

# Undersøkelse av forandringer i mikrobiologisk kvalitet under produksjon og distribusjon av drikkevann ved Vansjø interkommunale vannverk

*Av Colin Charnock, Eli Otterholt og Johnny Sundby*

Colin Charnock ([colin.charnock@hf.hio.no](mailto:colin.charnock@hf.hio.no)) er førsteamanuensis ved Avdeling for helsefag, Høgskolen i Oslo. Eli Otterholt er stipendiat samme sted. Johnny Sundby er sektorsjef for vann og avløp, Movar IKS, i Rygge kommune.

## Sammendrag

Innholdet av bakterier etter hvert trinn i behandlingsprosessen ved Vansjø vannverk og ved 19 punkter fra distribusjonsnettet ble målt. I tillegg ble tilstedeværelsen av sopp og protozoer i vannet under produksjon undersøkt. Parallelt med kimtallsanalyser ble det utført tester (Biolog<sup>®</sup> GN2) som gir en indikasjon på bakterienes samlede metabolske potensial i vannet. Vannverket produserer et drikkevann fritt for mikrober og som ikke ga utslag i panelet av 95 metabolske tester. Filtreringstrinn tilførte vannet bakterier og sopparten *Cryptococcus magnus* (som ikke regnes som sykdomsframkallende). Både UV-anlegget og postklorering inaktiverte effektivt den mikrobielle populasjonen. Amøber ble dyrket fra råvannet, men var ikke til stede i rentvannet. Nettprøvene inneholdt bakterier, men det var ingen klar sammenheng mellom avstand

fra vannverket og kimtallet eller metabolsk aktivitet i vannet. Kimtalls- og GN2-data viste bedre og mer signifikante korrelasjoner for prøver tatt ved hvert rensetrinn enn for rentvannsprøver tatt under distribusjon. Dette kan tyde på at bakterier med naturlig opphold i råvannet har andre egenskaper enn de som finnes i ledningsnettet. GN2 ga et datarikt uttrykk for det samlede metabolske potensialet i vannet under rensing. Det ville være nyttig å bruke denne testen til å karakterisere andre vannbehandlingsregimer (f. eks. membranfiltrering) for å se om et samlet datasett generer behandlingsspesifikke profiler.

## Summary

*Changes in the microbiological quality of drinking water during its production and distribution at Vansjø waterworks.*

The bacterial content of drinking water after each stage in its production at Vansjø waterworks and at 19 points on the distribution system was investigated. In addition the content of fungi and protozoa in the raw and finished waters was measured. Parallel analyses of the total metabolic capabilities of the indigenous bacteria were performed using the Biolog<sup>®</sup> GN2 system. The waterworks produces a drinking water which was free for microbes and which scored negative for all of the 95 individual GN2 reactions. Filtration steps increased the bacterial load and contaminated the water with *Cryptococcus magnus* (a non-pathogenic yeast). Both UV-treatment and post chlorination effectively inactivated the microbial population. Amoeba were grown from the raw water, but were not present in the finished drinking water. Distribution net samples contained bacteria but there was no clear correlation between distance from the treatment plant and the bacterial count. Bacterial counts and GN2-data were more strongly and more significantly correlated for samples taken during the production process than samples taken during distribution. This could be explained by bacteria in the raw water having different growth characteristics than those in the distribution system. GN2 provides a data-rich measure of the total metabolic character of a drinking water particularly during its production. It would be useful to apply the test to other water-treatment types (eg membrane filtration) in order to see if treatment-specific profiles emerge from the data.

## Introduksjon

Behandling av råvann og deretter oppbevaring og distribusjon av rentvannet kan medføre endringer i innholdet av mikrober. Noen av disse forandringene er planlagte og er ønskede (for eksempel desinfisering) andre er uønskede og kan forringe vannets kvalitet, for eksempel oppbevaring/distribusjon av vannet under mindre hygieniske forhold.

