alle tilløpsbekkene til Jonsvannet (Figurene 22 – 29) der høyeste konsentrasjon (over målingsgrensen for ufortynnet prøve, dvs. >200 MPN/100ml) ble funnet minst en gang i Valsetbekken, Jervbekken og Lykkjebekken.

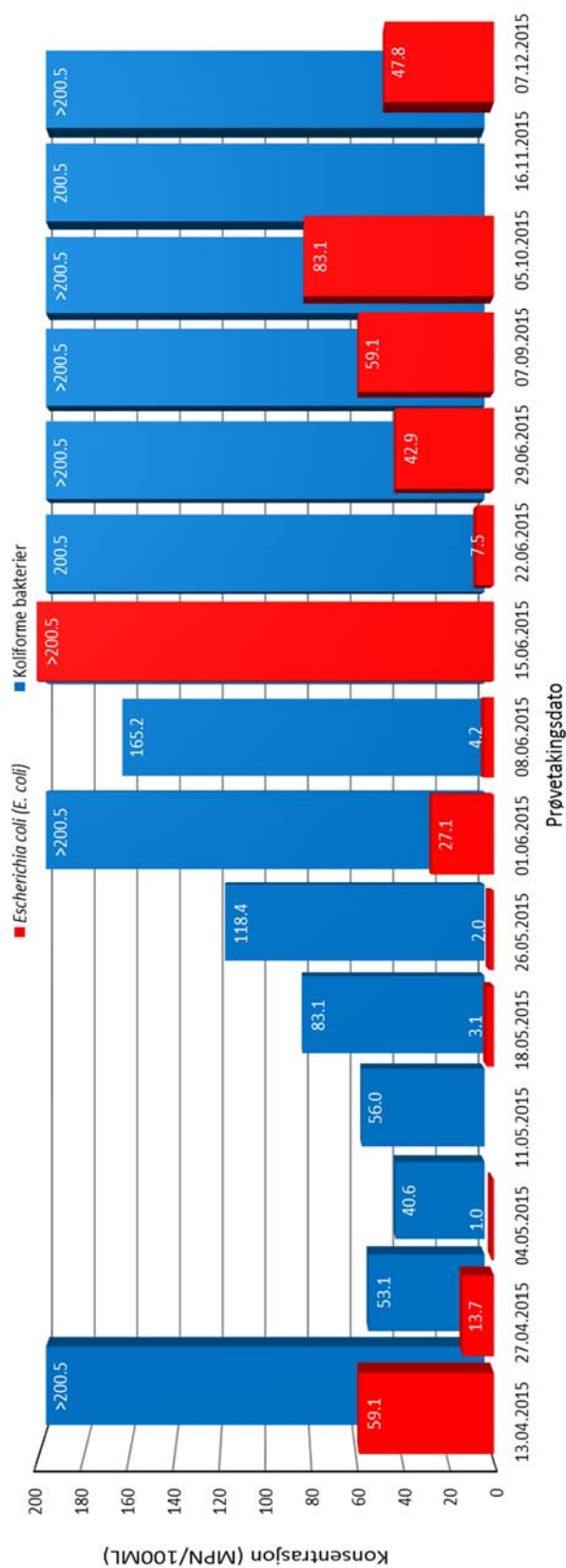
I Valsetbekken, ble det funnet *E. coli* i alle 15 prøver tatt ut ved prøvelokaliteten V1, i 14 prøver tatt ut ved lokaliteten V2 og i 13 prøver tatt ut ved lokaliteten V3 (Figurene 22 – 23). Høyeste konsentrasjoner av *E. coli* (>200 MPN/100ml) ble påvist i prøvene tatt ut på samme dag (15. juni 2015) fra alle prøvesteder (V1, V2 og V3).

Også i Jervbekken ble det funnet *E. coli* i alle 15 vannprøver tatt ut ved først prøvelokaliteten J1. Ved den andre prøvelokaliteten J2 ble *E. coli* påvist i ni av 15 prøver (Figurene 24 – 25). Høyest konsentrasjon av *E. coli* (>200 MPN/100ml) ble påvist i prøven J1 tatt ut 7. september 2015.

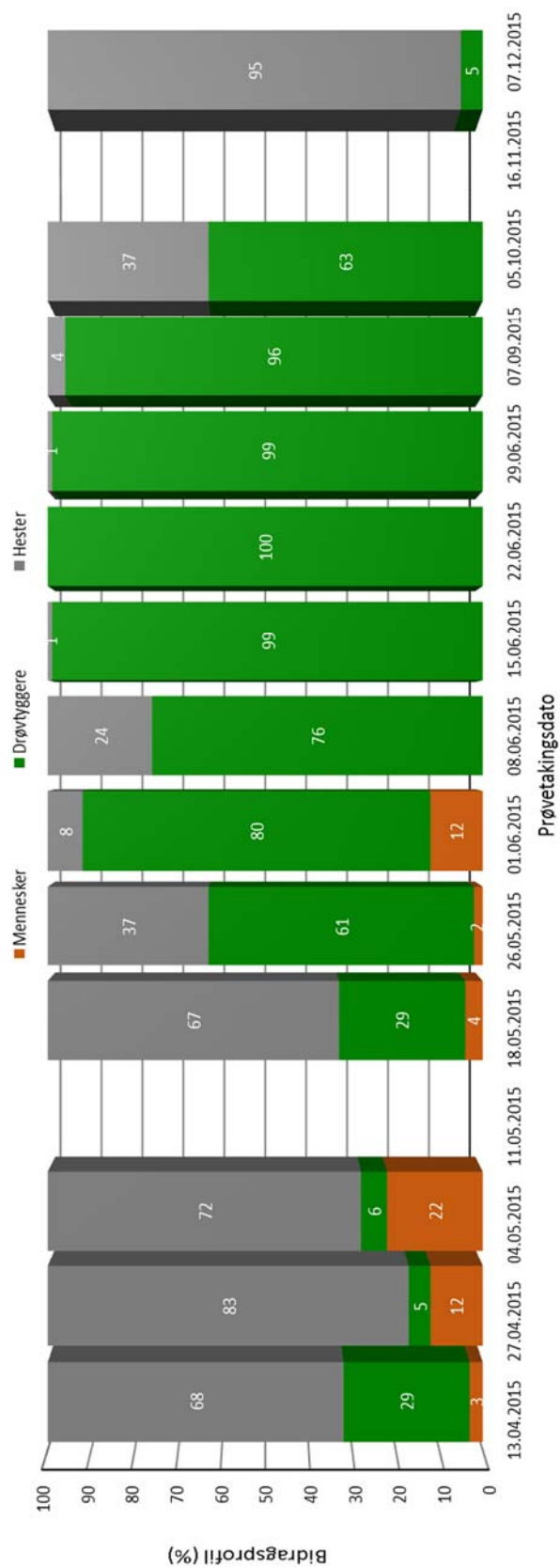
Alle prøver tatt ut fra Lykkjebekken var forurenset av *E. coli* og høyest konsentrasjon (>200 MPN/100ml) ble påvist i prøven tatt ut i september 2015 (Figurene 28 – 29).

I Sagelva, ble det funnet *E. coli* i 10 av 11 vannprøver, men nivåene var lavere enn i de andre tilløpsbekkene til Jonsvannet (Figurene 26 – 27). Høyest konsentrasjon (88 MPN/100ml) ble påvist i vannprøvene S1 tatt ut 18. mai 2015.

Nesten alle høye *E. coli* nivåer ble påvist i den varme perioden, generelt juni - september 2015. Dominerende kilde til fekal forurensing kom fra dyr i denne perioden, der drøvtyggere var den mest dominerende kilden. I tillegg ble bidraget fra hester påvist, høyest (87%) i prøver fra Sagelva (Figurene 22 – 29).

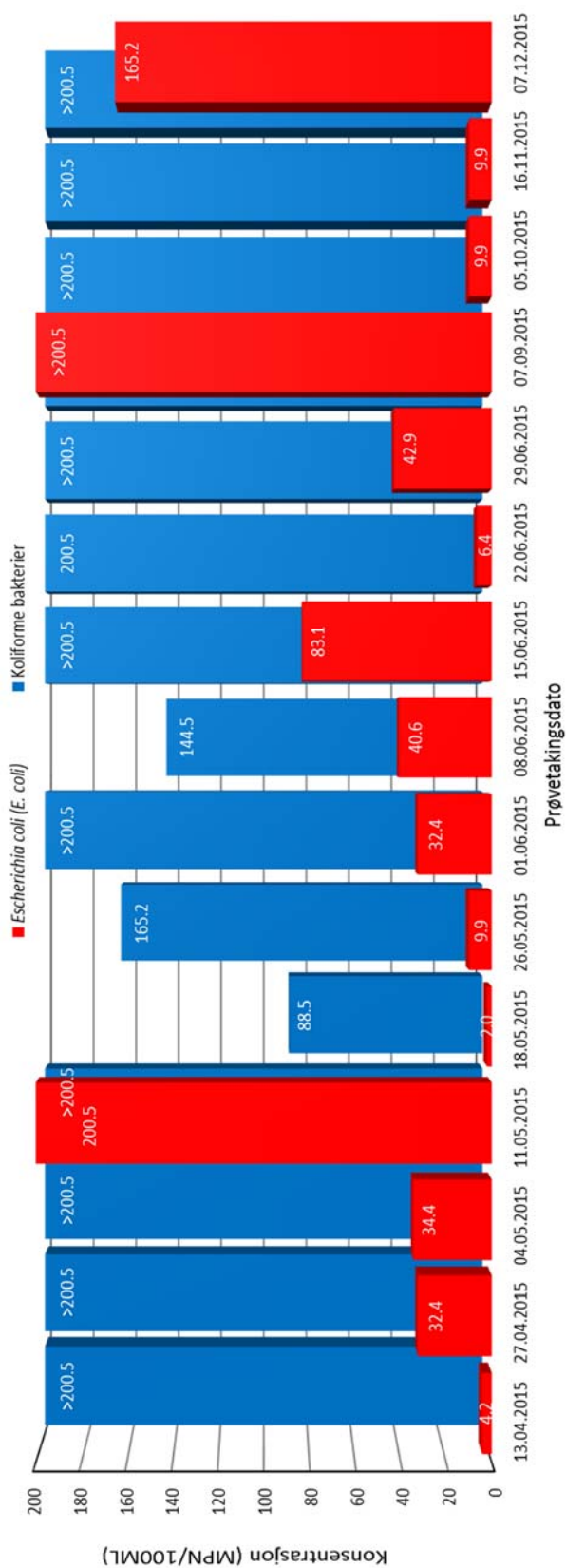


Figur 22. Konsentrasjoner av kolliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i prøvene fra Valsetbekken ved prøvelokaliteten V3.

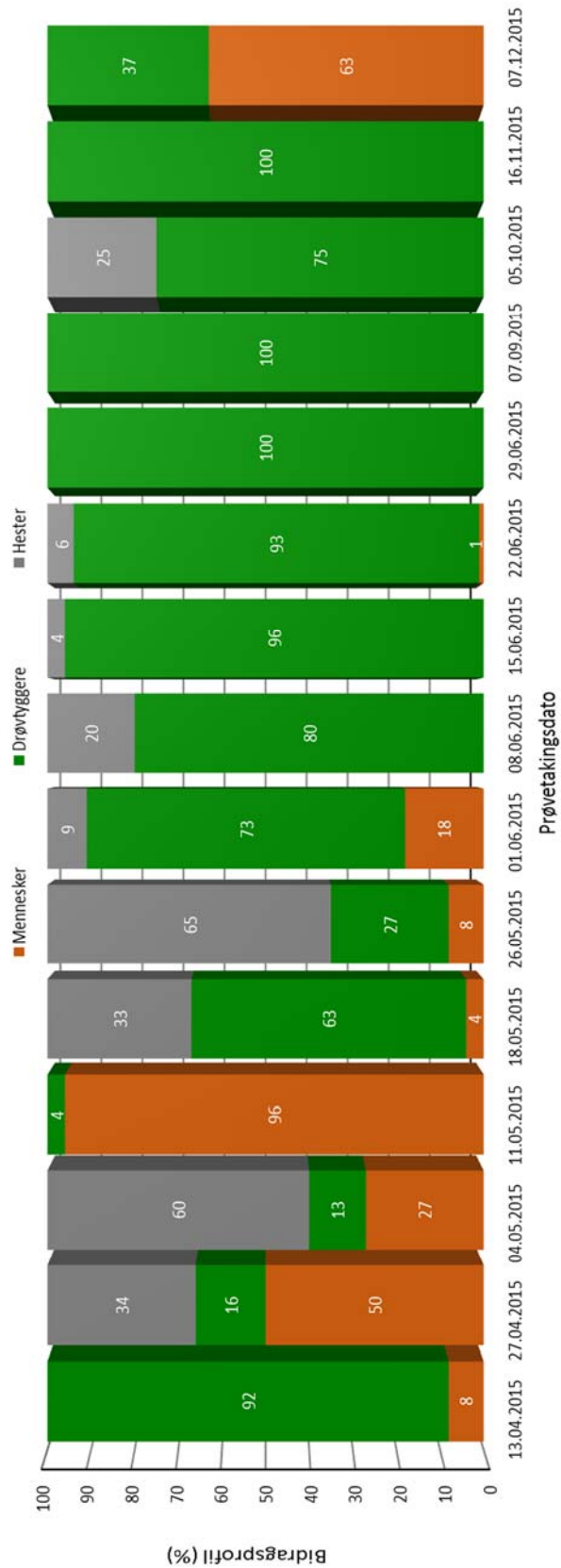


Figur 23. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Valsetbekken ved prøvelokaliteten V3.

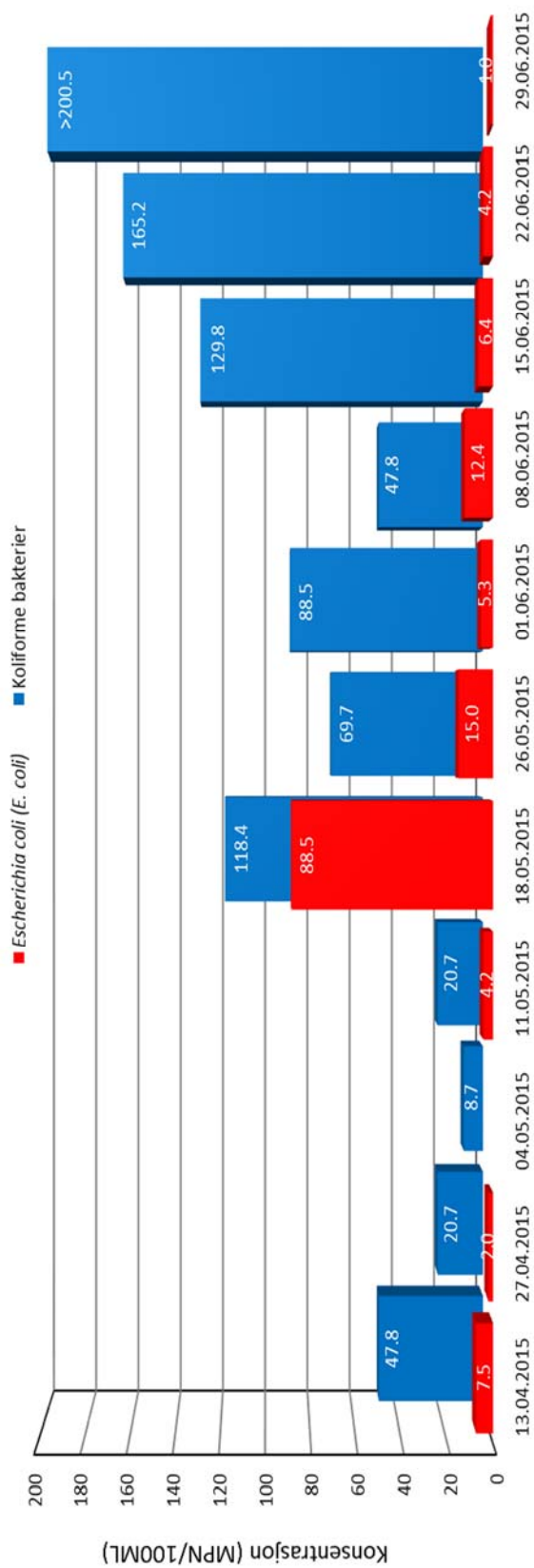




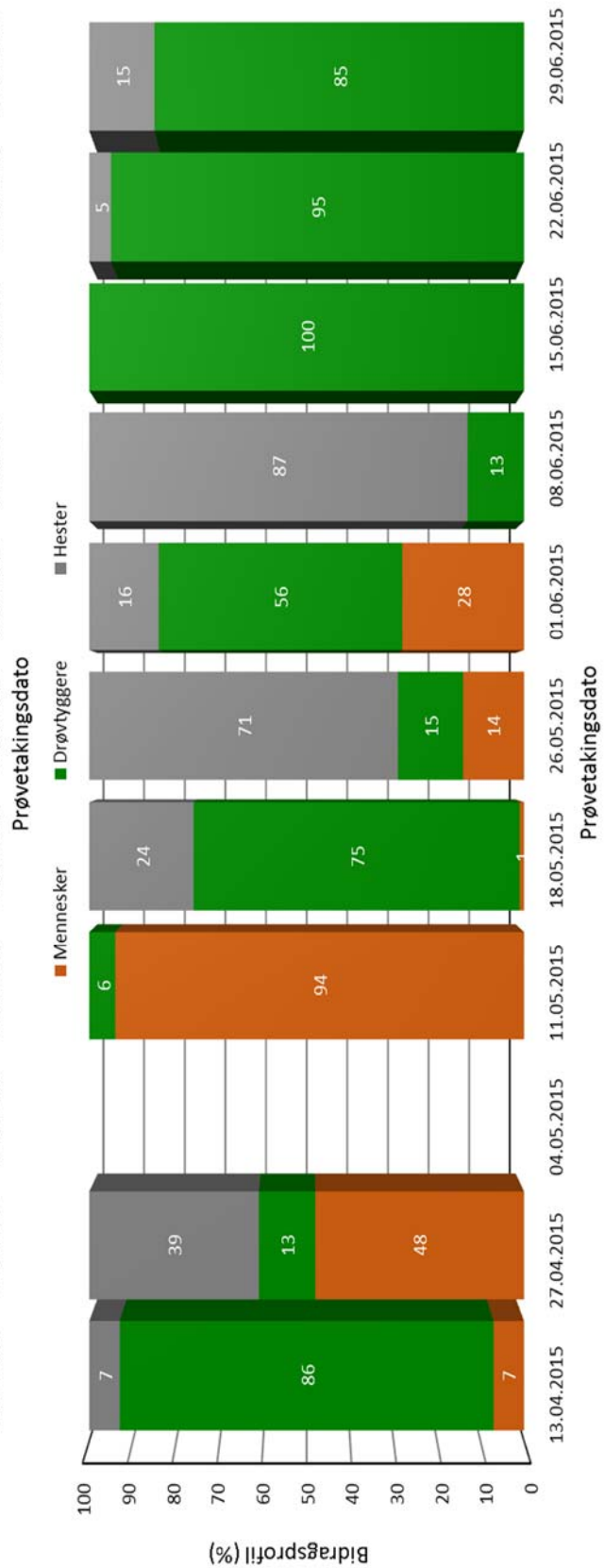
Figur 24. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i prøvene fra Jervbekken ved prøvelokaliteten J1.



Figur 25. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Jervbekken ved prøvelokaliteten J1.

