



**NIBIO**

NORSK INSTITUTT FOR  
BIOØKONOMI

NIBIO RAPPORT | NIBIO REPORT

**VOL.: 2, NR.: 27, 2016**

# KILDESPORING AV FEKAL VANNFORURENSING I NOEN AV TILLØPSBEKKENE TIL MARIDALSVANNET OG UTLØP AKERSELVA

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

## TITTEL/TITLE

KILDESPORING AV FEKAL VANNFORURENSING I NOEN AV TILLØPSBEKKENE TIL MARIDALSVANNET OG UTLØP AKERSELVA

SOURCE TRACKING OF FECAL WATER CONTAMINATION IN SOME TRIBUTARIES OF THE MARIDAL LAKE AND THE MOUTH OF THE AKER RIVER

## FORFATTER(E)/AUTHOR(S)

Adam M. Paruch, Lisa Paruch, Trond Mæhlum

DATO/DATE:	RAPPORT NR./ REPORT NO.:	TILGJENGELIGHET/AVAILABILITY:	PROSJEKT NR./PROJECT NO.:	SAKSNR./ARCHIVE NO.:
02.02.2016	2/27/2016	Åpen	8843	2015/1681
ISBN-NR./ISBN-NO:	ISBN DIGITAL VERSJON/ ISBN DIGITAL VERSION:	ISSN-NR./ISSN-NO:	ANTALL SIDER/ NO. OF PAGES:	ANTALL VEDLEGG/ NO. OF APPENDICES:
ISBN-13	978-82-17- 01587-1	2464-1162	25	

## OPPDRAGSGIVER/EMPLOYER:

Vann- og avløpsetaten, Oslo kommune

## KONTAKTPERSON/CONTACT PERSON:

Anna-Lena Beschorner

## STIKKORD/KEYWORDS:

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

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

## FAGOMRÅDE/FIELD OF WORK:

Vannkvalitet

Water quality

## SAMMENDRAG/SUMMARY:

NIBIO ble engasjert av Oslo VAV til å utføre en undersøkelse gjennom et 1-års prosjekt på kildeopsporning av fekal vannforurensing i tre tilløpsbekker (Movannsbekken, Lautabekken og bekken ved Skjervan) til Maridalsvannet og utløp Akerselva. Formålet med prosjektet var primært å benytte molekylærbiologiske metoder for sporing av fekale forurensningskilder og å definere hvor i nedbørfeltet fekal forurensing fra mennesker, hester og/eller ikke-mennesker (generelt andre dyr) dominerer. Resultatene fra prosjektet viser at fekal forurensing med *E. coli* ble funnet i 11 av 12 ferskvannsprøver tatt ut ved hvert prøvested i de tre tilløpsbakkene til Maridalsvannet. Også brakkvannet fra Akerselva var fekalt forurenset (*E. coli* konsentrasjon på 8164 MPN/100 ml i desember 2014). I tillegg viste resultatene en lik trend som ble observert gjennom tester av alle vannprøvene, dvs. et klart bidrag i fekal forurensingen fra mennesker i



**NIBIO**

NORSK INSTITUTT FOR  
BIOØKONOMI

den kalde perioden og forsommeren, generelt november 2014 - mai 2015, og høyest bidraget fra dyr i den varme perioden, generelt juni - september 2015.

NIBIO was engaged by Oslo VAV to conduct a survey throughout a 1-year project focusing on source tracking of faecal water contamination in three tributaries (Movann stream, Laut stream and creek at Skjerven) of the Maridal Lake and the mouth of the Aker River. The purpose of the project was primarily to employ molecular methods for detection of faecal contamination sources and to define where in the catchment the contamination from humans, horses and/or non-humans (generally other animals) dominates. The project results show that faecal contamination with *E. coli* was found in 11 of the 12 freshwater samples taken at each test site of the three tributaries of the Maridal Lake. Also, brackish water from the Aker River was fecally contaminated (*E. coli* concentration of 8164 MPN/100 ml in December 2014). In addition, the results showed that a similar trend was observed through tests of all water samples, i.e. a clear contribution to faecal contamination from humans in a cold season, November 2014 – May 2015 and the highest contribution of animals in a warm season, June – September 2015.

LAND/COUNTRY:	Norge / Norway
FYLKE/COUNTY:	Oslo
KOMMUNE/MUNICIPALITY:	Oslo
STED/LOKALITET:	Oslo

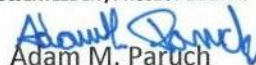
GODKJENT / APPROVED



Øistein Vethe

NAVN/NAME

PROSJEKTLEDER / PROJECT LEADER



Adam M. Paruch

NAVN/NAME



**NIBIO**

NORSK INSTITUTT FOR  
BIOØKONOMI

# FORORD

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.

Vann- og avløpsetaten (VAV) i Oslo kommune er pålagt drikkevannsforskrifter og har ansvar å beskytte råvannskvaliteten. VAV beskriver på sine websider (<http://www.vann-og-avlopsetaten.oslo.kommune.no>) at "Det er derfor innenfor spesielle områder i og rundt nedbørsfeltet til Maridalsvannet spesielle restriksjoner. Det er ikke tillatt:

- Å bade (gjelder også for hunder), fiske, pilke ferdes med båt eller på annen måte forurense vannet.
- Å slå seg ned (raste) nærmere enn 50 meter fra vann, bekker og elver.
- Å slå leir /overnatte) i åssidene ned mot vann, bekker og elver."


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

NIBIO ble engasjert av Oslo VAV til å utføre en undersøkelse på kildesporing av fekal vannforurensing i tre bekker innen Maridalsvannet nedbørsfeltet og utløp Akerselva. Denne rapporten oppsummerer et 1-års prosjekt «Kildesporing av fekal vannforurensing i noen av tilløpsbekkene til Maridalsvannet og utløp Akerselva» med oppstart i november 2014 og innhenting av data fram til oktober 2015. Funn har også blitt fortløpende rapportert til oppdragsgiver i korte datarapporter. Formålet med prosjektet var primært å benytte molekylærbiologiske metoder for sporing av fekale forureningskilder i Movannsbekken, Lautabekken og bekken ved Skjerven, også i Akerselva.

Selve prøvetakingen ble utført av overingeniør Anna-Lena Beschorner og driftsteknikker Finn Paulsen fra Oslo VAV. Mikrobiologiske analyser (koliforme bakterier og *Escherichia coli* - *E. coli*) og molekylærbiologiske DNA-tester er utført på NIBIO laboratorier i Ås av henholdsvis Adam M. Paruch (seniorforsker) og Lisa Paruch (forsker).

Undersøkelsen inngår også i en NIBIO ledet undersøkelse med støtte fra Norsk Vann hvor molekylærbiologiske metoder testes ut for kartlegging av fekal forurensning i nedbørsfelt til større drikkevannskilder i Norge.

Ås, 02.02.16

  
Adam M. Paruch  
Seniorforsker

  
Lisa Paruch  
Forsker

  
Trond Mæhlum  
Avdelingsleder

# INNHOOLD

1	INNLEDNING .....	6
2	MATERIALE OG METODER.....	9
3	RESULTATER .....	14
3.1	Mikrobiologiske analyser .....	14
3.1.1	Bekken ved Skjerven .....	14
3.1.2	Lautabekken.....	14
3.1.3	Movannsbekken.....	14
3.1.4	Akerselva.....	14
3.2	Molekylærbiologiske analyser.....	15
3.2.1	Bekken ved Skjerven .....	15
3.2.2	Lautabekken.....	15
3.2.3	Movannsbekken.....	15
3.2.4	Akerselva.....	15
4	DISKUSJON.....	20
5	KONKLUSJONER.....	22

# 1 INNLEDNING

En rekke sektorer kan bidra til vannforurensning, 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. En av de mest anvendte indikatorbakterier for fekal forurensning er *Escherichia coli* (*E. coli*) som vanligvis vokser i tykktarmen hos varmblodige dyr og mennesker, og 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. Verocytotoksisk *E. coli* (VTEC) også kjent som Shigatoksinproduserende *E. coli* (STEC). VTEC/STEC gruppen har over 200 ulike serotyper, inkludert den svært sykdomsfremkallende Enterohemorragisk *E. coli* (EHEC). I tillegg representerer STEC den eneste typen som overføres mellom dyr og mennesker (zoonotiske bakterier) gjennom mat- og vannbåren smitte (Bolton et al. 2009, WHO 2004).