Telling av dyrkbare heterotrofe bakterier (heretter *kimtall*) i vannet er blitt brukt som en generell indikator på vannbehandlingseffektivitet og til å kartlegge ettervekst av bakterier nedstrøms for behandlingsanlegget. Det er nå generell enighet om at i fravær av fekalkontaminering er det ingen direkte sammenheng mellom vannets kimtall og befolkningshelse (Expert Meeting group, 2003). Kimtallsanalyser er også utilstrekkelige til å fastslå vannets egentlige innhold av mikrober. Den såkalte 'Great Plate Count Anomaly' (Staley and Konopka, 1985) ble et uttrykk for observasjonen om at ofte mindre enn 1 % av bakterier i miljøprøver kan dyrkes på laboratoriemedier. Imidlertid fortsetter kimtallsanalyser å figurere i de fleste lands anbefalinger om drillekevannskvalitet.

Testen har noen fordeler. Den er billig, rask å utføre og store forandringer i kimtallet kan være et varsko om for eksempel forurensing og bør utløse nærmere undersøkelser (Expert Meeting Group, 2003). I tillegg er noen bakterier som kan inngå i kimtallet forbundet med infeksjoner hos grupper med svekket immunforsvar (for eksempel *Sphingomonas* og *Methylobacterium*) (Expert Meeting group, 2003).

Bruk av ulike vekstmedier kan ha stor innflytelse på kimtallet. Relativt næringsfattige medier (for eksempel R<sub>2</sub>A) gir generelt sett høyere kimtall for vannprøver (Reasoner og Geldreich, 1985). Det er fordi medier med høyt næringsinnhold kan hemme veksten av bakterier tilpasset vekst under næringsfattige forhold. I tillegg til kimtelling kan den mikrobielle populasjonen beskrives med andre teknikker. GN2-plater (Haywood, CA) består av 95 brønner med ulike C-forbindelser som er relevante substrater

for mikrober, figur 1. Brønnene i mikrotiterplaten inneholder en tetrazoliumforbindelse og oksidasjon av brønnens substrat synliggjøres gjennom en samtidig reduksjon av denne forbindelsen til et lilla produkt. GN2 kan gi da et datarikt mål på det totale metabolske potensialet/ funksjonell-diversiteten til prøvens innhold av mikrober. GN2-plater er tidligere blitt brukt i strukturanalyser av komplekse mikrobielle populasjoner, blant annet vann (O'Connell et al., 2002, Stefanowicz, 2006).



Figur 1. Biolog GN2-plater.

Den herværende studien undersøker om GN2-systemet avdekker forandringer i drikkevannets funksjonelle diversitet under produksjon og distribusjon. Det undersøkes også om GN2-data er korrelert med kimtallsdata på ulike agarmedier. Studien beskriver rentvannet produsert ved vannverket i hht. dets innhold av bakterier og noen protister (sopp og protozoer). Protister i drikkevann blir ikke regelmessig undersøkt. Kjente eksempler i drikkevannssammenheng er *Giardia* og *Cryptosporidium* og patogene amøber (for eksempel, *Acanthamoeba* og *Hartmannella*). Dessuten er en rekke gjær- og muggsopparter av helsemessig betydning blitt påvist i drikkevann både i Norge (Hageskal et al., 2006) og andre land (Yamaguchi et al., 2007).

## Materialer og metoder

### Vannbehandling ved Vansjø vannverk

Vansjø vannverk ligger ved Kjellerød i Rygge kommune. I 2009 ble det levert ca 7.360.000 m<sup>3</sup> vann fra installasjonen til ca 63.000 personer i kommunene Moss, Rygge, Råde og Vestby (<http://www.mosvar.no/34873/1666/34677-38514.html>). Vannbehandlingen omfatter tre rensetrinn, nemlig (1) flotasjon (2) filtrering i 6 parallelle tomediefiltre og (3) filtrering i 6 parallelle kullfiltre. Det er 2 desinfiseringsstrinn: UV-behandling og postklorering med kloramin, tabell 1.