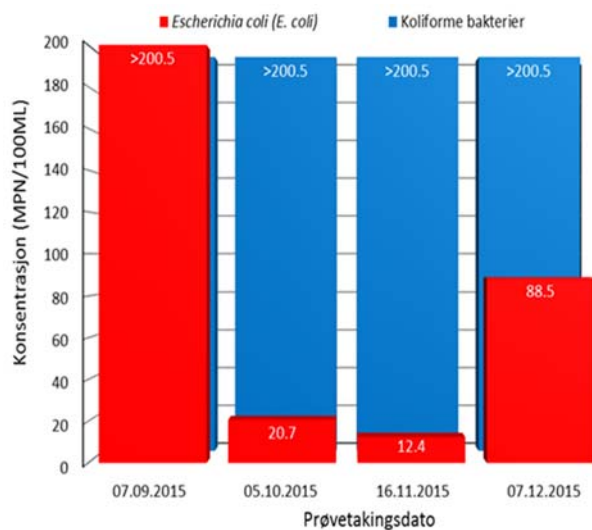


Figur 26. Konsentrasjoner av kolliforme bakterier og *Escherichia coli* (E. coli) i prøvene fra Sagelva ved prøvelokaliteten S1.

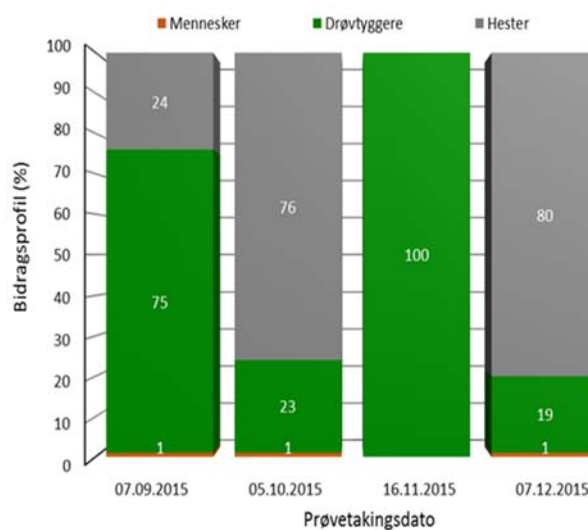


Figur 27. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Sagelva ved prøvelokaliteten S1.





Figur 28. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i prøvene fra Lykkjebekken.



Figur 29. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Lykkjebekken.

I den kalde perioden (generelt forsommeren og forvinteren) var konsentrasjoner av *E. coli* lav i alle bekkeprøver unntatt Jervbekken hvor høye konsentrasjoner (200 MPN/100 ml og 165 MPN/100ml) ble påvist i prøvene tatt ut 11. mai og 7. desember 2015. I denne perioden var det et klart bidrag i forurensingen fra mennesker, særlig når høye *E. coli* konsentrasjoner ble funnet, f.eks. i vannprøve J1 med *E. coli* konsentrasjoner på 200 MPN/100ml ble det beregnet et bidrag på 96% av fekal forurensning fra mennesker. Også i desember 2015 hvor det var høyt *E. coli* nivå (165 MPN/100ml), var det estimert et bidrag på 63% fra mennesker.

### 5.2.3 Vurderinger

Forsøket på å definere kilder til fekal forurensning i fire tilførselsbekker til Jonsvannet (Valsetbekken, Jervbekken, Sagelva og Lykkjebekken) viste at vannet er forurenset av tarmbakterier fra mennesker, drøvtyggere (kyr, sau, geit) og hester. Nivået på forurensningene og hvilke grupper som dominerer utslippene varierer gjennom året. Undersøkelsen viser at den fekal forurensningen i hovedsak kommer fra andre kilder enn mennesker. En generell trend ble observert med hensyn til fekal forurensnings-tilførsel som også er observert i andre prosjekt: Det var et større bidrag fra dyr i den varme perioden og et høyere bidraget fra mennesker i den kalde perioden. Dette er ikke overraskende siden det er vesentlig større aktivitet av beitedyr sommerstid i kombinasjon med arealavrenning.

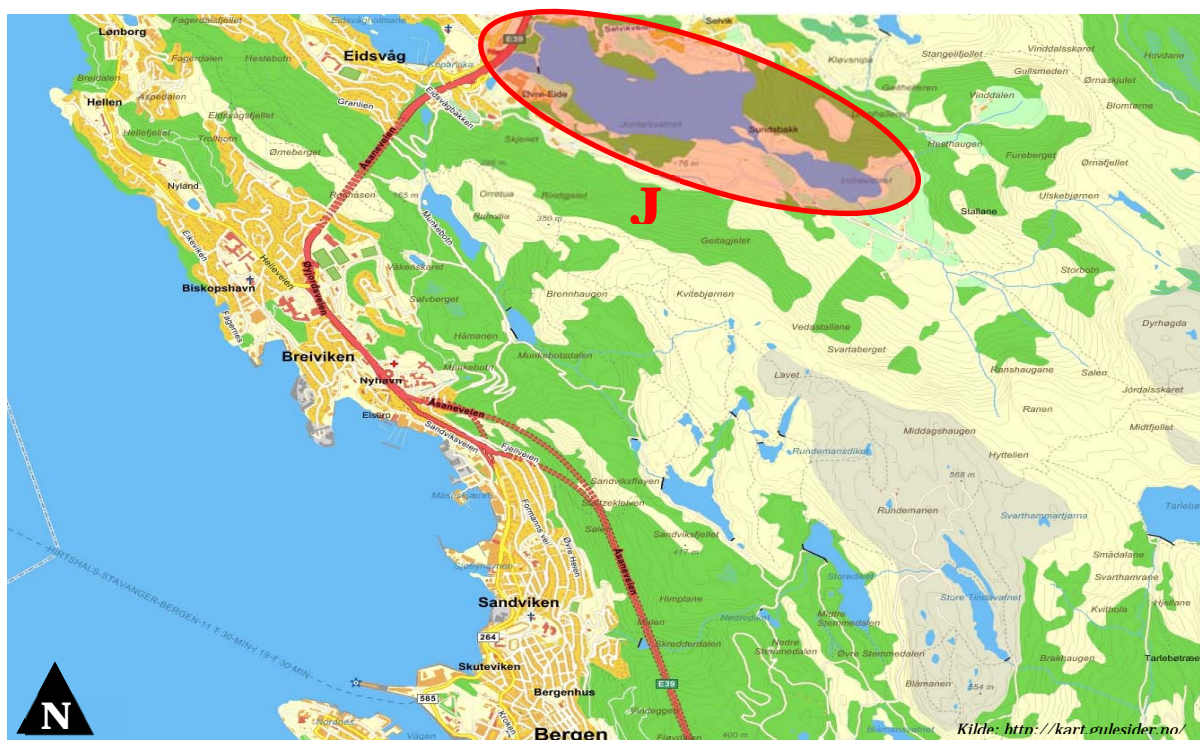
De funn av fekal forurensning som er beskrevet her utgjør ingen direkte trussel mot drikkevannets kvalitet. Drikkevannet til Trondheims befolkning sikres ved to hygieniske barrierer i Vikelvdalen Vannbehandlingsanlegg før det leveres til mottakeren. For å sikre at råvannets kvalitet har høy standard er det ønskelig at nivået av fekal smitte er lavest mulig. Mikrobiell kildesporing gir grunnlag for å vurdere fekal smitterisiko og prioritere tiltak i Jonsvatnets nedbørfelt.

## 5.3 Jordalsvatnet og Svartediket i Bergen

Jordalsvatnet og Svartediket er to drikkevannskilder til Bergen kommune som har blitt undersøkt i forhold til kartlegging av fekal forurensningskilder med mikrobiell kildesporing. Jordalsvatnet har et forurensningspress fra bebyggelse, landbruk og mindre næringsvirksomheter i nedbørfeltet (Figur 30). Det ble også tatt ut enkelte stikkprøver fra et prøvepunkt i nedbørfeltet til Svartediket.

Ved Jordalsvatnet vannbehandlingsanlegg inngår koagulering/filtrering (Moldeprosess) og UV-bestråling som hygieniske barrierer i vannbehandlingen, med klor i reserve. Vannproduksjonen ved Jordalsvatnet var i 2015 ca. 4,6 mill. m<sup>3</sup> (Bergen kommune 2016). Vanninntaket er på dybde 40 m, noe som til en viss grad (deler av året) beskytter mot at forurensning fra nedbørfeltet når råvannsinntaket. Overvåkningsdata viser jevnt over et lavt antall *E. coli* i råvannsprøvene (<10 *E.coli*/100 ml), og med noe høyere nivå i forbindelse med høstsirkulasjonen. Resipient-undersøkelser har påvist høyt innhold av *E. coli* i tilførselsbekker og i overflaten på kilden, særlig i forbindelse med mye nedbør.

En sentral problemstilling har i flere år vært om husdyrholdet (storfe, hest og sau) i nedbørfeltet til Jordalsvatnet, som i dag foregår i henhold til avholdt skjønn, er forenelig med drikkevannsforskriftens krav til beskyttelse av Jordalsvatnet som drikkevannskilde. Dersom det skulle bli behov for strengere klausuleringsbestemmelser for å kunne opprettholde Jordalsvatnet som drikkevannskilde, er det være viktig å ha kunnskap om bidrag fra de ulike kildene til fekal forurensning.



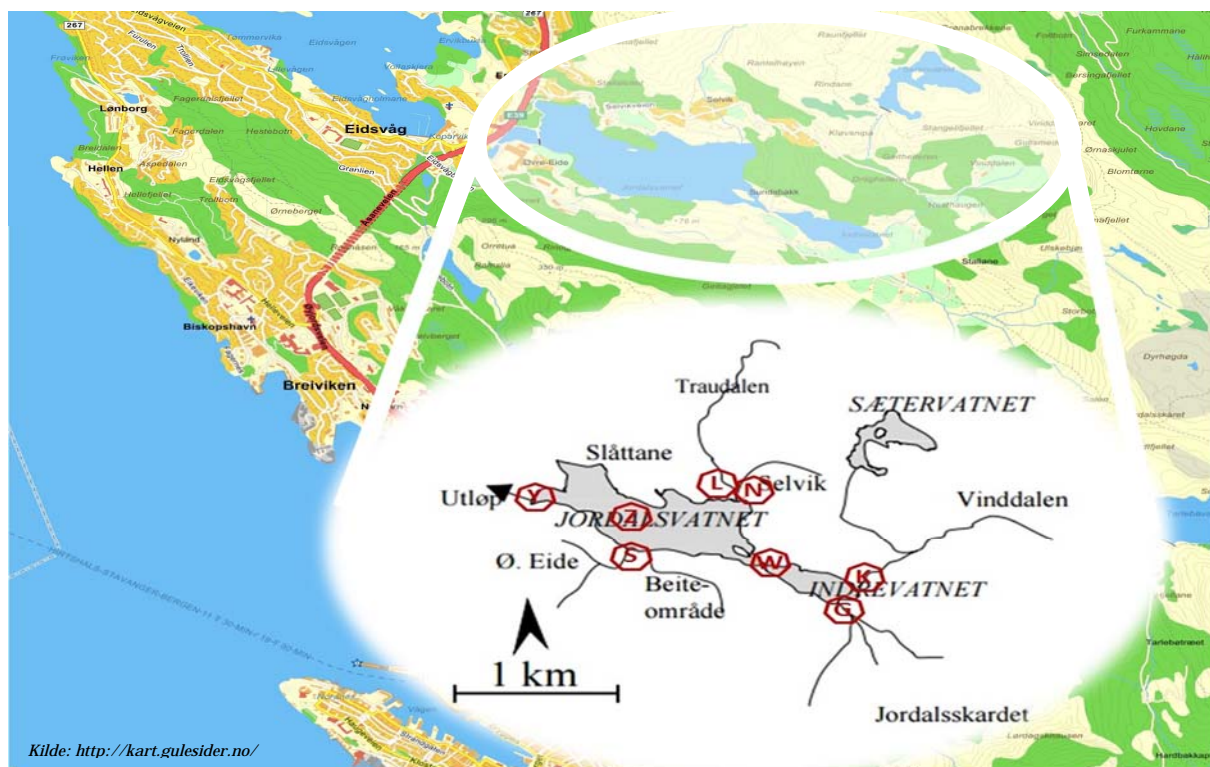
Figur 30. Drikkevannskilden Jordalsvatnet i Bergen (J).

### 5.3.1 Prøvetaking

Vann- og avløpsetaten i Bergen utarbeidet forslag til prøvetakingsprogram, som besto av åtte prøvetakingspunkter, de fleste fra utløp av tilførselsbekker til Jordalsvatnet (6 pkt., G, K, L, N, S og W), og fra kildeoverflaten (2 pkt., Z og Y), se Tabell 4 og Figur 31. Prøvene ble tatt ut ved fem prøvetakingsrunder/anledninger (mai til desember 2015). Det ble lagt vekt på å ta ut prøver både i tørrvær og i forbindelse med mye nedbør. Tidligere gjennomførte resipientundersøkelser har vist svært høye *E. coli* tall i kildeoverflaten og tilførselsbekkene i forbindelse med nedbør.

Tabell 4. Prøvetakingssteder i Jordalsvatnets nedbørfelt og ved Svartediket.

Område	Prøvetakingssted	Symbol
Jordalsvatnet	Elv fra Jordalsskardet v. utløp til Indrevatnet	G
	Elv fra Vindalen, v. utløp til Indrevatnet	K
	Vestre elv fra Traudalen, v. utløp til Jordalsvatnet	L
	Elv ved Selvik, v. utløp til Jordalsvatnet	N
	Elv ved Øvre Eide, v. utløp til Jordalsvatnet	S
	Utløp Indrevatnet, ved bru	W
	Utløp Jordalsvatnet, ved demning	Y
	Råvann Jordalsvatnet, fra vannbehandlingsanlegget	Z
Svartediket	Svartediket, tilsig kilde	Sv.



Figur 31. Lokaliteten til prøvetakingssteder (G, K, L, N, S, W, Y, Z) i Jordalsvatnet nedbørfelt.

Det ble også tatt ut tre sporadiske vannprøver fra Svartediket. I hele prosjektperioden (mai - desember 2015) ble det tatt ut til sammen 43 vannprøver hvorav 40 prøver fra åtte prøvetakingssteder i Jordalsvatnet nedbørfeltet og tre vannprøver fra ett prøvetakingssted ved Svartediket (Tabell 4, ikke presentert på Figuren). Alle vannprøvene ble analysert uten fortykning.

Det ble testet ut om fekal vannforurensing kommer fra mennesker/ikke-mennesker, hester, drøvtyggere (f. eks. kyr, sauer og geiter) eller andre dyrearter (f. eks. fugler, hunder og katter).

### 5.3.2 Resultater

Prosjektets samlede resultater er presentert i NIBIO Rapport 2(49) (Paruch et al. 2016b). Her presenteres et utvalg eksempler på resultatene fra mikrobiologiske undersøkelser og molekylærbiologiske tester som viste mest fekalt forurensning.

*E. coli* ble funnet i alle vannprøvene tatt ut rundt Jordalsvatnet, unntatt vannprøve Z (lave konsentrasjoner påvist bare ved to anledninger, dvs. 1 og 2 MPN/100ml i vannprøver tatt ut i august og desember 2015). De høyeste konsentrasjoner av *E. coli* (over målingsgrensen for uforynnnet prøven, dvs. >200 MPN/100ml) ble påvist i august og desember 2015 i prøve G og S, (Figurene 32 – 35).

Høye *E. coli* konsentrasjoner funnet i alle prøver når fekal vannforurensning fra gruppen “andre dyrearter” dominerer. Bare ved prøvetakssted S ble høyeste *E. coli* konsentrasjonen (>200 MPN/100ml) påvist der mennesker var dominerende forurensning (61% bidraget). I tillegg ble det også vist at bidraget fra mennesker i vannprøver fra andre prøvetakssteder var i mai og desember 2015.

Ved Svartediket ble *E. coli* også påvist i prøvene (Figur 36 og 37). Selv om bidraget fra mennesker til fekal vannforurensning ble identifisert i alle de prøver (høyst bidraget var 7% i mai 2015), viste analysene at dyr var dominerende kilde til i ferskvannet ved alle anledninger. Det ble ikke undersøkt nærmere hvilke dyregrupper som dominerte utslippene i disse analysene.

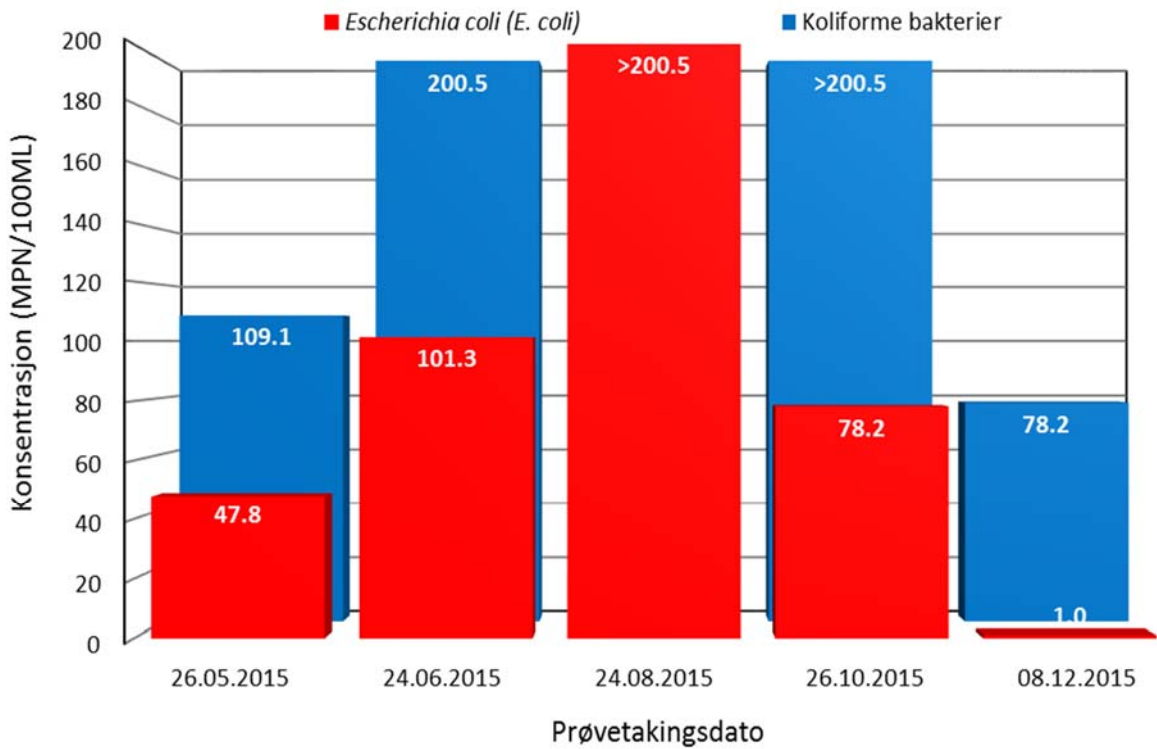
### 5.3.3 Vurderinger

Undersøkelser fra åtte prøvetakssteder i Jordalsvatnet nedbørsfeltet og ett ved Svartediket viste at vannene var forurenset av tarmbakterier fra mennesker og dyr, særlig drøvtyggere (f. eks. kyr, sauer og geiter), hester og andre dyrearter (f. eks. fugler, hunder og katter).