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

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 forurensning 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 titusenvís) rotter i avløpsnett, f. eks. i København er det ca. 4 kloakkrotter pr. 100 m avløpsledninger (Fettvett 2016). I Oslo kommune er det over 2 000 km med avløpsledninger, så sannsynligvis kan det være minst 80 000 rotter bare i Oslo bykommune (Fettvett 2016). Det er dokumentert at avføring fra kloakkrotter er en helsefare siden den har både zoonotiske- og multiresistente bakterier (Guenther et al. 2013). Patogenetiske 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 husdyr avfall, f. eks. rotter eller måker (Scheffe 2007).

Informasjon om kildene i vannforurensningen er derfor 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

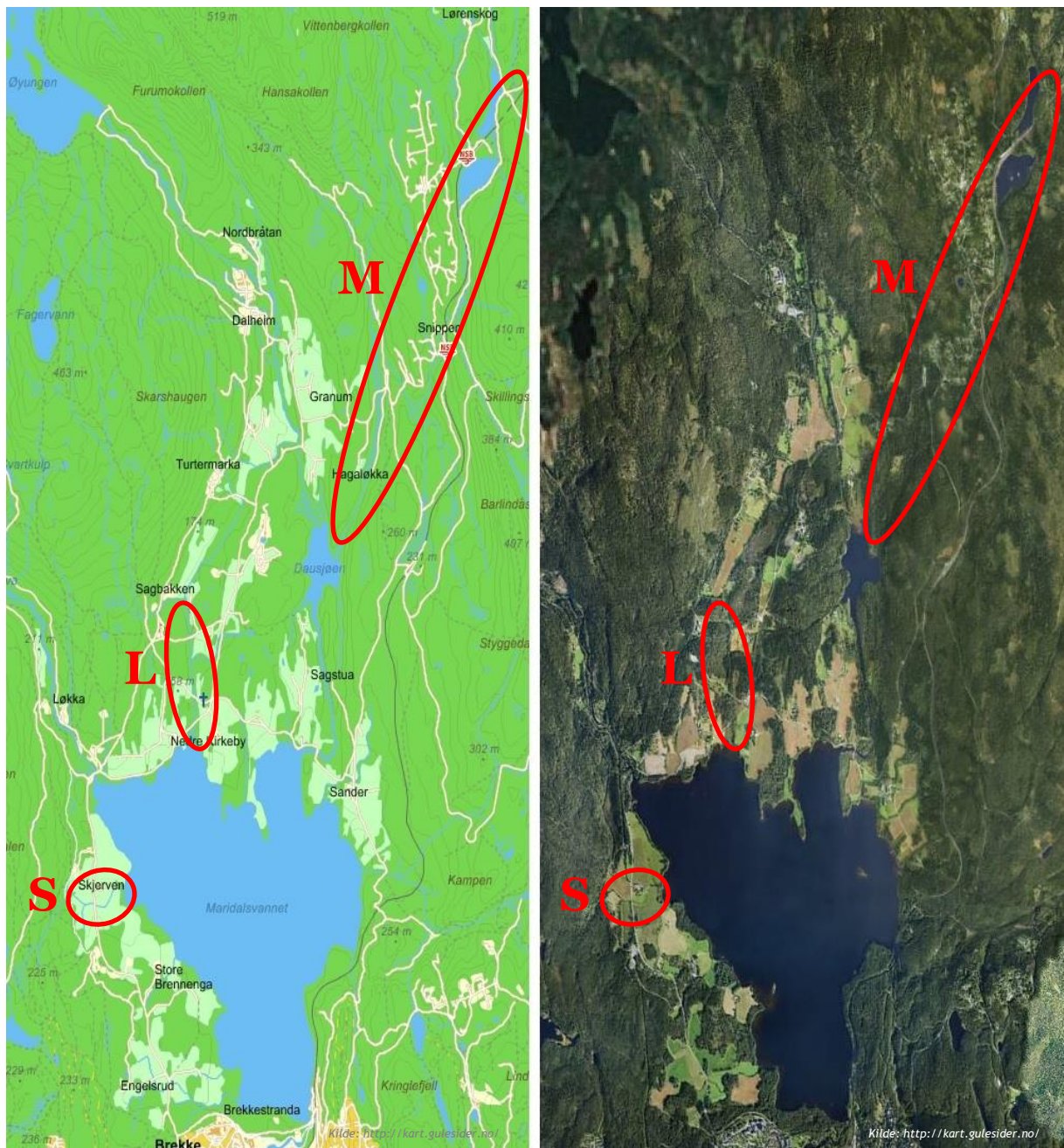
redusere eksponering og minimalisere helserisiko. Dette gjelder alle områder som ligger i risikozonen for fekal forurensning, særlig vannforekomster som benyttes til drikkevann og bading. Også innen matproduksjon (agroindustri og landbruk med vanning og organisk gjødsling), og i kartlegging av forurensningskilder i forbindelse med tiltaksgjennomføring i regi av Vannforskriften, kan dette være viktig.

For å spore hva som er kilden, har NIBIO testet ut molekylærbiologiske metoder 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. *Bacteroidales* er en bakteriegruppe som er svært vanlig i tarmsystemet hos mennesker og dyr. Metoden ble utviklet og validert i en evalueringsmodell for å profilere bidragssamspill fra hver forurensningskilde. Så langt vi kjenner til har denne metode blitt benyttet til kildesporing av forurensninger i vann i Norge tidligere (Paruch et al. 2014).

Molekylærbiologiske metoder for fekalkildesporing i vann har et stort anvendelsespotensiale i både FoU-prosjekter og overvåkningsprogrammer for forurensninger som truer helse og miljø. Vann til konsum, bading og vanning kan spores for fekalkilder. Vertsspesifikke genetiske markører (f.eks. drøvtyggere, hester, svin, 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 metoden som sammen med bioinformatikk kan estimere betydningen av ulike kilder til fekal forurensning i en vannprøve. 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. Oslo er en av de norske kommunene som tatt ut initiativ til å se på nivået av- og kilder til fekal vannforurensning i noen av tilløpsbekkene til Oslos største drikkevannskilde – Maridalsvannet. For dette formålet, har Oslo VAV engasjert NIBIO til å utføre en undersøkelse (et 1-års prosjekt) på kildesporing av fekal vannforurensning i tre bekker (Movannsbekken, Lautabekken og bekken ved Skjervan) innen Maridalsvannet nedbørsfeltet (figur 1) og i tillegg i utløpet av Akerselva. Resultatene presentert i denne rapporten viser hvor i nedbørsfeltet fekal forurensning fra mennesker, hester og/eller ikke-mennesker (generelt andre dyr) dominerer.





