



**NIBIO**

NORSK INSTITUTT FOR  
BIOØKONOMI

# Kildesporing av fekal vannforurensning i området rundt Hunnebunn, Fredrikstad kommune

Fekale forurensningskilder i Vispen badeplass og noen bekker nær Hunnebunn

NIBIO RAPPORT | VOL. 5 | NR. 125 | 2019



Adam M. Paruch og Lisa Paruch

Divisjon Miljø og naturressurser, Avdeling Hydrologi og vannmiljø

**TITTEL/TITLE**

Kildesporing av fekal vannforurensning i området rundt Hunnebunn, Fredrikstad kommune: Fekale forurensningskilder i Vispen badeplass og noen bekker rundt Hunnebunn

Source tracking of faecal water contamination around Hunnebunn, Fredrikstad municipality: Faecal pollution sources in the Vispen beach and some streams near the Hunnebunn

**FORFATTER(E)/AUTHOR(S)**

Adam M. Paruch og Lisa Paruch

DATO/DATE:	RAPPORT NR./ REPORT NO.:	TILGJENGELIGHET/AVAILABILITY:	PROSJEKTNR./PROJECT NO.:	SAKSNR./ARCHIVE NO.:
31.10.2019	5/125/2019	Åpen	8843	19/01300
ISBN:	ISSN:	ANTALL SIDER/ NO. OF PAGES:	ANTALL VEDLEGG/ NO. OF APPENDICES:	
978-82-17-02421-7	2464-1162	40	6	

**OPPDRAKSGIVER/EMPLOYER:**

Fredrikstad kommune

**KONTAKTPERSON/CONTACT PERSON:**

Reidun Ottosen

**STIKKORD/KEYWORDS:**

Hunnebunn, Vispen, fekal vannforurensning, mikrobiell kildesporing

Hunnebunn, Vispen, faecal water contamination, microbial source tracking

**FAGOMRÅDE/FIELD OF WORK:**

Vannkvalitet, badevann

Water quality, bathing water

**SAMMENDRAG/SUMMARY:**

Denne rapporten er skrevet på oppdrag fra Fredrikstad kommune i forbindelse med prosjektet «Kildesporing av fekal vannforurensning: Fekal kildesporing i vannprøvene analysert for Fredrikstad kommune i 2019». Formålet med prosjektet var primært å benytte molekylærbiologiske metoder for sporing av fekale forurensningskilder i Vispen badeplass og noen bekker rundt Hunnebunn.

Prosjektet omfatter et begrenset antall vannprøver per lokalitet og derfor ble ikke en omfattende vurdering av vannkvaliteten iht. EUs badevannsdirektivet utført. Likevel ble prosjektsresultatene av *E. coli* sammenlignet med EUs krav, og dessuten ble en generell badevannskvalitet evaluert. Resultatene fra prosjektet viser at fekal forurensning med *E. coli* ble funnet i alle ferskvannsprøver og i de fleste salt-/brakkvannsprøver. Noen få enkeltprøver viste høye (over analysegrenseverdi) *E. coli* konsentrasjoner men generelt kunne vannet klassifiseres på et utmerket og god kvalitetsnivå definert iht. EUs badevannsdirektiv.

En generell trend ble observert mht. fekal forurensingstilførsel ved at den dominerende kilde til forurensingen i Vispen badeplass og utvalgte bekker rundt Hunnebunn stammer fra zoologiske/naturlige kilder, hovedsakelig fra dyrearter som f.eks. hund, katt, fugler og ville dyr.

**NIBIO**NORSK INSTITUTT FOR  
BIOØKONOMI

This report is written on behalf of the municipality of Fredrikstad in connection with the project “*Source tracking of faecal water pollution: Faecal source tracking in water samples tested for the municipality of Fredrikstad 2019*”. The purpose of the project was primarily to use molecular methods for tracking faecal contamination sources in the Vispen bathing area and some streams around Hunnebunn.

The project comprises a limited number of water samples per site and therefore a comprehensive assessment of water quality in accordance with the EU Bathing Water Directive was not carried out. Nevertheless, the results of *E. coli* derived from the project were compared with the EU requirement, and further a general bathing water quality status was evaluated. The results of the project demonstrate that faecal contamination with *E. coli* was found in all freshwater samples and in most coastal- and transitional water samples. A few single samples showed high (above the detection limit) *E. coli* concentrations but in general, the water could be classified at an excellent and good quality level defined in accordance with the EU Directive.

A general trend was observed with respect to the faecal contamination input that the predominant source of contamination in the Vispen bathing area and selected streams around Hunnebunn originates from zoological/natural sources, mainly from animal species such as e.g. dogs, cats, birds and wild animals.

LAND/COUNTRY:	Norge / Norway
FYLKE/COUNTY:	Østfold
KOMMUNE/MUNICIPALITY:	Fredrikstad
STED/LOKALITET:	Hunnebunn

GODKJENT /APPROVED



EVA SKARBØVIK

PROSJEKTLEDER /PROJECT LEADER



ADAM M. PARUCH



**NIBIO**

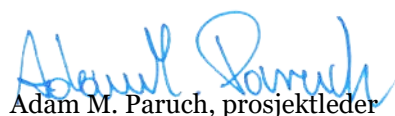
NORSK INSTITUTT FOR  
BIOØKONOMI

# Forord

Denne rapporten er skrevet på oppdrag fra Fredrikstad kommune i forbindelse med prosjektet «Kildesporing av fekal vannforurensning: Fekal kildesporing i vannprøvene analysert for Fredrikstad kommune i 2019». Formålet med prosjektet var primært å benytte molekylærbiologiske metoder for sporing av fekale forurensningskilder i Vispen badeplass og noen bekker rundt Hunnebunn. Rapporten oppsummerer dette prosjektet og gir en generell oversikt over resultatene for hvert av prøvepunktene, samt en vurdering av analyseresultatene. Funn fra prosjektet har også blitt fortløpende rapportert til oppdragsgiver i korte analyserapporter (Vedlegg 1 – 6).

Analysearbeidet samt data sammenstilling som rapporten bygger på er i sin helhet finansiert av Fredrikstad kommune. Våre kontaktpersoner i kommunens Miljø- og byutviklingsetaten har vært Solveig Kolberg, Reidun Ottosen og Hanna Tangvald. Prøvetaking og prøveforsendelse ble utført av Reidun Ottosen. Mikrobiologiske analyser (koliforme bakterier og *Escherichia coli* - *E. coli*) og molekylærbiologiske DNA-tester ble utført på NIBIO laboratorier i Ås av henholdsvis Adam M. Paruch (seniorforsker) og Lisa Paruch (forsker). Rapporten er kvalitetssikret i henhold til NIBIOs rutiner av Eva Skarbøvik, Forskningssjef Avdeling Hydrologi og vannmiljø, Divisjon Miljø og naturressurser.

Jeg vil rette en takk til vår samarbeidspartner, Fredrikstad kommune, som har stilt resultatene til rådighet og finansiert analysene og rapporten.



Adam M. Paruch, prosjektleder

Ås, 31.10.2019

# Innhold

1	Innledning.....	6
1.1	Fekal vannforurensning .....	6
1.2	Mikrobiell kildeopring av fekal forurensning .....	7
2	Prosjektområdet og prøvematerialet.....	10
2.1	Prøvetaking, -håndtering og -forsendelse .....	12
2.2	Ferskvannsprøver .....	12
2.2.1	Brandstorbekken.....	13
2.2.2	Hunnbekken .....	14
2.2.3	Korsbergbekken .....	15
2.2.4	Talbergsundet .....	15
2.3	Salt-/brakkvannsprøver fra Vispen bade plass .....	16
3	Resultater .....	17
3.1	Ferskvannsprøver .....	17
3.1.1	Brandstorbekken.....	18
3.1.2	Hunnbekken .....	19
3.1.2.1	Hunnbekken oppstrøms pumpe stasjon.....	19
3.1.2.2	Hunnbekken nedstrøms pumpe stasjon.....	20
3.1.3	Korsbergbekken .....	21
3.1.3.1	Korsbergbekken KB.....	21
3.1.3.2	Korsbergbekken KBII.....	22
3.1.4	Talbergsundet .....	22
3.2	Salt-/brakkvannsprøver fra Vispen bade plass .....	23
4	Diskusjon.....	24
5	Konklusjoner.....	26
	Litteraturreferanse.....	27
	Vedlegg 1.....	29
	Vedlegg 2.....	31
	Vedlegg 3.....	33
	Vedlegg 4.....	35
	Vedlegg 5.....	37
	Vedlegg 6.....	39

# 1 Innledning

Tarmen hos varmblodige dyr og mennesker er et leveområde for billioner av forskjellige organismer blant hvilke bakterier dominerer med omtrent 500 forskjellige arter (Marotz og Zarrinpar 2016; Quigley 2013). Tarmbakteriene utgjør hovedtallet av mikrober i hele menneskekroppen og betegner omtrent 10 ganger mer enn alle kroppens celler (Quigley 2013). Disse mikrobenes tar en viktig del i den metabolske prosessen; derav defekeres de kontinuerlig, og derfor inneholder fekal materiale en overflod av levende mikroorganismer (Marotz og Zarrinpar 2016). Generelt er det bakterier (f.eks. *Escherichia coli* – *E. coli*, og *Campylobacter jejuni*), virus (f.eks. enterovirus og rotavirus), protozoer (f.eks. *Cryptosporidium parvum* og *Giardia intestinalis*) og helminter (f.eks. *Ascaris lumbricoides*) som havner i avføringen hos friske eller smittede individer (Paruch & Paruch 2018). Det er derfor fekal vannforurensning en av de vanligste årsakene til sykdommer hos mennesker (WHO, 2004).

De viktigste helsetruslene assosiert med fekal vannforurensning refererer til infeksjoner, sykdommer og i mange tilfeller dødsfall forårsaket av enteriske patogener (smittestoffer som forårsaker sykdommer), spesielt de som forårsaker vannbårne zoonoser (zoonotiske infeksjoner og sykdommer overført mellom dyr og mennesker gjennom vann) (Paruch & Paruch 2018). Det har derfor stor betydning å benytte effektive metoder som raskt kan oppdage og spore kilder til fekal vannforurensning, vurdere tilstand i vannforekomstene, og gi informasjon om patogener/sykdomsfremkallende mikroorganismer. Identifisering av fekale forurensningskilder bistår i å iverksette effektive tiltak mot tilførsler av fekale mikrober til vannforekomster og dermed redusere eksponering og minimalisere helserisiko for miljø og mennesker.

For å spore hva som er kilden, har NIBIO testet ut en DNA-basert metode (*Mikrobiell Kildesporing av Fekal Forurensning*) som avslører om forurensningen skyldes avføring fra mennesker eller dyr. Videre kan metoden skille i hvilken grad fekal forurensningen kommer fra mennesker eller fra hvilke dyrearter og spesielt kan metoden fremheve den dominerende kilden til fekal forurensning. Metoden skaffer interesse hos miljøinstanser og kommuner som sliter med fekalforurensede vannforekomster. Den er spesielt interessant i forhold til bruk av vann der hygienisk/mikrobiologisk kvalitet er fundamentalt, som f.eks. drikkevann, badevann og vanningsvann samt vann til matproduksjon. Derfor bør også metoden være av interesse for myndigheter som har ansvar for miljø, helse og trygg mat.

## 1.1 Fekal vannforurensning

Generelt refererer fekal forurensning til enhver form av forurensning forårsaket utelukkende eller delvis av fekal materiale, eller forurensning som inneholder noen deler av dette materiale (Paruch & Paruch 2018). Fekalstoff er avfall fra metabolske prosesser som defekeres som avføring (fast/halvfast stoff) gjennom anus (i de fleste pattedyr) eller som utskillelse (avføring og urin) gjennom kloakk (hos fugler, krypdyr og amfibier). Derfor har fekal vannforurensning enten antropogent eller zoologisk opphav (Fig. 1), dvs. kommer fra mennesker eller dyrs avføring (f.eks. husdyr, vilt eller fugler).

Fekal vannforurensning kommer fra både diffuse og punktkilder (Fig. 1) og det er ingen begrensning på hvilken type kilden som er fast bestemt av human eller animalsk fekal opprinnelsen. Det er godt dokumentert at utslippet fra punktkilder skjer både i urbane vassdrag og skog- jordbrukslandskap, og dette skyldes primært lekkasjer fra avløpsnett, avløpsanlegg eller husdyrdrift (Blankenberg m. fl. 2015; Paruch m. fl. 2017a). Også i byer og tettsteder kan dyr gi et betydelig bidrag til vannforurensning (Paruch & Paruch 2018). Fra alle disse kildene kan fekale smittestoffer forurense ulike vannkilder (drikkevann, vanning og bading) direkte eller indirekte fra jord og vegetasjon (gjennom jordbruksavrenning, vanning og organisk gjødsling) særlig etter hyppig og kraftig nedbør med påfølgende avrenning.

Forskjellige indikatorbakterier er benyttet for påvisning av fekal forurensning men en av de mest anvendte er *E. coli* (den viktigste bakteriegruppen innenfor termotolerante koliforme bakterier – TKB,





*Bacteroidales* 16S rRNA gener som det mest anvendte. *Bacteroidales* er en bakteriegruppe som er svært vanlig i tarmsystemet hos mennesker og andre varmblodige dyr. Spesielt arter av slekten *Bacteroides* utgjør den største populasjonen av gastrointestinale mikrober. De utgjør normalt omtrent 30% av totale fekale bakterier (Layton m. fl. 2006); dessuten denne prosentandelen kan strekke seg til over 50% av menneskets fekalf flora (Dick m. fl. 2005), med konsentrasjoner på milliarder celler per gram avføring (McQuaig m. fl. 2012). I tillegg er disse bakteriene obligatorisk anaerobe og har lite potensiale for vekst i miljøet (Dick m. fl. 2005; USEPA 2005). *Bacteroidales* genetiske markører er godt dokumentert gjennom faglige og vitenskapelige internasjonale undersøkelser som effektivt og vel validert til å identifisere forurensningskilder (Foley m. fl. 2009, Layton m. fl. 2006, Reischer m. fl. 2006, Shanks m. fl. 2008). Metodikken selv imidlertid kan ikke tilsi den dominerende kilde til fekal forurensning.

For å definere den mest dominerende forurensningskilden har NIBIO utviklet en analyseplattform ved bruk av bioinformatikk til å utformere et bidragsprofil av identifiserte fekale verter, altså å profilere bidragssamspill fra hver forurensningskilde. 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 metodikken ble først testet ut og benyttet av NIBIO i forskjellige vannkvalitetstester (Paruch m. fl. 2015; Paruch m. fl. 2016a,b,c; Paruch m. fl. 2017a,b; Paruch & Paruch 2018). Den NIBIOs metoden består av tre steg, som følgende:

1. *Mikrobiell påvisning av fekal forurensning*

Dette gjennomføres med hurtigmetoden Colilert®-18/Quanti-Tray (IDEXX Laboratories Incorporated, Westbrook, Maine, USA) som påviser og kvantifiserer både *E. coli* og koliforme bakterier. Metoden oppfyller internasjonale standarder, er EU og US EPA godkjent og inkludert i "Standardmetoder for Undersøkelse av Vann og Avløp" ("Standard Methods for Examination of Water and Wastewater"). Den internasjonale standardiseringsorganisasjonen ISO (International Organization for Standardization) har trukket tilbake ISO metoden 9308-2: 1990 (MPN rørmetode - multiple tube method, MPN - most probable number - mest sannsynlig antall) og erstattet den med Colilert®-18/Quanti-Tray, den nye verdens ISO-standard 9308-2: 2012. Metoden setter et krav til fortytning av salt-/brakkvann med en minimal faktor på 10 og derfor er det minste målbare antallet 10 MPN/100ml. I en slik type vann, er det bare *E. coli* målt. Normalt sett er 200.5 MPN/100ml som målegrense for ufortynnet prøve. Colilert®-18 Quanti-Tray metoden ble benyttet for undersøkelser av mikrobiologisk vannkvalitet i Norge i mange år og er beskrevet bla. i Paruch (2011).