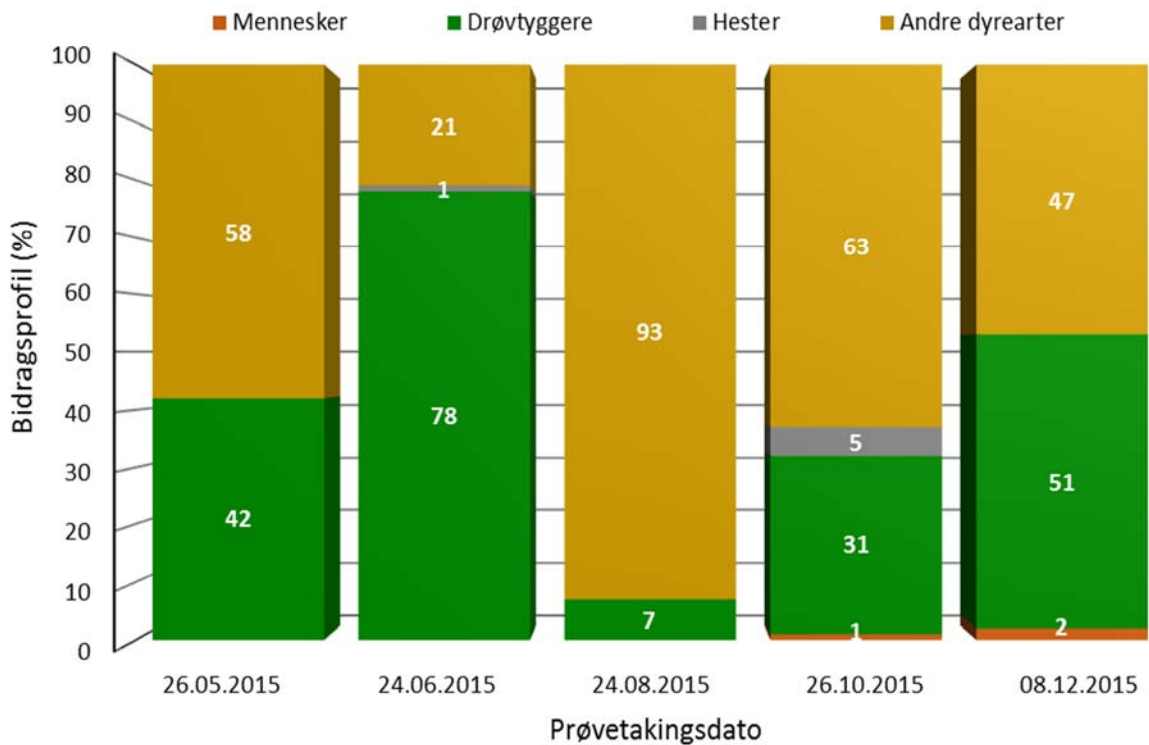
Ved sammenligning av alle resultatene fra både mikrobiologiske og molekylærbiologiske analyser er det også i Bergen en trend at i den varme perioden kommer den dominerende kilde til fekal forurensning fra dyr, mens om forsommeren og forvinteren er det klart bidrag i forurensningen fra mennesker. I alle vannprøver tatt ut i den varme perioden var drøvtyggere og andre dyrearter den dominerende kilden til fekal vannforurensning. Generelt er det flest dyr (villdyr og husdyr, f.eks. beitedyr) i naturen i den varme perioden av året.

Funn av fekal forurensning som beskrives her utgjør ingen direkte trussel mot drikkevannets kvalitet. Drikkevannet til Bergens befolkning sikres ved at hygieniske barrierer i vannbehandlingen fjerner patogene mikroorganismer. På tross av gode sikkerhetsbarrierer som overvåkes nøye med alarmsystemer og nedstengningsfunksjoner dersom vannkvaliteten ikke holder mål, kan enhver teknisk innretning svikte. Bergen kommune ønsker derfor god råvannskvalitet med lavest mulig nivå av fekal forurensning.



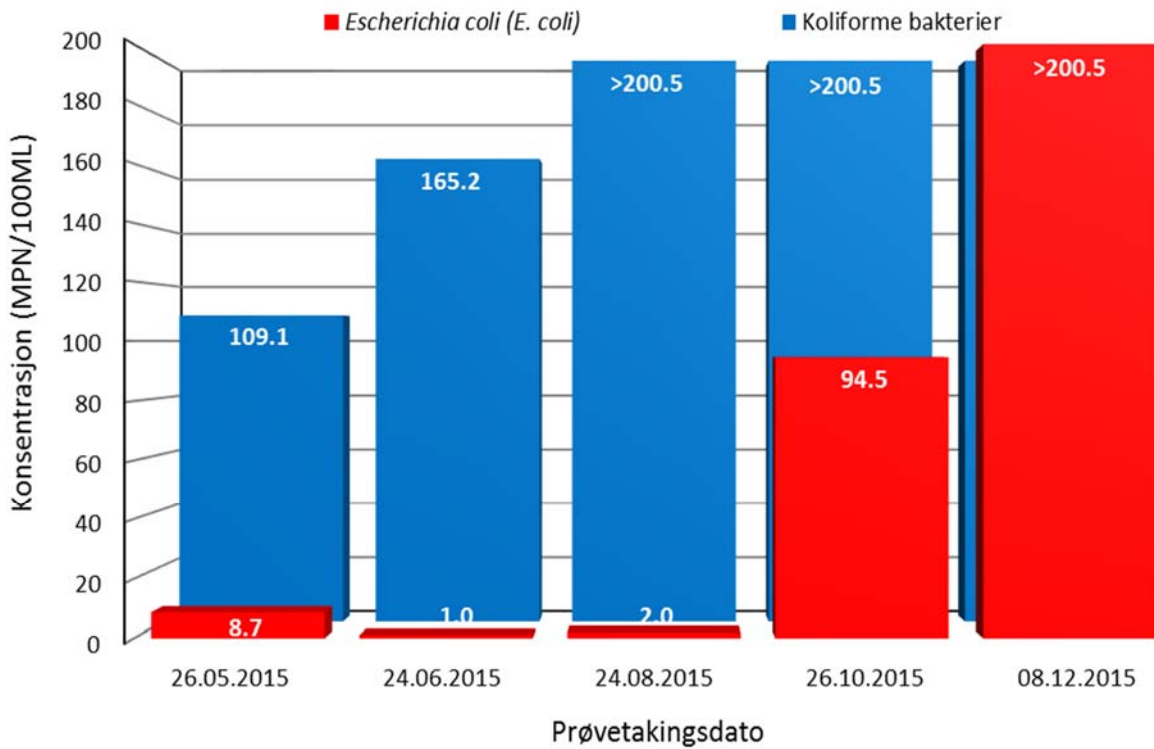


Figur 32. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i vannprøvene fra lokaliteten G i Jordalsvatnet nedbørsfelt.

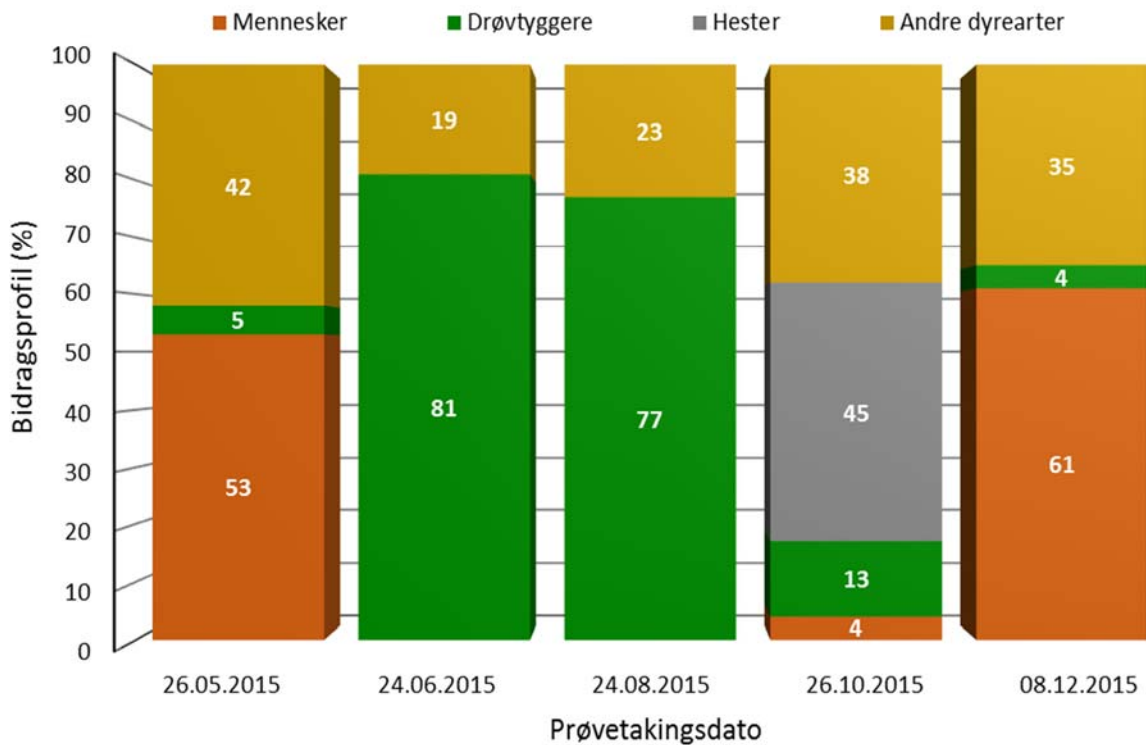


Figur 33. Bidragsprofil av markører i fekal vannforurensning ved prøvelokaliteten G i Jordalsvatnet nedbørsfelt.

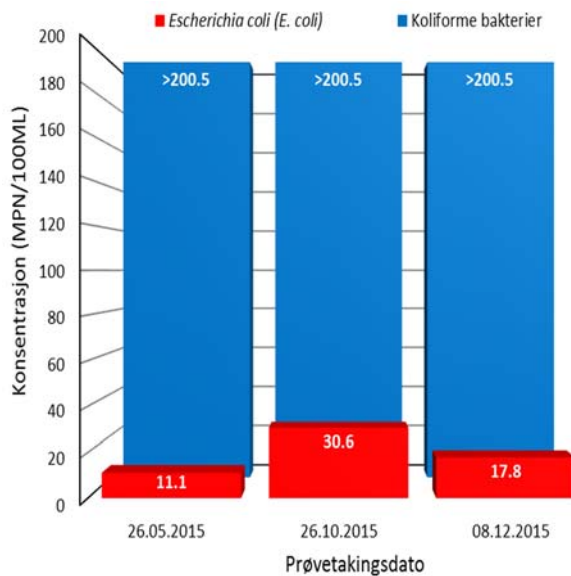




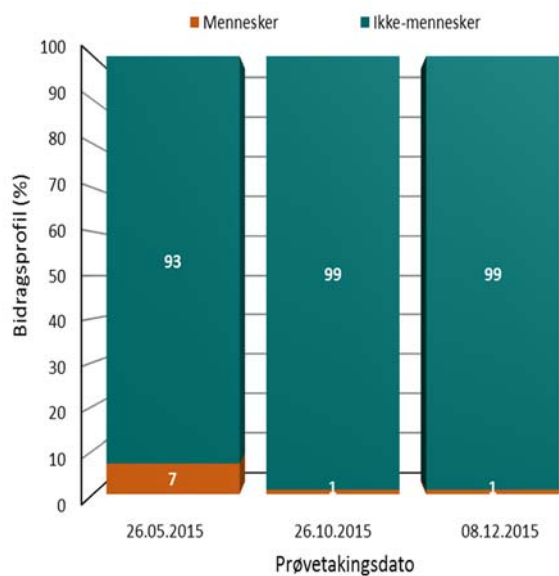
Figur 34. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i vannprøvene fra lokaliteten S i Jordalsvatnet nedbørsfelt.



Figur 35. Bidragsprofil av markører i fekal vannforurensning ved prøvelokaliteten S i Jordalsvatnet nedbørsfelt.



Figur 36. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (E. coli) i vannprøvene ved Svartediket.



Figur 37. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i vannprøvene ved Svartediket.

## 5.4 Gjersjøen i Oppegård

Gjersjøen er drikkevannskilde for Oppegård og Ås (ca. 45 000 innbyggere), samt reservevannkilde for Ski. Innsjøen ligger i Oppegård og Ås og deler av nedbørsfeltet ligger også i Ski og Oslo. Gjersjøen ligger 40 moh., har 2.4 km<sup>2</sup> vannflateareal, maksimal dybde 63 m, middel dybde 23 m og volumet utgjør ca 61 mill m<sup>3</sup>. Nedbørsfelt areal til Gjersjøen er 85 km<sup>2</sup> og årlig avrenning er 38 mill m<sup>3</sup>. Innsjøen har et sammensatt nedbørsfelt der landbruk, bebyggelse, urbane områder og veger er potensielle kilder til utslipp.

NIBIO har siden 2014 hatt Gjersjøen som studieområdet i EØS-prosjektet "AQUARIUS". I prosjektet har det vært fokusert på en rekke av undersøkelser av mikrobiologisk vannforurensning i fem tilløpsbekker til Gjersjøen (Kantorbekken, Greverudbekken, Tussebekken, Dalsbekken og Fåleslora). I 2016 ble NIBIO engasjert av Oppegård kommune til å samarbeide om kildesporing av fekal vannforurensning i utvalgte steder langs Kantorbekken, Greverudbekken og Tussebekken.

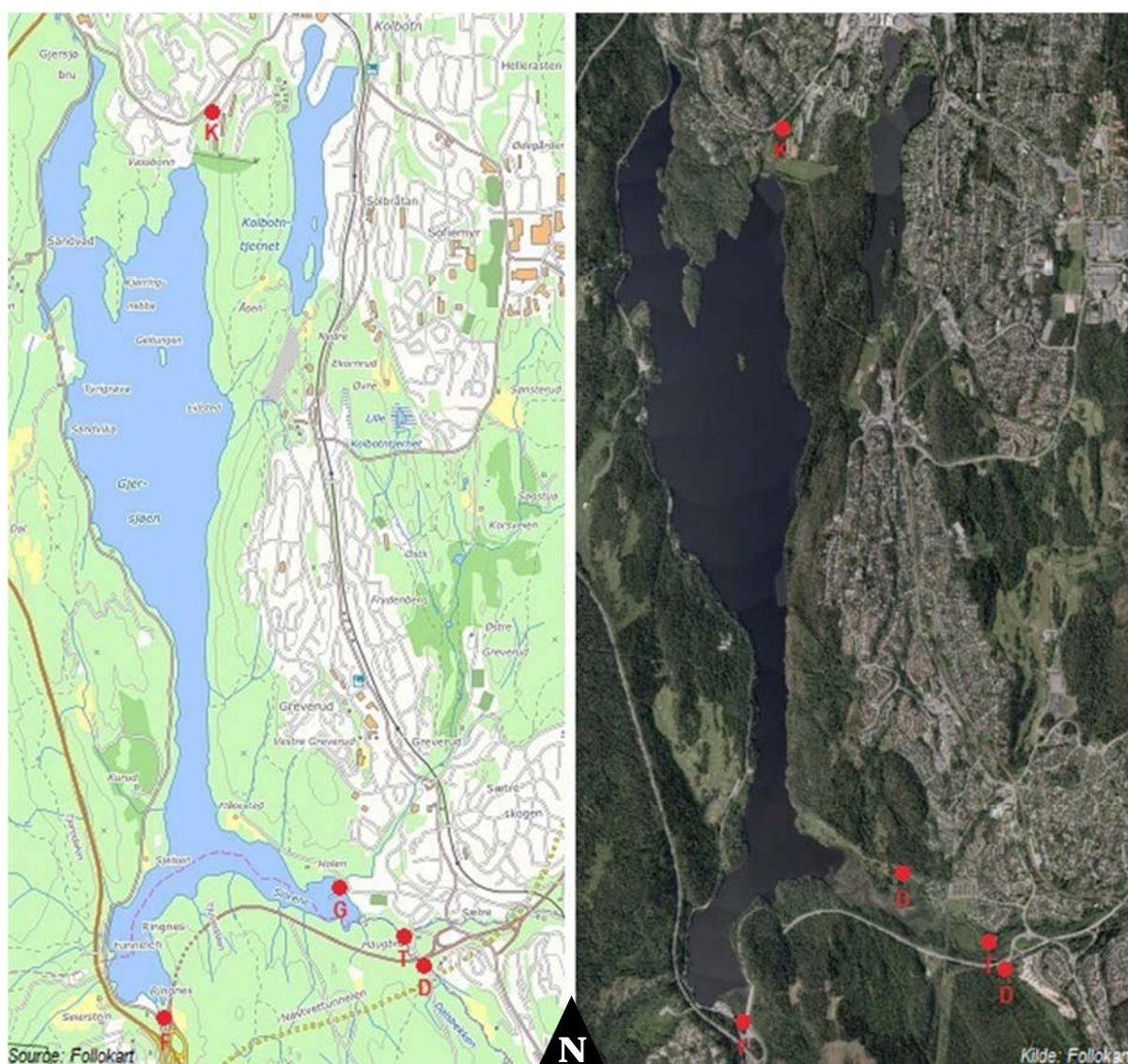
### 5.4.1 Prøvetaking

I løpet av "AQUARIUS" prosjektet ble vannprøver tatt ut ved to prøvetakingsrunder, først månedlig (f.o.m. november 2014 t.o.m. april 2015) og deretter (f.o.m. juni 2015) kvartalsvis. Prøvetakingssteder er vist i Tabell 5 og Figur 38. I tillegg har Oppegård kommune valgt å ta ut flere vannprøver ved fem anledninger i 2016.

I "AQUARIUS" prosjektet ble det testet ut om forurensningen kommer fra mennesker eller dyr (samlet gruppe), mens i prøvene undersøkt for Oppegård kommune ble det benyttet tre DNA-markører for mennesker, hester og gruppen "andre dyrearter" (f. eks. fugler, hunder og katter). I tillegg ble alle prøver fra den kvartalsvis prøvetakingsrunden i "AQUARIUS" prosjektet analysert for legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter.

Tabell 5. Prøvetakssteder i Gjersjøens nedbørfelt.

Område	Prøvetakssted	Symbol
Gjersjøen	Kantorbekken	K
	Greverudbekken	G
	Tussebekken	T
	Dalsbekken	D
	Fåleslora	F



Figur 38. Lokaliteten til prøvetakssteder i fem tilløpsbekker (K, G, T, D og F) til Gjersjøen.

## 5.4.2 Resultater

Her presenteres noe utvalgte eksempler fra prøvetaksperioden 2014-2016 som viser flest og mest fekkalt forurensete vannprøver. I tillegg omtales prøvene hvor det ble testet ut hvilke kilder som bidrar til vannforurensingen i perioden mars – september 2016 i utvalgte bekker i Oppegård kommune.

*E. coli* ble påvist i alle prøvene fra tilløpsbekkene Kantorbekken, Greverudbekken, Tussebekken, Dalsbekken og Fåleslora. Høyeste *E. coli* konsentrasjoner som ble påvist (over målingsgrensen for ufortynnet prøven, dvs. >200 MPN/100ml) i alle prøvene ble tatt ut fra Kantorbekken og Greverudbekken (Figurene 39-40 og 43-44).

Flertallet av prøver tatt ut fra Kantorbekken viser at dominerende kilde til fekal forurensing kommer fra dyr (prøver tatt ut ved 8 anledninger), mens mennesker var den mest dominerende kilden til forurensing i vannprøver tatt ut ved 4 anledninger. I tillegg ble det definert mer presisert hvilke kilder bortsett fra mennesker som bidrar til fekal forurensing i prøver ved utvalgte steder langs Kantorbekken (Figurene 41-42). Det var hester som bidro mest med høyeste procenter på 85% og 82% ved lokaliteten K13. I den kalde årstiden (oktober/november – mars/april) var det dominerende bidrag til fekal vannforurensning fra mennesker (dvs. 67% i desember 2014; 56% og 98% i januar og april 2015, henholdsvis; og 74% i mars 2016). Til sammen 7 legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter ble påvist i prøver som ble tatt ut kvartalsvis fra Kantorbekken (Tabell 6).

Tabell 6. Konsentrasjoner av legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter (ng/l) påvist i vannprøver tatt ut kvartalsvis fra Kantorbekken. LOQ – limit of quantification.

Kjemikalier	LOQ	18.11. 2014	18.02. 2015	15.06. 2015	21.09. 2015	08.12. 2015	07.03. 2016	07.06. 2016	12.09. 2016
<b>Gabapentin</b>	10	48	130	23	44	44	38	14	23
<b>Paracetamol</b>	10	20	130				38	14	12
<b>Ibuprofen</b>	20	31	980				32		38
<b>Koffein</b>	100		140	240				140	110
<b>Metoprolol</b>	10		12	13				16	
<b>Iohexol</b>	50					410	270		
<b>Carboxy-ibuprofen</b>	20							34	

Ved Greverudbekken var dyr dominerende kilde til fekal forurensing i flest vannprøver (7 anledninger). Hester bidro mest i forurensingen langs Greverudbekken med høyest prosent på 93% ved lokaliteten G9 i mai 2016 (Figurene 37-38). En måned senere (i juni 2016) ved same lokaliteten (G9) var det høyest bidrag i forurensingen på 54% fra andre dyrearter definert. Mennesker var mest dominerende kilde ved 5 anledninger i den kalde årstiden (dvs. 84% i desember 2014; 82%, 91% og 58% i januar, april og desember 2015, henholdsvis; og 58% i mars 2016). I tillegg ble 13 forskjellige legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter påvist i alle vannprøver som ble tatt ut kvartalsvis (Tabell 7).