Figur 1. Maridalsvannet med Movannsbekken (M), Lautabekken (L) og bekken ved Skjerven (S).  
Kilde til kart og bilde: <http://kart.gulesider.no/>



## 2 MATERIALE OG METODER

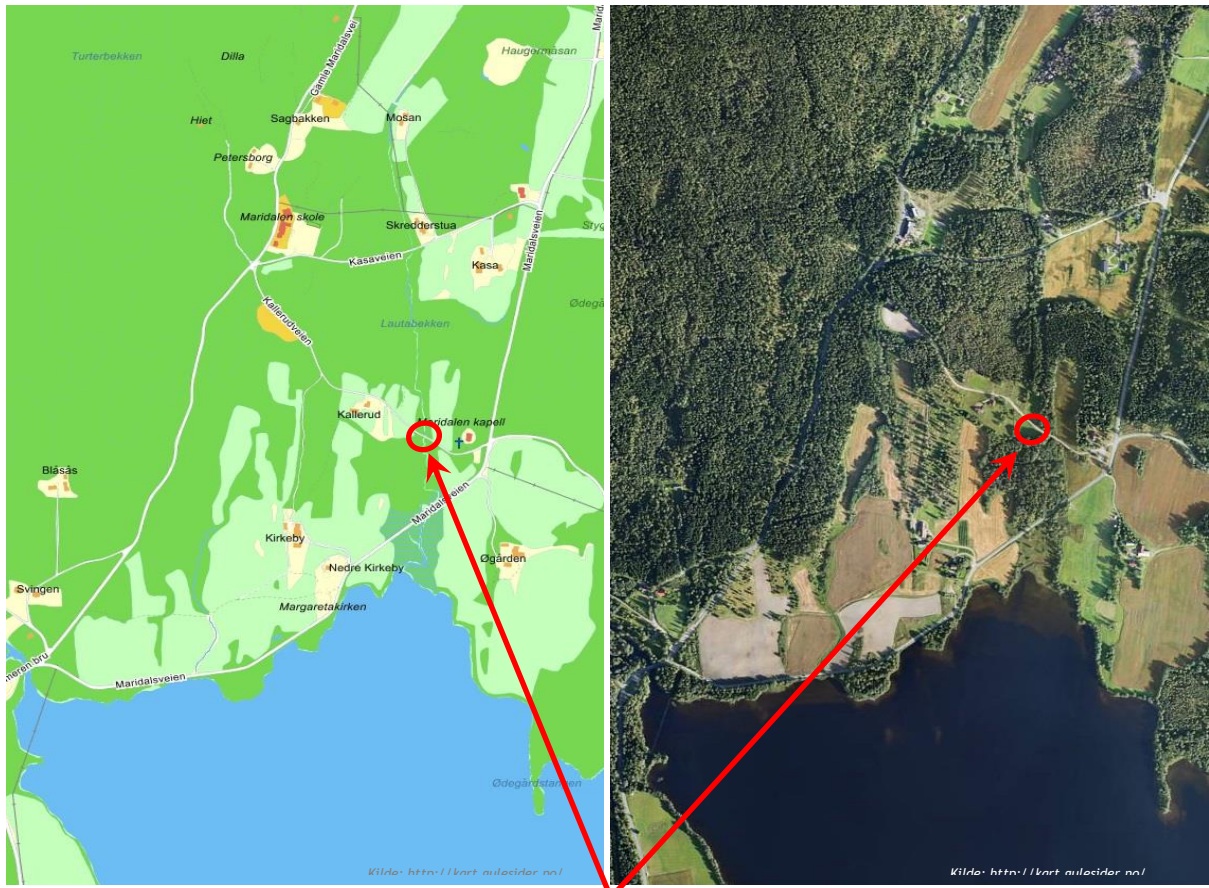
Etter innspill fra Oslo VAV ble det tatt ut tre ferskvannsprøver (Skjerven, Lautabekken og Movannsbekken) ved 12 anledninger som dekker et kalenderår (17 nov. 2014, 9 des. 2014, 21 jan. 2015, 18 feb. 2015, 10 mar. 2015, 14 apr. 2015, 19 mai 2015, 9 jun. 2015, 1 jul. 2015, 17 aug. 2015, 22 sep. 2015 og 26 okt. 2015) og en brakkvannsprøve (Akerselva) ved 7 anledninger (9 des. 2014, 21 jan. 2015, 18 feb. 2015, 9 jun. 2015, 1 jul. 2015, 6 okt. 2015 og 26 okt. 2015).

Prøvetakingssteder i Maridalsvannet nedbørsfeltet er vist i figur 2, 3 og 4. Brakkvannsprøven fra Akerselva ble tatt ut på vestsiden (nærmest Operaen) der hvor vannet kommer ut av kulverten (figur 5).



Figur 2. Lokaliteten til prøvetaking fra Movannsbekken. Kilde til kart og bilde: <http://kart.gulesider.no/>





Figur 3. Lokaliteten til prøvetaking fra Lautabekken. Kilde til kart og bilde: <http://kart.gulesider.no/>



Figur 4. Lokaliteten til prøvetaking fra bekken ved Skjerven. Kilde til kart og bilde: <http://kart.gulesider.no/>





Figur 5. Lokaliteten til prøvetaking fra Akerselva, utløp vest. Kilde til kart og bilde: <http://kart.gulesider.no/>



Alle vannprøver ble levert innen et par timer etter prøvetaking til NIBIO i Ås for analyser. Det ble testet ut om forurensingen kommer fra mennesker og/eller ikke-mennesker i alle fire vannprøver, dvs. tre ferskvannsprøver (Skjerven, Lautabekken og Movannsbekken) og en brakkvannsprøve (Akerselva). I tillegg, ble det også planlagt å teste ut om fekalforurensing kommer fra hester i to ferskvannsprøver (Skjerven og Lautabekken).

Undersøkelsen ble gjennomført ved bruk av mikrobiell kildeprosporing (microbial source tracking - MST) metoden som NIBIO først testet ut og benyttet i Norge (Paruch A.M. et al. 2014, Paruch L. et al. 2015). MST metodikken er godt dokumentert og detaljert beskrevet i en rekke faglig internasjonale publikasjoner, bla. Foley et al. 2009, Hagedorn et al. 2011, Layton et al. 2006, Paruch L. et al. 2015, Reischer et al. 2006, Reischer et al. 2007, Shanks et al. 2008). Metoden, som NIBIO har etablert i Norge, består av to steg:

1. Mikrobiell påvisning av fekal forurensing gjennom analyser av *Escherichia coli* - *E. coli* (gjennomføres med hurtigmetoden Colilert®-18 Quanti-Tray® og Colilert®-18 Quanti-Tray®/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.

Colilert®-18 Quanti-Tray® og Colilert®-18 Quanti-Tray®/2000 metoden ble brukt for screening av vannprøver for *E. coli*. Konsentrasjonene av bakterier vises som MPN verdier. MPN (Most Probable Number) angir mest sannsynlige antall bakterier per 100ml vannprøve. Colilert®-18 Quanti-Tray® har 200.5 MPN/100ml som målegrense for ufortynnet prøve, mens Colilert®-18 Quanti-Tray®/2000 har 2419.6 MPN/100ml som målegrense for ufortynnet prøve. Metoden ble benyttet for undersøkelsen av mikrobiologisk vannkvalitet i Norge tidligere og er beskrevet bla. i Paruch A.M. et al. (2015). Colilert®-18 Quanti-Tray® 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).

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

I steg 2 tar en hensyn bare til de prøvene som er positive for fekal forurensing. I dette steget brukes det andre fekale bakterier siden *E. coli* er ikke egnet for ytterligere identifikasjon av den bestemte forurensningskilden. *E. coli* kan ikke på tilfredsstillende måte oppfylle kravene for en kildeidentifikator pga. 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 siden det er svært mange av disse bakteriene i tarmen av verter. I tillegg er disse bakteriene vertsspesifikke og benyttet som en indikator for fekal forurensing (Bernhard and Field 2000, Dick et al. 2005, Hold et al. 2002, Shanks et al. 2006).

*Bacteroidales* vertsspesifikke markører er utviklet og vellykket anvendt i qPCR studier over hele verden for å påvise avføringskilder, f.eks. mennesker, drøvtyggere, storfe, hester og andre dyrearter (Dick et al. 2005, Lamendella et al. 2009, Layton et al. 2006, Reischer et al. 2007, Shanks et al. 2008, Tambalo et al. 2012). DNA-markører har blitt testet og dokumentert med høye sensitivitet og spesifisitet i mange forskjellige forsøk, både på lab-skala og i feltstudier globalt. Den molekylærbaserte metoden kan også tilby kvantitative resultater av enhver markør i den aktuelle prøven, og da kan det lages en bidragsprofil av analyserte data for en enkelt vannprøve (Paruch L. et al. 2015).