2. *Molekylærbiologiske DNA-tester*

Bare prøvene som har slått ut påsativt for fekal forurensning (steg 1) er testet ut i steg 2. *E. coli* er ikke egnet for ytterligere identifikasjon av den bestemte forurensningskilden siden de ikke oppfyller kravene for en kildeidentifikator på en tilfredsstillende måte på grunn av sin lave vertsspesifisitet, replikasjon i miljøet og geografisk og tidsmessig variasjon (Farnleitner m. fl. 2010, Field and Samadpour 2007, USEPA 2005). Derfor, brukes det *Bacteroidales* bakterier som er vertsspesifikke og har fremvist geografisk stabilitet i blant annet USA, Canada, Europa, New Zealand og Japan (Sowah m. fl. 2017; Mieszkin m. fl. 2013; Kobayashi m. fl. 2013). DNA-tester baserer på sanntid kvantitativ polymerasekjedereaksjon (real-time quantitative polymerase chain reaction – qPCR) ved anvendelse av vertsspesifikke genetiske markører som stammer fra *Bacteroidales* 16S rRNA gener for sporing av fekale forurensningskilder. Disse DNA-markører har blitt testet og dokumentert med høy sensitivitet og spesifisitet i mange internasjonale forsøk, både i laboratorieskala og i feltstudier globalt (Dick m. fl. 2005, Lamendella m. fl. 2009, Layton m. fl. 2006, Reischer m. fl. 2007, Shanks m. fl. 2008, Tambalo m. fl. 2012).



### 3. Bidragsprofil av genetiske markører

Det er ikke noen gode korrelasjoner mellom *Bacteroidales* vertsspesifikke markører og *E. coli* (Harwood m. fl. 2014). Derfor er bidragsprofilen benyttet i NIBIOs metodikk basert på kvantitative resultater av enhver DNA-markør identifisert i undersøkt prøven (steg 2), dvs. alle resultatene fra mikrobiell kildeopsporing er derfor presentert som bidragsprofil i prosent av markører (altså ikke *E. coli*) i fekale vannforurensninger. NIBIO har etablert et sett med fem genetiske markører for fire vertsspesifikke kilder, som:

- 1) mennesker,
- 2) hester,
- 3) griser,
- 4) drøvtyggere, dvs. samlegruppe for storfe (kyr), småfe (sau og geit), og hjortedyr (f.eks. rådyr, rein, hjort, og elg),

og en uspesifisert kilde,

- 5) andre dyrearter, dvs. samlegruppe for øvrige varmblodige dyr (f.eks. hund, katt, fugler, ville dyr, osv.).

## 2 Prosjektområdet og prøvematerialet

Fredrikstad kommune har særlig fokus på fekal vannforurensning i **Hunnebunn** (Fig. 2) som er et populært område for rekreasjon og friluftsliv for Fredrikstads innbyggere. Hunnebunn er en brakkvannspoll (et marin basseng med begrenset vannutskiftning på grunn av en trang og grunn terskel ved munningen), og ligger på grensen mellom Fredrikstad og Sarpsborg kommuner i Østfold, Sydøst-Norge (Fig. 3).

Pollen utgjør delvis en innsjø og en grunn fjord (med vannet lagdelt på ca. 2-4 m dyp med største dyp på 11 meter) som tilhører vanntypen «sterkt ferskvannspåvirket fjord» (Handlingsplan Hunnebunn 2019). Den er påvirket av kystvannet utenfor via en lang (2 km) og trang (med terskeldyp på ca. 1,2 m) kanal gjennom **Talbergsundet**.

Kanalen forbinder Hunnebunn med sjøområdet via **Tosekilen** og videre med fjordområdet gjennom Singlefjorden (Fig. 3). Både Tosekilen, kanalen i Talbergsundet og Hunnebunn danner grensen mellom Fredrikstad og Sarpsborg kommuner (Fig. 2 og 3).

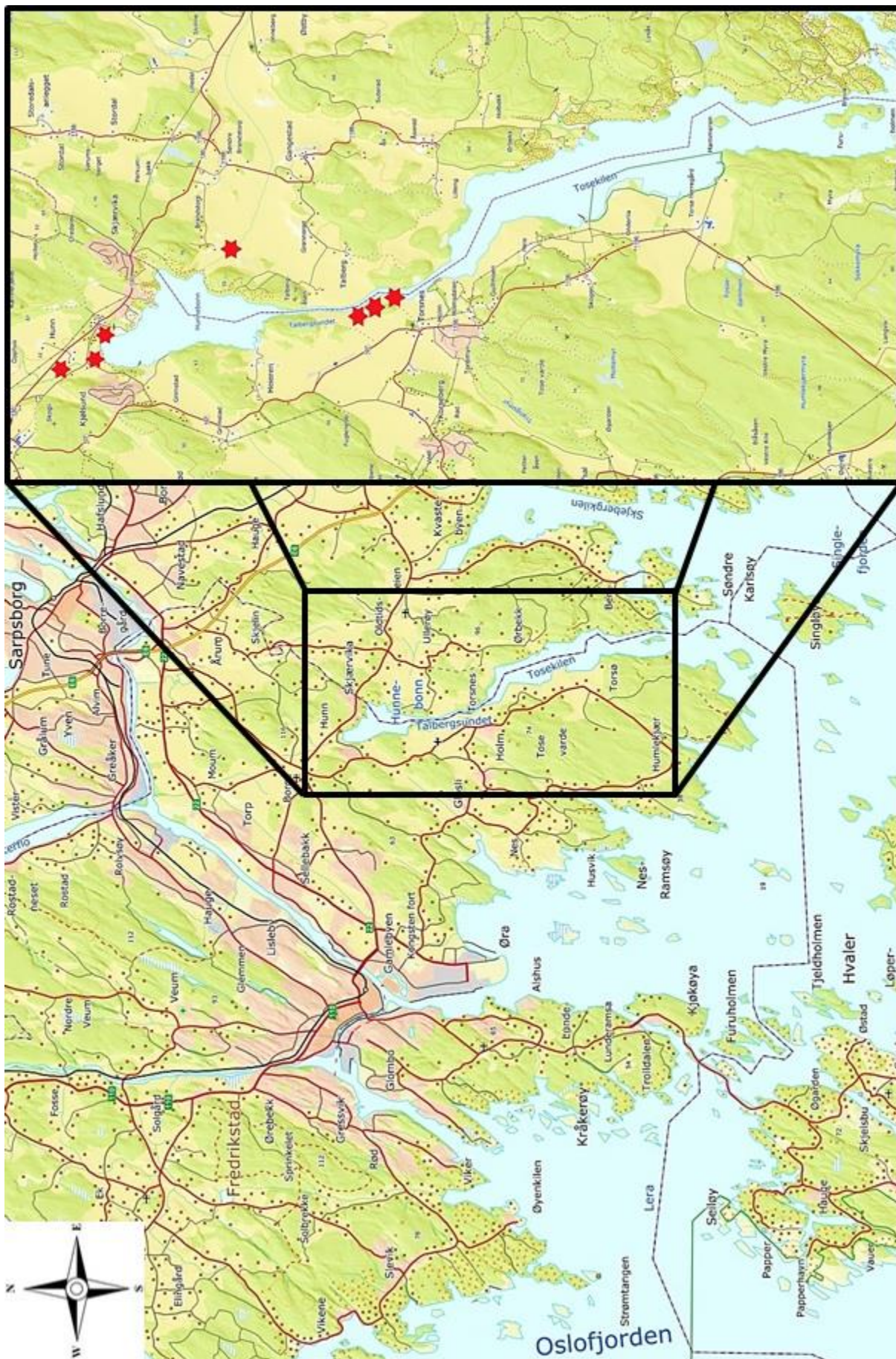
Fredrikstad kommune valgte en rekke prøvetakingssteder (syv prøvetakingspunkter, Fig. 3) for å gjennomføre prosjektet i området rundt Hunnebunn. Ved seks lokaliteter ble ferskvannsprøver tatt ut mens ett prøvetakingspunkt ble brukt for salt-/brakkvannsprøver.

Prøvene ble tatt ut ved seks prøverunder (11 juni, 25 juni, 6 august, 20 august, 3 september og 17 september 2019). I hele prosjektperioden (juni - september 2019) ble det tatt ut til sammen 28 vannprøver hvorav seks var salt-/brakkvannsprøver.



Figur 2. Hunnebunn, Talbergsundet og Tosekilen.  
Kart: <https://kilden.nibio.no>





Figur 3. Lokalisering av prosjektmrådet og syv prøvetakssteder (★). Kart: <https://kilden.nibio.no>

## 2.1 Prøvetaking, -håndtering og -forsendelse

Alle vannprøver ble tatt ut med hensyn til spesielle restriksjoner for mikrobiologiske analyser, som omfatter bla. godkjent emballasje, preservering (om nødvendig), oppbevaring og sikkert transportering. Dette ble gjennomført etter følgende rutiner:

- Vannprøven (500 ml) tas direkte i en steril flaske.
- For vann som er klorbehandlet (desinfisering av vannet, vanligvis drikkevann/kranvann) må flasken inneholder thiosulfat til å nøytralisering rester av klor).
- Flasken fylles med vann nesten helt opp (ca. 4/5 full).
- Flasken merkes på vanlig måte (navn/prøvested og dato).
- Flasken merkes med prøvetype, f.eks. ferskvann, saltvann eller drikkevann.
- Prøven oppbevares nedkjølt ved 4-8 grader Celsius og må ikke fryses.
- Vannprøven leveres laboratoriet så snart som mulig, helst innen 24 timer.

Vannprøver ble sent som ekspresspost til NIBIO i Ås for å teste om fekal vannforurensning kommer fra mennesker, drøvtyggere eller andre dyrearter.

## 2.2 Ferskvannsprøver

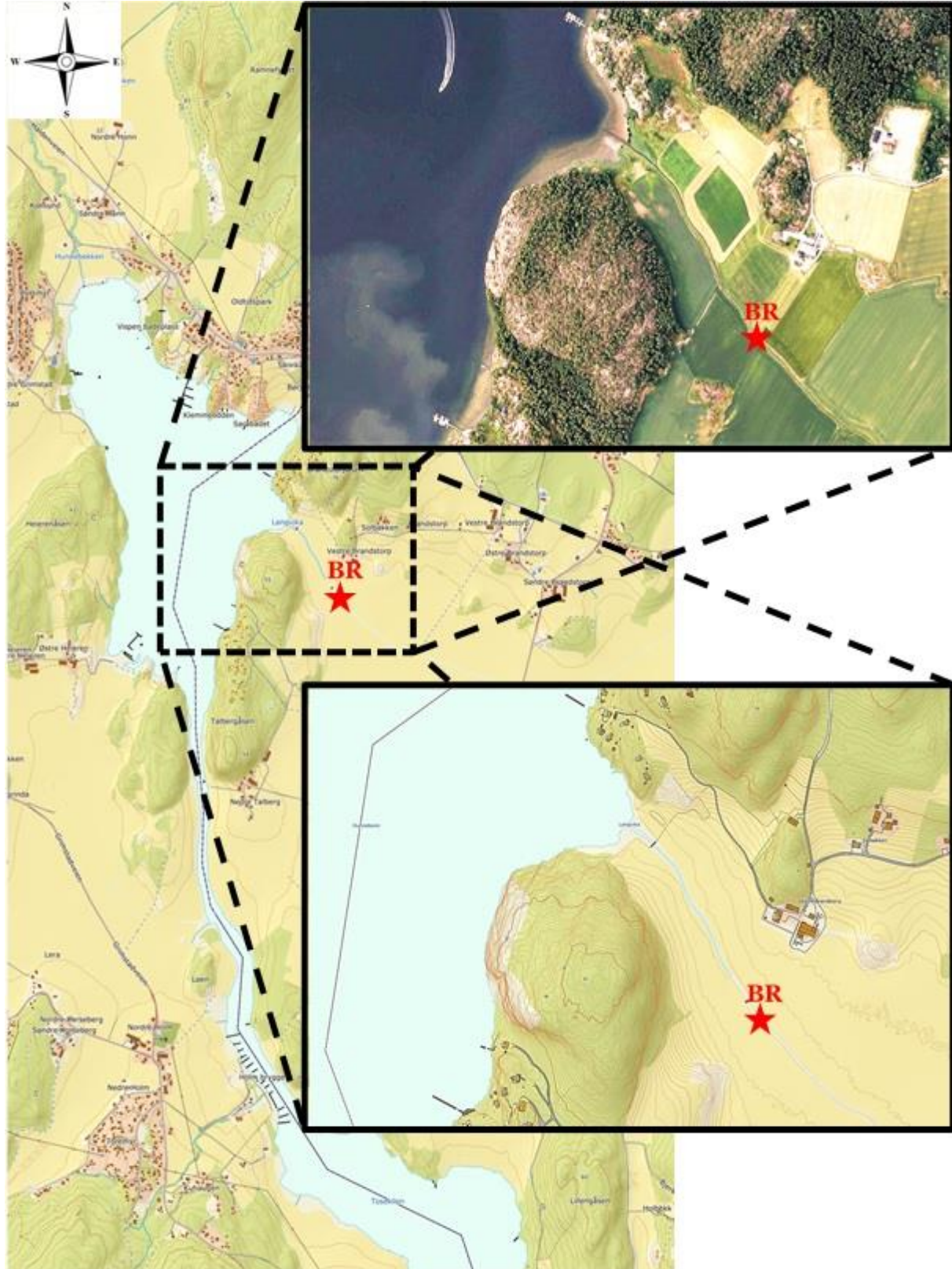
I løpet av prosjektperioden ble tre prøvetakingssteder bestemt (en i Brandstorpbecken og to i Hunnbekken) for alle seks prøverunder. I tillegg ble det tatt ut enkelte stikkprøver fra tre andre steder (en i Talbergsundet og to i Korsbergbecken). Disse seks prøvetakingslokaliteter ble merket som følgende:

- Brandstorpbecken (BR)
- Hunnbekken oppstrøms pumpestasjon (HO)
- Hunnbekken nedstrøms pumpestasjon (HN)
- Korsbergbecken (KB)
- Korsbergbecken II (KBII)
- Talbergsundet II (TII).



### 2.2.1 Brandstorpbecken

Lokaliteten BR ligger ca. 400 meter oppstrøms utløpet av Brandstorpbecken ved Langvika i Sarpsborg kommune (Fig. 4). Vannprøvene fra BR ble tatt ut ved alle anledninger, dvs. seks prøver ble testet ut gjennom mikrobiell kildesporing av fekal forurensning.

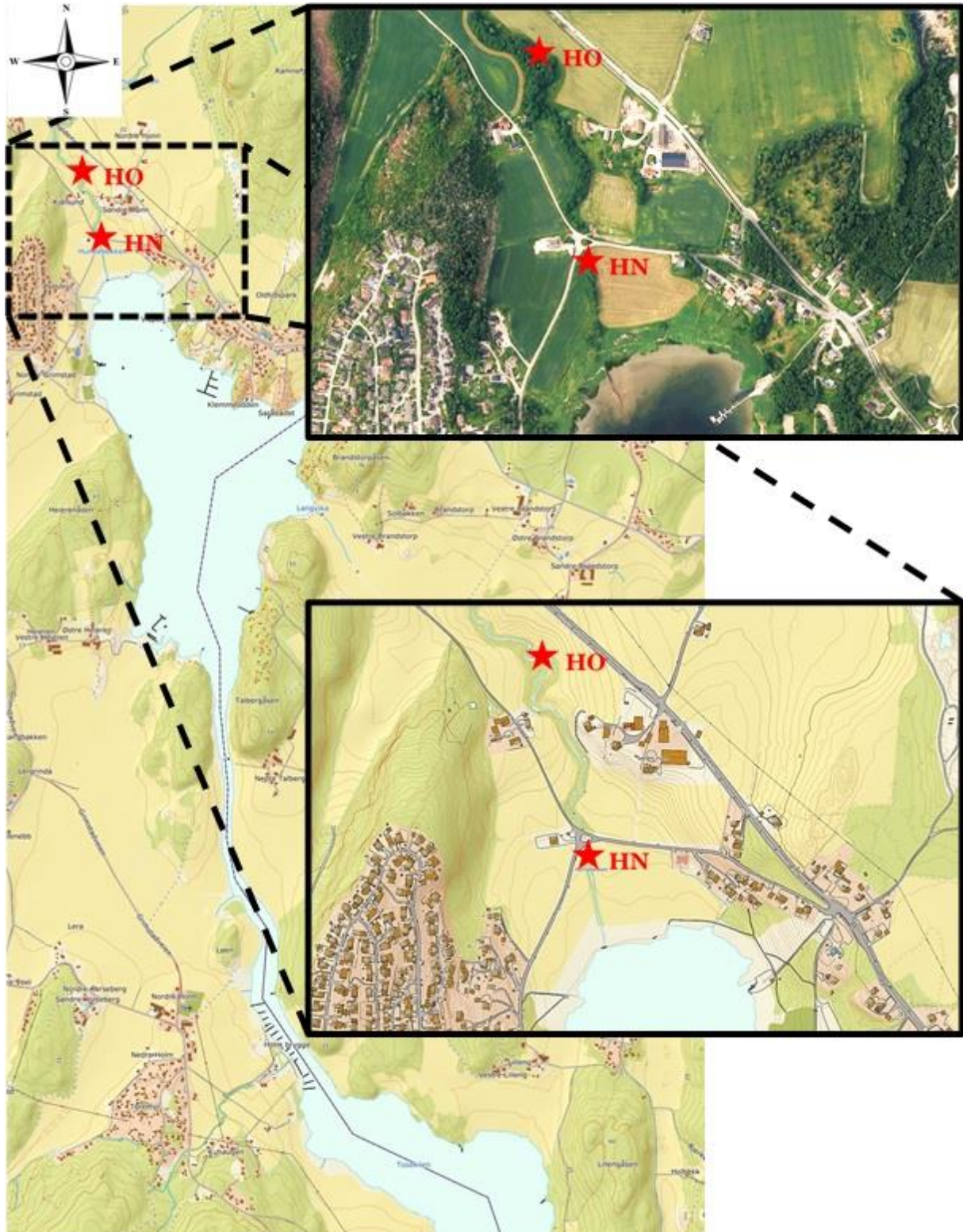


Figur 4. Lokalisering av prøvepunkt i Brandstorpbecken (BR ★). Kart: <https://kilden.nibio.no>



## 2.2.2 Hunnbekken

I nærheten av Hunnbekkens utløp (ca. 200 meter oppstrøm) ligger Fredrikstad kommunes pumpestasjon. Overløpsvannet fra Hunn pumpestasjon ledes til Hunnbekken. Stasjonen er utstyrt med fordrøyningstank (med kapasitet til avløpsmengder tilsvarende ett døgn i tørrvær) som reduserer overløpsdriften (Handlingsplan Hunnebuun 2019). Vannprøvene fra Hunnbekken ble tatt ut ved alle anledninger fra to prøvepunkter lokalisert oppstrøms (HO) og nedstrøms (HN) pumpestasjon (Fig. 5).