Tabell 7. Konsentrasjoner av legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter (ng/l) påvist i vannprøver tatt ut kvartalsvis fra Greverudbekken. LOQ – limit of quantification.

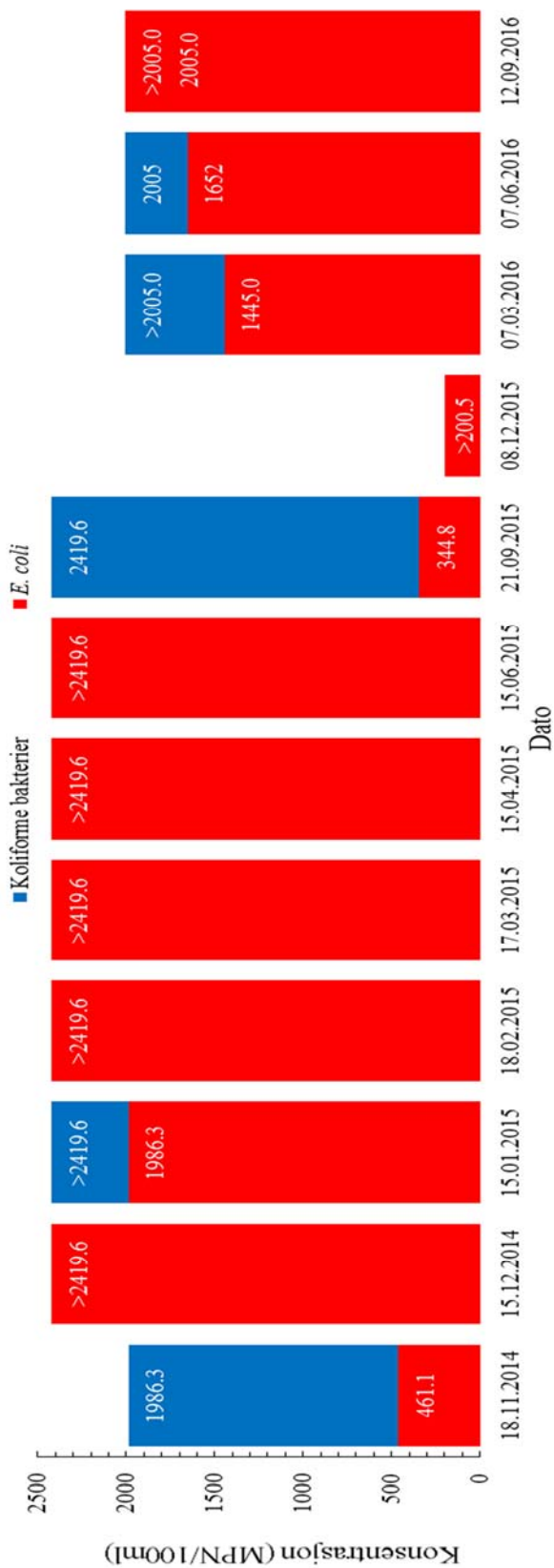
Kjemikalier	LOQ	18.11. 2014	18.02. 2015	15.06. 2015	21.09. 2015	08.12. 2015	07.03. 2016	07.06. 2016	12.09. 2016
Paracetamol	10	65	280	17	160	40	330	100	160
Ibuprofen	20	96	150		42		33	26	50
Gabapentin	10		27				17	23	18
Koffein	100		260	650	330	150	570		180
Sakkarin	50		53				63	74	180
Bisfenol A	50				120			52	
O-desmethyl-naproxen	20				21				
Carboxy-ibuprofen	20					29	180	43	89
2-hydroxy-ibuprofen	30						110	84	170
Iohexol	50						120		
Sulphapyridine	10							12	
Diklofenak	20								37
10,11-dihydro-10-hydroxy karbamazepin	10								10

Nesten alle vannprøvene tatt ut fra Tussebekken (unntatt prøven fra april 2015) viste at dominerende kilde til fekal forurensing kommer fra dyr (Figurene 39-40), der hester bidro mest i fekal forurensing (fra 66% i mars til 94% i juni 2016, Figurene 40-41). I Tussebekken ble 9 forskjellige legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter påvist (Tabell 8).

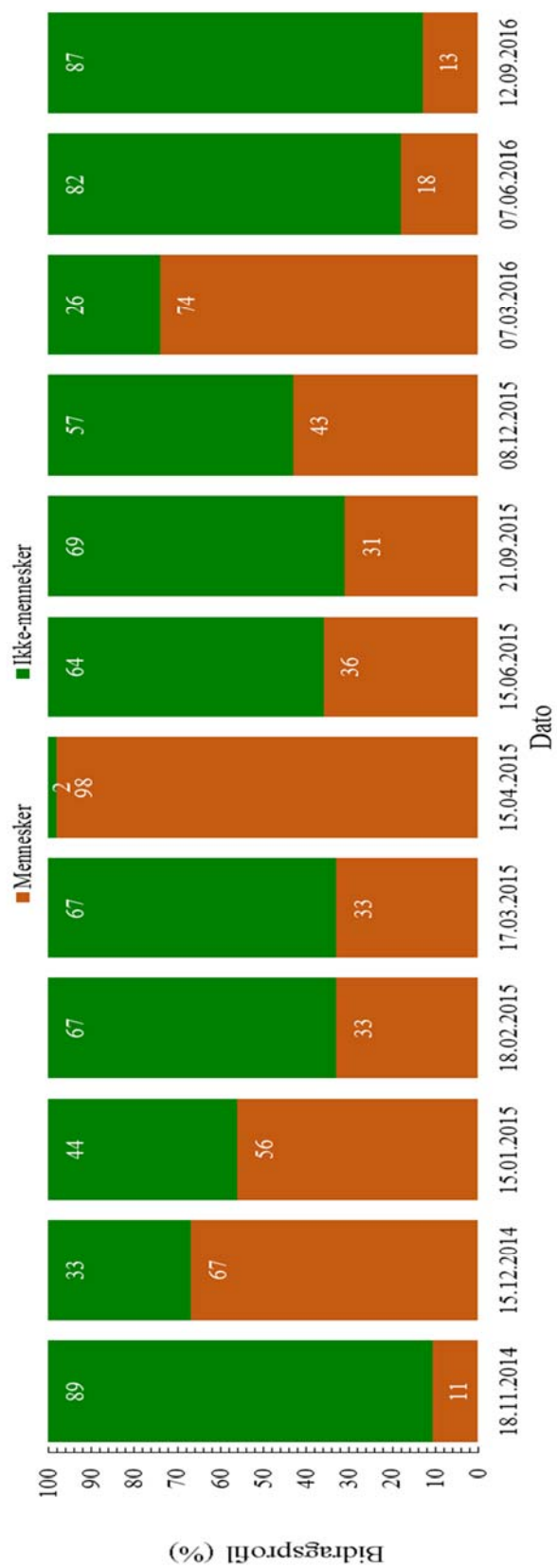
Tabell 8. Konsentrasjoner av legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter (ng/l) påvist i vannprøver tatt ut kvartalsvis fra Tussebekken. LOQ – limit of quantification.

Kjemikalier	LOQ	18.11. 2014	18.02. 2015	15.06. 2015	21.09. 2015	08.12. 2015	07.03. 2016	07.06. 2016	12.09. 2016
Ibuprofen	20	100	390					31	53
Gabapentin	10		15	18	32	19	10	31	34
Paracetamol	10		16		110				
Koffein	100		120		230	130		510	
Bisfenol A	50				120	220			
Carboxy-ibuprofen	20				23				34
Iohexol	50						80		
2-hydroxy-ibuprofen	30							86	37
Sakkarin	50								63

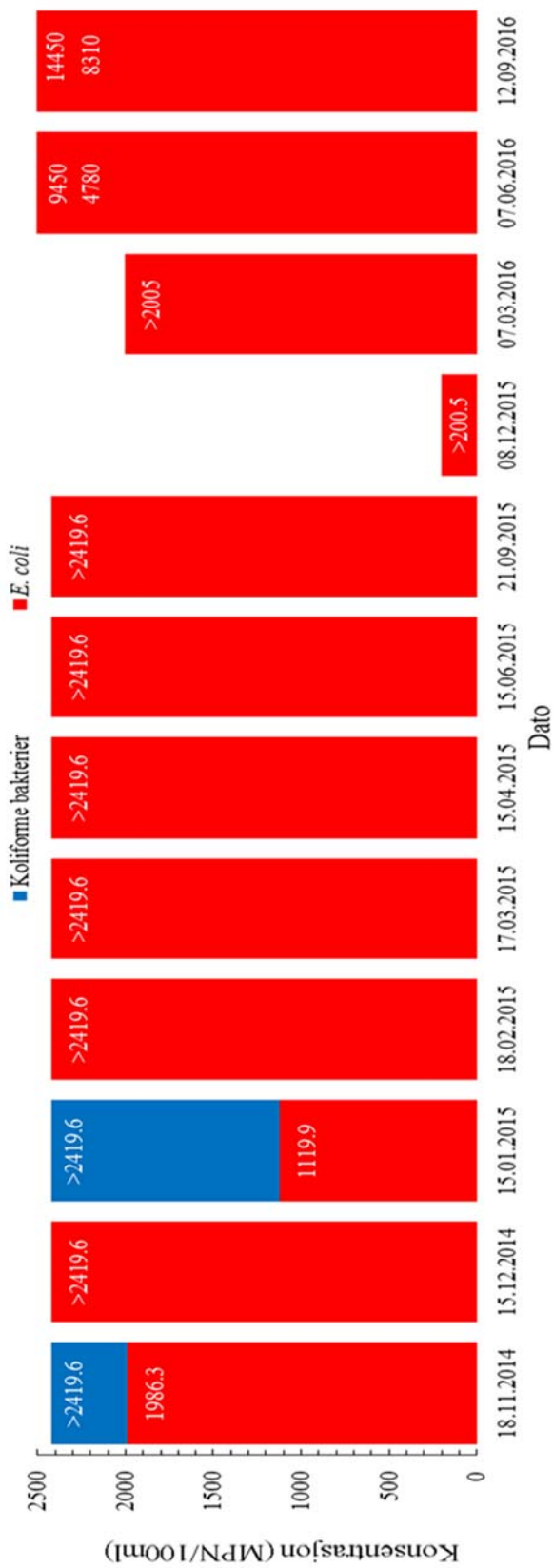




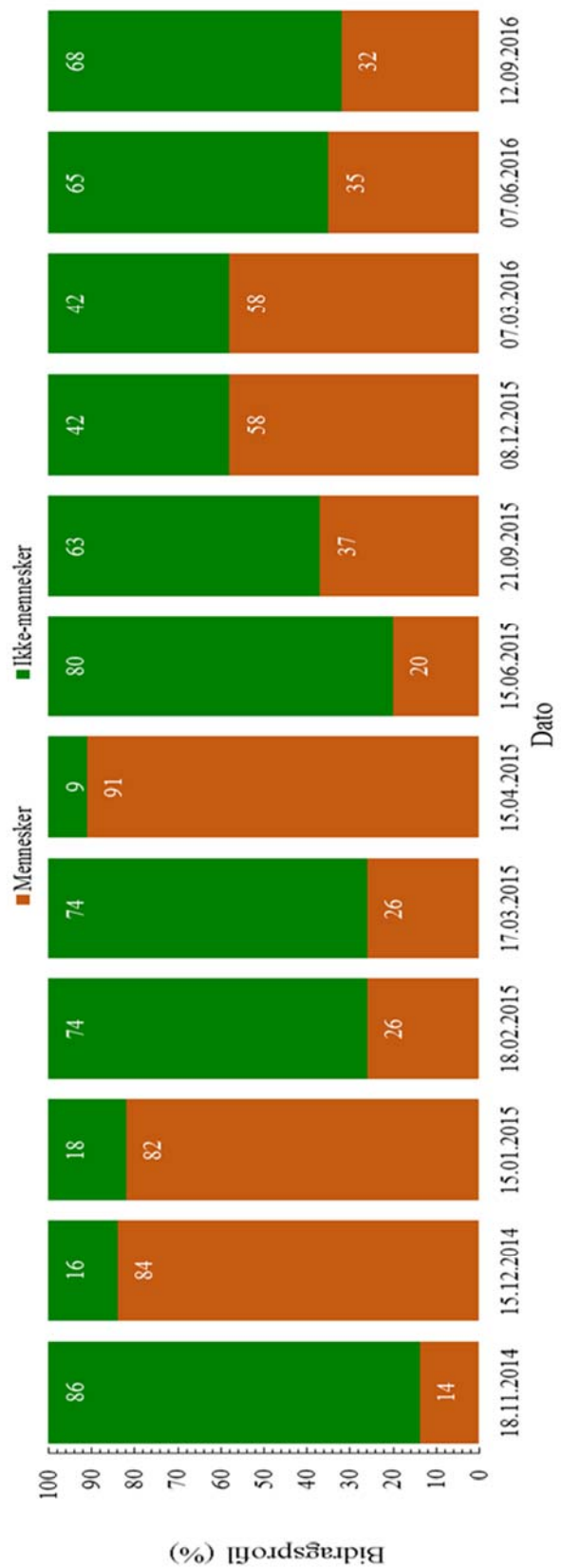
Figur 39. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i prøvene fra Kantorbekken.



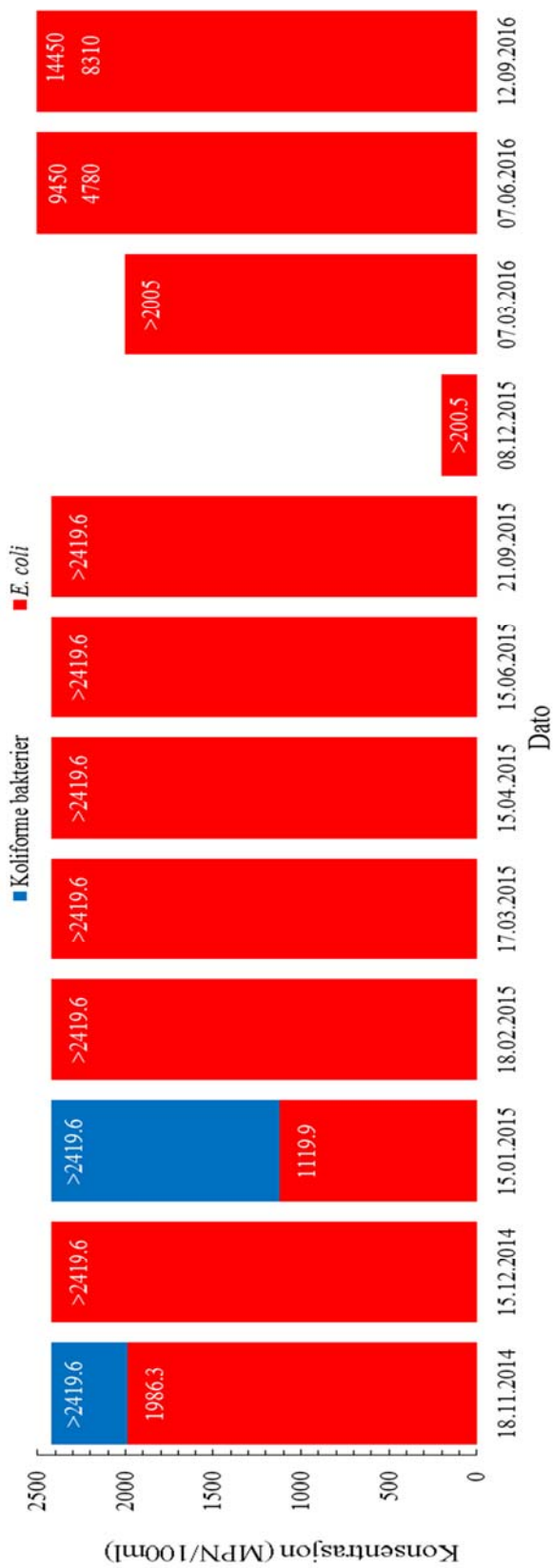
Figur 40. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Kantorbekken.



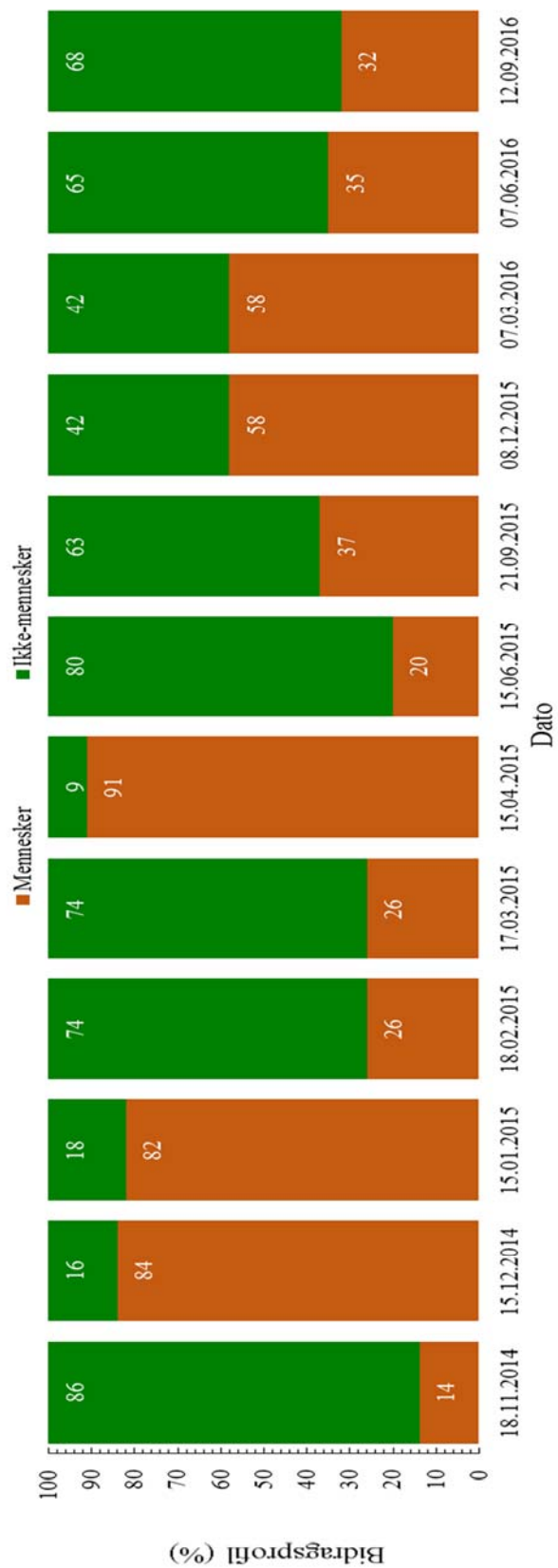
Figur 41. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i vannprøvene undersøkt for Oppegård kommune langs Kantorbekken.