### Prøvetakingspunkter

I tillegg til testing av råvannet og rentvannet, ble prøver tatt etter hvert trinn i vannbehandlingen. Nitten nettpøver,

som til sammen representerer områder fra hele distribusjonsnettet inngikk også i studien, figur 2 og tabell 1. Prøvene er gruppert noe løst i 6 prøvetakingssfelt som er representert med fargekode, figur 2. I noen tilfeller (for eksempel Moss sentrum (blått), Vestby (oransje) og Hølen/Son (gult) er prøvene tatt over et relativt lite område; < 2 km). Prøvene fra Sollikummen og Hestevold, som representeres med grått symbol er gruppert på basis av at de er punkter som ligger langt sør for vannverket.

### Biolog GN2

Vann (0,1 ml) ble pipettert i hver brønn. Brønnene ble registrert for substratoksidasjon basert på synlig utvikling av lilla farge, og spektrofotometrisk ved å måle optisk tetthet ved 595 nm i en Victor 1420 Multilabel Counter (Perkin Elmer, Turku, Finland). Kun brønner som viste synlig farge og hadde en optisk tetthet som var 30% over kontrollprøven etter 7 døgns inkubering ved 22 ± 2°C ble registrert som positive for substratoksidasjon.

### Kimtall (bakterier og sopp) og aerobe protozoer

*Kimtall (bakterier)* ble målt etter inkubering under 3 ulike vekstforhold. Disse var: *Blodagar-2* døgn v/37°C, *R<sub>2</sub>A-7-21* døgn v/22 °C, *Vannagar (VA)* -35 døgn v/22 °C (kun agarpulver løst i rensert vann).

*Kimtall (sopp)*: En prøvemporsjon på 250 ml ble filtrert gjennom en filtermembran med porestørrelse 0,45 µm. Membranen ble så plassert på Sabouraud Dextrose agar tilsatt 60 µg/ml kloramfenikol for å hindre bakterievekst.

Prøvetakingssted	Kimtall/ml			Metaboliserte forbindelser (antallet av totalt 95 stoffer) – GN2			pH
	Blodagar 36 ± 1°C (2 døgn)	Vannagar (VA) 22 ± 2°C (5 uker)	R2A 22 ± 2°C (1 uke)	R2A 22 ± 2°C (3 uker)			
Vannverk (sort symbol)*							
Råvannet	50	630	840	920	88	6,64	
Ut av flotasjonsanlegget	10	80	1150	1400	53	6,20	
Etter 2-mediefilter	<10***	880	340	1000	53	6,29	
Før UV-anlegget	<10***	960	470	615	47	6,51	
Etter UV-anlegget	<10***	20	50	75	2	6,73	
Etter kullfilter	10	330	5	310	23	6,41	
Rentvann (postklorering av vannet etter kullfilter)	<10***	<10***	<10***	<10***	0	7,62	
Moss sentrum (blått symbol) n=3	<10***	455 ± 276	23 ± 32	297 ± 194	2,3 ± 2,5	7,45 ± 0,06	
Rygge og omegn (brunt symbol) ikonet n=5	<10***	542 ± 452	16 ± 15	1846 ± 1615	2 ± 3,5	7,5 ± 0,18	
Hølen/Son (gult symbol) n = 4*	10 ± 20	368 ± 103	30 ± 32	870 ± 414	11 ± 20	7,44 ± 0,06	
Vestby sentrum og omegn (oransje symbol) n=5	64 ± 127	798 ± 351	678 ± 556	1180 ± 770	18 ± 16	7,33 ± 0,13	
Sollikommen/Hestevold (grått symbol) n=2	<10***	495 ± 460	1360 ± 1583	2500 ± 1131	2,5 ± 2,1	8,0 ± 0,12	
Ås (rødt symbol) n = 1**	0	100	210	440	13	7,18	