Figur 5. Lokalisering av prøvepunkter i Hunnbekken (HO og HN ★). Kart: <https://kilden.nibio.no>

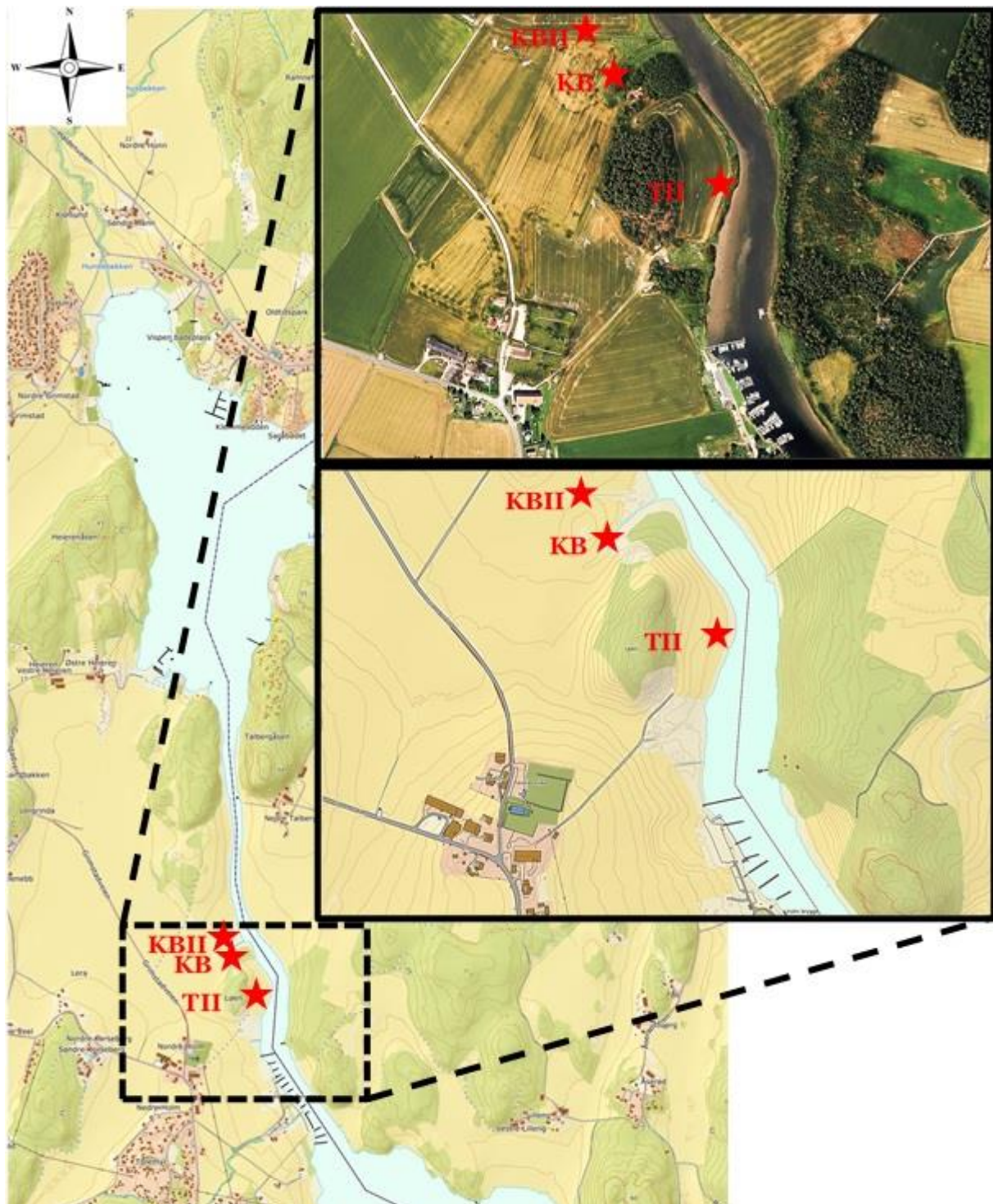


### 2.2.3 Korsbergbekken

Vannet fra Korsbergbekken ble tatt fra to prøvepunkter (KB og KBII, Fig. 6) ved to siste prøverunder (3 september kun fra KB og 17 september 2019 fra begge lokaliteter).

### 2.2.4 Talbergsundet

Prøvetakingspunkt TII ble undersøkt kun en gang ved siste anledning (17 september 2019). TII ligger ved kanal i Talbergsundet nær Tosekilen (Fig. 6).

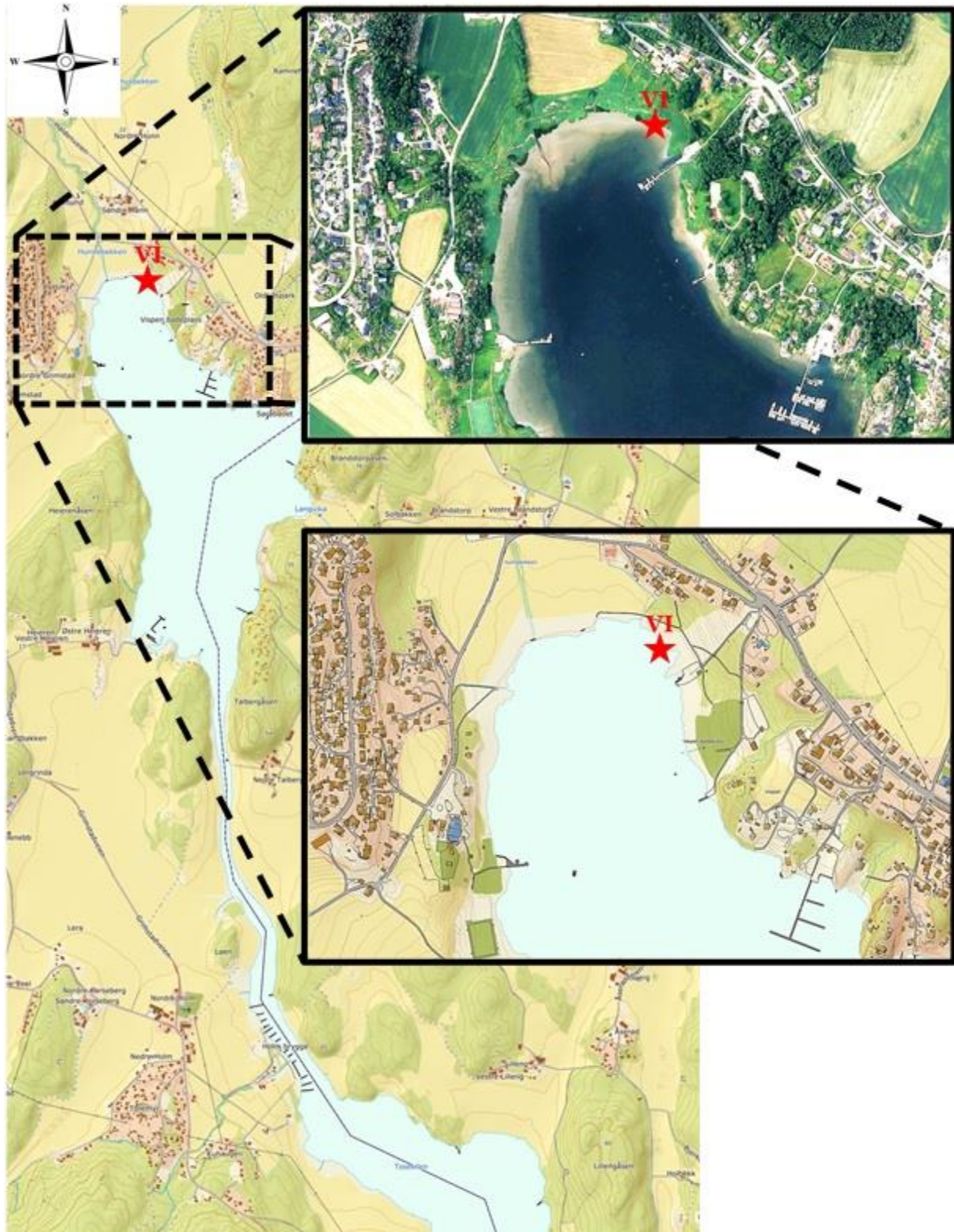


Figur 6. Lokalisering av prøvepunkter i Korsbergbekken og Talbergsundet (KB, KBII og TII ★).  
Kart: <https://kilden.nibio.no>



## 2.3 Salt-/brakkvannsprøver fra Vispen badeplass

Ved hver prøvetakingsrunde ble det tatt ut vann fra Vispen badeplass, dvs. seks salt-/brakkvannsprøver (VI). Badeplassen ligger innerst i Hunnebuenn (Fig. 7), den har både svaberg og sandstrand, og er et viktig rekreasjonsområde for nærmiljøet (Handlingsplan Hunnebuenn 2019).



Figur 7. Lokalisering av prøvepunkt i Vispen badeplass (VI ★). Kart: <https://kilden.nibio.no>

## 3 Resultater

Funn fra prosjektet har blitt fortløpende rapportert til oppdragsgiver i korte analyserapporter etter hver prøverunde (Vedlegg 1 – 6). I hver analyserapport ble det presentert data fra undersøkelsen gjennomført ved bruk av mikrobiell kildesporing av fekal forurensning (dvs. NIBIOs tre stegs metode med mikrobiologiske analyser og molekylærbiologiske tester).

I denne rapporten presenteres sammenstilling av data fra alle undersøkelser i løpet av prosjektperioden juni - september 2019. I tillegg gir rapporten en generell oversikt over resultatene for hvert av prøvepunktene (BR, HO, HN, KB, KBII, TII og VI). Følgelig er resultatene fra både mikrobiologiske analyser og molekylærbiologiske tester presentert separert for:

- Brandstorpbecken (BR) ved seks prøverunder (11 og 25 juni, 6 og 20 august, og 3 og 17 september 2019)
- Hunnbekken oppstrøms pumpestasjon (HO) ved seks prøverunder (11 og 25 juni, 6 og 20 august, og 3 og 17 september 2019)
- Hunnbekken nedstrøms pumpestasjon (HN) ved seks prøverunder (11 og 25 juni, 6 og 20 august, og 3 og 17 september 2019)
- Korsbergbekken (KB) ved to prøverunder (3 og 17 september 2019)
- Korsbergbekken II (KBII) ved siste prøverunde (17 september 2019)
- Talbergsundet II (TII) ved siste prøverunde (17 september 2019)
- Vispen badeplass (VI) ved seks prøverunder (11 og 25 juni, 6 og 20 august, og 3 og 17 september 2019)

En slik datapresentasjon gjenspeiler variasjon av fekal vannforurensning i den aktuelle lokaliteten over tid. Den viser også en trend med hensyn til fekal forurensningstilførsel og den dominerende kilde med et klart bidrag i forurensningen.

### 3.1 Ferskvannsprøver

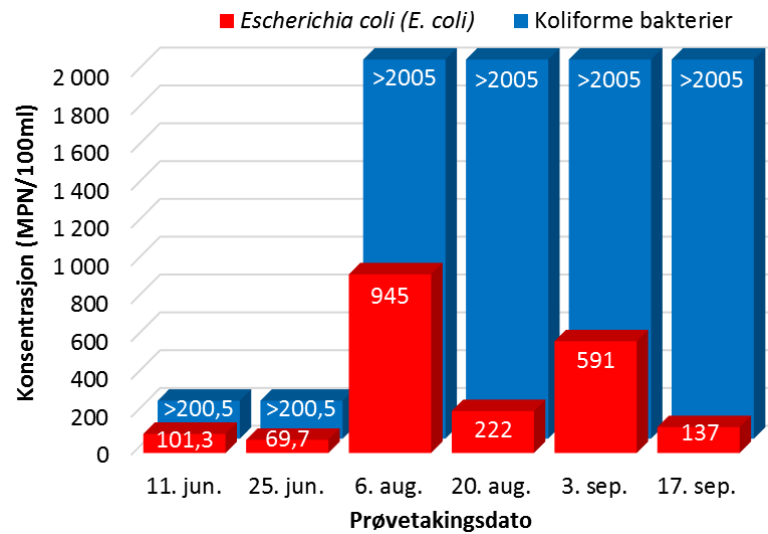
Ved de to første prøverundene (11 og 25 juni 2019) ble alle vannprøvene analysert uten fortynning, mens i de øvrige anledninger (6 og 20 august, og 3 og 17 september 2019) ble alle prøvene fortynnet  $10^{-1}$  før hver mikrobiologiske analyse.

Resultatene fra mikrobiologiske analyser (steg 1 i mikrobiell kildesporing-metoden) viste at alle ferskvannsprøver var fekalforurenset, iht. *E. coli* påvisning og kvantifisert konsentrasjon. Derfor ble alle testet videre med fokus på om forurensningen (generell fekal, ikke *E. coli* konsentrasjoner) kommer fra mennesker, drøvtyggere og andre dyrearter (steg 2 i metoden). Til slutt ble det definert hvem av disse som utgjør den dominerende kilde til fekal vannforurensning (steg 3 i metoden).

### 3.1.1 Brandstorpbecken

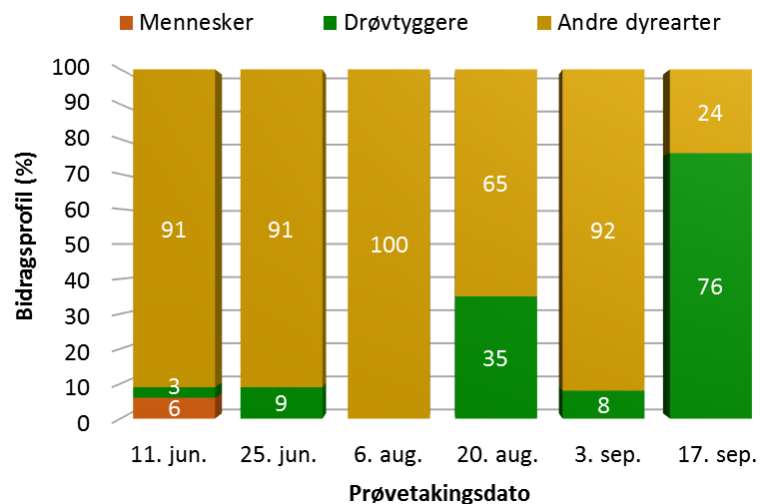
Resultatene fra mikrobiologiske analyser (Fig. 8) viser at prøven tatt ut 6 august ble mest fekalt forurenset (iht. høyest *E. coli* konsentrasjon på 945 MPN/100ml). Lavest konsentrasjon av *E. coli* (69,7 MPN/100ml) ble målt 25 juni.

I tillegg viste koliforme bakterier høyere konsentrasjoner enn målegrense ved alle prøverunder.