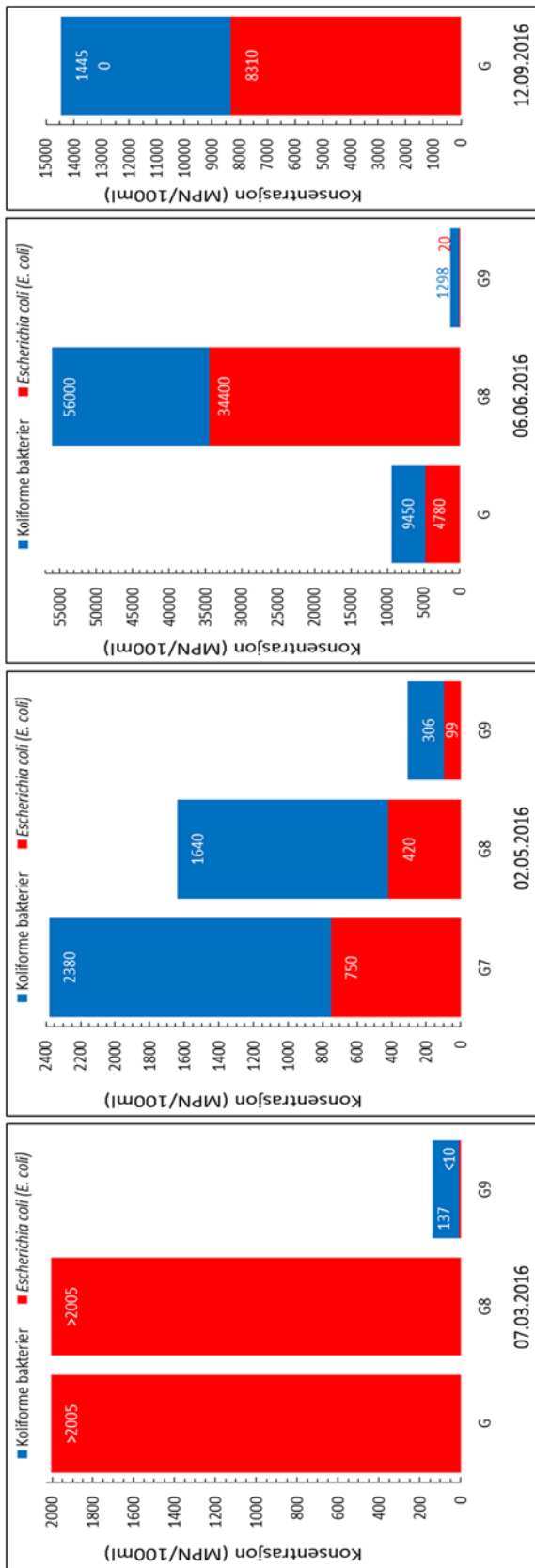
Figur 42. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i vannprøvene undersøkt for Oppegård kommune langs Kantorbekken.



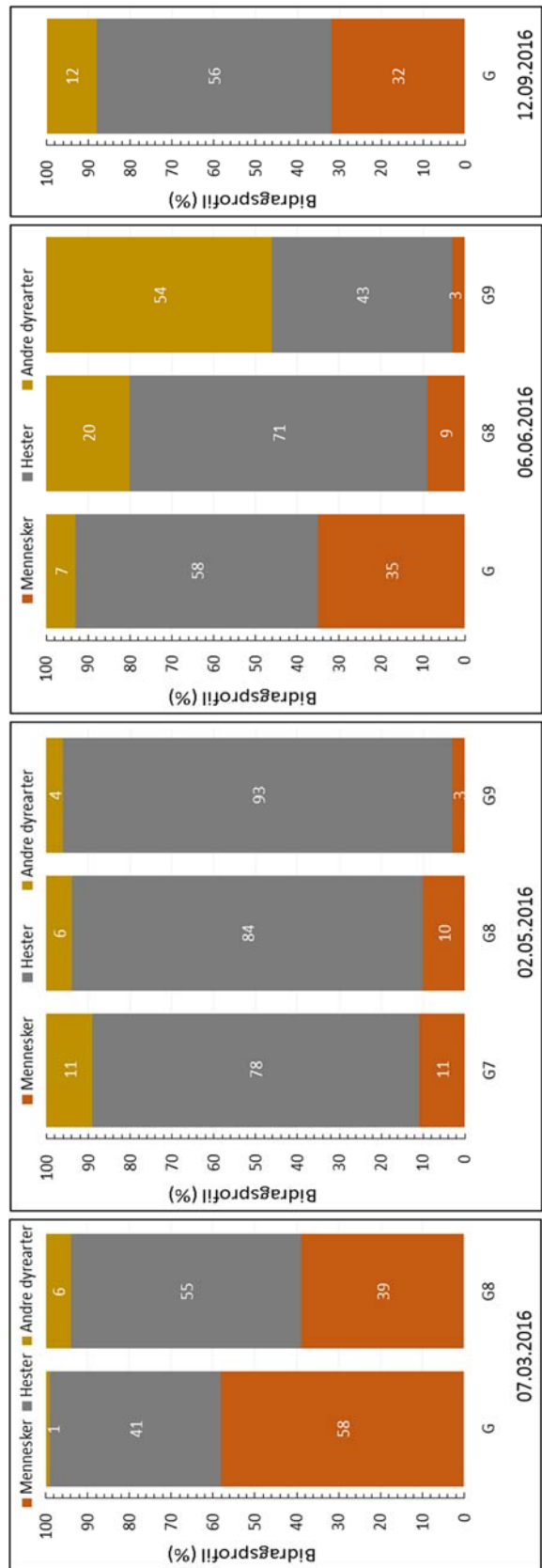
Figur 43. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i prøvene fra Greverudbekken.



Figur 44. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Greverudbekken.

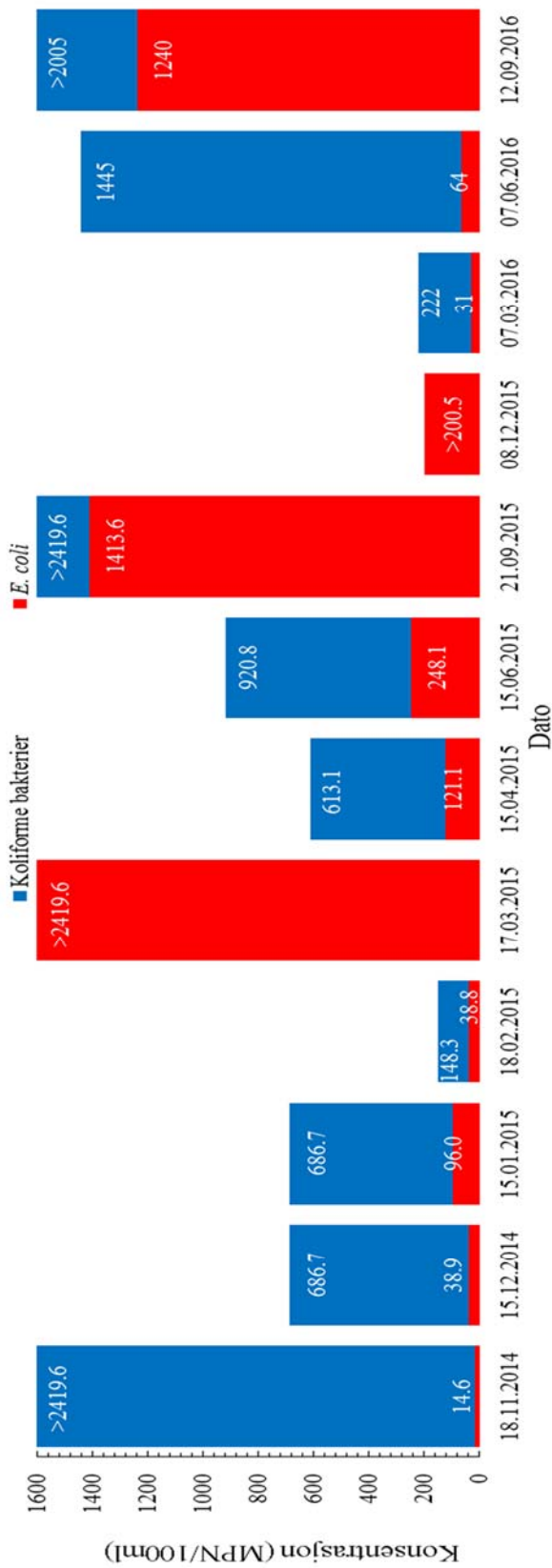


Figur 45. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i vannprøvene undersøkt for Oppegård kommune langs Greverudbekken.

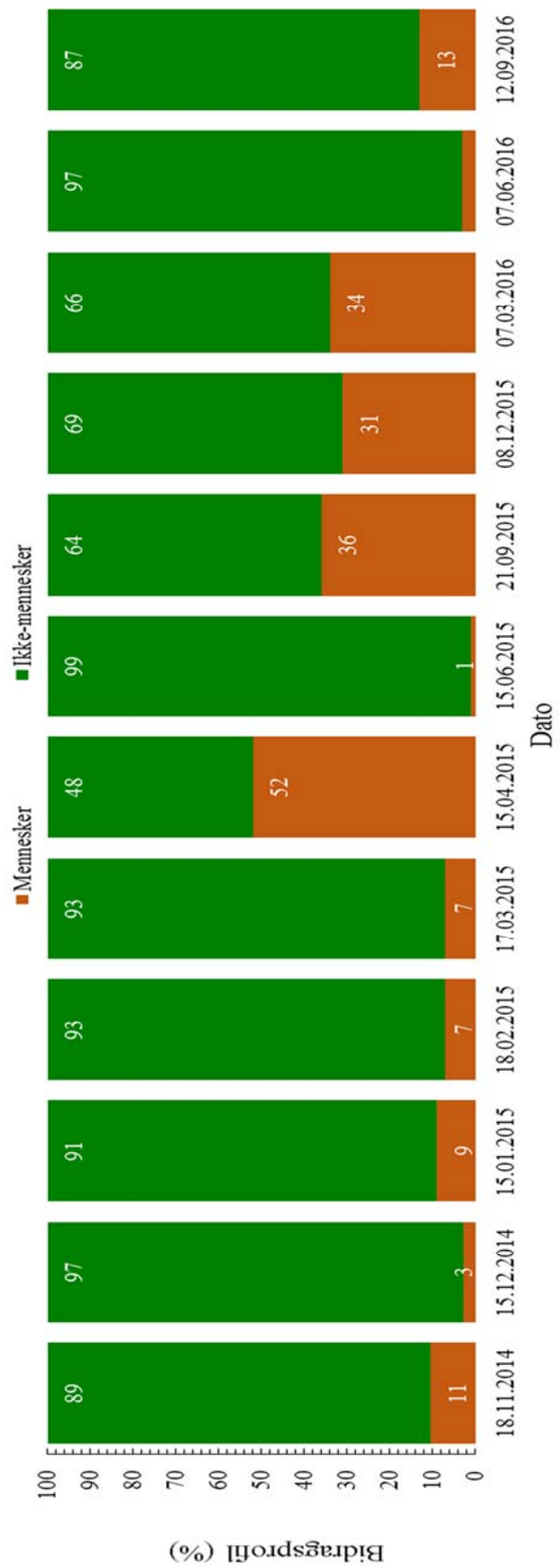


Figur 46. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i vannprøvene undersøkt for Oppegård kommune langs Greverudbekken.

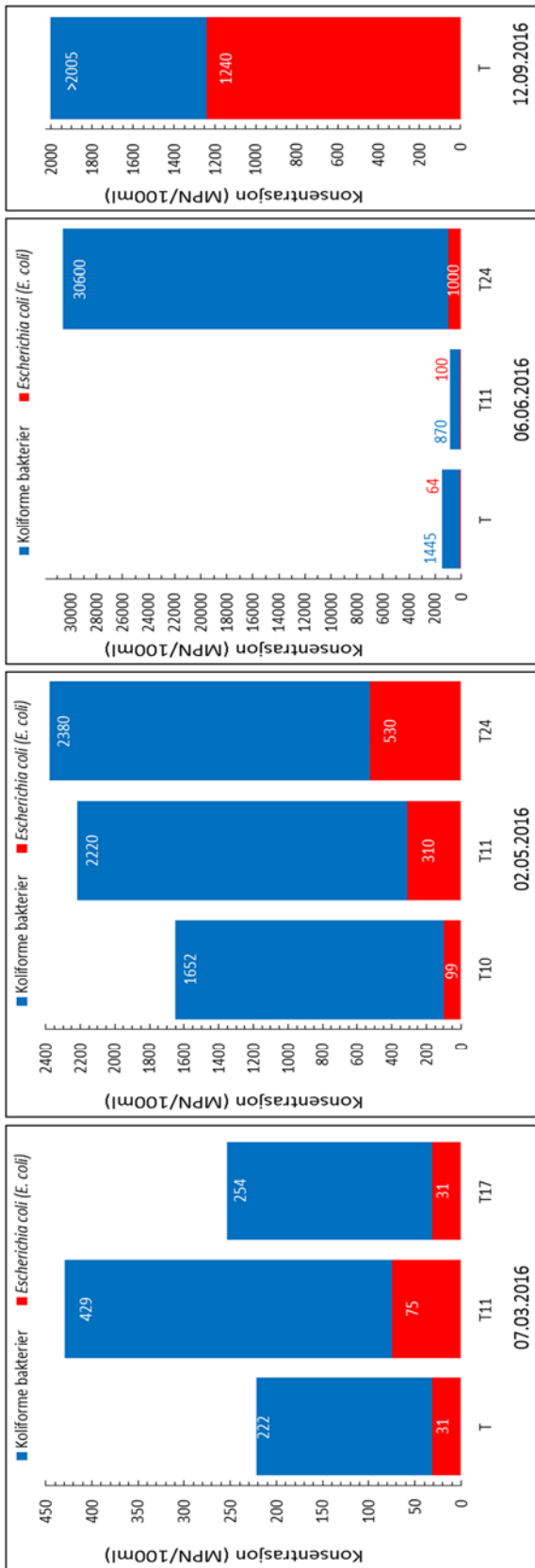




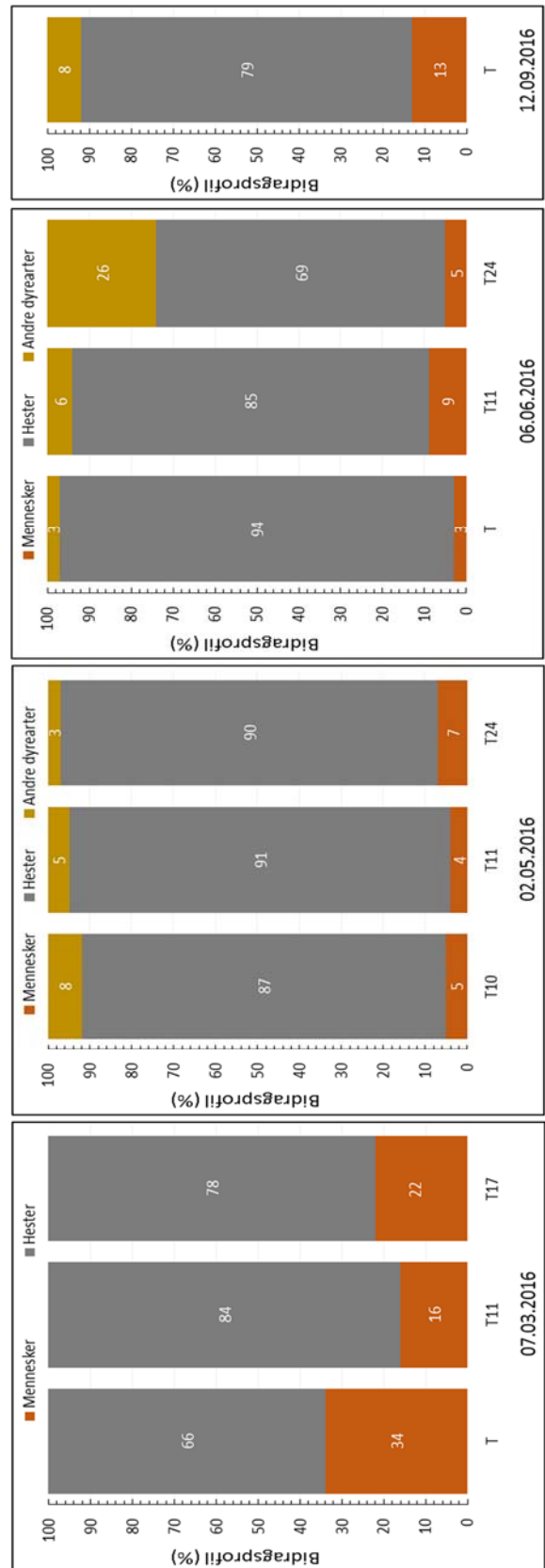
Figur 47. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i prøvene fra Tussebekken.



Figur 48. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Tussebekken.



Figur 49. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i vannprøvene undersøkt for Oppegård kommune langs Tussebekken.



Figur 50. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i vannprøvene undersøkt for Oppegård kommune langs Tussebekken.

### 5.4.3 Vurderinger

Testing av vannet fra fem tilløpsbekker (Kantorbekken, Greverudbekken, Tussebekken, Dalsbekken og Fåleslora) til Gjersjøen viser at vannet er forurenset av tarmbakterier fra mennesker og dyr. Den fekal vannforurensingen langs Kantorbekken, Greverudbekken og Tussebekken hovedsakelig kommer fra hester. Det har ikke blitt foretatt noen registreringer av hestehold i dette prosjektet, men kommunen bekrefter at hestegårder finnes i de aktuelle nedbørsfeltene. Det ble også her observert en generell trend som viser et høyere bidrag i fekal vannforurensing fra dyr i den varme perioden og et klart bidraget fra mennesker i den kalde perioden.

Funn av fekal forurensning som beskrives her utgjør ingen direkte trussel mot kvaliteten til drikkevannet fra Gjersjøen. Drikkevannet til Oppegårds og Ås befolkning sikres ved hygieniske barrierer i vannbehandlingsanlegget på Stangåsen før det leveres til mottakeren. For å sikre at råvannets kvalitet har høy standard er det ønskelig at nivået av fekal smitte er lavest mulig. Analyser presentert her viser at mikrobiell kildesporing kan bære et hjelpemiddel til å påvise fekal smitte.

## 6 Mikrobiell kildesporing i urbane vassdrag

Når fekal vannforurensning oppstår i urbane områder er det vanlig å anta at dette skyldes sporadiske lekkasjer fra kloakksystemet forårsaket av tekniske skader på avløpsnettet, overløp fra pumpestasjoner eller oversvømmelser etter ekstrem nedbør. Tidligere praksis for avløps- og overvannshåndtering var ofte basert på at overvannet (smeltevann og regnvann fra tak, veier og andre tette flater) ble samlet i samme rør som kloakken og ledet til kloakkrenseanleggene. Ved kraftig nedbør, og spesielt i områder med mye tette flater, blir slike felles avløpssystemer lett overbelastet.

Det er derfor ofte tatt for gitt at fekal forurensningen i byområder hovedsakelig kommer fra kloakksystemer og at dette kun stammer fra mennesker. Slike forklaringer bør revideres siden byene også er leveområder for et mangfold av dyrearter, ikke bare kjæledyr som hund og katt, men også vilt og fugler. Dyr som lever i byene kan også gi et betydelig bidrag i fekal vannforurensning. Etter som det også pågår en kraftig vekst i blå-grønne løsninger for håndtering av overvann vil dette kunne øke leveområder for dyr i byen. Gjenåpning av vassdrag lagt i rør er også en viktig strategi for å møte utfordringer med endret klima, oppnå bedre vannkvalitet og ønske om at vann i bekker og åpne vannspeil inngår som et attraktivt landskapselement i byene. Folk liker å ferdes langs vassdragene og det blir tilrettelagt for slik ferdsel.

Med flere blågrønne løsninger for vann i by (åpne bekker og fordrøyningsdammer) kommer også ønsket og spørsmålet fra beboere/utbyggere i området om hvorvidt det er trygt å bade i vannet. Åpent vann vil dessuten, uansett vannkvalitet, tiltrekke seg barn som leker i og langs vassdraget. For kommunen er det viktig å vite nivået av fekal forurensning i forhold til helseisiklo og hva som er potensielle kilder for å kunne iverksette tiltak. Rehabilitering av gamle avløpsledninger er svært kostbart og dersom det er andre kilder enn utett avløpsnett som bidrar vesentlig er dette viktig

NIBIO har samarbeidet med Oslo VAV om uttesting av mikrobiell kildesporing i Akerselva. Nedenfor omtales denne undersøkelsen og en undersøkelse på Hebekk i Ski i regi av EØS-prosjektet AQUARIUS, som også omfatter et utvalg kjemiske stoffer (PPCP-forbindelser) i avløpet.