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 til kildeopsporing av forurensninger i vann. Alle resultatene blir derfor presentert som bidragsprofil av markører (ikke *E. coli*) i fekale vannforurensninger.



## 3 RESULTATER

### 3.1 Mikrobiologiske analyser

Resultatene fra den mikrobiologiske undersøkelsen av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i tre ferskvannsprøver (Skjerven, Lautabekken og Movannsbekken) er vist i figurene 6, 8 og 10, og en brakkvannsprøve (Akerselva) er vist i figur 12. De tre ferskvannsprøvene ble analysert uten fortykning, mens brakkvannsprøven ble fortennet  $10^{-1}$  før hver analyse.

#### 3.1.1 Bekken ved Skjerven

Resultatene viser at koliforme bakterier ble påvist i alle de 12 prøvene med høyeste konsentrasjoner i 8 prøver, dvs 298.1 MPN/100ml i november 2014 og over målingsgrensen for ufortynnet prøven, >200.5 MPN/100ml i desember 2014 og i perioden mai–oktober 2015 (figur 6).

*E. coli* ble påvist i 11 prøver med høyest konsentrasjon (over målingsgrensen for ufortynnet prøven, dvs. >200.5 MPN/100ml) i august 2015 (figur 6). *E. coli* ble ikke påvist i vannprøven tatt ut i januar 2015 (figur 6) siden undersøkelsen på sporing av fekale forurensningskilder ikke ble undersøkt i denne vannprøven.

#### 3.1.2 Lautabekken

Resultatene viser at koliforme bakterier ble påvist i alle de 12 prøvene med høyeste konsentrasjoner (over målingsgrensen for ufortynnet prøven, dvs. >200.5 MPN/100ml) i 6 prøver tatt ut i desember 2014 og i perioden juni – oktober 2015 (figur 8).

*E. coli* ble påvist i 11 prøver med høyest konsentrasjon på 101.3 MPN/100ml) i september 2015 (figur 8). *E. coli* ble ikke påvist i vannprøven tatt ut i februar 2015 (figur 8) siden undersøkelsen på sporing av fekale forurensningskilder ikke ble undersøkt i denne vannprøven.

#### 3.1.3 Movannsbekken

Resultatene viser at koliforme bakterier ble påvist i alle de 12 prøvene med høyeste konsentrasjoner (over målingsgrensen for ufortynnet prøven, dvs. >200.5 MPN/100ml) i 4 prøver tatt ut i juni - juli 2015 og i september – oktober 2015 (figur 10).

*E. coli* ble påvist i 11 prøver med høyest konsentrasjon på 38.4 MPN/100ml) i juli 2015 (figur 10). *E. coli* ble ikke påvist i vannprøven tatt ut i april 2015 (figur 10) siden undersøkelsen på sporing av fekale forurensningskilder ikke ble undersøkt i denne vannprøven.

#### 3.1.4 Akerselva

Resultatene viser at koliforme bakterier og *E. coli* ble påvist i alle syv prøver. Høyest konsentrasjon (over målingsgrensen for ufortynnet prøven, dvs. >2419.6 MPN/100ml) av koliforme bakterier sammen med høyest konsentrasjon av *E. coli* (8164 MPN/100ml) ble funnet i brakkvannsprøven tatt ut i desember 2014 (figur 12).

## 3.2 Molekylærbiologiske analyser

Resultatene fra molekylærbiologiske tester av tre ferskvannsprøver (Skjerven, Lautabekken og Movannsbekken) er vist i figur 7, 9 og 11, og en brakkvannsprøve (Akerselva) er vist i figur 13.

### 3.2.1 Bekken ved Skjerven

Resultatene i figur 7 viser at dominerende kilde til fekal forurensing i ferskvannet fra bekken ved Skjerven ikke stammer fra mennesker. I fire vannprøver tatt ut i perioden juni – september 2015 ble det ikke definert noe bidrag fra mennesker. I syv vannprøver ble bidrag i vannforurensing fra mennesker påvist med opp til 20% bidrag i vannprøven tatt ut i november 2014. I tillegg ble også fekal bidrag fra hester definert i syv vannprøver med høyest bidrag opp til 74% i prøven tatt ut i september 2015.

### 3.2.2 Lautabekken

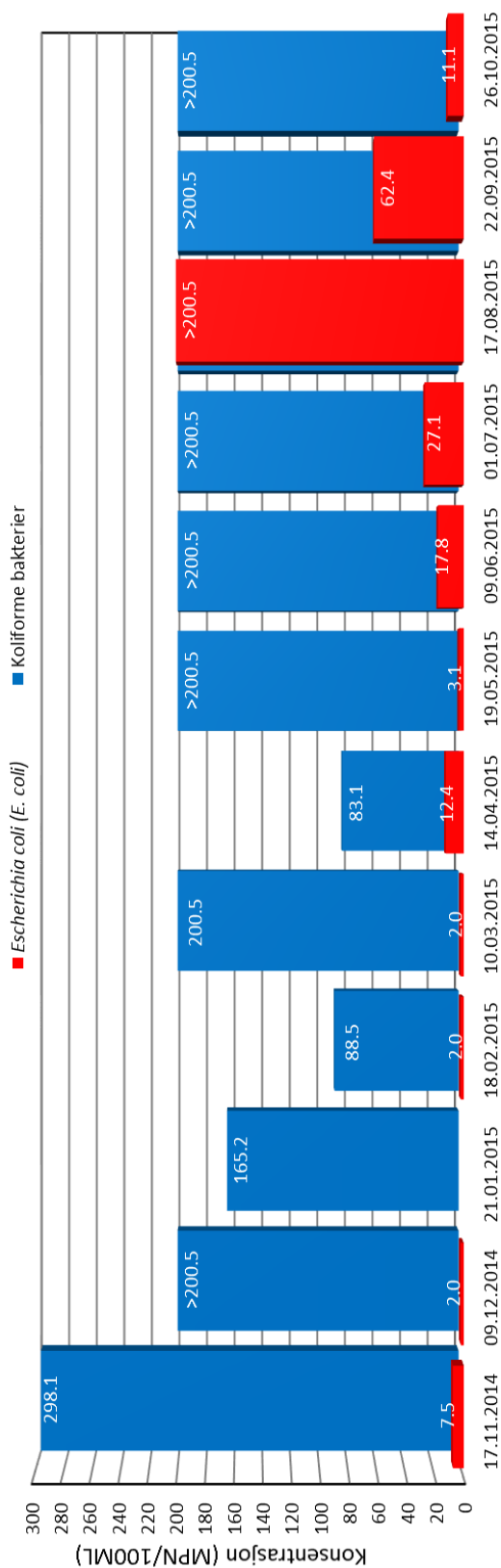
Resultatene presentert i figur 9 viser den samme trend som i bekken ved Skjerven, dvs. at dominerende kilde av fekal forurensing ikke er fra mennesker. I fire vannprøver tatt ut i perioden juni – september 2015 ble det ikke definert noe bidrag fra mennesker. I syv vannprøver ble bidrag i vannforurensing fra mennesker definert med høyest bidraget opp til 17% i vannprøven tatt ut i november 2014. I tillegg ble også fekal bidrag fra hester definert i ni vannprøver med høyest bidrag opp til 58% i prøven tatt ut i september 2015.