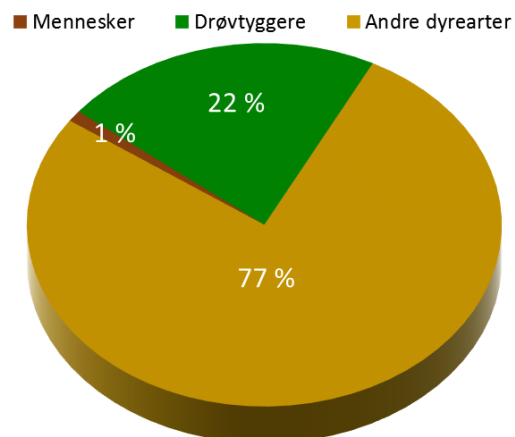
Figur 8. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (E. coli)

Funn fra molekylærbiologiske tester avslører at dominerende kilde til fekal forurensing ikke stammer fra mennesker (Fig.9). Dominerende bidrag til fekal forurensing fra andre dyrearter (65%-100%) ble definert ved alle anledninger, unntatt siste prøverunde da drøvtyggere bidro mest (76%). Selv om dyr var den mest dominerende kilden til fekal forurensing i alle prøver ble det også funnet antropogen fekal opprinnelse i første prøve tatt ut 11 juni.



Figur 9. Bidragsprofil av markører i fekal forurensing

Sammenstilte resultater fra molekylærbiologiske tester (Fig. 10) viser en generell trend om at fekal forurensing i Brandstorpbecken ved prøvepunkt BR kommer fra zoologiske kilder, hovedsakelig (77%) fra andre dyrearter, f.eks. hund, katt, fugler og ville dyr. Videre utgjorde drøvtyggere opp til 22% av totalt bidrag, mens mennesker hadde et lite bidrag på kun 1%.



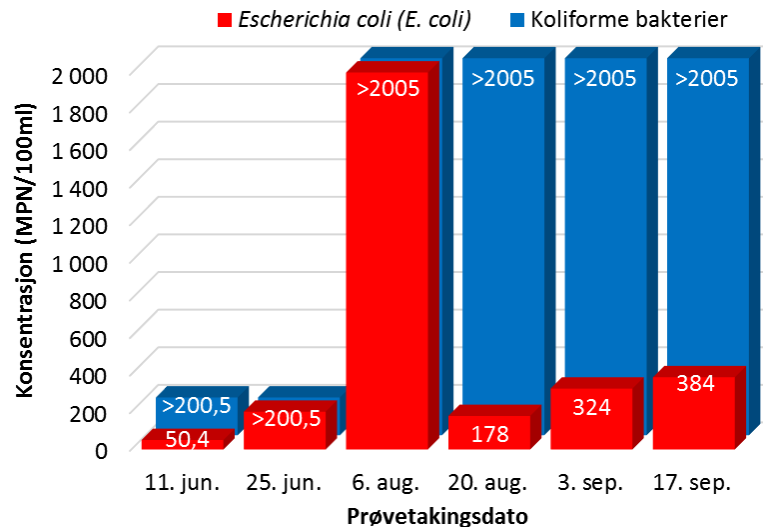
Figur 10. Total bidragsprofil av markører i fekal forurenset vann

### 3.1.2 Hunnbekken

Vann fra to prøvepunkter (HO og HN) ble testet ut og resultatene er presentert for hvert prøvepunkt.

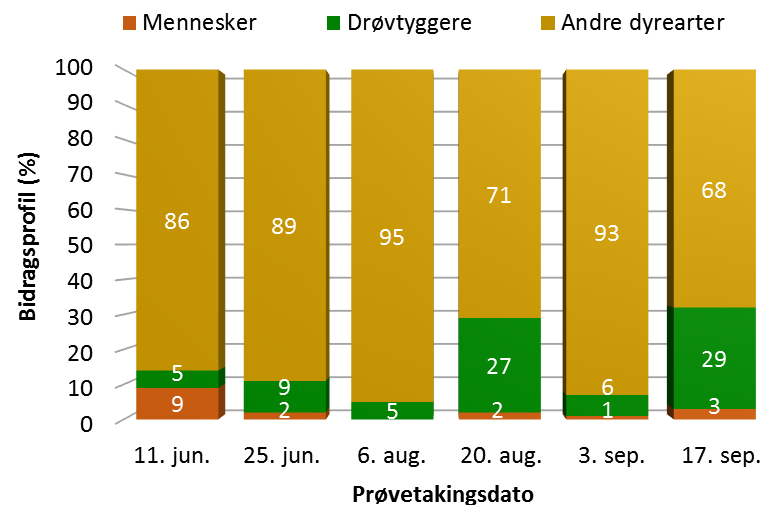
#### 3.1.2.1 Hunnbekken oppstrøms pumpestasjon

Mikrobiologiske undersøkelser viste at alle prøver tatt fra punkt HO inneholdt et høyt antall (over analysegrenseverdi) av koliforme bakterier (Fig. 11). På samme nivå var også *E. coli* konsentrasjoner i to prøver fra 25 juni og 6 august. Lavest konsentrasjon av *E. coli* (50.4 MPN/100ml) ble målt i 11 juni.



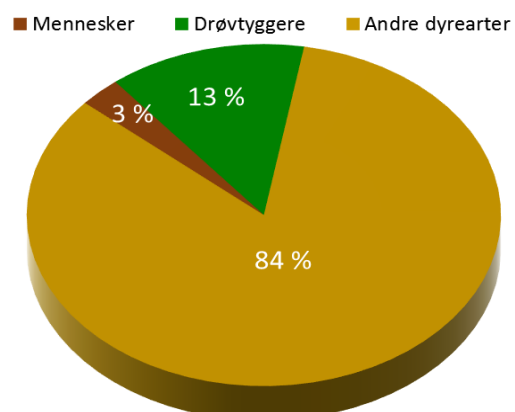
Figur 11. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*)

Molekylærbiologiske tester indikerte at det var andre dyrearter som bidro mest (68%-95%) i fekale utslipp til vann (Fig. 12). Det ble også funnet spor av genetiske markører for drøvtyggere ved alle anledninger (høyest bidrag på 29% den 17 september) og fra mennesker (høyest bidrag på 9% den 11 juni), mens prøven fra 6 august ikke inneholdt bidrag fra mennesker.



Figur 12. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning

Generell, ble det definert at den fekale vannforurensingen ved prøvepunkt HO hovedsakelig kommer fra andre dyrearter (totalt bidrag på 84%, Fig. 13). Det var også noen bidrag fra drøvtyggere (13%) og et lite bidrag fra mennesker (3%).

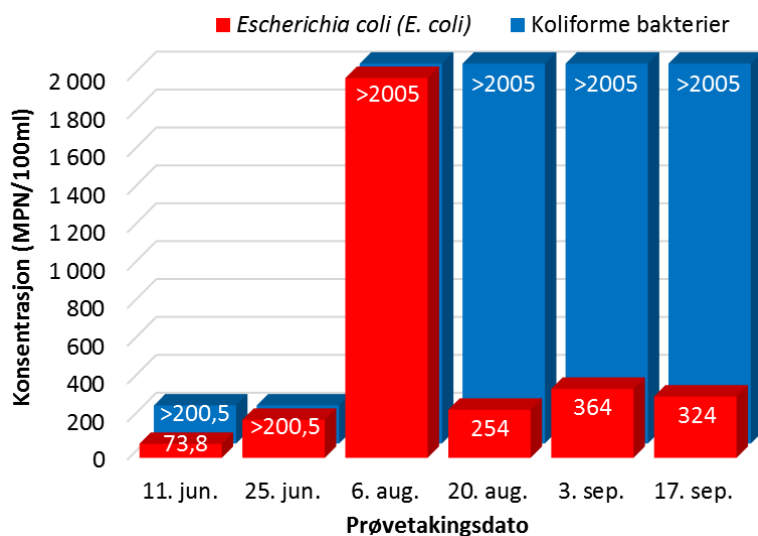


Figur 13. Total bidragsprofil av markører i fekal forurenset vann



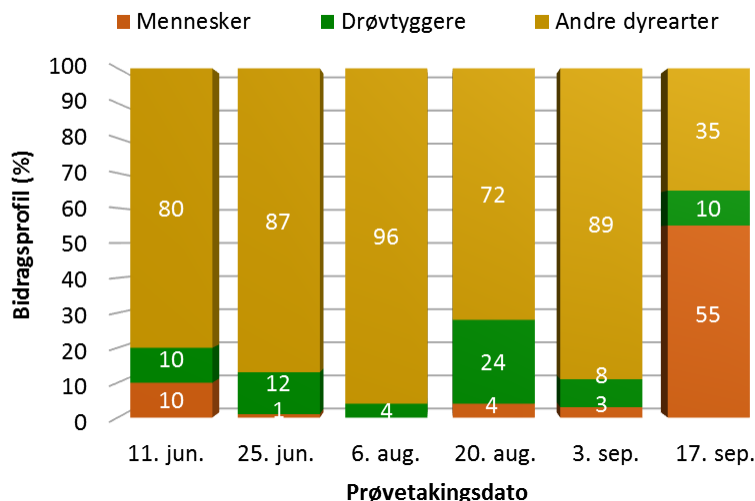
### 3.1.2.2 Hunnbekken nedstrøms pumpestasjon

Alle vannprøver tatt fra punkt HN inneholdt et høyt antall (over analysegrenseverdi) av koliforme bakterier (Fig. 14). Tilsvarende verdier av *E. coli* ble også målt i to prøver fra 25 juni og 6 august. Lavest konsentrasjon av *E. coli* (73,8 MPN/100ml) ble funnet ved første prøverunde i 11 juni.



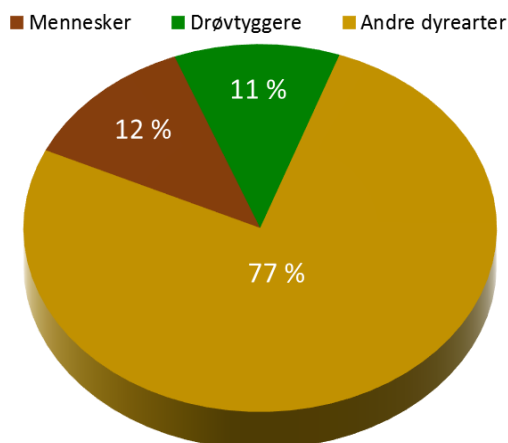
Figur 14. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*)

De fleste vannprøvene viste at dominerende kilde til fekal forurensing ikke var fra mennesker (Fig.15). Likevel ble det definert et viktig antropogent bidrag (55%) ved siste prøverunde. Dessuten ble det funnet genetisk spor av mennesker ved alle anledninger unntatt 6 august. Ellers ble det definert at det dominerende bidrag i fekal vannforurensing er fra andre dyrearter (72%-96%). I tillegg ble også fekal bidrag fra drøvtyggere funnet (4%-24%).



Figur 15. Bidragsprofil av markører i fekal forurensing

Generelt var andre dyrearter den største tilførselskilde for fekal vannforurensing (totalt bidrag på 77%) ved prøvepunkt HN (Fig. 16). Øvrig bidrag var fra mennesker (12%) og drøvtyggere (11%).



Figur 16. Total bidragsprofil av markører i fekal forurenset vann

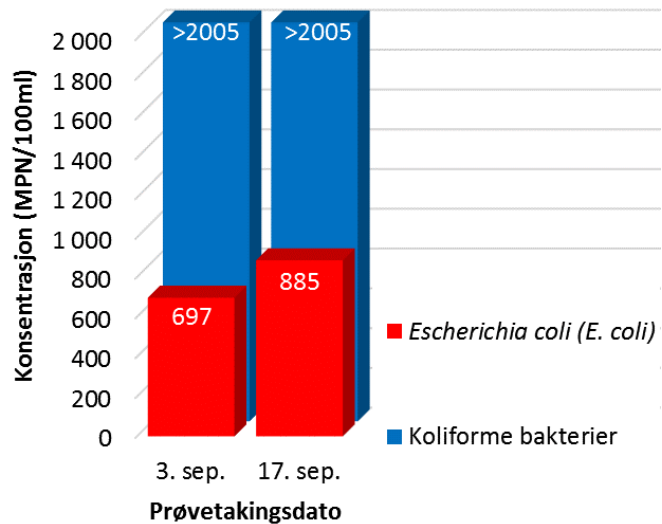


### 3.1.3 Korsbergbekken

Korsbergbekken ble undersøkt i to lokaliteter (KB og KBII) ved to siste prøverunder. Resultatene er presentert for hvert lokalitet.

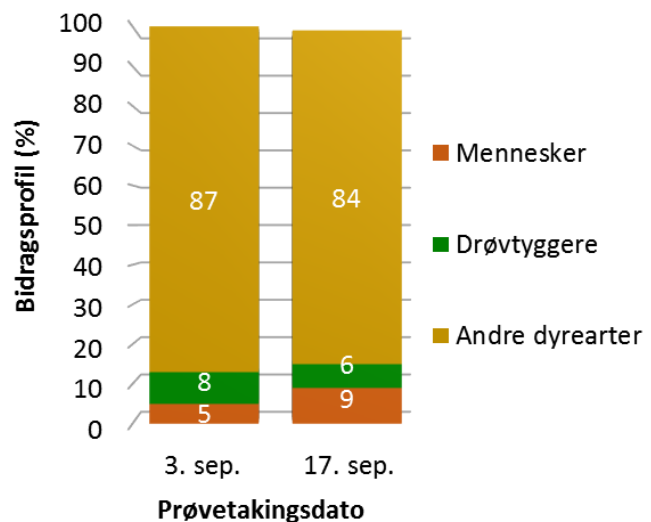
#### 3.1.3.1 Korsbergbekken KB

Begge vannprøver tatt fra lokalitet KB viste høye konsentrasjoner (over analysegrenseverdi) av koliforme bakterier (Fig. 17), men *E. coli* antallet var adskillig lavere. Høyeste *E. coli* konsentrasjon (885 MPN/100ml) var målt i 17 september.



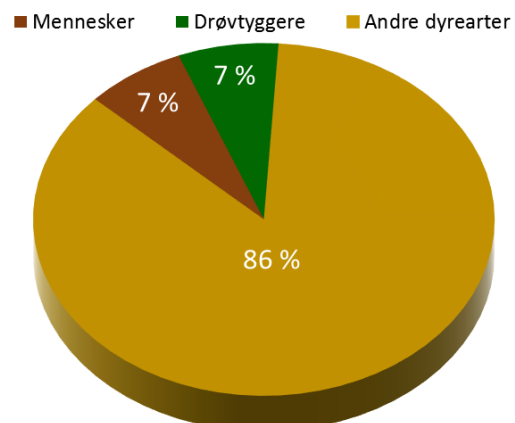
Figur 17. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*)

Det ble funnet spor av genetiske markører for andre dyrearter (med en dominant trend, dvs. høyest bidrag på 87% og 84%), drøvtyggere (bidrag på 8% og 6%) og mennesker (bidrag på 5% og 9%).



Figur 18. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning

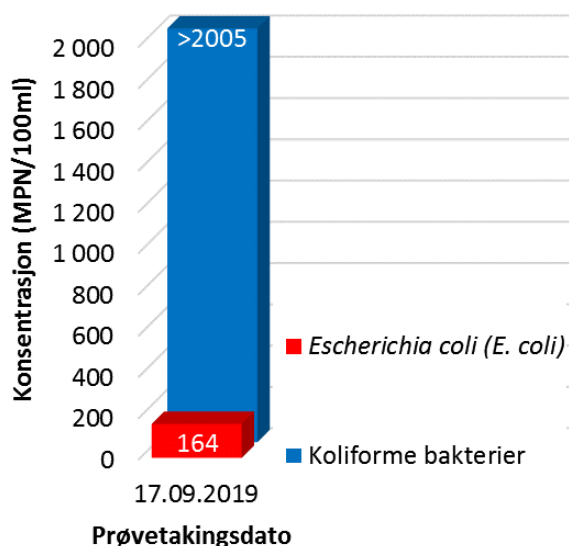
Totalt fekal bidrag fra mennesker og drøvtyggere var på 7% hver (Fig. 19), mens det dominerende bidrag i fekal vannforurensning ved lokalitet KB var fra andre dyrearter (86%)



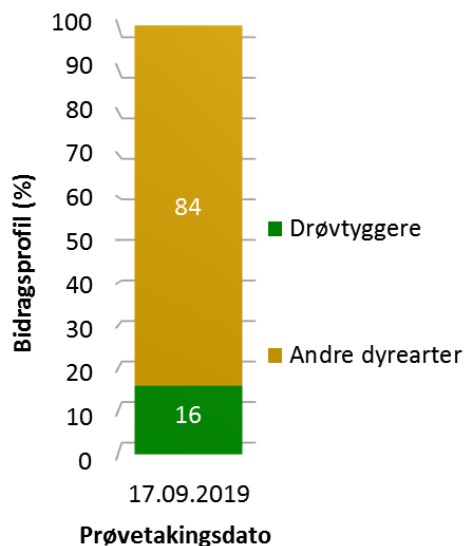
Figur 19. Total bidragsprofil av markører i fekal forurenset vann

### 3.1.3.2 Korsbergbekken KBII

Kun en prøve ble tatt ut fra lokalitet KBII. Den viste høyt antall (over analysegrenseverdi) av koliforme bakterier og *E. coli* konsentrasjon på 164 MPN/100ml (Fig. 20). Molekylærbiologiske tester avslørte at kilden til fekalforurensing i prøven ikke var fra mennesker, dvs. antropogent fekal vannforurensing ble ikke funnet (Fig. 21). Det ble funnet spor av genetiske markører for drøvtyggere (bidrag på 16%) og andre dyrearter (bidrag på 84%).