**Kimtall gjærsopp/250 mL (SAB; 22°C; 1 uke)**

Råvannet FMT\*\*\*\*

Ut av flotasjonsanlegget 0

Etter 3-mediefilter 500

Før UV-behandling 0

Etter UV-behandling 0

Etter kullfilter 700

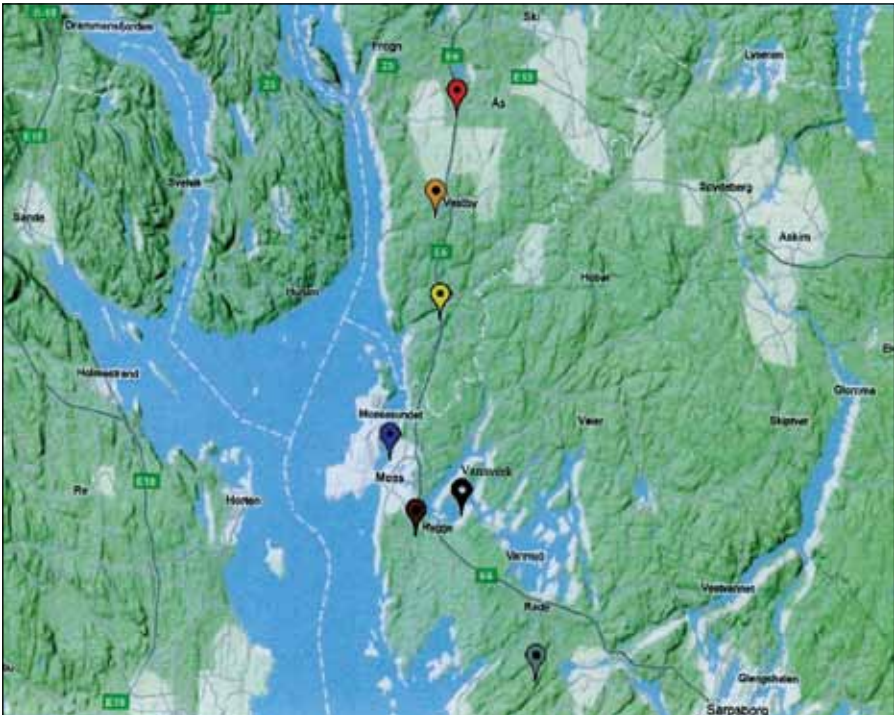
Rentvann(post-klor.) 0

\* data fra et prøvetakingspunkt der pH ble målt til >9 inngår ikke  
 \*\* mottar vann fra annet vannverk enn øvrige punkter

\*\*\* - ingen kolonier fra 0,1 ml

\*\*\*\* (FMT – for mange til å kunne telles. 10 kolonier som lignet på dem funnet i filterprøvene ble rendyrket. Av disse var 3 gjærsopp og disse ble identifisert)

Tabell 1. Oversiktsdata for prøver tatt av råvann, i behandlingsanlegget og på distribusjonsnett ved Vansjø interkommunale vannverk.



Figur 2. Grupperinger av prøvetakingspunkter.

Agarskålen ble inkubert ved  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  i 2 døgn og kolonier ble undersøkt i mikroskop for å bekrefte at de inneholdt sopp-celler. *Protozoer*. Mange amøber, flagellater (ikke *Giardia*) og ciliater kan dyrkes aerobt på agar med nærings-salter, men uten en oppløst karbon/energikilde (Non-nutrient agar, NNA). Næringsgrunnlaget dannes ved å blande vannprøven med en tykk suspensjon av pasteurisert *E. coli*. Prøveporsjoner på 250 ml av råvannet og rentvannet ble filtrert under lavt trykk for å fange opp protozoer og cyster. Filtermembranen ble deretter plassert på en NNA skål og dekket med pasteurisert *E. coli*. Tilstedeværelsen

av protozoer ble undersøkt i mikroskop daglig over en periode på 7 døgn ved  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ .

### Genotyping

Genotypisk identifikasjon av bakterier ble utført som beskrevet i Winter et al. (2007) og sopp som Trost et al. (2004). Sekvensering ble foretatt hos ABI-lab, Universitetet i Oslo.

### Databehandling

Kimtall- og GN2-data er gitt som gjennomsnittsverdien  $\pm$  ett standardavvik. Korrelasjonsanalyser (Pearson) og Studentens t-test ble brukt på log 10-trans-

formerte data. Pga. noen få 0-verdier i GN2-datasettet ble det lagt til +1 på alle datapunkter før transformasjon.