### 3.2.3 Movannsbekken

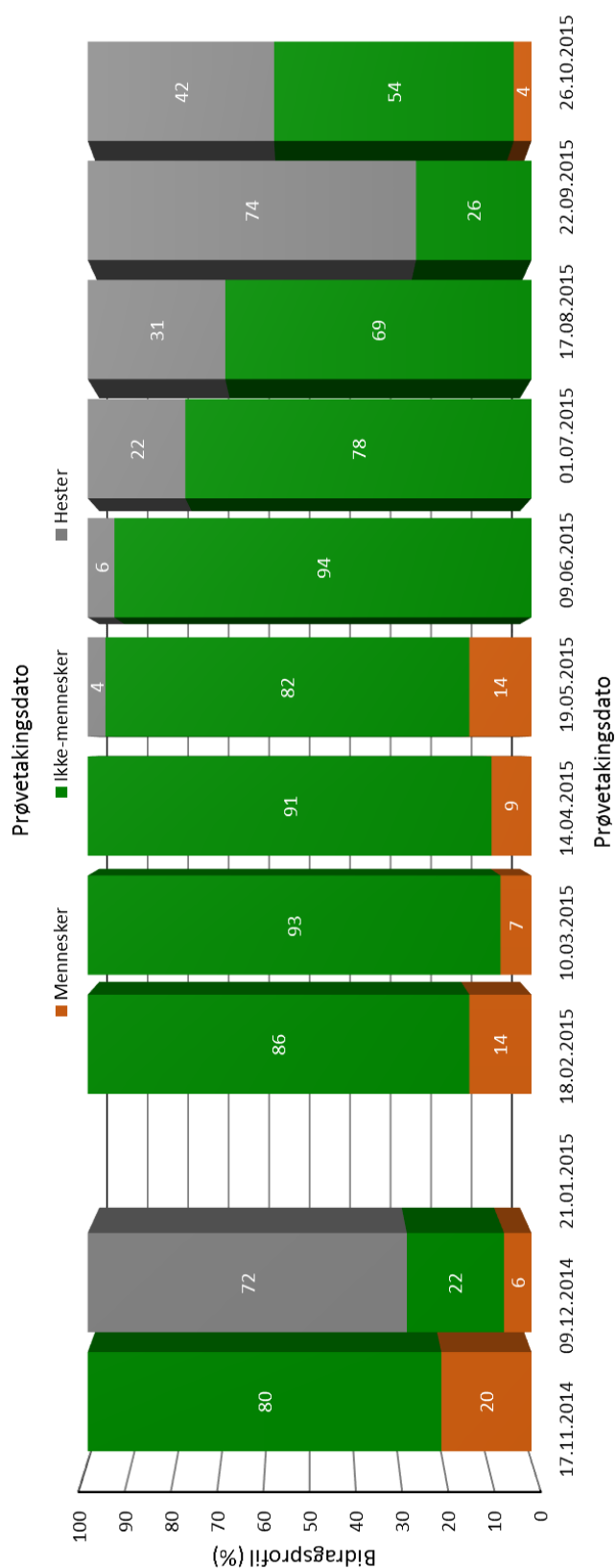
Også resultatene presentert i figur 11 viser en lik trend som i bekken ved Skjerven og Lautabekken, dvs. at dominerende kilde av fekal forurensing ikke er fra mennesker. I tre vannprøver tatt ut i perioden juni – august 2015 ble det ikke definert noe bidrag fra mennesker. I åtte vannprøver ble bidrag i vannforurensing fra mennesker definert med høyest bidraget opp til 21% i vannprøven tatt ut i november 2014.

### 3.2.4 Akerselva

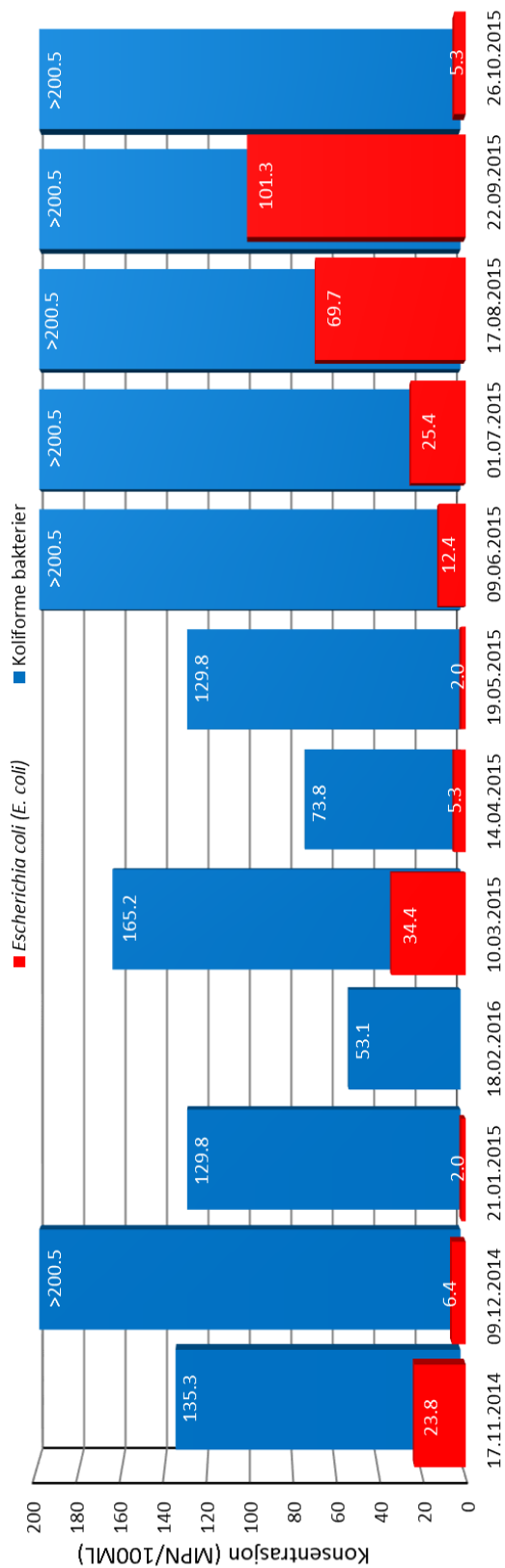
I motsetning til resultatene fra de tre tilførselsbekkene, ble det definert bidrag fra mennesker i alle brakkvannsprøver (høyest opp til 96% i vannprøven tatt ut i desember 2014, figur 13). Likevel, bidrag i vannforurensing fra ikke-mennesker (generelt andre dyrearter) dominerte i seks vannprøver (høyest opp til 97% i vannprøven tatt ut i juli 2015).