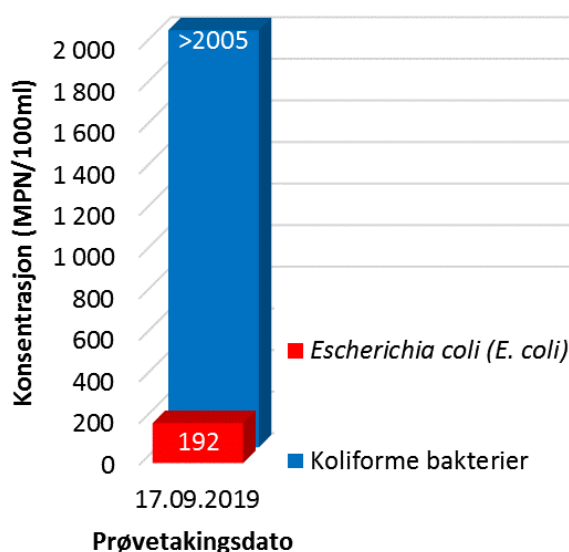
Figur 20. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*)



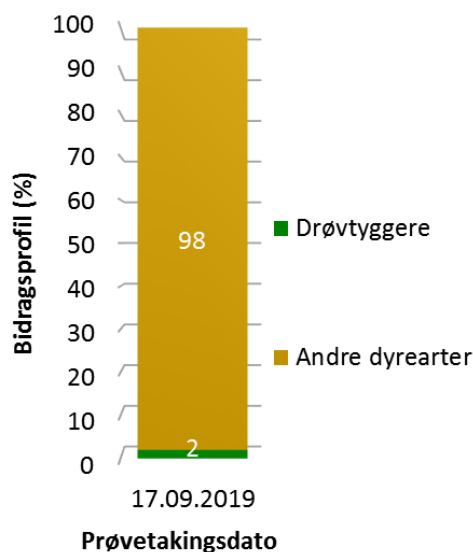
Figur 21. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning

### 3.1.4 Talbergsundet

Vannprøven som ble tatt fra Talbergsundet (punkt TII) ved siste anledning (17 september) viste høyt antall (over analysegrenseverdi) av koliforme bakterier og *E. coli* konsentrasjon på 192 MPN/100ml (Fig. 22). Antropogen fekal vannforurensing ble ikke funnet i prøven (Fig. 23). Forurensingen ved prøvepunkt TII var fra to zoologiske kilder, hovedsakelig (98%) fra andre dyrearter (f.eks. hund, katt, fugler og ville dyr) og drøvtyggere (2%).



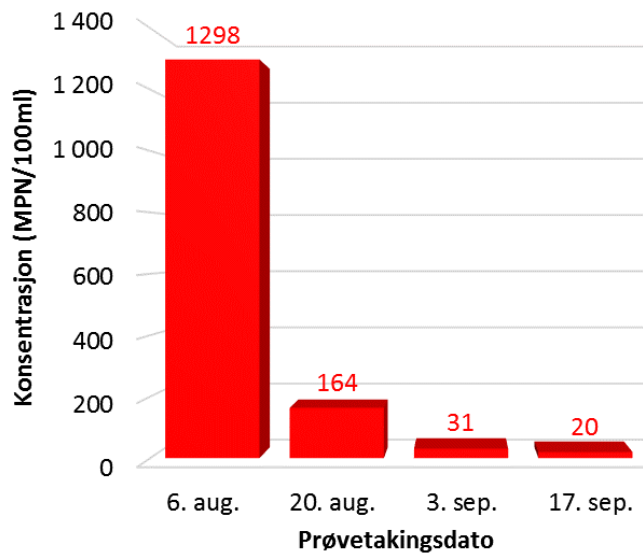
Figur 22. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*)



Figur 23. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning

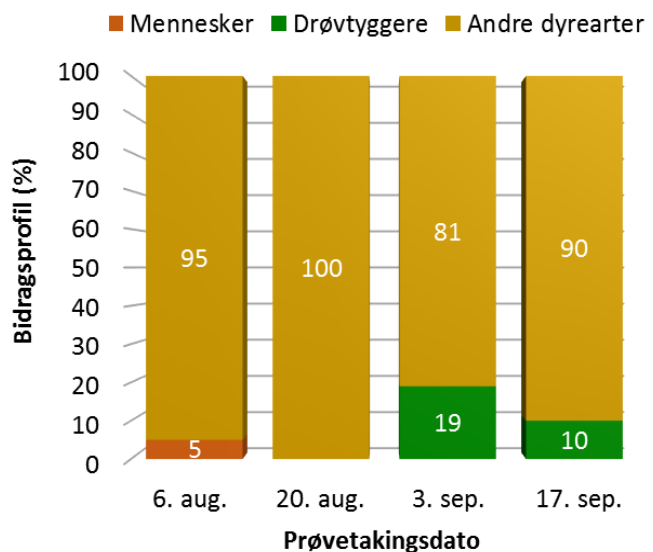
## 3.2 Salt-/brakkvannsprøver fra Vispen badeplass

Alle prøvene tatt ut ved alle seks prøverunder fra Vispen badeplass (prøvepunkt VI) ble fortynnet  $10^{-1}$  før hver mikrobiologisk analyse. Kun *E. coli* bakterier ble testet ut i salt-/brakkvannsprøver. Ved de to første prøverundene (11 og 25 juni 2019) var bakterier ikke påvist og derfor ble ikke undersøkelsen på sporing av fekale forurensningskilder gjort i disse prøvene. Ved alle øvrige prøver og anledninger ble fekal vannforurensning funnet (Fig. 24) med høyest *E. coli* konsentrasjon på 1298 MPN/100ml (målt 6 august) og lavest på 20MPN/100ml (målt 17 september).



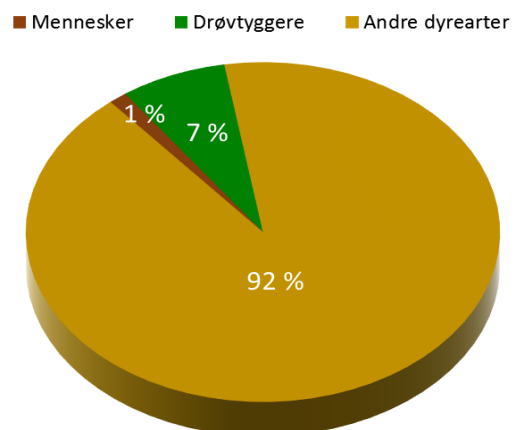
Figur 24. Konsentrasjoner av *Escherichia coli* (*E. coli*)

Fekalforurensede prøver viste at den dominerende kilden til vannforurensing ikke var fra mennesker (Fig. 25). Likevel ble det funnet antropogen fekal opprinnelse i prøven tatt ut 6 august (fekalt bidrag på 5%). Ellers ble det definert at den mest dominerende kilden var andre dyrearter (med bidrag fra 81% til 100%). I tillegg ble også fekal bidrag fra drøvtyggere (19% og 10%) funnet i vannet ved de to siste prøverundene.



Figur 25. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning

Det ble observert en generell trend ved at den dominerende kilden til fekal forurensing i Vispen badeplass ved prøvepunkt VI kommer fra andre dyrearter (92% totalt bidrag fra f.eks. hund, katt, fugler og ville dyr, Fig. 26). De øvrige kilder utgjør mindre fekal forurensingstilførsel, dvs. 7% totalt bidrag fra drøvtyggere og et lite bidrag på 1% fra mennesker.



Figur 26. Total bidragsprofil av markører i fekal forurenset vann

## 4 Diskusjon

Funn av *E. coli* bakterier indikerer fekal forurensing, men *E. coli* analysen alene kan ikke gi informasjon om den faktiske forurensningskilden er mennesker eller dyr, dvs. hvor forurensingen kommer fra (Paruch m. fl. 2017a). Tilførsel av fekal forurensing til miljøet kan spre ulike mikrober som utgjør en helseisiko (Paruch & Paruch 2018). Derfor er informasjon om kildene nødvendig for å kunne iverksette effektive tiltak mot tilførsler og dermed redusere eksponering og helseisiko. Dessuten er det viktig å finne ut hva som er den dominerende kilden (høyeste fekale bidrag) for å foreta de riktige tiltakene. NIBIOs DNA-baserte metode for mikrobiell kildeopsporings av fekal forurensning kan finne den dominerende kilden til fekal forurensning. Derfor bestemte Fredrikstad kommune seg for å undersøke alle fekal forurensete vannprøver for å spore hva som er kilden til forurensningen (dvs. antropogener eller zoologiske/naturlige årsaker) og videre skille i hvilken grad fekal forurensningen kommer fra mennesker eller fra hvilke dyrearter.

En rekke sektorer (f.eks. næringsliv, bebyggelse og landbruk) bidrar til spredning av fekal forurensning i miljøet (Paruch m. fl. 2015; Paruch m. fl. 2017b; Paruch & Paruch 2018). De mest benyttede indikatorer på fekal forurensning er *E. coli* bakterier (Paruch & Mæhlum 2012). Disse finnes utelukkende i fekalier fra varmblodige dyr og mennesker, og formerer seg ikke nevneverdig i miljøet. Det er derfor *E. coli* (ikke koliforme bakterier eller termotolerante koliforme bakterier) nærmest en garanti for fekal forurensning. Ofte kan et høyt antall av *E. coli* bli funnet ved høyt antall av koliforme bakterier, men en slik tendens ikke er en regel. Som vist i denne rapporten, er høye konsentrasjoner av koliforme bakterier ingen garanti for høye *E. coli* konsentrasjoner. Faktisk hadde flest vannprøver som ble testet ut i løpet av dette prosjektet lave *E. coli* konsentrasjoner sammen med de høye konsentrasjoner (over analysegrenseverdi) av koliforme bakterier. Dette er et velkjent fenomen siden koliforme bakterier finnes frittlevende i vann, jord og planter, og derfor omtales som «miljøbakterier» (Paruch & Mæhlum 2012). Informasjon om koliforme bakterier gir kun en generell bakteriell bakgrunn, og derfor er det et viktig prinsipp for determinering av fekal vannforurensing at *E. coli* bør være i hovedfokus. Det er dermed *E. coli* som benyttes til reell fekal indikatorbakterie (Paruch & Mæhlum 2012). Derfor ble også disse bakterier omfattet i EUs nye badevannsdirektiv (EU Directive, 2006) som erstatning for fekale koliforme bakterier i tidligere EU-regelverk.

Det var et begrenset antall vannprøver per lokalitet, derfor ble ikke en omfattende vurdering av vannkvaliteten gjort iht. EUs badevannsdirektiv. Likevel ble resultatene av *E. coli* fra prosjektet sammenlignet med EUs krav, og dessuten ble en generell badevannskvalitet evaluert.

De høyeste *E. coli* konsentrasjoner (over målingsgrensen i fortynnet prøve, dvs. > 2005 MPN/100ml) ble påvist i to ferskvannsprøver HO og HN tatt ut 6 august 2019 fra Hunnbekken henholdsvis oppstrøms og nedstrøms pumpestasjonen. Den dagen var det styrtregn og Fredrikstad kommune registrerte overløp fra pumpestasjonen i Hunnbekken. Kommunen opplyser om at avløpssystemet i området rundt Hunnebunn er av typen separatsystem. Det betyr at overvannet og drens vannet ledes ut til resipient, mens spillvannet (kloakken) fra husholdningene ledes til renseanlegget. Siden det er separatsystem skal spillvannsledningene i utgangspunktet være upåvirket av nedbør og overvann. Etter å ha utført befaringer og omfattende kartlegging av tilstanden på spillvannsledningsnettet i området har kommunen avdekket flere skader og feilkoblinger som har ført til at fremmedvann finner vei inn i spillvannsledningene og tilfører systemet mer vann enn det er dimensjonert for. Konsekvensen av overbelastningen er at alt vann som pumpestasjonen ved Hunnbekken ikke klarer å ta unna, går via et overløp og urensset ut i Hunnbekken. Styrtregnepisoden kan derfor forklare de høye verdiene i Hunnbekken denne dagen. Disse verdier var langt over kravet som er fastsatt i EUs badevannsdirektiv (EU Directive, 2006) for høyeste verdi av *E. coli* (1000/100ml ferskvann). Ellers, generelt tilsvarte ferskvannet ved alle prøvetakingssteder den utmerket og god badevannskvaliteten, iht. henholdsvis 500 *E. coli*/100ml og 1000 *E. coli*/100ml, definert i EUs direktivet.

Når det gjelder fekal forurensning i salt-/brakkvannsprøver tatt ut fra Vispen badeplass ved punkt VI, ble høyest *E. coli* konsentrasjon funnet i prøven fra 6 august. Det var samme tidspunkt som den sterke fekale forurensningen ble oppdaget i Hunnbekken etter kraftig nedbør. Mikrobiell forurensning er sterk påvirket av avrenningsvannet og kloakklekkasjer særlig etter hyppigere og mer intense nedbørsepisoder som øker fare for oversvømmelser og påfølgende avrenning (Paruch m. fl., 2017a). Dette kunne vært årsaken til det ekstreme *E. coli* antallet (1298 MPN/100ml). Denne verdi var over dobbel så høy som EUs krav for badevannskvalitet i salt-/brakkvann, dvs. 500 *E. coli*/100ml (EU Directive, 2006). Ved andre prøvetakingsrunder ved punkt VI hadde Vispen badeplass generelt utmerket vannkvalitet, iht. 250 *E. coli*/100ml fastsatt i EU-direktivet.

Molekylærbiologiske tester ble utført i vannet fra Vispen badeplass og noen bekker nær Hunnebunn ved anvendelse av vertsspesifikke genetiske markører som stammer fra *Bacteroidales* 16S rRNA gener. Basert på profilering av DNA-markører ble opprinnelsen av fekal vannforurensning definert, herunder bidraget fra mennesker, drøvtyggere (f.eks. stor- og småfe, og hjortedyr) og andre dyrearter (f.eks. hund, katt, fugler og ville dyr). Resultatene fra undersøkelsen viste en lik trend som ble observert i omtrent alle vannprøvene der det var et klart bidrag i fekal forurensning fra zoologiske/naturlige kilder, nemlig at forurensningen hovedsakelig kom fra andre dyrearter. Likevel ble det også funnet genetisk spor av antropogeniske kilder, særlig i prøver fra Hunnbekken og Korsbergbekken. Spesielt ved siste anledning (17 september) i Hunnbekken nedstrøms pumpestasjon (prøvepunkt HN) ble det definert et viktig antropogent bidrag (55% fra mennesker).

Sammenstilte resultater fra DNA tester beviser den generelle trenden om at fekal forurensning i både ferskvann og salt-/brakkvann kommer fra zoologiske kilder med et klart dominert totalt bidrag fra andre dyrearter, dvs. 77% i Brandstorbekken (BR), 84% og 77% i Hunnbekken (HO og HN, henholdsvis), 86% og 84% i Korsbergbekken (KB og KBII, henholdsvis), 98% i Talbergsundet (TII) og 92% i Vispen badeplass (VI).