## Resultater

Vannkvaliteten i Vansjø har med årene blitt stadig dårligere og vannet har dermed blitt mer utfordrende å rense (<http://www.movar.no/34873/1666/34677-38514.html>). Råvannet inneholdt bakterier, gjærsopp og en heterogen populasjon av protozoer (amøber, flagellater og ciliater). Vannbehandlingen produserte i løpet av 3 rense- og 2-desinfiseringstrinn et rentvann som var fritt for dyrkbare mikrober. Likedan var evnen til å oksidere noen av de i alt 95 ulike GN2 karbonforbindelser fraværende i rentvannet. Mellomtrinn i vannbehandlingen og prøver fra distribusjonsnettet (bl.a. utjevningssassenget), viste aktive mikrobielle populasjoner og ga i de fleste tilfellene utslag i GN2-testen. Tabell 1 oppsummerer resultatene for kimtallsanalyser og GN2-testen.

### Vannbehandling

De 2 første trinnene i behandlingsprosessen (flotasjon og flermedierfilter) ga en liten samlet økning i kimtallet på

næringsfattig VA og R<sub>2</sub>A, tabell 1. Imidlertid viste både blodagar og GN2-testene reduksjoner. Mikrobene som de 2 først trinnene eventuelt tilfører vannet er ikke arter som vokser på blodagar (et medium tilpasset mange hurtigvoksende arter med klinisk relevans). Prøven som ble tatt etter kullfiltrene viste også en økning i kimtallet på alle agartyper og GN2-testen. For prøver tatt under rensing av vannet viste kimtallet på VA og R<sub>2</sub>A en signifikant positiv korrelasjon med GN2-data, tabell 2.

Bege filtreringsmassene synes å være kolonisert av en gjærsopp. Se her teksten under tabell 1. I prøvene tatt rett før filtrering ble ikke sopp påvist. Gensekvensering indikerer at begge filtermassene kan være kolonisert med den samme klon (identiske DNA-sekvenser). Soppen ble identifisert (100 % likhet over hele sekvenserte lokus) som en *Cryptococcus*-art, (høyst sannsynlig *C. magnus*). Tre tilfeldig valgte gjærsoppkolonier fra råvannsprøven viste seg å være *Candida sake*. *C. magnus* ble inaktivert av både UV-anlegget og postklorering. Tilstedeværelse av arten i kullfiltrene gjør at postklorering er avgjørende for inaktivering av soppen, tabell 1.

Korrelerte parametre	Prøver	R	P	N
<b>Biolog/R<sub>2</sub>A</b>	Alle	0,24	0,12	27
<b>Biolog/vannagar</b>	Alle	0,38	0,03	26
<b>Biolog/R<sub>2</sub>A</b>	Rensetrinn/nett	0,94/-0,07	<0,01/0,26	7/20
<b>Biolog/vannagar</b>	Rensetrinn/nett	0,92/0,43	<0,01/0,03	7/19

Tabell 2. Korrelasjoner mellom antallet positive GN2-tester og kimtall på ulike agartyper for alle prøver, prøver tatt fra trinn i renseprosessen og kun nettprøver.

Desinfiserende trinn ga gode reduksjoner i kimtallet og substratoksidasjonen (GN2). UV-anlegget og postklorering inaktiverte soppceller og ga betydelige reduksjoner i bakterietallet på alle medier. Nøkkeltall (%-reduksjoner i kolonitall og antallet positive Biolog-tester) var som følger:

**UV-anlegget:** 98%-VA (5 uker); 88% - R<sub>2</sub>A (3 uker); 96% - Biolog GN2; 100% - *C. magnus*.

**Postklorering:** 97-100%-VA (5 uker); 97-100%-R<sub>2</sub>A (3 uker); 100%-Biolog GN2; 100% - *C. magnus*.

## Nettprøver

Det var kun 3 nettprøver som ga vekst på blodagar innen 2 døgn ved 37 ± 1 °C. Kimtallet på R<sub>2</sub>A og VA ved 22 ± 2 °C var langt større. De fleste bakteriene var saktevoksende på disse mediene, og i mange tilfeller ble det en stor økning i kimtallet mellom 1 og 3 ukers inkubering på R<sub>2</sub>A, tabell 1. I nesten alle tilfeller ga inkubering på R<sub>2</sub>A (3 uker) høyest kimtall, mens høye tall ble også vist på vannagar (5 uker). Et interessant tilfelle var prøven tatt fra vannverkets utjevningssjø. Kimtallet på R<sub>2</sub>A økte fra 20/ml (1 uke) til >4500 etter 3 uker. Økning skyldtes utelukkende vekst av kolonier med knappe-nålshodestørrelse. Disse utgjorde også hele kimtallet på vannagar. På tross av det høye kolonitallet ble det ikke registrert metabolisme av noen av GN2-substratene. Sekvenseringsstudier identifiserte bakterien som en *Hyphomicrobium* art. Identifikasjonen fikk støtte av utseende i mikroskop (meget små staver, med stilk).

Korrelasjoner mellom antallet positive GN2-tester og kimtall på ulike agartyper

er vist i tabell 2. På grunn av den høye andelen av prøver som ikke ga kolonier på blodagar ble det ikke utført korrelasjonsanalyser basert på kimtallet på dette mediet. Kimtallet på vannagar viste en signifikant korrelasjon med GN2-data for både prøvene totalt og nettprøvene. Korrelasjonen mellom kimtallet på R<sub>2</sub>A og GN2 for nettprøver og prøvene totalt var ikke signifikant. Kimtallet varierte sterkt avhengig av dyrkningsforhold, tabell 1. Dette viser verdien av å ta i bruk flere vekstmedier og inkubasjonsforhold for å belyse ulike aspekter av vannets mikrobiologiske kvalitet. En parvis Studentens t-test utført på log-10 transformert data for kimtallene viste signifikante forskjeller mellom gjennomsnittsverdier for alle vekstmedier (toveis  $P \ll 0.001$ ).

Figur 2 viser plassering av vannverket og 6 prøvetakingsområder. Ett område (rødt symbol) mottar vann fra et annet vannverk og ble ikke databehandlet. Det var ingen klare tendenser som kan tilsi at vannets mikrobiologiske kvalitet avhenger av avstand fra produksjonsanlegget. For eksempel, prøvene fra Rygge (nærmest vannverket) ga samlet sett de nest høyeste kimtallene på VA og R<sub>2</sub>A, tabell 1 og figur 1. Vestby skiller seg noe ut med de høyeste kimtallene på blodagar og VA, det tredje største kimtallet på R<sub>2</sub>A og flest positive GN2-tester.

## Diskusjon

Herværende studie undersøker forandringer i drikkevannskvalitet under produksjon og distribusjon ved Vansjø vannverk. Miljøprøver (for eksempel drikkevann) kan inneholde komplekse mikrobielle po-



pulasjoner, hvorav artene som inngår kan ha ulike næringskrav og vokseegenskaper. Kimtallet for råvann, delvis rensset vann, rentvann ved vannverket samt nettprøver ble undersøkt. I tillegg ble GN2-plater brukt til å lage metabolske fingeravtrykk av prøvenes mikrobielle populasjoner.

### Prøver fra vannbehandlingen

Alle parametre viste at mikrobiell aktivitet forsvant under renseprosessen. Bakterietallet økte etter hvert filtreringstrinn noe som ikke anses som uvanlig fordi filtreringsmedier kan inneholde biofilmer. Filtreringsmassene bidro ikke med bakterier som kan vokse på blodagar ved 37 °C (for eksempel koliforme bakterier, Enterokokker, *Pseudomonas aeruginosa*). Mer overraskende var observasjonen at filtreringsmassene var kolonisert med en ren gjærsoppkultur bestående av *C. magnus*. Arten ble ikke funnet i andre prøver. Denne arten har vi også tidligere funnet i Oslos drikkevann og i en ledende norsk flaskevannstype, og kan synes å være tilpasset et liv i drikkevann. Den eneste veldokumenterte infeksjonen forårsaket av *C. magnus* er en sekundær ørekanalinfeksjon hos en katt. Infeksjonen oppsto i kjølevannet av antibiotikabehandling for *Aspergillus* otitt (Kano et al., 2004). *C. magnus* ble inaktivert av både UV-anlegget og postklorering, tabell 1. Fordi kullfiltrene er plassert etter UV-anlegget bør det tas hyppigere soppanalyser av filtermassene. Prøvetaking umiddelbart etter rensing av filtrene og deretter ved intervaller vil kunne gi informasjon om hvor fort soppen etablerer seg eller om funnet var en isolert hendelse.