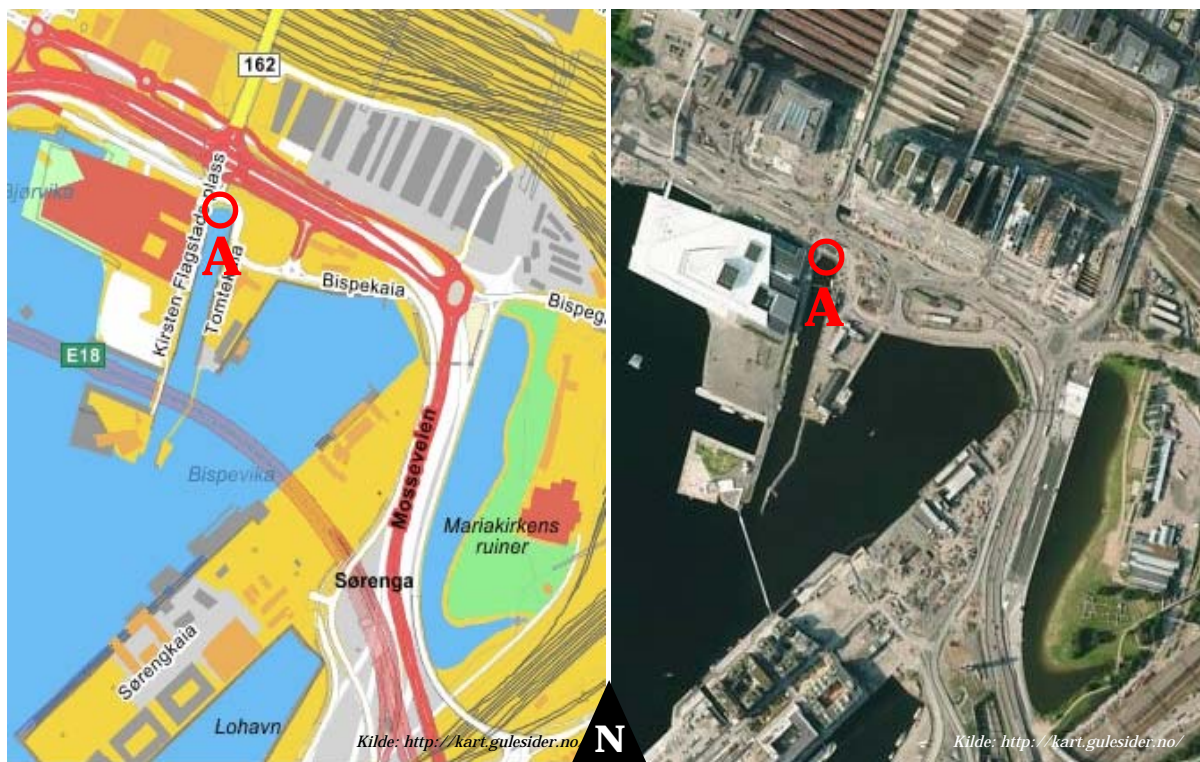
### 6.1 Akerselva i Oslo

Akerselva er hovedelva i Nordmarksvassdraget og forbinder Maridalsvannet med Oslofjorden. Elva er 9 km lang og hele vassdraget har et nedbørfelt på ca. 238 km<sup>2</sup>. Det meste av nedbørfeltet omfatter Nordmarkas skoger, men langs Akerselva er det svært høy grad av urbanisering. Urbant overvann ledes til elva. Mange fugler ferdes på og langs elva. Akerselva renner ut ved Paulsenkaia i Bjørvika. I den nederste delen (ca. siste 500 m) går vannet i en kulvert under Oslo S som leder ut mellom Operaen og det nye Munch museet. I dette området vil elva blandes med fjorden og ha brakkvann hvor blandingsforholdet er avhengig av vannføringen og tidevannet.

#### 6.1.1 Prøvetaking

Etter forslag fra Oslo VAV ble det tatt ut vannprøver fra Akerselva ved 7 anledninger i perioden desember 2014 til oktober 2015. Prøven ble tatt ut på vestsiden (nærmest Operaen) der hvor vannet kommer ut av kulverten (Figur 51). På grunn av prøvetakingslokaliteten ble prøvene behandlet som brakkvann og derfor fortynnet 10<sup>-1</sup> før hver analyse. Det ble testet ut om fekal vannforurensningen kommer fra mennesker og/eller ikke-mennesker med mikro- og molekylærbiologiske analyser.





Figur 51. Lokaliteten til prøvetaking fra Akerselva, utløp vest (A).

### 6.1.2 Resultater

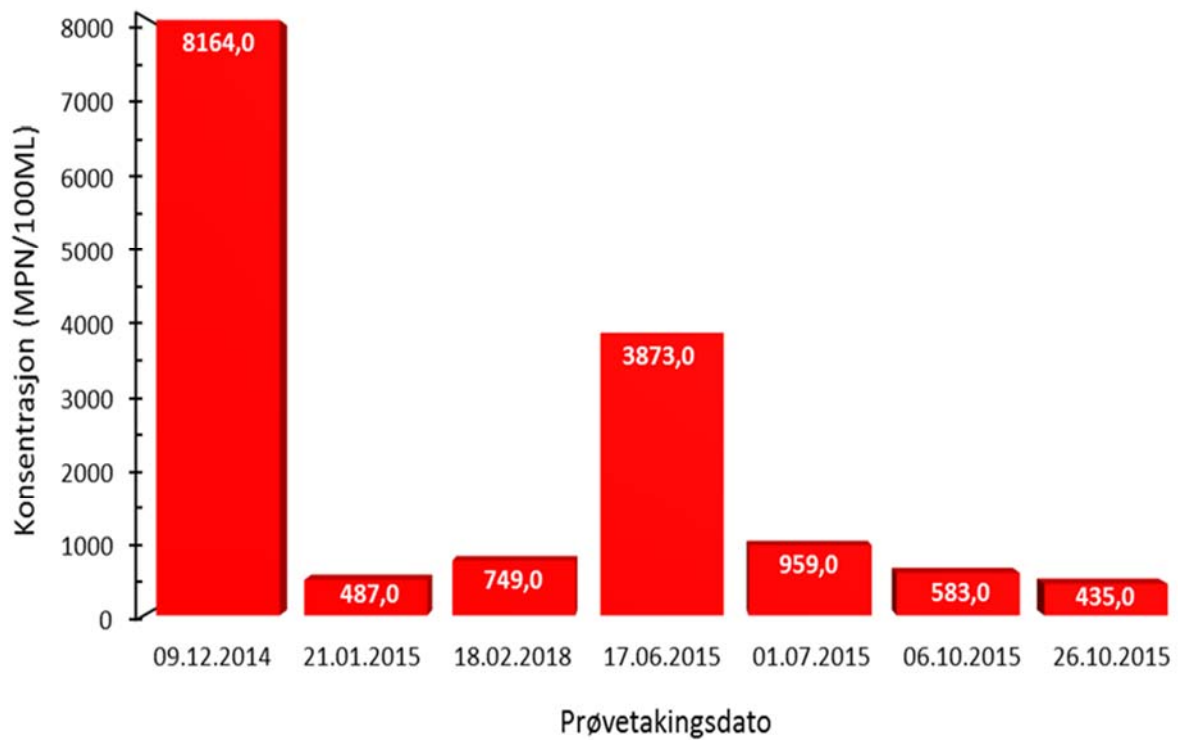
De detaljerte resultatene er presentert i NIBIO Rapport 2(27) (Paruch et al. 2016a). Her presenteres nivået av den fekale forurensningen i Akerselva baserte på *E. coli* konsentrasjoner, samt bidraget til fekal forurensning i forhold til opprinnelse fra mennesker eller dyr.

*E. coli* ble påvist i alle prøver. Konsentrasjoner av disse bakterier varierte fra 435 MPN/100ml til 8164 MPN/100ml (Figur 52). Den høyest *E. coli* konsentrasjonen ble funnet i desember 2014 når opprinnelsen til fekal forurensning i vannet ble identifisert fra mennesker (bidraget på 96%, Figur 53). Selv om bidrag fra mennesker var påvist i alle prøvene ble det likevel funnet at i de fleste tilfeller er det ikke mennesker som dominerer den fekale forurensningen. Det var dyr som dominerte i prøver tatt ut ved 6 anledninger med høyest bidrag på 97% i prøven fra juli 2015 (Figur 53).

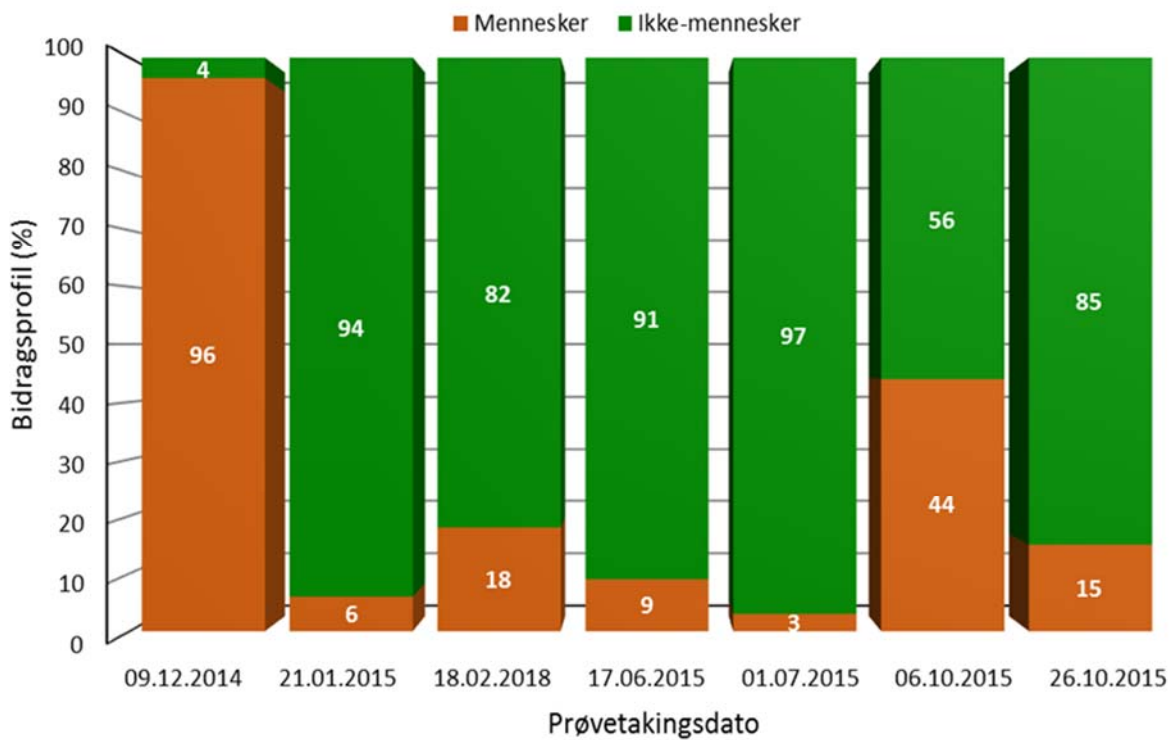
### 6.1.3 Vurderinger

De utførte analyser viser at nedre delen av Akerselva var svært forurenset i desember 2014. Dette sammen med bidragsprofilen av genetiske markører indikerer at det med stor sannsynlighet var fekal vannforurensning som stammer fra avløpsvann på dette tidspunktet. Derimot ble det ikke påvist at dominerende kilde til fekal forurensning var mennesker i de øvrige prøvene fra Akerselva. Likevel har resultatene fra undersøkelsen vist en generell trend med bidrag i fekal forurensningen fra mennesker i den kalde perioden og høyest bidraget fra dyr i varme perioden.

Videre undersøkelser bør vurdere hvilke forhold som eventuelt medfører at avløpsvann tilføres i elva. I denne undersøkelsen er det ikke foretatt vurderinger av klimatiske forhold (flom) og om eventuelle gravearbeider eller kjente lekkasjer i avløpsnett i nedbørfeltet samsvarer med høye verdier for *E.coli*. Videre foreslår NIBIO at det bør undersøkes hvilke dyregrupper som preger vannkvaliteten i urbane vassdrag som Akerselva når det etter hvert foreligger genetiske markører for urbant dyreliv som hunder, katter, fugler (ender, måker, gjess) og rotter.



Figur 52. Konsentrasjoner av *Escherichia coli* (*E. coli*) i brakkvannsprøvene fra Akerselva.



Figur 53. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i brakkvannsprøvene fra Akerselva.

## 6.2 Blåveisbekken i Ski

Blåveisbekken går fra torvmyra Hebekkmåsan og føres i hovedsak i rør gjennom Hebekkområdet på vestsiden av byen Ski. Bekken drenerer det meste av bebygde områder nord for Nordbyveien. Vassdraget er forurensset av lekkasjer på kloakknettet samt urbant overvann fra veier, hager og næringsområder. Kulverten med bekken leder ut i terrenget i nedkant av Hebekk skole. Her går bekken gjennom et parkmessig utformet damanlegg (rensepark) som ble prosjektert for å redusere forurensningene fra avrenningsvannet og kloakklekkasjer. Vannkvaliteten i Blåveisbekken er viktig siden den tilløper Dalsbekken og ender i drikkevannskilden Gjersjøen.

Det er svært vanlig at bekkene som renner gjennom områder med tett bebyggelse ledes i kulvert for å frigjøre arealer. Generelt er det store utfordringer å oppspore forurensningskilder i lukkede bekker og skille i hvilken grad forurensning kommer fra kloakken og/eller fra avrenning.

### 6.2.1 Prøvetaking

Vannprøver ble tatt ut ved to prøvetakingsrunder, først månedlig (november til april 2015) og deretter kvartalsvis (fra juni 2015). Prøvetakingslokaliteten ble satt opp før bekken renner gjennom renseparken, dvs. der hvor vannet kommer ut av kulverten (Figur 54).

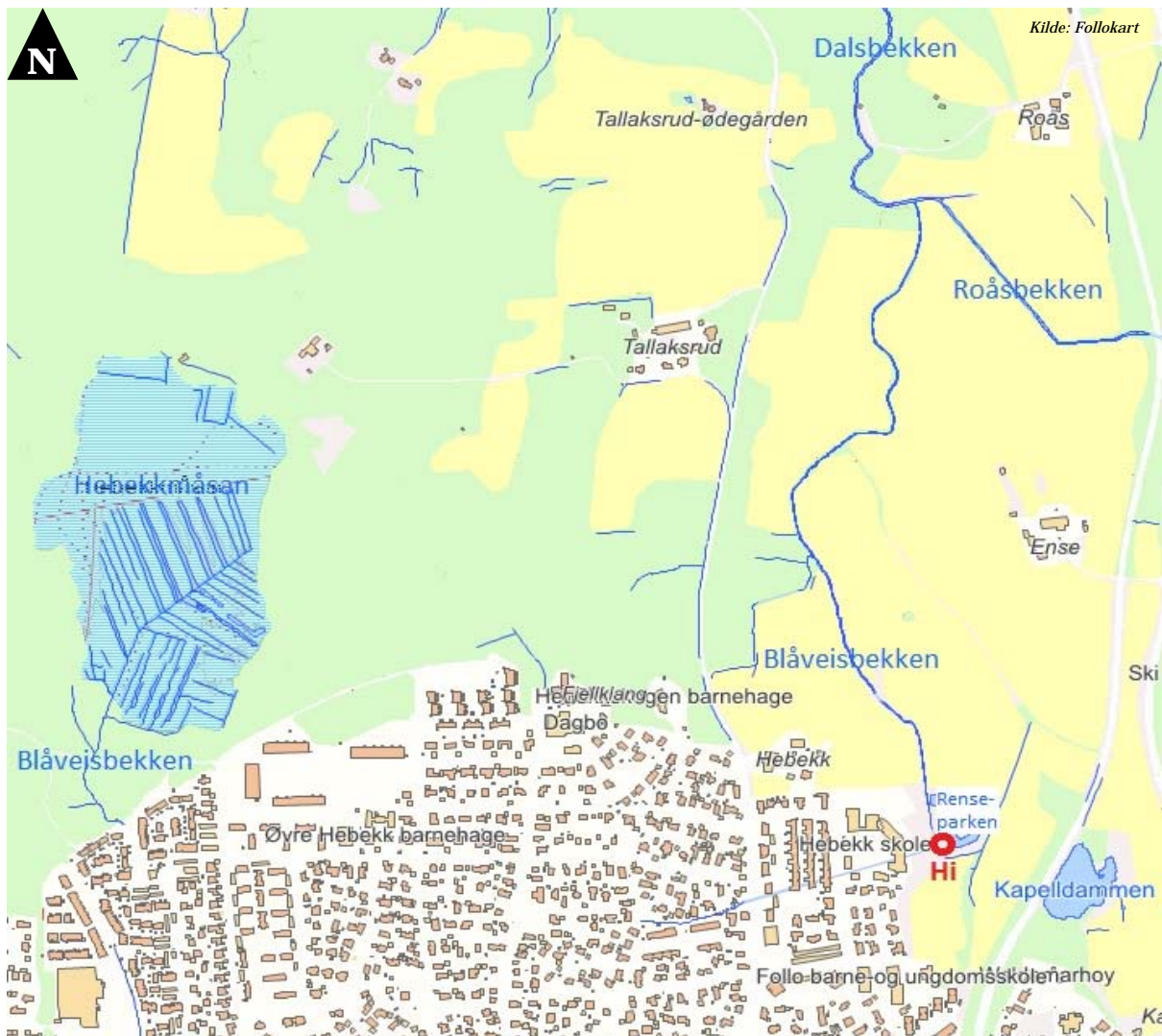
NIBIO har anvendt kildeprosporing for å undersøke om bidraget til fekal forurensning kommer fra mennesker eller dyr i Blåveisbekken. I tillegg ble alle vannprøver analysert for spesifikke kjemikalier som legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter.

### 6.2.2 Resultater

*E. coli* ble påvist i alle vannprøver tatt ut ved alle anledninger (Figur 55). I flest vannprøver var mennesker dominerende kilde til fekal vannforurensning (Figur 56). Likevel ble det også funnet animalsk fekal opprinnelse i alle vannprøver med klart dominerende bidrag ved 4 anledninger. I tillegg ble 21 forskjellige legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter påvist i løpet av prøvetakingsperioden (Tabell 9). De fleste av disse kjemikaliene (19 av 21) ble påvist i september 2016 da det ble påvist at mennesker dominerte fekale utslipp med 94% bidrag. (Figur 56).

I de kalde periodene var det dominerende bidraget til fekal vannforurensning fra mennesker. Det ble også observert en tendens som viste at når bidraget i forurensningen fra mennesker øker påvises det mer legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter (Figur 56 og Tabell 9). Funn av de samme kjemikalier var lav ved forurensningen som hadde animalsk fekal opprinnelse. Dette styrker kildeprosporingmetoden og spesielt den delen som angir bidrag fra ulike kilder i prosent.

Det blir også undersøkt hvilken effekt renseparken har på reduksjon av fekal forurensning. Perioder med lang oppholdstid i dammer og våtmark forventes å gi en og renseeffekt. Bidrag fra fugler som oppholder seg i dammene forventes å bidra til økt nivå av fekal forurensning. Hva nettoeffekten av dette tiltaket og liknende renseanlegg blir med hensyn på å redusere fekal forurensning vil bli publisert av NIBIO på et senere tidspunkt (2017/2018).