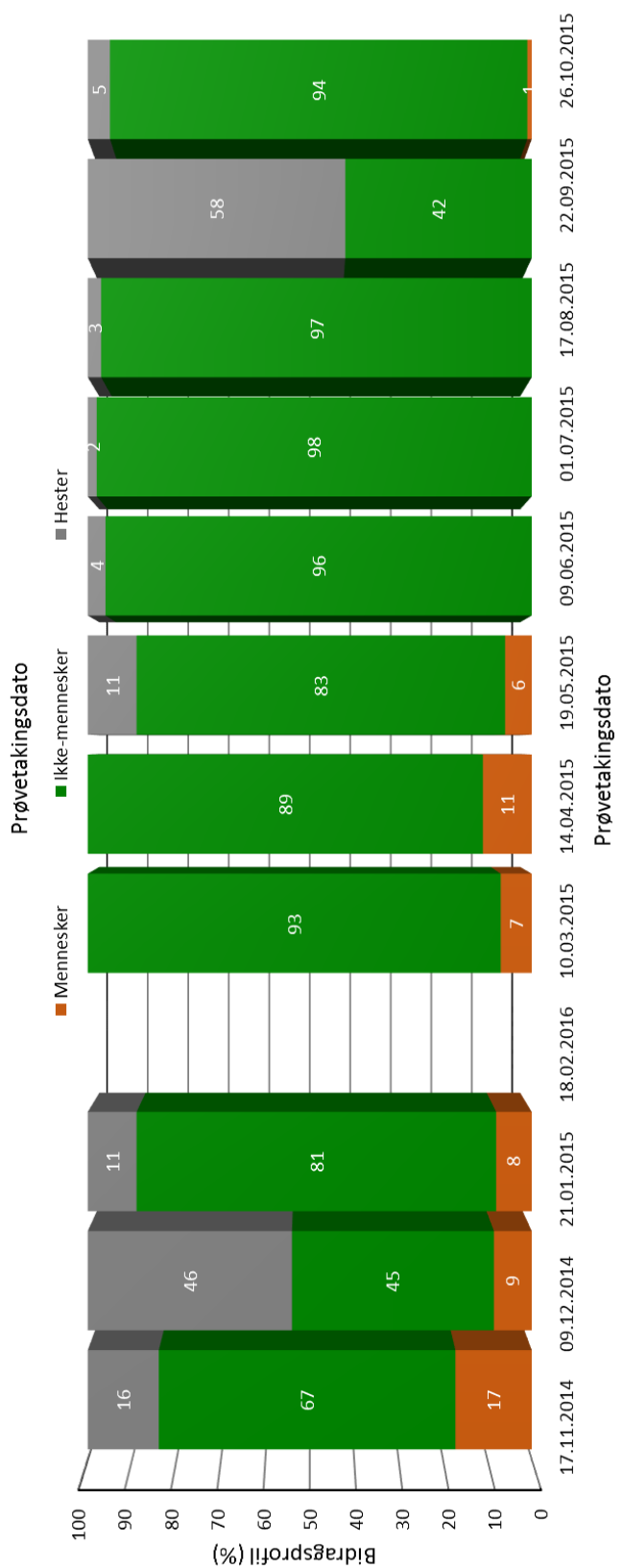
Figur 6. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i ferskvannsprøvene fra bekken ved Skjerven.



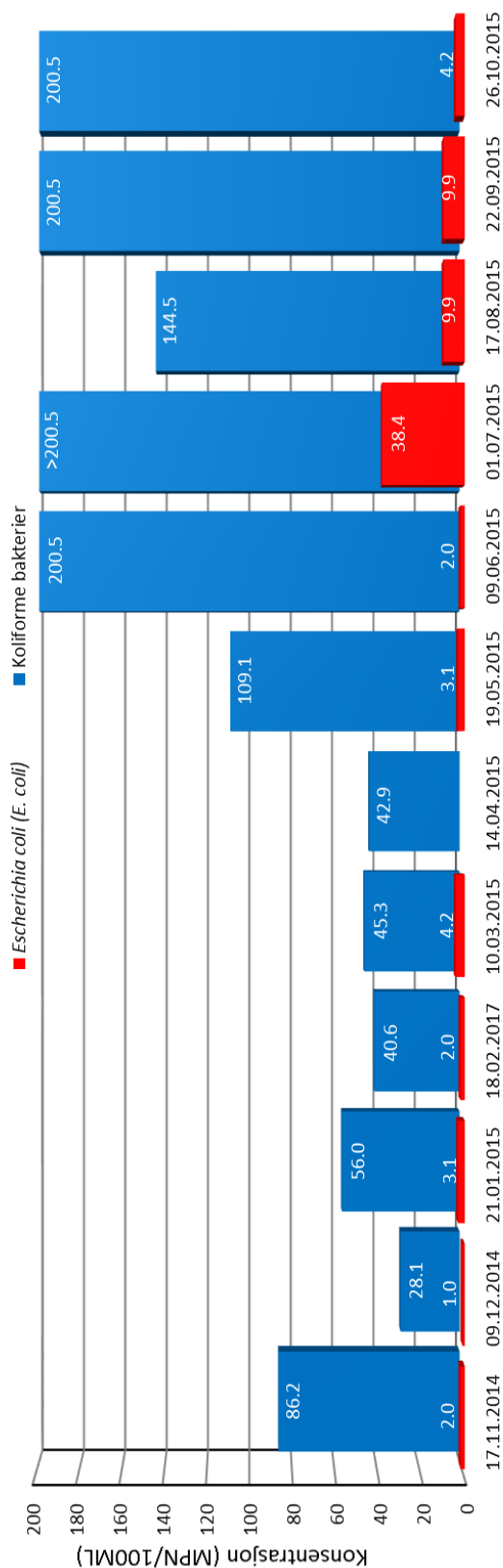
Figur 7. Bidragsprofil av markører i fekal vannforurensning i bekken ved Skjerven.



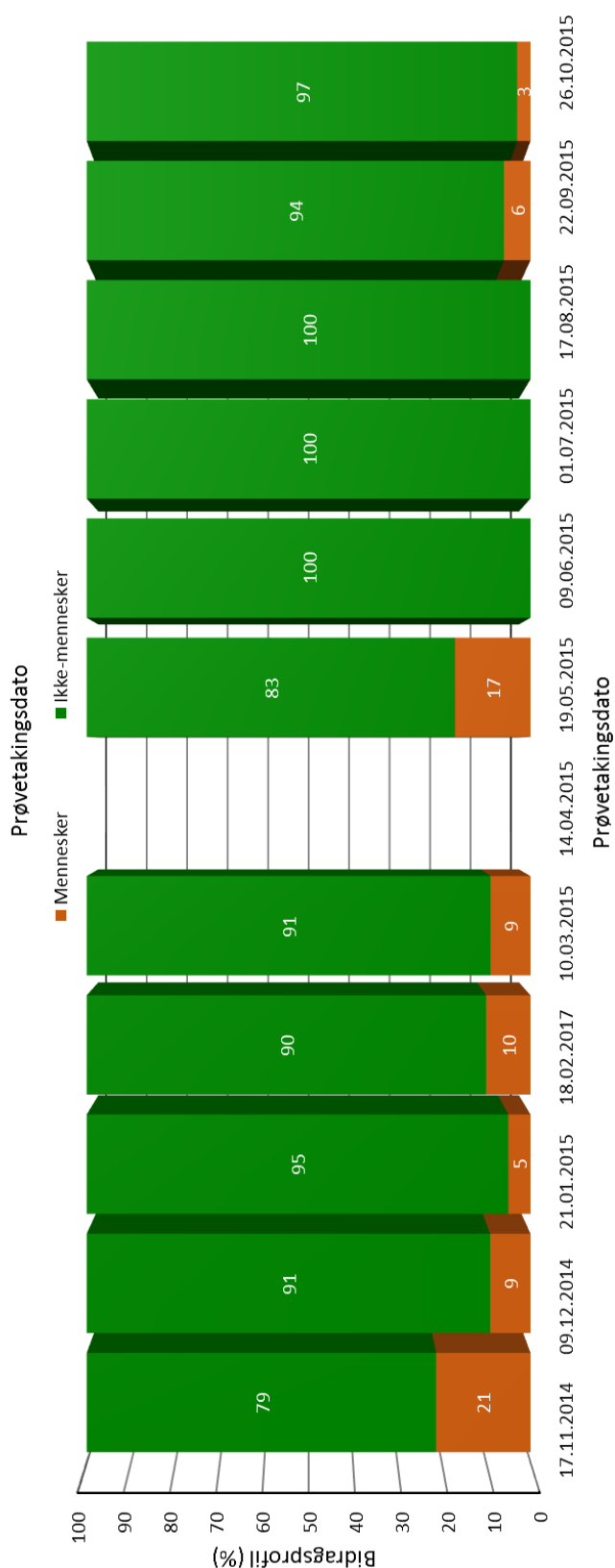
Figur 8. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i ferskvannsprøvene fra Lautabekken.



Figur 9. Bidragsprofil av markører i fekal vannforurensning i Lautabekken.