Trenden som ble observert gjennom dette prosjektet stemmer bra med tidligere rapporterte/publiserte data fra undersøkelser i andre deler av Norge (Blankenberg m. fl. 2015, Paruch m. fl. 2015, Paruch m. fl. 2016a, b, c). Altså ble det funnet en sammenheng med fekal tilførsel og årstiden hvor i den varmeste perioden kommer den mest dominerende fekal forurensning fra zoologiske kilder. Generelt er det flest dyr (villdyr og husdyr, f.eks. beitedyr) i naturen i den varme perioden av året. Med zoologisk fekal opprinnelse kan en trussel om sykdomsfremkallende mikrober, f.eks. STEC, utgjøre en helserisiko. Dette skyldes at flere vill- og husdyrarter (bla. elg, hjort, måke, due, kyr, geit, sau, hest, gris, kanin, kylling, kalkun, katt og hund) kan være bærere av STEC. De viktigste humanpatogene variantene av STEC er enterohemoragiske *E. coli* (EHEC) som forårsaker hemoragisk kolitt med blodig diaré og hemolytisk uremisk syndrom. STEC patogener kan vise en høy korrelasjon ( $R^2 = 0.928$ ) med genetisk markør for drøvtyggende husdyr (Paruch m. fl. 2015). Ofte er drøvtyggere hovedreservoar for EHEC og selv om disse bakteriene ikke vanligvis forårsaker sykdom hos dyrene, anses både stor- og småfe som viktige smittekilder til mennesker (Farrokh m. fl. 2013, WHO 2017). Til tross for de sykdomsfremkallende varianter av *E. coli* er det viktig å være klar over at forekomsten av *E. coli* bakterier i miljøet utvilsomt indikerer fekal forurensning, men ikke nødvendigvis medfører en trussel om sykdom da de fleste varianter av disse bakteriene er harmløse. Faktisk utgjør *E. coli* bakterier en viktig og nyttig del av tarmfloraen og har viktige fysiologiske funksjoner så lenge de forekommer i tarmene til varmblodige dyr og mennesker (Paruch & Paruch 2018).

## 5 Konklusjoner

Dette prosjektet omfatter et begrenset antall vannprøver per lokalitet. På grunn av dette ble ikke en omfattende vurdering av vannkvaliteten iht. EUs badevannsdirektiv utført. Likevel ble resultatene av *E. coli* sammenlignet med EUs kravet og videre en generell badevannskvalitet av ferskvann og salt-/brakkvann ble evaluert. Mikrobiologiske undersøkelser viser at ferskvann i bekker nær Hunnebunn var forurenset av tarmbakterier. Mest fekalt forurenset vann (iht. høyeste *E. coli* konsentrasjoner som var over analysegrenseverdi) ble funnet i to prøver fra Hunnbekken oppstrøms og nedstrøms pumpestasjon tatt ut 6 august 2019. Ved samme tidspunkt ble en sterk fekal forurensning oppdaget i Vispen badeplass. Dette ble mest sannsynlig forårsaket av kraftig nedbør med påfølgende overløp fra pumpestasjonen, avrenning og oversvømmelser. Selv om alle ferskvannsprøver var fekalt forurenset generelt, tilsvarte *E. coli* antall (unntatt de to prøver fra Hunnbekken) «utmerket» og «god» badevannskvalitet, som definert i EU-direktivet. Også salt-/brakkvann fra badeplassen kunne generelt klassifiseres på et utmerket nivå (unntatt en enkelt prøve fra 6 august).

Molekylærbiologiske tester avslører en generell trend som ble observert mht. fekal forurensningstilførsel ved at den dominerende kilde til vannforurensingen kommer fra zoologiske/naturlige kilder, hovedsakelig fra andre dyrearter som omfatter f.eks. hund, katt, fugler og ville dyr. Likevel ble det også definert et sporadisk dominert antropogent bidrag i Hunnbekken nedstrøms pumpestasjon ved siste prøverunde (17 september). En slik situasjon skulle vært undersøkt videre (ved litt lengre prøvetakingsperiode) for å oppdage om dette var kun en sporadisk episode eller at det faktisk oppstår enkelttilfeller med forurensning fra mennesker.

I denne rapporten er det ikke foretatt noen direkte sammenlikning av funn fra fekalkildesporingen og registrert aktivitet i området rundt Hunnebunn, inkludert Vispen badeplass, i forhold til antall og type husdyr og mulige kilder til fekalier fra hus, hytter og ledningsnett, alle som kan påvirke direkte eller indirekte vannkvaliteten. Slike registreringer har ikke vært mål for dette prosjektet.

Funn av zoologisk fekal opprinnelsen kan medføre en trussel om patogene bakterier som utgjør en helseisiko. Det kan derfor være viktig å teste ut om påvisning av ulike serogrupper hos patogene *E. coli* finner sted dersom zoologiske kilder blir identifisert og særlig med et klart dominert bidrag i fekal forurensning fra drøvtyggere. NIBIO har etablert genetiske markører for relevante patogener som sammen med mikrobielle kildesporingsanalyser utgjøre kraftfulle verktøy for overvåkingsprogrammer og gi stor nytteverdi i prioritering av tiltak som bedrer vannkvaliteten.



# Litteraturreferanse

- 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*. 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.
- EU Directive. 2006. Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC (Official Journal of the European Union, L64/37, 2006).
- 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., Moussiegt 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.
- 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.
- Hagedorn C., Harwood V.J., Blanch A. 2011. *Microbial Source Tracking: Methods, Applications, and Case Studies*. Springer, New York.
- Handlingsplan Hunnebunn. 2019. Fredrikstad kommune. Hentet 29.oktober 2019 fra <https://www.fredrikstad.kommune.no/globalassets/dokumenter/naring-miljo-og-samfunn/hunnebunn---vedtatt.pdf>.
- 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.
- 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.
- Marotz C.A., Zarrinpar A. 2016. Treating obesity and metabolic syndrome with fecal microbiota transplantation. *Yale J. Biol. Med.* 89(3), 383–388.
- McQuaig S., Griffith J., Harwood V.J. 2012. Association of fecal indicator bacteria with human viruses and microbial source tracking markers at coastal beaches impacted by nonpoint source pollution. *Appl. Environ. Microbiol.* 78(18), 6423–6432.
- 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.
- Paruch A.M. 2011. Long-term survival of *Escherichia coli* in lightweight aggregate filter media of constructed wastewater treatment wetlands. *Water Sci. Technol.* 63(3), 558-564.
- 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 L., Paruch A.M. 2018. Contributors to faecal water contamination in urban environments. Zelenakova M. (eds) *Water Management and the Environment: Case Studies*. WINEC 2017. Water Science and Technology Library, vol 86. Springer, Cham, pp 215-230.
- 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. 2017a. Norwegian study on microbial source tracking for water quality control and pollution removal in constructed wetland treating catchment run-off. *Water Sci. Technol.* 76(5), 1158-1166.
- Paruch A.M., Paruch L., Mæhlum T. 2017b. Kildesporing av fekal vannforurensing med molekylærbiologiske metoder – Eksempler på undersøkelser i Norge (Source tracking of faecal water contamination by molecular biology methods – Examples of surveys in Norway). NIBIO Rapport 3/66, 70 pp.
- Paruch A.M., Paruch L., Mæhlum T. 2016a. Kildesporing av fekal vannforurensing i Jordalsvatnet med nedbørfelt (Source tracking of fecal water contamination in the catchment of Jordalsvatnet lake). NIBIO Rapport 2/49, 42 pp.
- Paruch A.M., Paruch L., Mæhlum T. 2016b. Kildesporing av fekal vannforurensing i tilløpsbekkene til Jonsvannet (Source tracking of fecal water contamination in tributaries of Jonsvannet lake). NIBIO Rapport 2/34, 60 pp.
- Paruch A.M., Paruch L., Mæhlum T. 2016c. 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). NIBIO Rapport 2/27, 25 pp.
- Quigley E.M. 2013. Gut bacteria in health and disease. *Gastroenterol Hepatol (NY)*, 9(9), 560–569.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- USEPA. 2005. *Microbial Source Tracking Guide Document*. Office of Research and Development, United States Environmental Protection Agency, EPA-600/R-05/064, Washington, DC.
- WHO. 2017. *E. coli*. Hentet 29.oktober 2019 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.

# Vedlegg 1.



NIBIO Miljø og naturressurser  
Avdelingen for grøntanlegg og miljøteknologi  
Fredrik A. Dahls vei 20  
Pb 115, NO-1433 Ås  
Tlf: 03246 eller (+47)40604100  
E-post: [post@nibio.no](mailto:post@nibio.no)  
Internett: [www.nibio.no](http://www.nibio.no)

## ANALYSERAPPORT – FEKAL KILDESPORING

– Resultater fra juni 2019, uke 24

Prosjektittel	Kildesporing av fekal vannforurensing
Prosjektleder i NIBIO	Adam M. Paruch, tlf: 92458374, <a href="mailto:adam.paruch@nibio.no">adam.paruch@nibio.no</a>
Oppdragsgiver	Fredrikstad kommune
Kontaktperson hos oppdragsgiver	Reidun Ottosen, <a href="mailto:reot@fredrikstad.kommune.no">reot@fredrikstad.kommune.no</a>
Prøvetakingsdato	11. 06. 2019
Prøvesteder	Vispen badestrand, Brandstorpbecken, Hunnbekken oppstrøms <u>pumpest.</u> og Hunnbekken nedstrøms <u>pumpest.</u>
Analysedato	11. 06. 2019

### Mikrobiologisk undersøkelse

En mikrobiologisk undersøkelse av koliforme bakterier («*miljøbakterier*») som representerer både tarmbakterier og frittlevende koliforme bakterier) og *Escherichia coli* – *E. coli* (en av de mest anvendte indikatorbakterier for fekal forurensing) er gjort i 4 vannprøver (3 ferskvannsprøver: Brandstorpbecken - BR, Hunnbekken oppstrøms pumpest. – HO og Hunnbekken nedstrøms pumpest. – HN, og 1 salt- / brakkvannsprøve Vispen badestrand – VI).

Ferskvannsprøvene ble analysert uten fortykning, mens brakkvannsprøven (VI) ble fortyknet  $10^{-1}$  før analysen. Resultatene er presentert som konsentrasjoner av koliforme bakterier og *E. coli* i MPN/100ml. Dette tallet angir mest sannsynlige antall bakterier (MPN - Most Probable Number) pr. 100ml vannprøve.

Alle ferskvannsprøvene viste fekal forurensing (Figur 1). Høyeste konsentrasjoner av *E. coli* (101,3 MPN/100ml) ble funnet i vannprøve BR. Lavest konsentrasjon av *E. coli* (50,4 MPN/100ml) ble funnet i vannprøve HO. I tillegg viste alle ferskvannsprøvene høye konsentrasjoner av koliforme bakterier (over analysegrenseverdi for uforyttnet prøve, dvs. >200,5 MPN/100ml).

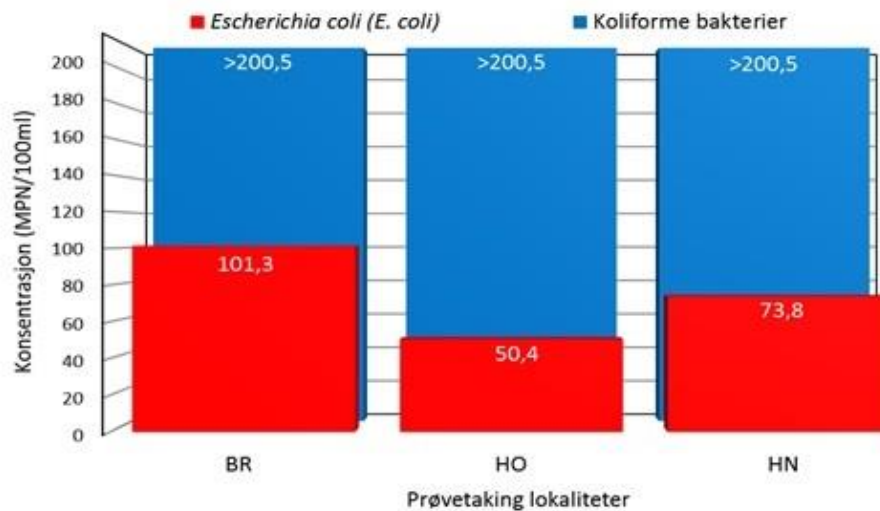
*E. coli* ble ikke påvist i brakkvannsprøven (VI). Derfor ble ikke undersøkelsen på sporing av fekale forurensningskilder gjort i denne prøven.

### Molekylærbiologiske tester

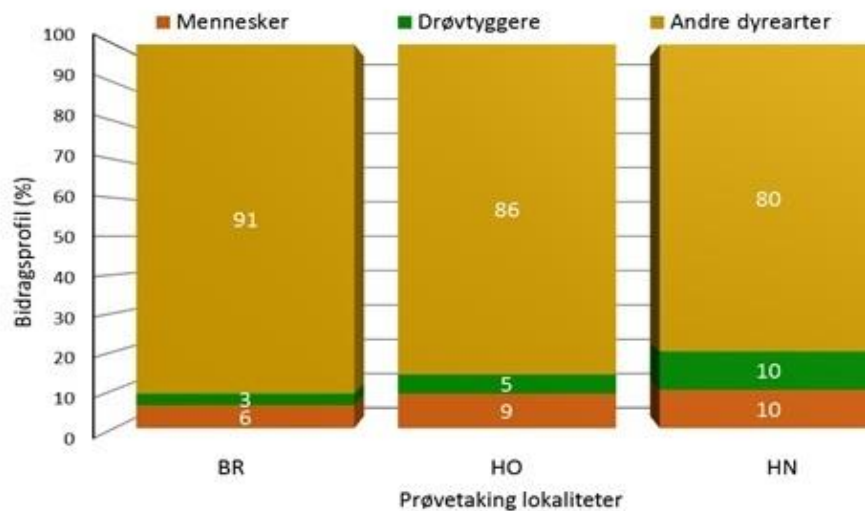
Fekalforurensede prøver (tre ferskvannsprøver BR, HO og HN) ble testet videre med tanke på om forurensningen kommer fra mennesker, drøvtyggere (samlegruppe for f.eks. kyr, sau og geit eller hjortedyr) og andre dyrearter (samlegruppe for øvrige varmblodige dyr som f.eks. hund, katt, fugler, ville dyr, osv.).

Resultatene fra de molekylærbiologiske testene viser at i alle ferskvannsprøver var den dominerende kilde til fekal forurensing ikke fra mennesker (Figur 2). Andre dyrearter (uspesifisert) var den viktigste kilden til forurensningen, med bidrag på 91% i prøve BR, 86% i prøve HO og 80% i prøve HN). I tillegg ble også fekal bidrag i vannforurensing fra drøvtyggere definert i alle ferskvannsprøvene (bidrag på 3%, 5% og 10% i prøver BR, HO og HN, henholdsvis).

Dyr var den mest dominerende kilden til fekal forurensingen i alle ferskvannsprøver. Likevel ble det også funnet antropogen fekal opprinnelse i disse prøvene (fekalt bidrag på 6%, 9% og 10% i prøver BR, HO og HN, henholdsvis).



Figur 1. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*).



Figur 2. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning.

Ås, 17. juni 2019.

**Prosjektleder**

*Adam M. Paruch*  
Adam M. Paruch  
Seniorforsker



## Vedlegg 2.



NIBIO Miljø og naturressurser  
Avdelingen for grøntanlegg og miljøteknologi  
Fredrik A. Dahls vei 20  
Pb 115, NO-1433 Ås  
Tlf: 03246 eller (+47)40604100  
E-post: [post@nibio.no](mailto:post@nibio.no)  
Internett: [www.nibio.no](http://www.nibio.no)

### ANALYSERAPPORT – FEKAL KILDESPORING

– Resultater fra juni 2019, uke 26

Prosjektittel	Kildesporing av fekal vannforurensing
Prosjektleder i NIBIO	Adam M. Paruch, tlf: 92458374, <a href="mailto:adam.paruch@nibio.no">adam.paruch@nibio.no</a>
Oppdragsgiver	Fredrikstad kommune
Kontaktperson hos oppdragsgiver	Reidun Ottosen, <a href="mailto:reot@fredrikstad.kommune.no">reot@fredrikstad.kommune.no</a>
Prøvetakingsdato	25. 06. 2019
Prøvesteder	Vispen badestrand, Brandstorpbecken, Hunnbekken oppstrøms <u>pumpest.</u> og Hunnbekken nedstrøms <u>pumpest.</u>
Analysedato	26. 06. 2019

#### Mikrobiologisk undersøkelse

En mikrobiologisk undersøkelse av koliforme bakterier («miljøbakterier» som representerer både tarmbakterier og frittlevende koliforme bakterier) og *Escherichia coli* – *E. coli* (en av de mest anvendte indikatorbakterier for fekal forurensing) er gjort i 4 vannprøver (3 ferskvannsprøver: Brandstorpbecken - BR, Hunnbekken oppstrøms pumpest. – HO og Hunnbekken nedstrøms pumpest. – HN, og 1 salt- / brakkvannsprøve Vispen badestrand – VI).

Ferskvannsprøvene ble analysert uten fortykning, mens brakkvannsprøven (VI) ble fortyknet  $10^{-1}$  før analysen. Resultatene er presentert som konsentrasjoner av koliforme bakterier og *E. coli* i MPN/100ml. Dette tallet angir mest sannsynlige antall bakterier (MPN - Most Probable Number) pr. 100ml vannprøve.