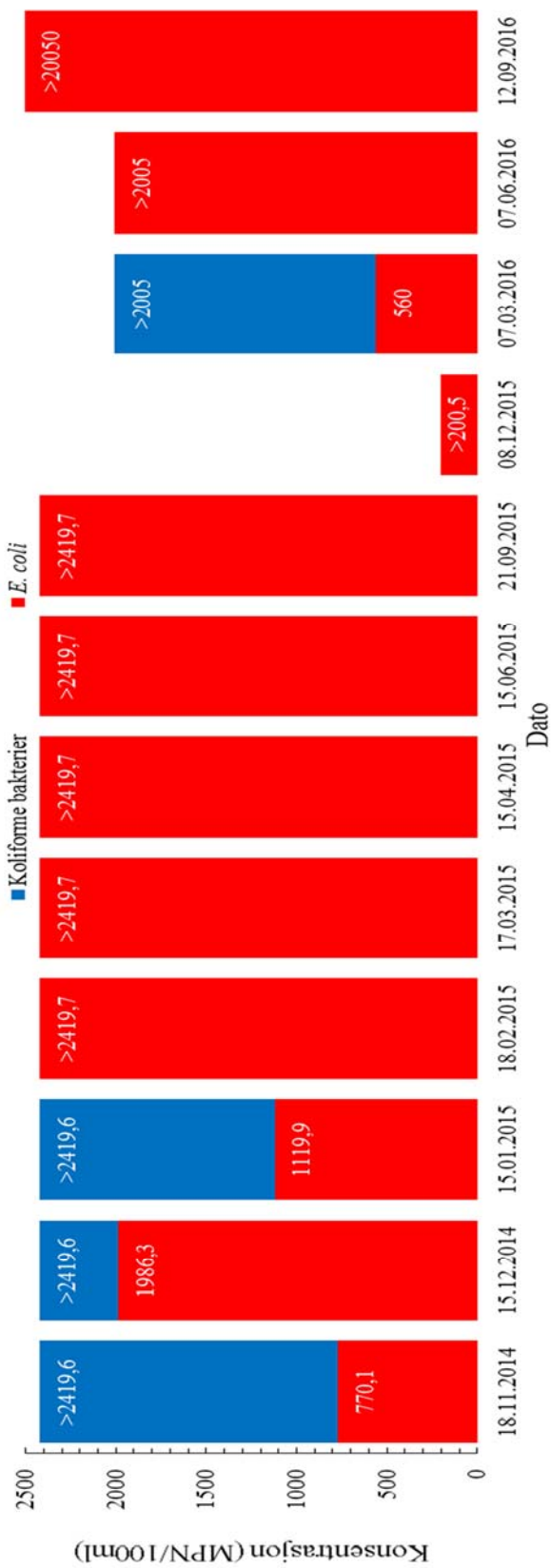


Figur 54. Lokaliteten til prøvetaking fra Blåveisbekken, utløp kulvert ved Hebekk skole før innløpet til renseparken (Hi).

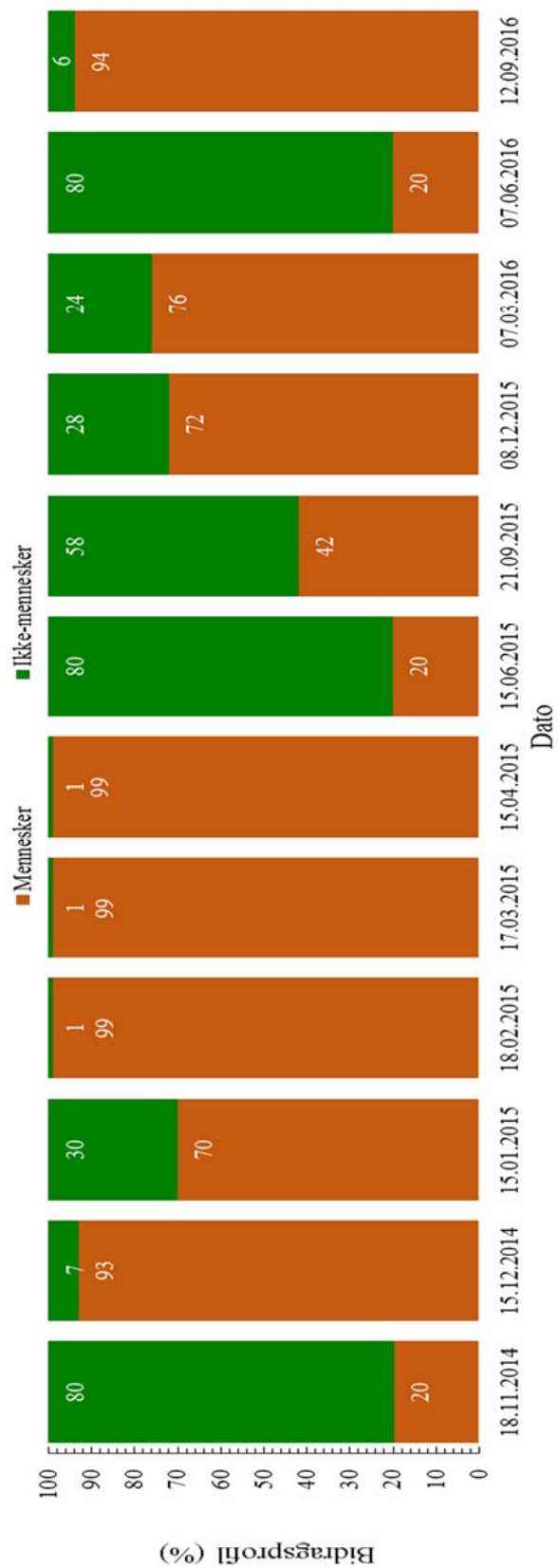
### 6.2.3 Vurderinger

Selv om Blåveisbekken renner gjennom bebygde områder og den er i stort sett lukket, mottar bekken fekal forurensing av animalsk opprinnelse. Likevel viser våre funn at i de fleste tilfeller, særlig i de kalde periodene, kommet den dominerende kilde av fekal forurensing fra mennesker. Dette i sammenheng med et høyt antall av påviste kjemikalier (dvs. legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter) viser at det var stor sannsynligheten for fekal vannforurensing fra lekkasjene/utslippene av avløpsvannet til Blåveisbekken. Det ble også observert at jo høyre bidrag fra mennesker jo mer kjemikalier påvises i bekken (enten antall stoffgrupper eller konsentrasjoner).





Figur 55. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i vannprøvene fra Blåveisbekken.



Figur 56. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning i Blåveisbekken.

Tabell 9. Konsentrasjoner av legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter (ng/l) påvist i vannprøver tatt ut kvartalsvis fra Blåveisbekken. LOQ – limit of quantification.

Kjemikalier	LOQ	18.11. 2014	18.02. 2015	15.06. 2015	21.09. 2015	08.12. 2015	07.03. 2016	07.06. 2016	12.09. 2016
Ibuprofen	20	170	130		93	35	140	28	290
Gabapentin	10	10	71	67	31	31	42	58	920
Paracetamol	10	90	520	88	150	120	370	230	7500
Koffein	100	170	680	580	500	460	1000	1200	2800
Sakkarin	50		110	62	84	52	83	170	2000
Naproxen	50		160					51	550
Carboxy-ibuprofen	20				26	80	130	100	1400
2-hydroxy-ibuprofen	30					31	54	59	630
4-hydroxy-diklofenak	20						25		
Iohexol	50						570		
Bisfenol A	50							1200	51
Karbamazepin	10								15
Diklofenak	20								29
Atenolol	10								58
Ketoprofen	10								17
Metoprolol	10								74
Hydroklortiazid	50								68
Tramadol	10								47
O-desmethyl-naproxen	20								26
Venlafaksin	10								12
Iohexol	50								1300

## 7 Oppsummering og diskusjon av funn

*E. coli* er de mest benyttede indikatorbakterier på fekal forurensning siden disse bakteriene er det eneste medlemmet av den store gruppen koliforme bakterier som finnes utelukkende i fekalier fra varmblodige dyr og mennesker, og ikke formerer seg nevneverdig i miljøet. *E. coli* er derfor nærmest en garanti for fekal forurensning. Selv om høye *E. coli* konsentrasjoner ofte blir funnet ved høye konsentrasjoner av koliforme bakterier, er en slik tendens ikke en regel. Høye nivå av koliforme bakterier er ingen garanti for høye *E. coli* konsentrasjoner. Det ble også observert lave *E. coli* konsentrasjoner sammen med de høye konsentrasjoner (ofte over målingsgrensen) av koliforme bakterier. Dette er velkjent siden koliforme bakterier også har ikke fekal opprinnelse og finnes frittlevende i vann, jord og planter, og derfor omtales som «miljøbakterier». Det er dermed et viktig prinsipp for identifisering av fekal vannforurensning at det ikke er koliforme bakterier som bør være i hovedfokus. Informasjon om koliforme bakterier gir en generell bakgrunn, der opplysninger om *E. coli* benyttes som reell fekal indikatorbakterie.

Spredning av fekal forurensning i miljøet skjer hovedsakelig via en rekke sektorer, bl.a. næringsliv, bebyggelse og landbruk. Fekal forurensning har to viktige opprinnelser, mennesker (human fekal opprinnelse) og/eller ikke-mennesker (animalsk fekal opprinnelse, f.eks. fra husdyr, ville pattedyr eller fugler). Fra disse kan et høyt antall av *E. coli* forurense vannkilder (drikkevann, vanning og bading), jord (under jordbruksavrenning, vanning og gjødsling med organisk materiale) og vegetasjon (under vanning og gjødsling med organisk materiale). *E. coli* kan overleve lenge i ulike miljø og bli oppdaget flere måneder og i noen tilfeller flere år senere. De fleste *E. coli*-stammer er ufarlige, men noen av stammene er knyttet til sykdommer hos mennesker og dyr.

Ved sammenligning av resultatene fra både mikro- og molekylærbiologiske kildesporing analyser påvises en trend: i den varmeste årsperioden kommer den dominerende kilde til fekal forurensning fra dyr. Generelt er det flest dyr (villdyr, f. eks. fugletrekk og husdyr, f.eks. beitedyr) i naturen i denne perioden av året. Med animalsk fekal opprinnelse kan en trussel om sykdomsfremkallende *E. coli* (særlig de humanpatogene variantene av STEC, f.eks. EHEC serotype O157:H7) utgjøre en helserisiko. Flere vill- og husdyrarter (f. eks. elg, hjort, måke, due, kyr, geit, sau, hest, gris, kanin, kylling, kalkun, katt og hund) kan være bærere av STEC. Drøvtyggere er hovedreservoar for EHEC-bakterier og selv om disse bakteriene ikke vanligvis forårsaker sykdom hos dyrene, anses både stor- og småfe som viktige kilder for smitte til mennesker (Farrokh et al. 2013, WHO 2017).

I NIBIO sine undersøkelser av jordbrukslandskap med dyrket mark og utslipp fra avløpsanlegg og husdyr på beite, ble STEC-bakterier (dvs. topp 7 serogrupper O26, O45, O103, O111, O121, O145 og O157 som er vanligvis assosiert med sykdom hos mennesker) påvist i vannet. Disse patogene viste høy korrelasjon med genetisk markør for drøvtyggende husdyr ( $R^2= 0.928$ , Paruch et al. 2015). Til tross for de sykdomsfremkallende varianter av *E. coli* er det viktig å være klar over at forekomsten av *E. coli* bakterier i miljøet ikke nødvendigvis medfører en trussel om sykdom da de fleste av disse bakteriene er harmløse og utgjør en viktig og nyttig del av tarmfloraen.

Funn beskrevet i denne rapporten viser at i den kalde årstiden, som i flere steder i Norge også inkluderer forsommer og sein høst, er det et klart bidrag i forurensning fra mennesker. I denne perioden er det generelt mindre dyr og færre villdyrarter (f. eks. fugletrekk) i naturen. Samtidig i kuldeperioder med frysing og tining, kan det oppstå sprekker i avløpsrør samt tilsig av avløpsvann, eller lekkasjer fra avløpsledninger og det kan hovedsakelig skyldes fekal forurensning.

At dette finner sted, har resultater av NIBIOs undersøkelser klart demonstrert (Paruch et al. 2016). Testene som kombinerer mikrobiell kildesporing med analyser av spesifikke kjemikalier viser dette. Kjemikaliene omfatter legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter, dvs. medisinerester og andre kjemikalier til hjemmebruk som kan vanligvis spores i husholdningsavløp.

Eksempler fra undersøkelser i både jordbrukslandskapet, nedbørområder til drikkevannskilder og urbane vassdrag viste at i de tilfeller når human fekal opprinnelsen var dominerende i vannet ble også flere av disse spesifikke kjemikaliene påvist, enten antallet eller som konsentrasjoner. En sammenheng mellom definert human eller animalsk fekal opprinnelsen og påviste kjemikalier i vannet ble også påvist statistisk. Resultatene av denne vurderingen indikerte en forholdsvis sterk korrelasjon mellom forekomsten av kjemikalier og bidraget fra mennesker til fekal vannforurensning (Paruch et al. 2016). De sterkeste positive korrelasjoner (med høy koeffisient på 0,983) ble eksponert for konsentrasjoner av gabapentin (et legemiddel mot bl.a. epilepsi og smerte) ved human fekal opprinnelse. I motsetning var det negative korrelasjoner ved animalsk fekal opprinnelse. Innholdet (antallet eller konsentrasjoner) av disse kjemikalier varierte sammen med bidraget fra mennesker i fekal vannforurensning. Når bidraget i forurensingen fra mennesker øker påvises også høyere innholdet av legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter.

En annen interessant observasjon var at disse kjemikaliene ikke korrelerte med høye *E. coli* konsentrasjoner. Slike funn er spesielt viktige siden de demonstrerer at konsentrasjoner av *E. coli* (som varierer mye ved forskjellige anledninger i løpet av undersøkte perioder) hovedsakelig kan benyttes til påvisning av fekal vannforurensning ved ukjent opprinnelse. Det er DNA-markører som primært kan anvendes til å definere opprinnelsen av forurensingen og videre til å spore bidraget fra mennesker, samt sannsynliggjøre forurensning av legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter i vannet.

Trenden som ble observert gjennom NIBIOs undersøkelser i de siste årene, dvs. et høyere bidrag i fekal vannforurensning fra dyr i den varme årstiden og et større bidrag fra mennesker i den kalde perioden, stemmer bra med tidligere rapportert/publisert data (Blankenberg et al. 2014, 2015, Paruch et al. 2014, Paruch et al. 2015, Paruch et al. 2016a, b, c).

Det ble også funnet en sammenheng med fekal forurensning og næringsstofftilførsler til vassdragene, særlig i jordbruksdominerte nedbørfelt hvor de to største tilførselskildene er jordbruk og avløp (Blankenberg et al. 2015, 2016). Det var en stor variasjon i næringsstofftap fra jordbruksområder i løpet av året, og i perioder med liten eller ingen avrenning fra jordbruksarealer kan bidraget fra spredte avløpsanlegg (altså fekal forurensning fra mennesker) utgjøre mye av næringstilførselen til vassdrag. Undersøkelsene viste at fosfortilførsler fra spredt avløp kan utgjøre så mye som nær 100 % om vinteren når det er frost, samt at bidraget fra spredt avløp også kan være betydelig i tørre perioder om våren og forsommeren (Blankenberg et al. 2015). Resultatene viste at bidraget fra spredt avløp (fekal forurensning fra mennesker) var størst om forsommeren i forhold til å øke konsentrasjonsnivå i vannet, mens avrenning fra husdyr bidrar mest om sommeren (Blankenberg et al. 2015, 2016, Paruch et al. 2015).

Naturligvis finnes det i denne sesongmessige trenden unntak som viser at vannforurensning med human og animalsk fekal opprinnelse varierer over alle perioder av året slik at det også kunne være dominerende bidrag fra mennesker i den varme årstiden og/eller klart bidrag fra dyr i den kalde årstiden, selv om dette kun har blitt påvist i urbane vassdrag.

Vi mener at våre funn gir et godt grunnlag for å endre oppfatning om at fekal vannforurensning kun kommer fra avløpsvann på avveie og videre at vi ikke må ta for gitt at det som kommer fra kloakksystemet kun inneholder fekal forurensning fra mennesker. Det blir stadig bedre dokumentert at mange dyrearter (særlig hunder, katter, rotter, måker, ender, gjess og duer) bidrar i fekal vannforurensning i urbane nedslagsfelt (Gerardi 2006, Guenther et al. 2013, Scheffe 2007, Schueler 2000) og at lange kloakkledninger kan være oaser for kloakkrotter som hele året trives godt og formerer seg raskt i avløpssystemet (Adressa 2015, Bergens Tidende 2015, Fettvett 2016, Moss Avis 2015, VAnytt 2013). Med økt utbredelse av blå-grønne løsninger for håndtering av urbant overvann der folk kan komme i kontakt med forurenset vann er det viktig å klarlegge nivå av fekal forurensning, hva som er kilder og hvordan tiltakene påvirker smitterisiko.

Våre erfaringer så langt viser at selv med et lite utvalg markører av viktige dyregrupper kan nytteverdien være høy. Spesielt vil vi påpeke at den kraftige økningen i hestehold i landbruksområder nær byene i perioder av året kan prege vannkvaliteten i nærliggende bekker form av fekal forurensning. Det er grunn til å anta at også andre vannforurensninger som næringsstoff og organisk materiale kan komme fra hestehold. Bedre oppsamling og disponering av hestegjødsel er relevante tiltak for å bedre vannkvaliteten fra denne type virksomhet, foruten å vurdere hvilke arealer som er egnet.

Når nye markører utvikles basert på innsamlet norsk materiale av fekalier fra ulike dyregrupper kan det undersøkes mer i detalj hvilke dyr som preger vannkvaliteten i ulike typer vassdrag. Det er ressurskrevende å opparbeide gode markører. Selve analysene er også arbeidskrevende og derfor kostbare. Kostnader til analyser med mikrobiell kildeopsporing må derfor vurderes mot nytteverdien.

Selv om det er ønskelig med flere genetiske markører for relevante dyregrupper mener vi metoder som omfatter mikrobielle kildeopspøringsanalyser allerede er kraftfulle verktøy og bør i større grad inngå i overvåkingsrutiner av vannkvaliteten til viktige vannforekomster. Funn, om det så er kun å skille mellom fekale kilder fra mennesker og dyr, kan gi stor nytteverdi i prioritering av tiltak som bedrer vannkvaliteten.



## 8 Konklusjoner

NIBIO har introdusert mikrobiell kildesporing for å undersøke opprinnelsen av fekal vannforurensning i forskjellige typer vassdrag som omfatter jordbruksarealer, nedbørsfelt til drikkevannskilder og urbane område. Standard tester for påvisning av indikatorbakterien *E.coli* benyttes for påvisning av fekal forurensning i første trinn. Videre benyttes molekylærbiologiske DNA tester av vertsspesifikke genetiske markører av stammer fra bakteriegruppen *Bacteroidales* 16S rRNA for sporing av fekale forurensningskilder. Ved hjelp av bioinformatikk utformes en bidragsprofil for hvilke dyregrupper som bidrar prosentvis i vannprøven.

I prosjektene som beskrives kan kildesporingen foregår på ulike nivå etter hva som er formålet og hvilke ressurser som er tilgjengelig. Det kan skilles mellom bidrag fra mennesker og ikke-mennesker (varmblodige dyr). Ofte gir dette tilstrekkelig informasjon, for eksempel i forhold til å vurdere bidrag fra husholdningsavløp. Flere av prosjektene går videre og beskriver bidrag fra spesifikke arter som mistenkes å bidra med fekal forurensning. Per dato er følgende genetiske markører tilgjengelige i NIBIO sin metodikk basert på norsk testmateriale:

- Mennesker
- Drøvtyggere (samlegruppe for f.eks. kyr, sau og geit)
- Hest
- Gris (fra høsten 2016, ikke testet i rapporten)
- Samlegruppe for øvrige varmblodige dyr (som f.eks. hund, katt, fugler, ville dyr, osv.)

Erfaringer med metoden fra perioden 2013 – 2016 er oppsummert i rapporten. En del av undersøkelsene ble også kombinert med påvisning av patogene bakterier og testing av spesifikke kjemikalier som legemidler og personlige pleieprodukter med deres metabolitter (PPCP-forbindelser). Det var en klar sammenheng mellom analyser som gir påvisning av fekalier fra mennesker og funn av slike PPCP-forbindelser som ofte påvises i husholdningsavløp, noe som styrker metoden.