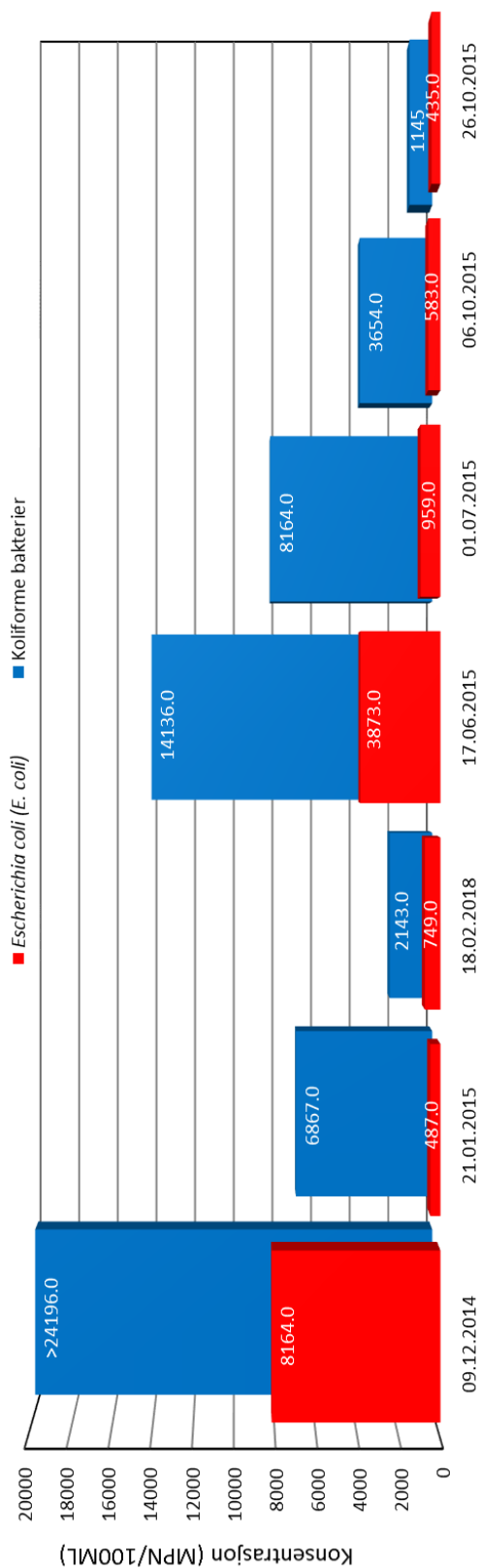


Figur 10. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i ferskvannsprøvene fra Movannsbekken.

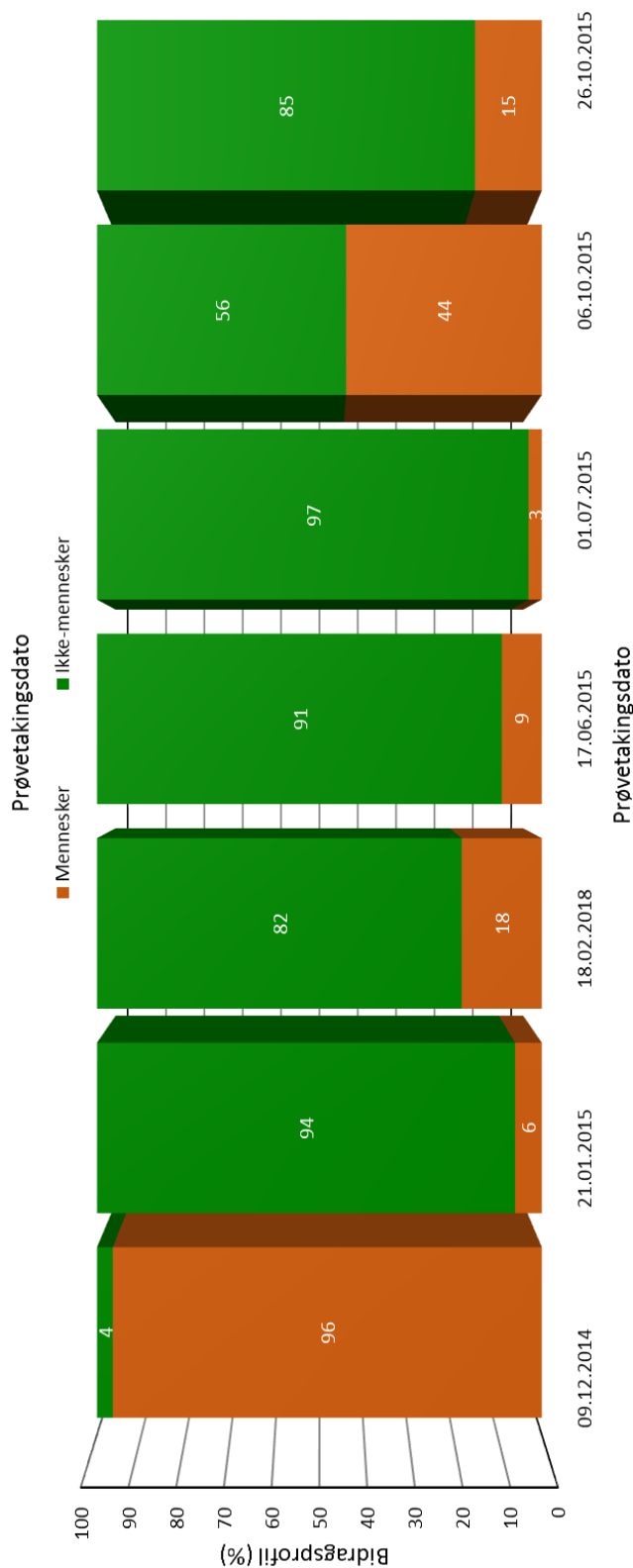


Figur 11. Bidragsprofil av markører i fekal vannforurensning i Movannsbekken.





Figur 12. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*) i brakkvannsprøven fra Akerselva.



Figur 13. Bidragsprofil av markører i fekal vannforurensning i brakkvannsprøven fra Akerselva.

## 4 DISKUSJON

*E. coli* har i mange år blitt benyttet som en indikator på fekal forurensning siden det er det eneste medlemmet av koliforme-gruppen som finnes utelukkende i fekalier og ikke formerer seg nevneverdig i miljøet (Paruch & Mæhlum 2011a, b, Paruch & Mæhlum 2012). *E. coli* er derfor nærmest en garanti for fekal forurensning. Spredning av fekal forurensning i miljøet skjer hovedsakelig via en rekke sektorer, bl.a. næringsliv, bebyggelse og landbruk. Fekal forurensning kommer fra mennesker (human fekal opprinnelse) og/eller ikke-mennesker (animalsk fekal opprinnelse, f.eks. fra husdyr vilt eller fugler). Fra disse kildene kan et høyt antall av *E. coli* forurense vannkilder (drikkevann, vanning og bading), jord (under jordbruksavrenning, vanning og organisk gjødsling) og vegetasjon (under vanning og organisk gjødsling). *E. coli* kan overleve lenge i ulike miljø og bli oppdaget flere måneder og kanskje år senere. De fleste *E. coli* stammer er ufarlige, men noen av stammene er knyttet til sykdommer hos mennesker og dyr.

Fekal forurensning med *E. coli* ble funnet i 11 av 12 ferskvannsprøver tatt ut ved hvert prøvested i tre tilløpsbekkene til Maridalsvannet (Movannsbekken, Lautabekken og bekken ved Skjerven). Høyest *E. coli* konsentrasjon (over målingsgrensen for uforynnnet prøven, dvs. >200.5 MPN/100ml) ble funnet i vannprøven fra bekken ved Skjerven i august 2015. Nest høyest konsentrasjon (101.3 MPN/100ml) ble funnet i vannprøve fra Lautabekken i september 2015. I vannprøven fra Movannsbekken, ble høyest *E. coli* konsentrasjon (38.4 MPN/100ml) funnet i juli 2015. Alle de høyeste *E. coli* konsentrasjoner ble funnet i den varme perioden, generelt juni - september 2015. I denne perioden ble det funnet at dominerende kilde av fekal forurensning ikke kommer fra mennesker. Kun vannprøven fra Movannsbekken tatt ut i september 2015 viste et lite bidrag fra mennesker (6%), ellers ble det definert 100% bidrag fra ikke-mennesker (generelt andre dyr) i vannprøver tatt ut i den varme perioden (juni - september 2015). Også, i alle vannprøver fra bekken ved Skjerven og Lautabekken ble det definert at dominerende kilder av fekal forurensning ikke er fra mennesker. I tillegg, ble bidraget fra hester (høyest i vannprøver tatt ut i september 2015, dvs. 74% i Skjerven og 58% i Lautabekken) påvist.