For prøver tatt under rensing av vannet, dvs. i alt 7 prøver tatt ved vannverket; tabell 1 og 2, korrelerte kimtallet uansett medietype sterkt med GN2-data. Kimtallet på vannagar viste også signifikant positiv korrelasjon med GN2-data for nettprøvene, men korrelasjonen var svakere enn den for prøvene tatt under produksjon av drikkevannet. Kimtallet på R<sub>2</sub>A korrelerte derimot ikke med GN2-data for nettprøvene. Bakterier i råvannet og delvis rensset vann er da typer som kan utnytte substratene i GN2-platene, mens bakterier som vokser nedstrøms for anlegget har metabolske egenskaper som ikke blir like godt fanget opp av GN2-målinger. GN2 ble opprinnelig laget for medisinsk viktige bakterier som vokser bra på næringsrike agartyper. Bakterier med slike egenskaper bør være i mindretall i rent drikkevann. Andre studier tyder på at det er de hurtigvoksende bakteriene med preferanse for høye konsentrasjoner av karbonforbindelser som vokser og dominerer i GN2-brønnene under inkubering (Smalla et al., 1998 og referanser derfra). I så fall gjenspeiler ikke GN2-testene den opprinnelige diversiteten i miljøprøven og systemet har svakheter som ligner 'Great Plate Anomaly' for kimtall (se over).

Aerobe protozoer, bl.a. amøber, var tilstede i råvannet, men ingen protozoer ble funnet i rentvannet. NNA-testen vil ikke kunne påvise *Giardia* og *Cryptosporidium*. Imidlertid tyder en studie på at UV-doseringen som er nødvendig for inaktivering av amøber er lik den som må til for inaktivering av forannevnte arter (Maya et al., 2003). Dessuten er

noen amøber i seg selv potensielle patogener, for eksempel *Acanthamoeba* og *Naegleria* arter. Testing for aerobe amøber er enkelt og raskt, men et potensielt bruk som surrogat for andre protozoer vil behøve flere sammenlignende undersøkelser.

Begge desinfiserende trinn ga gode reduksjoner i kimtallet og i vannets metabolske potensiale. Postklorering er kritisk for vannets kvalitet i og med at filterene tilfører vannet mikrober. Den svært gode rentvannskvaliteten (uansett målemetode) dokumentert i Tabell 1 støttes også av vannverkets egne nøkkeltall: Verken *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Cryptosporidium* eller *Giardia* ble påvist i vannet ved vannverket i 2009. Gjennomsnittskimtallet var 1 /ml (<http://www.mo-var.no/34873/1666/34677-38514.html>).

### Nettprøver

Kun 10 % av nettprøvene ga vekst på blodagar dyrket ved  $37 \pm 1$  °C. Blodagar brukes mye i analyse av klinisk materiale fordi mange klinisk viktige arter og hygieniske indikatorbakterier, for eksempel *E. coli*, enterokokker og *P. aeruginosa*, vokser bra på næringsrike medier ved kroppstemperatur. Forholdsvis høye tall på blodagar (kontra de næringsfattige typene) kan være en indikasjon på kontaminering eller utilstrekkelig rensing. For eksempel var prøven med det høyeste kimtallet på blodagar (50 /ml) råvannsprøven.

Det ble funnet et høyt antall *Hyphomicrobium* i prøven tatt fra utjevningsbassenget uten at bakteriene ga utslag i GN2-testen, tabell 1. Dette var det mest slående eksempelet på en mulig begrens-

ning ved bruk av GN2-plater, nemlig evnen til å indikere tilstedeværelse av slike saktevoksende arter, med lavt næringsbehov. Den lille størrelsen til *Hyphomicrobium* kombinert med stilk, øker overflate/volum-ratio, og dette anses som fordel for celler som vokser på spormengder av næring. *Hyphomicrobium*-arter er blitt registrert voksende i dobbeltdestillert vann og på agar som ikke er tilsatt næringsstoffer (cf vannagar i nåværende studie) (Moaledj, 1980). Artene regnes ikke som sykdomsframkallende.