Alle ferskvannsprøvene viste fekal forurensing (Figur 1). Høyeste konsentrasjoner av *E. coli* (over analysegrenseverdi for ufortynnet prøve, dvs. >200,5 MPN/100ml) ble funnet i 2 vannprøver HO og HN. Lavest konsentrasjon av *E. coli* (69,7 MPN/100ml) ble funnet i vannprøve BR. I tillegg viste alle ferskvannsprøvene høye konsentrasjoner av koliforme bakterier (over analysegrenseverdi for ufortynnet prøve, dvs. >200,5 MPN/100ml).

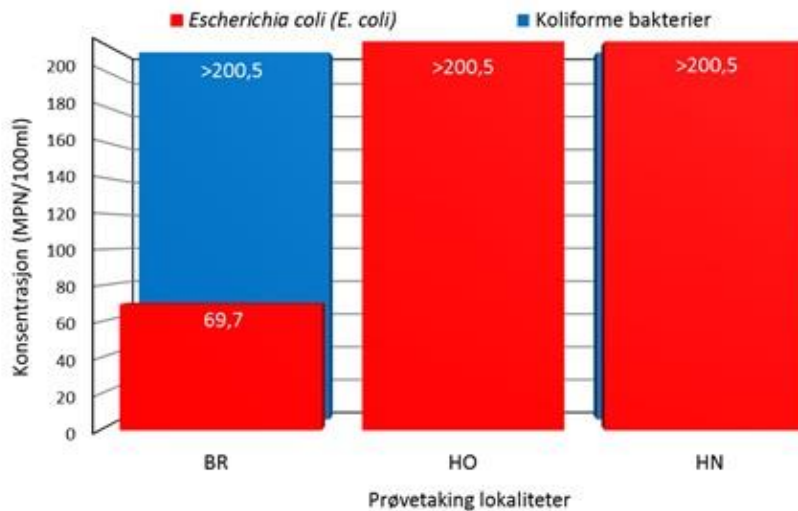
*E. coli* ble ikke påvist i brakkvannsprøven (VI). Derfor ble ikke undersøkelsen på sporing av fekale forurensningskilder gjort i denne prøven.

#### Molekylærbiologiske tester

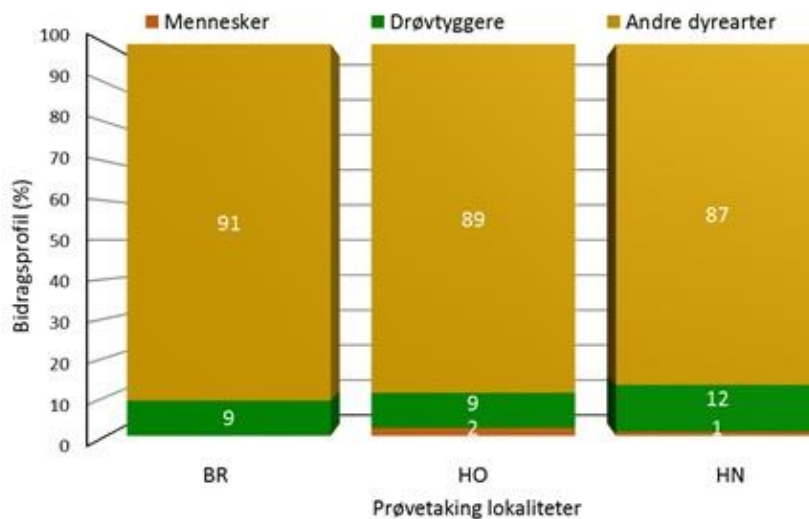
Fekalforurensede prøver (tre ferskvannsprøver BR, HO og HN) ble testet videre med tanke på om forurensningen kommer fra mennesker, drøvtyggere (samlegruppe for f.eks. kyr, sau og geit eller hjortedyr) og andre dyrearter (samlegruppe for øvrige varmblodige dyr som f.eks. hund, katt, fugler, ville dyr, osv.).

Resultatene fra de molekylærbiologiske testene viser at i alle ferskvannsprøver var den dominerende kilde til fekal forurensing ikke fra mennesker (Figur 2). Andre dyrearter (uspesifisert) var den viktigste kilden til forurensningen, med bidrag på 91% i prøve BR, 89% i prøve HO og 87% i prøve HN). I tillegg ble også fekal bidrag i vannforurensing fra drøvtyggere definert i alle ferskvannsprøvene (bidrag på 9%, 9% og 12% i prøver BR, HO og HN, henholdsvis).

Dyr var den mest dominerende kilden til fekal forurensingen i alle ferskvannsprøver. Likevel ble det også funnet antropogen fekal opprinnelse i 2 prøver (fekalt bidrag på 2% og 1% i prøver HO og HN, henholdsvis).



Figur 1. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*).



Figur 2. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning.

Ås, 7. august 2019.

**Prosjektleder**

*Adam M. Paruch*  
Adam M. Paruch  
Seniorforsker



# Vedlegg 3.



NIBIO Miljø og naturressurser  
Avdelingen for grøntanlegg og miljøteknologi  
Fredrik A. Dahls vei 20  
Pb 115, NO-1433 Ås  
Tlf: 03246 eller (+47)40604100  
E-post: [post@nibio.no](mailto:post@nibio.no)  
Internett: [www.nibio.no](http://www.nibio.no)

## ANALYSERAPPORT – FEKAL KILDESPORING

– Resultater fra august 2019, uke 32

Prosjekttittel	Kildesporing av fekal vannforurensing
Prosjektleder i NIBIO	Adam M. Paruch, tlf: 92458374, <a href="mailto:adam.paruch@nibio.no">adam.paruch@nibio.no</a>
Oppdragsgiver	Fredrikstad kommune
Kontaktperson hos oppdragsgiver	Reidun Ottosen, <a href="mailto:reot@fredrikstad.kommune.no">reot@fredrikstad.kommune.no</a>
Prøvetakingsdato	06. 08. 2019
Prøvesteder	Vispen badestrand, Brandstorpbecken, Hunnbekken oppstrøms <u>pumpest.</u> – HO og Hunnbekken nedstrøms <u>pumpest.</u> – HN, og 1 salt- / brakkvannsprøve Vispen badestrand – VD).
Analysedato	07. 08. 2019

### Mikrobiologisk undersøkelse

En mikrobiologisk undersøkelse av koliforme bakterier («*miljøbakterier*» som representerer både tarmbakterier og frittlevende koliforme bakterier) og *Escherichia coli* – *E. coli* (en av de mest anvendte indikatorbakterier for fekal forurensing) er gjort i 4 vannprøver (3 ferskvannsprøver: Brandstorpbecken - BR, Hunnbekken oppstrøms pumpest. – HO og Hunnbekken nedstrøms pumpest. – HN, og 1 salt- / brakkvannsprøve Vispen badestrand – VD).

Prøvene ble fortyntet  $10^{-4}$  før analysen. Resultatene i ferskvannsprøvene er presentert som konsentrasjoner av koliforme bakterier og *E. coli* (MPN/100ml), og i brakkvannsprøven som konsentrasjon av *E. coli* (MPN/100ml). Dette tallet angir mest sannsynlige antall bakterier (MPN - Most Probable Number) pr. 100ml vannprøve.

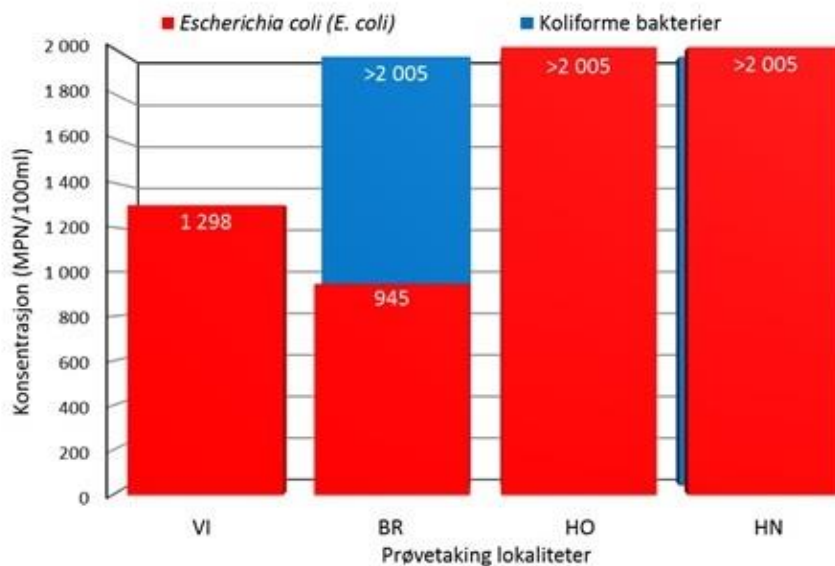
Alle prøvene viste fekal forurensing (Figur 1). Høyeste konsentrasjoner av *E. coli* (>2 005 MPN/100ml) ble funnet i 2 ferskvannsprøver HO og HN. Lavest konsentrasjon av *E. coli* (945 MPN/100ml) ble funnet i vannprøve BR. I tillegg viste alle ferskvannsprøvene høye konsentrasjoner av koliforme bakterier (>2 005 MPN/100ml). I brakkvannsprøven ble det målt 1 298 MPN *E. coli* per 100ml.

### Molekylærbiologiske tester

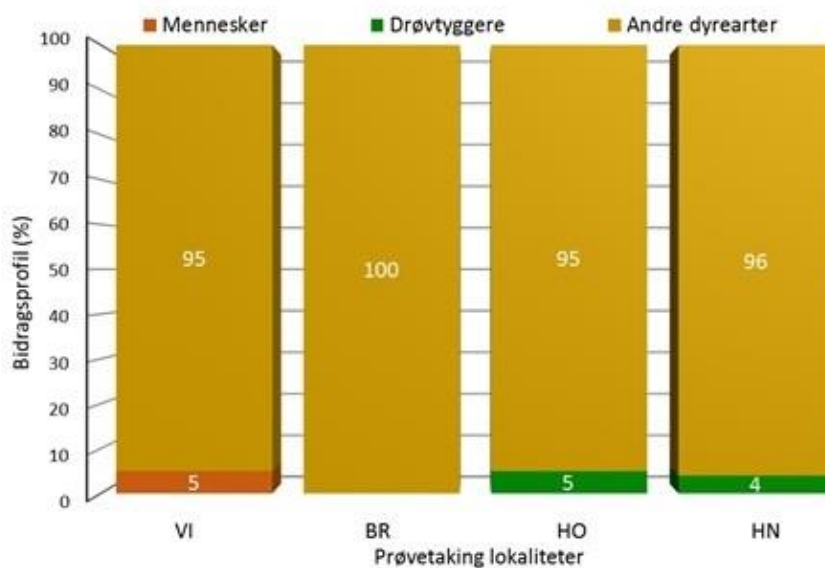
Resultatene fra de mikrobiologiske analysene viste at alle 4 prøver var fekalforurenset. Derfor ble alle testet videre med tanke på om forurensningen kommer fra mennesker, drøvtyggere (samlegruppe for f.eks. kyr, sau og geit eller hjortedyr) og andre dyrearter (samlegruppe for øvrige varmblodige dyr som f.eks. hund, katt, fugler, ville dyr, osv.).

Resultatene fra de molekylærbiologiske testene viser at i alle vannprøver var den dominerende kilde til fekal forurensing ikke fra mennesker (Figur 2). Andre dyrearter (uspesifisert) var den viktigste kilden til forurensningen, med bidrag på 95%, 100%, 95% og 96% i prøver VI, BR, HO og HN, henholdsvis). I tillegg ble også fekal bidrag i vannforurensing fra drøvtyggere definert i 2 ferskvannsprøver (5% i HO og 4% i HN).

Dyr var den mest dominerende kilden til fekal forurensingen i alle vannprøver. Likevel ble det også funnet antropogen fekal opprinnelse i brakkvannsprøve VI (fekalt bidrag på 5%).



Figur 1. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*).



Figur 2. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning.

Ås, 14. august 2019.

**Prosjektleder**

*Adam M. Paruch*  
Adam M. Paruch  
Seniorforsker

# Vedlegg 4.



NIBIO Miljø og naturressurser  
Avdelingen for grøntanlegg og miljøteknologi  
Fredrik A. Dahls vei 20  
Pb 115, NO-1433 Ås  
Tlf: 03246 eller (+47)40604100  
E-post: [post@nibio.no](mailto:post@nibio.no)  
Internett: [www.nibio.no](http://www.nibio.no)

## ANALYSERAPPORT – FEKAL KILDESPORING

– Resultater fra august 2019, uke 34

Prosjektittel	Kildesporing av fekal vannforurensing
Prosjektleder i NIBIO	Adam M. Paruch, tlf: 92458374, <a href="mailto:adam.paruch@nibio.no">adam.paruch@nibio.no</a>
Oppdragsgiver	Fredrikstad kommune
Kontaktperson hos oppdragsgiver	Reidun Ottosen, <a href="mailto:reot@fredrikstad.kommune.no">reot@fredrikstad.kommune.no</a>
Prøvetakingsdato	20. 08. 2019
Prøvesteder	Vispen badestrand, Brandstorpbecken, Hunnbekken oppstrøms <u>pumpest.</u> og Hunnbekken nedstrøms <u>pumpest.</u>
Analysedato	21. 08. 2019

### Mikrobiologisk undersøkelse

En mikrobiologisk undersøkelse av koliforme bakterier («*miljøbakterier*» som representerer både tarmbakterier og frittlevende koliforme bakterier) og *Escherichia coli* – *E. coli* (en av de mest anvendte indikatorbakterier for fekal forurensing) er gjort i 4 vannprøver (3 ferskvannsprøver: Brandstorpbecken - BR, Hunnbekken oppstrøms pumpest. – HO og Hunnbekken nedstrøms pumpest. – HN, og 1 salt- / brakkvannsprøve Vispen badestrand – VI).

Prøvene ble fortynnet  $10^{-1}$  før analysen. Resultatene i ferskvannsprøvene er presentert som konsentrasjoner av koliforme bakterier og *E. coli* (MPN/100ml), og i brakkvannsprøven som konsentrasjon av *E. coli* (MPN/100ml). Dette tallet angir mest sannsynlige antall bakterier (MPN - Most Probable Number) pr. 100ml vannprøve.

Alle prøvene viste fekal forurensing (Figur 1). Høyeste konsentrasjoner av *E. coli* (254 MPN/100ml) ble funnet i ferskvannsprøve HN. I tillegg viste alle ferskvannsprøvene høye konsentrasjoner av koliforme bakterier ( $>2\ 005$  MPN/100ml). I brakkvannsprøven ble det målt 164 MPN *E. coli* per 100ml.

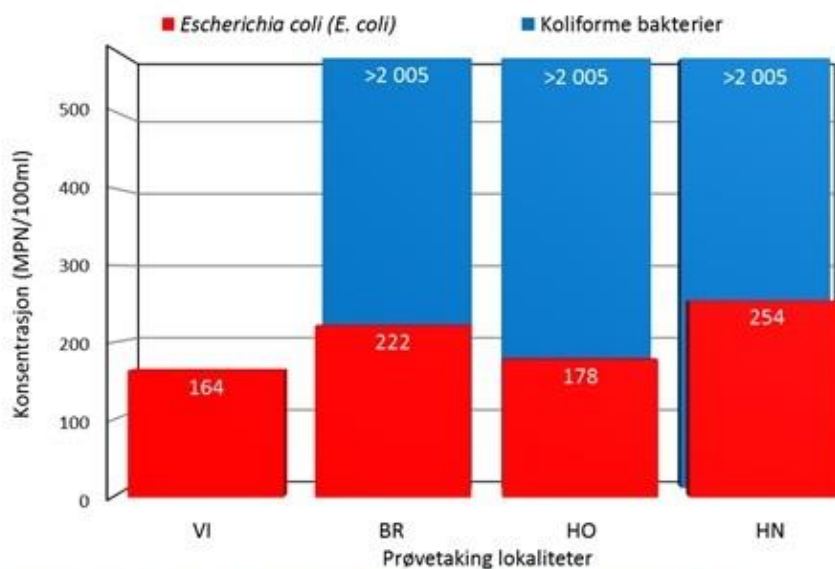
### Molekylærbiologiske tester

Resultatene fra de mikrobiologiske analysene viste at alle 4 prøver var fekalforurenset. Derfor ble alle testet videre med tanke på om forurensningen kommer fra mennesker, drøvtyggere (samlegruppe for f.eks. kyr, sau og geit eller hjortedyr) og andre dyrearter (samlegruppe for øvrige varmblodige dyr som f.eks. hund, katt, fugler, ville dyr, osv.).