I den kalde perioden og forsommeren (generelt november 2014 - mai 2015) var *E. coli* konsentrasjoner lav i alle tre bekkeprøver, høyest 34.4 MPN/100ml i vannprøve fra Lautabekken tatt ut i mars 2015, deretter 12.4 MPN/100ml i vannprøve fra bekken ved Skjerven tatt ut i april 2015 og 4.2 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. En slik trend, dvs. et høyere bidraget i fekal vannforurensning fra dyr i den varme perioden og et høyre bidraget fra mennesker i den kalde perioden stemmer bra med tidligere rapportert/publisert data fra undersøkelser i andre deler av Norge (Blankenberg et al. 2014, Blankenberg et al. 2015, Paruch A.M. et al. 2014, Paruch L. et al. 2015). 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). Det ble funnet 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 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 bidrag fra spredt avløp (fekal forurensing fra mennesker) var størst om forsommeren, mens avrenning fra hester og drøvtyggere bidrar mest om sommeren (Blankenberg et al. 2015, Paruch L. et al. 2015).

Brakkvannet fra Akerselva var svært forurenset i desember 2014 med *E. coli* konsentrasjon på 8164 MPN/100 ml. Dette i sammenligning med bidragsprofilen av genetiske markører (96% av bidraget fra mennesker) viser at det er stor sannsynligheten for fekal vannforurensing fra lekkasjene/utslippene av avløpsvannet i Oslo til Akerselva og videre til Oslofjorden. Derimot ble det ikke påvist at dominerende kilde av fekal forurensing i resten av vannprøvene fra Akerselva er fra mennesker. Nest høyest bidrag av mennesker i fekal forurensing, 44% ble påvist ved funn av en *E. coli* konsentrasjon på 583 MPN/100 ml. Ved lavest *E. coli* konsentrasjon (435 MPN/100 ml) ble bare 15% av bidraget fra mennesker definert. Likevel har resultatene fra undersøkelsen i brakkvannet fra Akerselva vist en lik trend som ble observert i de andre vannprøvene, dvs. et klart bidrag i fekal forurensingen fra mennesker i den kalde perioden og høyest bidraget fra dyr i varme perioden. Det er dokumentert at mange dyrearter (særlig hunder, katter, rotter, måker, gjess og duer) bidrar i fekal vannforurensing i urbane nedslagsfelt (Schueler 2000).

## 5 KONKLUSJONER

Analysen av *E. coli* i tilførselsbekkene til Maridalsvannet viser at vannet er forurenset av tarmbakterier fra dyr og/eller mennesker. Dette er ingen direkte trussel mot drikkevannets kvalitet. Drikkevannet til Oslos befolkning sikres ved 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.

Molekylærbiologiske tester viste at den fekale vannforurensingen i de tre tilløpsbekkene hovedsakelig kommer fra andre kilder enn mennesker. Med animalsk fekal opprinnelse kan en trussel om sykdomsframkallende artene av *E. coli*, særlig Shigatoksinproduserende *E. coli* (STEC), f.eks. *E. coli* O157:H7, være sannsynlig.

NIBIOs tidligere undersøkelse fra 2013 i et jordbrukslandskap med dyrket mark og utslipp fra avløpsanlegg og husdyr på beite, viste at STEC ble påvist i vannprøvene. Disse patogene bakteriene viste høy korrelasjon med genetisk markør for drøvtyggende husdyr. Det kan derfor være nyttig å bruke flere vertsspesifikke genetiske markører for utvalgte dyr som er på stedet i et nedbørsfelt (f.eks. drøvtyggere og hester) i kilde-sporing. I tillegg, det kan også være nyttig å teste ut STEC serogrupper, dersom animalsk fekal opprinnelse ble funnet å dominere i fekal vannforurensing. Til tross for de sykdomsframkallende artene av *E. coli* er det svært viktig å være klar over at forekomsten av *E. coli* i miljøet ikke nødvendigvis medfører en trussel om sykdom.

Brakkvannet fra Akerselva ble tatt ut rett fra vannet som kommer ut av kulverten på vestsiden nærmest Operaen. Akerselva går fra Maridalsvannet gjennom Oslo og renner ut ved Paulsenkaia i Bjørvika og strømmer videre til Oslofjorden. Molekylærbiologiske analyser viste at målinger med høy fekal vannforurensing i Akerselva sannsynligvis kommer fra mennesker. Mulige kilder kan være lekkasje på avløpsnett og overløp fra pumpestasjoner. Resultatene fra de øvrige prøvene viste at det også kan være andre kilder, f. eks. rotter som lever i kloakksystemet og forurenset urbant overvann som kan inneholde fekalier fra hunder, katter og fugler.

De funn som er gjort i rapporten kan benyttes til å prioritere tiltak i nedbørsfeltene i forhold til å begrense fekal smitte til vassdragene og Oslofjorden.

# LITTERATURREFERANSER

- 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>
- Badevann – forurensing og regler 2008. Folkehelseinstituttet. Hentet 25. januar 2016 fra <http://www.fhi.no/tema/badevann/forurensning-og-regler>
- 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): 4pp. [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.
- 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*. Co-ordination Action FOOD-CT-2006-036256. Ashtown Food Research Centre, Teagasc, Dublin, Ireland.
- 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.
- Drikkevannsforskriften 2001. FOR 2001-12-04 nr 1372: Forskrift om vannforsyning og drikkevann (Drikkevannsforskriften). Hentet 25. januar 2016 fra <http://www.lovddata.no/cgi-wift/lldes?doc=/sf/sf/sf-20011204-1372.html>
- Farnleitner A.H., Ryzinska-Paier G., Reischer G.H., Burtscher M.M., Knetsch S., Kirschner A.K.T., Dirnböck T., Kuschig 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.
- 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-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Urban Rats a Risk for Public Health? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57(5), 2424-2425.
- Hagedorn C., Harwood V.J., Blanch A. 2011. *Microbial Source Tracking: Methods, Applications, and Case Studies*. Springer, New York.
- 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., Furrer E., Flint H.J. 2002. Assessment of microbial diversity in human colonic samples by 16S rDNA sequence analysis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 39: 33-39.



- 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., Saylor 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.
- 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>
- 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. *Ecological Indicators*, 23: 140-142.
- Paruch A.M., Mæhlum T., Robertson L. 2015. Changes in microbial quality of irrigation water under different weather conditions in Southeast Norway. *Environmental Processes*, 2: 115-124.
- Paruch A.M. Paruch L., Mæhlum T. 2014. Implementering av molekylærbiologiske metoder for kildeprosporing av fekal vannforurensing og vurdering av helsefare. *Bioforsk TEMA* 9(19): 4 pp. [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 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 Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & Plant Science* 65(S2): 164-172.
- 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. *Letts. 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.R. 2000. Microbes and urban watersheds: concentrations, sources, and pathways. In: Schueler T.R., Holland H.K. (eds.). *The Practice of Watershed Protection*. Ellicott City, Md: Center for Watershed Protection: 68-78.
- 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., Santo Domingo J., Seifring S., Sivaganesan M., Huagland 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.
- 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.
- 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>

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.



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.