$R_2A$  -GN2-korrelasjonen for nettprøvene var ikke signifikant.  $R_2A$  er et relativt næringsfattig, bufret vekstmedium som har i flere sammenligninger av vekstmedier for bakterier gitt høyeste kimtall for vann (Reasoner og Geldreich, 1985). Imidlertid at den enda mer næringsfattige VA korrelerte bedre med GN2-data for nettprøver kompliserer tolkningen, og lignende undersøkelser av andre nettprøver må til for å undersøke robustheten i datasettet. Bruk av studentens t-test i sammenligninger av VA og  $R_2A$  viser at gjennomsnittskimtall er signifikant forskjellig ( $P \ll 0,001$ ).

Det var ingen klar sammenheng mellom kimtall/GN2-data og avstand fra vannverket. Dette kan indikere at lokale forhold (for eksempel rørnettets tilstand) er viktigere enn avstand fra produksjonsanlegget.

Kimtalls- og GN2-testene er konseptuelt forskjellige og gir ulike mål på vannets mikrobiologiske kvalitet, men peker på lignende trender spesielt for vann under rensing. Det høye antallet (95) datapunkter som GN2 produserer egner seg

til statistisk behandling. Det ville være nyttig å bruk GN2-testen til å karakterisere andre vannbehandlingsregimer, f. eks. membranfiltrering, for å se om et større datasett generer behandlings-spesifikke profiler.

## Referanser

Expert Meeting Group Report. Expert consensus. (2003). In: Bartram, J., Co-truvo, J., Exner, M., Fricker, C., Glasmacher, A. (Eds.), *Heterotrophic Plate Counts and Drinking Water safety*, IWA Publishing, London, pp. 1-11.

Hageskal, G., Gaustad, P., Heier, B. and Skaar, I. (2007). Occurrence of moulds in drinking water. *Journal of Applied Microbiology*. 102, 774–780.

Kano, R., Hosaka, S og Hasegawa, A. (2004). First isolation of *Cryptococcus magnus* from a cat. *Mycopathologia*. 157, 263-264.

Maya, C., Beltran, N., Jimenez, B. and Bonilla, P. (2003). Evaluation of the UV disinfection process in bacteria and amphizoic amoebae inactivation. *Water Science and Technology: Water Supply*. 3 (4), 285-291.

Moaledj, K. (1980). *Hyphomicrobium* as a component of the aquatic microflora — morphological and physiological studies on two strains. *Zeitschrift für allgemeine Mikrobiologie*. 20, 503–511.

O’Connell, S.P., and Garland, J.L. (2002). Dissimilar response of microbial communities in Biolog GN and GN2 plates.

*Soil Biology and Biochemistry*. 34 (3), 413-416.

Reasoner, D.J and Geldreich, E.E. (1985). A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied and Environmental Microbiology*. 49 (1) 1-7.

Staley, J.T and Konopka, A. (1985). Measurement of *in situ* activities of non-photosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annual Reviews in Microbiology*. 39, 321–346.

Stefanowicz, A. (2006). The Biolog Plates Technique as a Tool in Ecological Studies of Microbial Communities. *Polish Journal of Environmental Studies*. 15 (5), 669-676.

Trost, A., Graf, B., Eucker, J., Sezer, O., Possinger, K., Göbel, U.B., Adam, T. (2004). Identification of clinically relevant yeasts by PCR/RFLP. *Journal of Microbiological Methods*. 56 (2), 201–211.

Winter, C., Hein, T., Kavka, G., Mach, R.L., Farnleitner, A.H. (2007). Longitudinal changes in the bacterial community composition of the Danube river: a whole-river approach. *Applied and Environmental Microbiology*. 73 (2), 421-431.

Yamaguchi, M.U., de Cassia, R., Rampazzo, P., Yamada-Ogatta, F.F., Nakamura C.V., Ueda-Nakamura, T., Dias-Filho, D.P. (2007). Yeasts and filamentous fungi in bottled mineral water and tap water from municipal supplies. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 50 (1), 1-9.