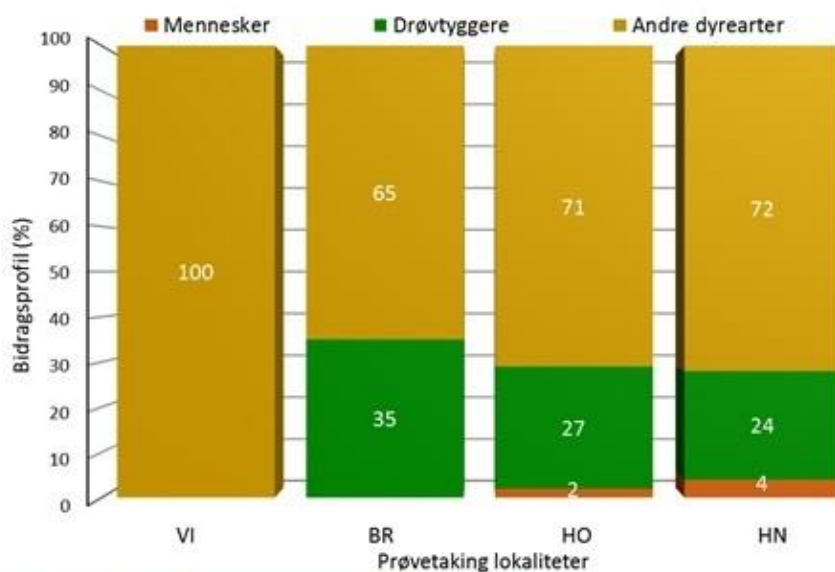
Resultatene fra de molekylærbiologiske testene viser at i alle vannprøver var den dominerende kilde til fekal forurensing ikke fra mennesker (Figur 2). Andre dyrearter (uspesifisert) var den viktigste kilden til forurensningen, med bidrag på 100%, 65%, 71% og 72% i prøver VI, BR, HO og HN, henholdsvis. I tillegg ble også fekal bidrag i vannforurensing fra drøvtyggere definert i 3 ferskvannsprøver (35% i BR, 27% i HO og 24% i HN).

Dyr var den mest dominerende kilden til fekal forurensingen i alle vannprøver. Likevel ble det også funnet antropogen fekal opprinnelse i 2 ferskvannsprøver (fekalt bidrag på 2% og 4% i prøver HO og HN, henholdsvis).





Figur 1. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*).



Figur 2. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning.

Ås, 30. august 2019.

**Prosjektleder**

*Adam M. Paruch*  
Adam M. Paruch  
Seniorforsker

# Vedlegg 5.



NIBIO Miljø og naturressurser  
Avdelingen for grøntanlegg og miljøteknologi  
Fredrik A. Dahls vei 20  
Pb 115, NO-1433 Ås  
Tlf: 03246 eller (+47)40604100  
E-post: [post@nibio.no](mailto:post@nibio.no)  
Internett: [www.nibio.no](http://www.nibio.no)

## ANALYSERAPPORT – FEKAL KILDESPORING

– Resultater fra september 2019, uke 36

Prosjektittel	Kildesporing av fekal vannforurensing
Prosjektleder i NIBIO	Adam M. Paruch, tlf: 92458374, <a href="mailto:adam.paruch@nibio.no">adam.paruch@nibio.no</a>
Oppdragsgiver	Fredrikstad kommune
Kontaktperson hos oppdragsgiver	Reidun Ottosen, <a href="mailto:reot@fredrikstad.kommune.no">reot@fredrikstad.kommune.no</a>
Prøvetakingsdato	03. 09. 2019
Prøvesteder	Vispen badestrand, Brandstorpbecken, Hunnbekken oppstrøms <u>pumpest.</u> , Hunnbekken nedstrøms <u>pumpest.</u> og Hønebekken
Analysedato	04. 09. 2019

### Mikrobiologisk undersøkelse

En mikrobiologisk undersøkelse av koliforme bakterier («miljøbakterier» som representerer både tarmbakterier og frittlevende koliforme bakterier) og *Escherichia coli* – *E. coli* (en av de mest brukte indikatorbakterier for fekal forurensing) er gjort i 5 vannprøver (4 ferskvannsprøver: Brandstorpbecken - BR, Hunnbekken oppstrøms pumpest. – HO, Hunnbekken nedstrøms pumpest. – HN og Hønebekken – HB, og 1 salt- / brakkvannsprøve Vispen badestrand – VI).

Prøvene ble fortynnet  $10^{-1}$  før analysen. Resultatene i ferskvannsprøvene er presentert som konsentrasjoner av koliforme bakterier og *E. coli* (MPN/100ml), og i brakkvannsprøven som konsentrasjon av *E. coli* (MPN/100ml). Dette tallet angir mest sannsynlige antall bakterier (MPN - Most Probable Number) pr. 100ml vannprøve.

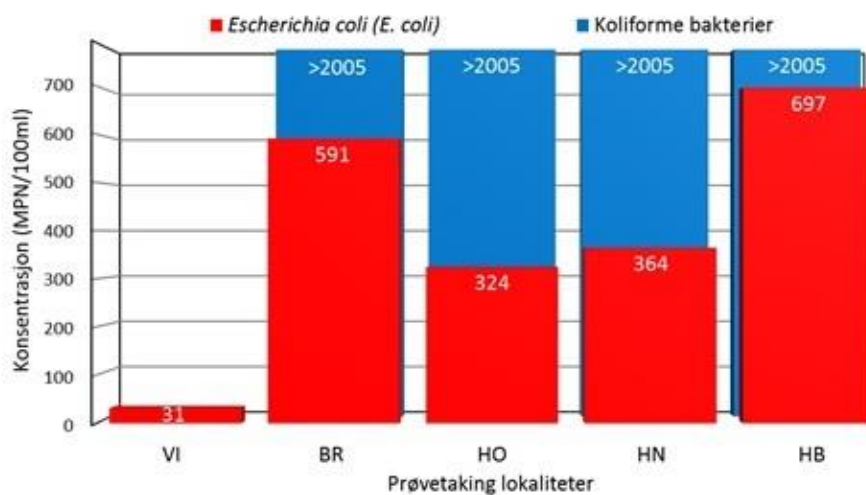
Alle prøvene viste fekal forurensing (Figur 1). Høyeste konsentrasjoner av *E. coli* (697 MPN/100ml) ble funnet i ferskvannsprøve HB. I tillegg viste alle ferskvannsprøvene høye konsentrasjoner av koliforme bakterier ( $>2\ 005$  MPN/100ml). I brakkvannsprøven ble det målt 31 MPN *E. coli* per 100ml.

### Molekylærbiologiske tester

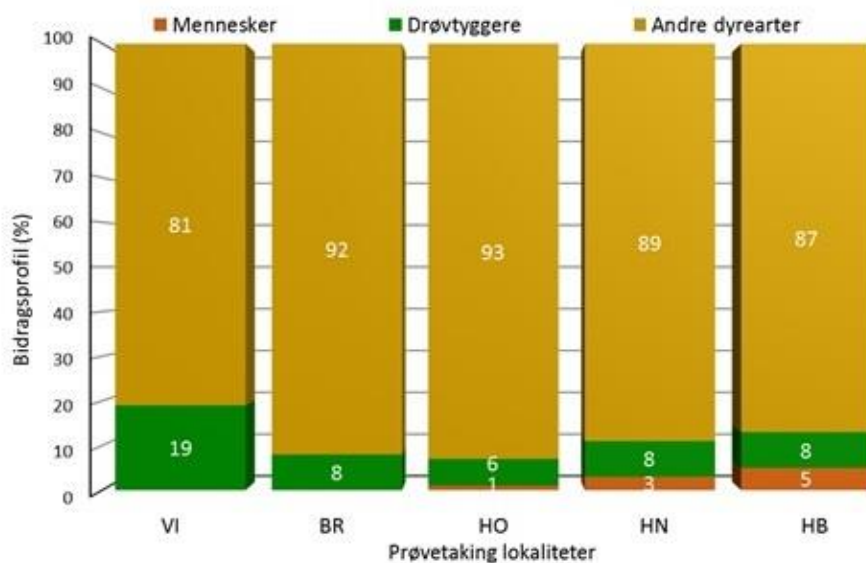
Resultatene fra de mikrobiologiske analysene viste at alle 5 prøver var fekalforurenset. Derfor ble alle testet videre med tanke på om forurensningen kommer fra mennesker, drøvtyggere (samlegruppe for f.eks. kyr, sau og geit eller hjortedyr) og andre dyrearter (samlegruppe for øvrige varmblodige dyr som f.eks. hund, katt, fugler, ville dyr, osv.).

Resultatene fra de molekylærbiologiske testene viser at i alle vannprøver var den dominerende kilde til fekal forurensing ikke fra mennesker (Figur 2). Andre dyrearter (uspesifisert) var den viktigste kilden til forurensningen, med bidrag på 81%, 92%, 93%, 89% og 87% i prøver VI, BR, HO, HN og HB, henholdsvis). I tillegg ble også fekal bidrag i vannforurensing fra drøvtyggere definert i alle vannprøver (bidrag på 19%, 8%, 6%, 8% og 8% i prøver VI, BR, HO, HN og HB, henholdsvis).

Dyr var den mest dominerende kilden til fekal forurensingen i alle vannprøver. Likevel ble det også funnet antropogen fekal opprinnelse i 3 ferskvannsprøver (1% i HO, 3% i HN og 5% i HB).



Figur 1. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*).



Figur 2. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning.

Ås, 10. september 2019.

**Prosjektleder**

*Adam M. Paruch*  
Adam M. Paruch  
Seniorforsker



# Vedlegg 6.



NIBIO Miljø og naturressurser  
Avdelingen for grøntanlegg og miljøteknologi  
Fredrik A. Dahls vei 20  
Pb 115, NO-1433 Ås  
Tlf: 03246 eller (+47)40604100  
E-post: [post@nibio.no](mailto:post@nibio.no)  
Internett: [www.nibio.no](http://www.nibio.no)

## ANALYSERAPPORT – FEKAL KILDESPORING

– Resultater fra september 2019, uke 38

Prosjektittel	Kildesporing av fekal vannforurensing
Prosjektleder i NIBIO	Adam M. Paruch, tlf: 92458374, <a href="mailto:adam.paruch@nibio.no">adam.paruch@nibio.no</a>
Oppdragsgiver	Fredrikstad kommune
Kontaktperson hos oppdragsgiver	Reidun Ottosen, <a href="mailto:reot@fredrikstad.kommune.no">reot@fredrikstad.kommune.no</a>
Prøvetakingsdato	17. 09. 2019
Prøvesteder	Vispen badestrand, Brandstorbekken, Hunnbekken oppstrøms <u>pumpest.</u> , Hunnbekken nedstrøms <u>pumpest.</u> , Hønebekken, Hønebekken II og <u>Thalbergsundet II</u>
Analysedato	18. 09. 2019

### Mikrobiologisk undersøkelse

En mikrobiologisk undersøkelse av koliforme bakterier («miljøbakterier» som representerer både tarmbakterier og frittlevende koliforme bakterier) og *Escherichia coli* – *E. coli* (en av de mest anvendte indikatorbakterier for fekal forurensing) er gjort i 7 vannprøver (6 ferskvannsprøver: Brandstorbekken - BR, Hunnbekken oppstrøms pumpest. – HO, Hunnbekken nedstrøms pumpest. – HN, Hønebekken – HB, Hønebekken II – HBII og Thalbergsundet II – THII, og 1 salt- / brakkvannsprøve Vispen badestrand – VI).

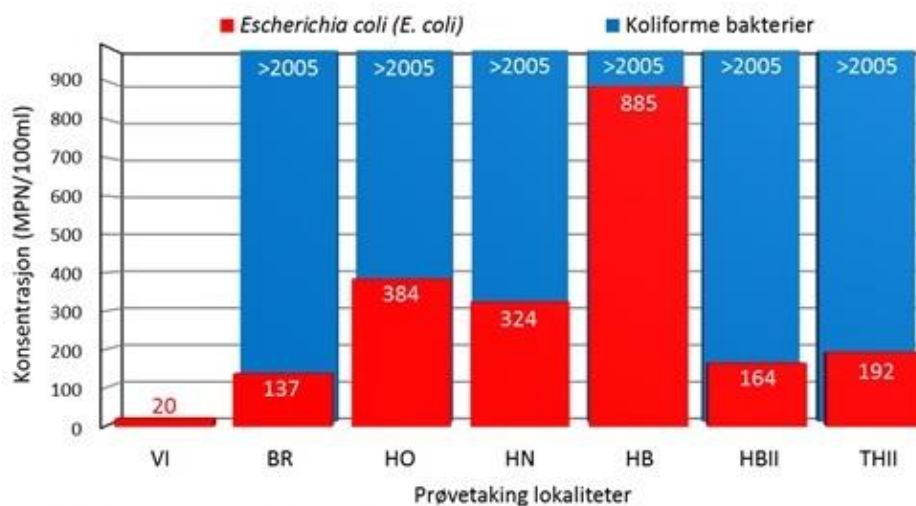
Prøvene ble fortynnet  $10^{-1}$  før analysen. Resultatene i ferskvannsprøvene er presentert som konsentrasjoner av koliforme bakterier og *E. coli* (MPN/100ml), og i brakkvannsprøven som konsentrasjon av *E. coli* (MPN/100ml). Dette tallet angir mest sannsynlige antall bakterier (MPN - Most Probable Number) pr. 100ml vannprøve.

Alle prøvene viste fekal forurensing (Figur 1). Høyeste konsentrasjoner av *E. coli* (885 MPN/100ml) ble funnet i ferskvannsprøve HB. I tillegg viste alle ferskvannsprøvene høye konsentrasjoner av koliforme bakterier (>2 005 MPN/100ml). I brakkvannsprøven ble det målt 20 MPN *E. coli* per 100ml.

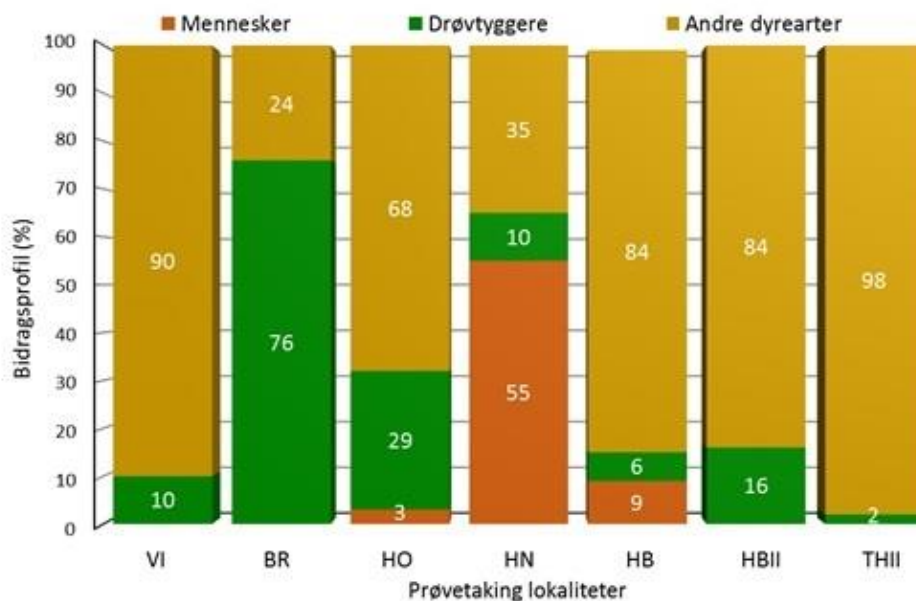
### Molekylærbiologiske tester

Resultatene fra de mikrobiologiske analysene viste at alle 7 prøver var fekalforurenset. Derfor ble alle testet videre med tanke på om forurensningen kommer fra mennesker, drøvtyggere (samlegruppe for f.eks. kyr, sau og geit eller hjortedyr) og andre dyrearter (samlegruppe for øvrige varmblodige dyr som f.eks. hund, katt, fugler, ville dyr, osv.).

Resultatene fra de molekylærbiologiske testene viser at i de fleste prøvene var den dominerende kilde til fekal forurensing ikke fra mennesker (Figur 2). I 5 prøver (VI, HO, HB, HBII og THII) var den dominerende kilden til fekal forurensing andre dyrearter (med bidrag på hhv 90%, 68%, 84%, 84% og 98%). I prøve BR var det dominerende bidrag fra drøvtyggere (76%). I prøve HN var det dominerende bidrag fra mennesker (55%). I tillegg ble også antropogen fekal opprinnelse funnet i 2 andre ferskvannsprøver (3% i HO og 9% i HB).



Figur 1. Konsentrasjoner av koliforme bakterier og *Escherichia coli* (*E. coli*).



Figur 2. Bidragsprofil av markører i fekal forurensning.

Ås, 25. september 2019.

**Prosjektleder**

*Adam M. Paruch*  
Adam M. Paruch  
Seniorforsker



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.