En generell trend viser at i den varme årstiden kommer den dominerende kilde til fekal vannforurensning fra varmblodige dyrearter, mens i kalde perioder (inkludert forsommer og sein høst) er det et klart bidrag i forurensningen fra mennesker som kan være sterk positiv korrelert med innholdet av legemidler og personlige pleieprodukter (PPCPs) med deres metabolitter i vannet.

Funn av animalsk fekal opprinnelsen kan medføre en trussel om sykdomsfremkallende bakterier som utgjør en helseisiko. Siden humanpatogene *E. coli*-bakterier viste høy korrelasjon med DNA-markør for drøvtyggende husdyr, kan det være viktig å teste ut om påvisning av ulike serogrupper hos patogene *E. coli* finner sted dersom animalsk fekal opprinnelse blir identifisert og særlig med et klart dominert bidrag i fekal forurensning fra drøvtyggere.

NIBIO anbefaler at det utvikles flere vertsspesifikke genetiske markører for bedre presisering av utvalgte dyrearter som er typisk for ulike steder og/eller hendelser (f. eks. dyr på beite eller fugletrekk) og som i tillegg kan dominere over andre dyrene (f.eks. husdyr i jordbruksområder, villdyr i parkområder, duer og rotter i urbane vassdrag, måker i kystområder, osv.).

Våre erfaringer viser at selv med et lite utvalg markører av viktige dyregrupper kan nytteverdien være høy. Spesielt vil vi påpeke at den kraftige økningen i hestehold i landbruksområder nær byene preger vannkvaliteten i nærliggende bekker form av fekal forurensning. Bedre oppsamling og disponering av hestegjødsel er relevante tiltak for å bedre vannkvaliteten fra denne type virksomhet foruten å vurdere hvilke arealer som er egnet for hestehold nær sårbare vassdrag.

NIBIOs erfaringer med mikrobiell kildesporing av fekal vannforurensning gir grunnlag for å konkludere med at metodikken er egnet til å bli implementert i standard tester i overvåkingen av - og tiltak mot

fekal vannforurensning. For å finne de riktige tiltakene er det vesentlig å finne ut hvor forurensingen egentlig kommer fra og hva som er den dominerende forurensningskilden. De funn som er beskrevet i rapporten kan benyttes til å prioritere tiltak i nedbørsfeltene i forhold til å begrense fekal smitte til vassdragene i norske kommuner.

Mikrobiell kildeopsporing kan anvendes i FoU-prosjekter og forskjellige overvåkningsprogrammer for forurensinger som truer helse og miljø. Både vann til konsum, bading og jordbruksvanning kan spores for fekale forurensningskilder. Ulike vertsspesifikke genetiske markører kan bli implementert i standard tester som kan brukes for å iverksette tiltak for begrenning av utslipp av fekal forurensing. Dette kan bidra til å beskytte mennesker og miljø fra potensielt sykdoms-fremkallende organismer og andre helsefare stoffer som finnes i fekalier fra mennesker og dyr.

# Litteraturreferanse

- Adressa. 2015. Ribbefett i vasken gir rottefest i rørene. Hentet 27. januar 2016 fra <http://www.adressa.no/nyheter/trondheim/2015/12/20/Ribbefett-i-vasken-gir-rottefest-i-r%C3%B8rene-11943062.ece>
- Ahmed W., Sritharan T., Palmer A., Sidhu J.P., Toze S. 2013. Evaluation of bovine feces-associated microbial source tracking markers and their correlations with fecal indicators and zoonotic pathogens in a Brisbane, Australia, reservoir. *Appl. Environ. Microbiol.* 79(8), 2682-2691.
- Bambic D.G., Kildare-Hann B.J., Rajal V.B., Sturm B.S., Minton C.B., Schriewer A., Wuertz S. 2015. Spatial and hydrologic variation of Bacteroidales, adenovirus and enterovirus in a semi-arid wastewater effluent-impacted watershed. *Water Res.* 15 (75), 83-94.
- Bergen kommune. 2016. Hentet 17. februar 2016 fra <https://www.bergen.kommune.no/omkommunen/avdelinger/vannog-avlopsetaten>
- Bergens Tidende. 2015. Rottejegere i Bergen har tatt nesten 2000 flere dyr. Hentet 27. januar 2016 fra <http://www.bt.no/nyheter/lokalt/Rottejegere-i-Bergen-har-tatt-nesten-2000-flere-dyr-3464679.html>
- Bernhard A.E., Field K.G. 2000. Identification of nonpoint sources of fecal pollution in coastal waters by using host-specific 16S ribosomal DNA genetic markers from fecal anaerobes. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1587-1594.
- Blankenberg A-G., Bechmann M., Paruch L., Paruch A. 2014. Spredt avløp i jordbrukslandskapet. *Bioforsk TEMA* 9(12). [http://www.bioforsk.no/ikbViewer/Content/109416/TEMA\\_vol9\\_nr12\\_2014\\_Spredt\\_avlop.pdf](http://www.bioforsk.no/ikbViewer/Content/109416/TEMA_vol9_nr12_2014_Spredt_avlop.pdf)
- Blankenberg A-G., Paruch A.M., Bechmann M., Paruch L. 2015. Betydning av spredt avløp i jordbrukslandskapet (Rural decentralized wastewater treatment systems in agricultural catchments). *Vann* 50(1): 8-17.
- Blankenberg A-G.B., Paruch A.M., Paruch L., Deelstra J., Haarstad K. 2016. Nutrients tracking and removal in constructed wetlands treating catchment runoff in Norway. In: Vymazal J. (ed) *Natural and Constructed Wetlands*. Springer International Publishing Switzerland, pp. 23-40. DOI 10.1007/978-3-319-38927-1\_2.
- Böhm M.E., Huptas C., Krey V.M., Scherer S. 2015. Massive horizontal gene transfer, strictly vertical inheritance and ancient duplications differentially shape the evolution of *Bacillus cereus* enterotoxin operons hbl, cytK and nhe. *BMC Evol. Biol.* 10(15), 246.
- Bolton D.J., Duffy G., O'Neil C.J., Baylis C.L., Tozzoli R., Morabito S., Wasteson Y., Lofdahl S. 2009. Epidemiology and Transmission of Pathogenic *Escherichia coli*. Ashtown Food Research Centre, Teagasc, Dublin, Ireland.
- Carson, C.A., Shear, B.L., Ellersieck, M.R., Schnell, J.D. 2003. Comparison of ribotyping and repetitive extragenic palindromic-PCR for identification of fecal *Escherichia coli* from humans and animals. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 1836-1839.
- Dick L.K., Bernhard A.E., Brodeur T.J., Santo Domingo J.W., Simpson J.M., Walters S.P., Field K.G. 2005. Host distributions of uncultivated fecal *Bacteroidales* bacteria reveal genetic markers for fecal source identification. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 3184-3191.
- Duran M, Yurtsever D, Dunaev T. 2009. Choice of indicator organism and library size considerations for phenotypic microbial source tracking by FAME profiling. *Water Sci Technol.*, 60 (10), 2659-2668.

- Farnleitner A.H., Ryzinska-Paier G., Reischer G.H., Burtscher M.M., Knetsch S., Kirschner A.K.T., Dirnböck T., Kuschnig G., Mach L.R., Sommer R. 2010. *Escherichia coli* and enterococci are sensitive and reliable indicators for human, livestock and wildlife faecal pollution in alpine mountainous water resources. *J. Appl. Microbiol.* 109: 1599–1608.
- Farrokh C., Jordan K., Auvray F., Glass K., Oppegaard H., Raynaud S., Thevenot D., Condron R., De Reu K., Govaris A., Heggum K., Heyndrickx M., Hummerjohann J., Lindsay D., Miszczycha S., Moussiégt S., Verstraete K., Cerf O. 2013. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *Int. J. Food Microbiol.* 162(2):190-212.
- Fettvett. 2016. Rotterace i avløpsnett. Hentet 27. januar 2016 fra <http://fettvett.no/rotterace.html>
- Field K.G., Samadpour M. 2007. Fecal source tracking, the indicator paradigm, and managing water quality. *Water Res.* 41: 3517–3538.
- Foley S.L., Lynne A.M., Nayak R. 2009. Molecular typing methodologies for microbial source tracking and epidemiological investigations of Gram-negative bacterial foodborne pathogens. *Infect. Genet. Evol.* 9: 430-440.
- Gerardi M.H. 2006. Wastewater bacteria. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA: 272pp.
- Guenther S., Wuttke J., Bethe A., Vojtěch J., Schaufler K., Semmler T., Ulrich R.G., Wieler L.H., Ewers C. 2013. Is fecal carriage of extended-spectrum-β-lactamase-producing *Escherichia coli* in urban rats a risk for public health? *Antimicrob. Agents Chemother.* 57(5), 2424-2425.
- Hagedorn C., Harwood V.J., Blanch A. 2011. Microbial Source Tracking: Methods, Applications, and Case Studies. Springer, New York.
- Harrault L., Jarde E., Jeanneau L., Petitjean P. 2014. Development of the analysis of fecal stanols in the oyster *Crassostrea gigas* and identification of fecal contamination in shellfish harvesting areas. *Lipids.* 49(6), 597-607.
- Hartel P.G., Rodgers K., Moody G.L., Hemmings S.N., Fisher J.A., McDonald J.L. 2008. Combining targeted sampling and fluorometry to identify human fecal contamination in a freshwater creek. *J Water Health* 6(1), 105-116.
- Harwood V.J., Staley C., Badgley B.D., Borges K., Korajkic A. 2014. Microbial source tracking markers for detection of fecal contamination in environmental waters: relationships between pathogens and human health outcomes. *FEMS Microbiol Rev* 38: 1–40.
- Hold G., Pryde S.E., Russell V.J., Furrie E., Flint H.J. 2002. Assessment of microbial diversity in human colonic samples by 16S rDNA sequence analysis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 39: 33–39.
- Khatib, L.A., Tsai, Y.L., Olson, B.H. 2003. A biomarker for the identification of swine fecal pollution in water using the STII toxin gene from enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (2), 231–238.
- Kobayashi A., Sano D., Okabe S. 2013. Effects of temperature and predator on the persistence of host-specific *Bacteroides-Prevotella* genetic markers in water. *Water Sci. Technol.* 67(4), 838-845.
- Lamendella R., Santo Domingo J.W., Yannarell A.C., Ghosh S., Di Giovanni G., Mackie R.I., Oerther D.B. 2009. Evaluation of swine-specific PCR assays used for fecal source tracking and analysis of molecular diversity of swine-specific "*Bacteroidales*" populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 5787-5796.
- Layton A., McKay L., Williams D., Garrett V., Gentry R., Sayler G. 2006. Development of *Bacteroides* 16S rRNA gene TaqMan-based real-time PCR assays for estimation of total, human, and bovine fecal pollution in water. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 4214–4224.

- Mieszkin S., Caprais M.P., Le Mennec C., Le Goff M., Edge T.A., Gourmelon M. 2013. Identification of the origin of faecal contamination in estuarine oysters using Bacteroidales and F-specific RNA bacteriophage markers. *J. Appl. Microbiol.* 115(3), 897-907.
- Moss Avis. 2015. Slik unngår du å få kloakkrotter i huset. Hentet 27. januar 2016 fra <http://www.moss-avis.no/dyr/nyheter/slik-unngar-du-a-fa-kloakkrotter-i-huset/s/5-67-89598>
- Moyo S.J., Maselle S.Y., Matee M.I., Langeland N., Mylvaganam H. 2007. Identification of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from infants and children in Dar es Salaam, Tanzania. *BMC Infect. Dis.* 9(7), 92.
- Olivas Y., Faulkner B.R. 2008. Fecal source tracking by antibiotic resistance analysis on a watershed exhibiting low resistance. *Environ. Monit. Assess.* 139, 15–25.
- Oslo kommune. 2016. Hentet 27. januar 2016 fra <http://www.vann-og-avloppsetaten.oslo.kommune.no>
- Paruch A.M., Mæhlum T. 2011a. Fekale indikatorbakterier. *Kommunalteknikk* (9): 44-47.
- Paruch A.M., Mæhlum T. 2011b. *E. coli* i avføring – er det farlig? *Nationen – Debatt* (135): p26.
- Paruch A.M., Mæhlum T. 2012. Specific features of *Escherichia coli* that distinguish it from coliform and thermotolerant coliform bacteria and define it as the most accurate indicator of faecal contamination in the environment. *Ecol. Indic.* 23: 140-142.
- Paruch A.M. Paruch L., Mæhlum T. 2014. Implementering av molekylærbiologiske metoder for kildesporing av fekal vannforurensing og vurdering av helsefare. *Bioforsk TEMA* 9(19). [http://www.bioforsk.no/ikbViewer/Content/109843/Bioforsk%20TEMA%209%20\(19\).pdf](http://www.bioforsk.no/ikbViewer/Content/109843/Bioforsk%20TEMA%209%20(19).pdf)
- Paruch A.M. Paruch L., Mæhlum T. 2016a. Kildesporing av fekal vannforurensing i noen av tilløpsbekkene til Maridalsvannet og utløp Akerselva. *NIBIO Rapport* 2/27.
- Paruch A.M. Paruch L., Mæhlum T. 2016b. Kildesporing av fekal vannforurensing i Jordalsvatnet med nedbørfelt. *NIBIO Rapport* 2/49.
- Paruch A.M. Paruch L., Mæhlum T. 2016c. Kildesporing av fekal vannforurensing i tilløpsbekkene til Jonsvannet. *NIBIO Rapport* 2/34.
- Paruch L., Paruch A.M., Blankenberg A-G.B., Bechmann M., Mæhlum T. 2015. Application of host-specific genetic markers for microbial source tracking of faecal water contamination in an agricultural catchment. *Acta Agric. Scand.* 65(S2): 164-172.
- Paruch L., Paruch A.M., Blankenberg A-G.B., Haarstad K., Mæhlum T. 2016. Norwegian study on microbial source tracking for water quality control and pollution removal in constructed wetland treating catchment run-off. In: *Wetland Systems for Water Pollution Control*. Gajewska M., Matej-Lukowicz K., Wojciechowska E. (Eds). ISBN 83-60261-14-8: 827-841.
- Reischer G.H., Kasper D.C., Steinborn R., Farnleitner A.H., Mach R.L. 2007. A quantitative real-time PCR assay for the highly sensitive and specific detection of human faecal influence in spring water from a large alpine catchment area. *Lett. Appl. Microbiol.* 44: 351-356.
- Reischer G.H., Kasper D.C., Steinborn R., Mach R.L., Farnleitner A.H. 2006. Quantitative PCR method for sensitive detection of ruminant fecal pollution in freshwater and evaluation of this method in alpine karstic regions. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 5610–5614.
- Scheffe L. 2007. Reducing risk of *E. coli* O157:H7 contamination. *Nutrient Management Technical Note No. 7*. USDA, NRCS, Washington, DC., USA: 11pp.
- Schueler T. 2000. *Microbes in Urban Watersheds: Concentrations, Sources, & Pathways: The Practice of Watershed Protection*. Center for Watershed Protection, Ellicott City, MD. 74-84.



- Scott, T.M., Jenkins, T.M., Lukasik, J., Rose, J.B. 2005. Potential use of a host associated molecular marker in *Enterococcus faecium* as an index of human pollution. *Environ. Sci. Technol.* 39(1), 283-287.
- Shahryari A., Nikaeen M., Khiadani (Hajian) M., Nabavi F., Hatamzadeh M., Hassanzadeh A. 2014. Applicability of universal *Bacteroidales* genetic marker for microbial monitoring of drinking water sources in comparison to conventional indicators. *Environ. Monit. Assess.* 186: 7055–7062.
- Shanks O.C., Atikovic E., Blackwood A.D., Lu J., Noble R.T., Domingo J.S., Seifring S., Sivaganesan M., Haugland R.A. 2008. Quantitative PCR for detection and enumeration of genetic markers of bovine fecal pollution. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 745-752.
- Shanks O.C., Santo Domingo J.W., Lamendella R., Kelty C.A., Graham J.E. 2006. Competitive metagenomic DNA hybridization identifies host-specific microbial genetic markers in cow fecal samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 4054-4060.
- Smith A., Sterba-Boatwright B, Mott J. 2010. Novel application of a statistical technique, random forests in a bacterial source tracking study. *Water Res.* 44 (14), 4067-4076.
- Sowah R.A., Habteselassie M.Y., Radcliffe D.E., Bauske E., Risse M. 2017. Isolating the impact of septic systems on fecal pollution in streams of suburban watersheds in Georgia, United States. *Water Res.* 108, 330-338.
- Staley ZR, Grabuski J, Sverko E, Edge TA. 2016. Comparison of microbial and chemical source tracking markers to identify fecal contamination sources in Humber River (Toronto, Ontario, Canada) and associated storm water outfalls. *Appl. Environ. Microbiol.* 82 (21), 6357-6366.
- Tambalo D.D., Fremaux B., Boa T., Yost C.K. 2012. Persistence of host-associated *Bacteroidales* gene markers and their quantitative detection in an urban and agricultural mixed prairie watershed. *Water Res.* 46: 2891-2904.
- Tran N.H., Gin K.Y., Ngo H.H. 2015. Fecal pollution source tracking toolbox for identification, evaluation and characterization of fecal contamination in receiving urban surface waters and groundwater. *Sci. Total Environ.* 15(538), 38-57.
- Trondheim kommune. 2016. Jonsvatnet. Hentet 10. februar 2016 fra <https://www.trondheim.kommune.no/jonsvatnet>
- USEPA. 2005. Microbial Source Tracking Guide Document. Office of Research and Development, United States Environmental Protection Agency, EPA-600/R-05/064, Washington, DC.
- VAnytt. 2013. Tre av fire forer rottene med julefett. Hentet 27. januar 2016 fra <http://www.vanytt.no/artikkel/7439/tre-av-fire-forer-rottene-med-julefett-.html>
- Venegas C., Diez H., Blanch A.R., Jofre J., Campos C. 2015. Microbial source markers assessment in the Bogota River basin (Colombia). *J. Water Health* 13(3), 801-810.
- WHO. 2017. Hentet 27. februar 2017 fra <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/>
- WHO. 2004. Waterborne zoonoses. In: Cotruvo, J.A., Dufour, A., Rees, G., Bartram, J., Carr, R., Cliver, D.O., Craun, G.F., Fayer, R., Gannon, V.P.J. (Eds.), *Waterborne Zoonoses: Identification, Causes and Control*. IWA, Publishing, London, UK.
- Åström J., Pettersson T.J., Reischer G.H., Norberg T., Hermansson M. 2015. Incorporating expert judgments in utility evaluation of *Bacteroidales* qPCR assays for microbial source tracking in a drinking water source. *Environ. Sci. Technol.* 49(3): 1311-1318

NOTATER



Norsk institutt for bioøkonomi (NIBIO) ble opprettet 1. juli 2015 som en fusjon av Bioforsk, Norsk institutt for landbruksøkonomisk forskning (NILF) og Norsk institutt for skog og landskap.

Bioøkonomi baserer seg på utnyttelse og forvaltning av biologiske ressurser fra jord og hav, fremfor en fossil økonomi som er basert på kull, olje og gass. NIBIO skal være nasjonalt ledende for utvikling av kunnskap om bioøkonomi.

Gjennom forskning og kunnskapsproduksjon skal instituttet bidra til matsikkerhet, bærekraftig ressursforvaltning, innovasjon og verdiskaping innenfor verdikjedene for mat, skog og andre biobaserte næringer. Instituttet skal levere forskning, forvaltningsstøtte og kunnskap til anvendelse i nasjonal beredskap, forvaltning, næringsliv og samfunnet for øvrig.

NIBIO er eid av Landbruks- og matdepartementet som et forvaltningsorgan med særskilte fullmakter og eget styre. Hovedkontoret er på Ås. Instituttet har flere regionale enheter og et avdelingskontor i Oslo.

