

Er fjellvannet godt nok?



En undersøkelse av drikkevannskvaliteten på serveringssteder i fjellet

Fordypningsoppgave ved Norges veterinærhøgskole for
Karl Erik Birkeland og Cecilie Guttormsen, kull 1995

Veiledere: Yngvild Wasteson og Øyvind Østensvik



Fagseksjon for næringsmiddelhygiene
Institutt for farmakologi, mikrobiologi og næringsmiddelhygiene
Norges veterinærhøgskole

2001

Sammendrag.....	3
1. Innledning	4
2. Materiale og metoder	7
2.1 Prøvesteder	7
2.2 Vannprøver	7
2.3 Mikrobiologiske parametre	8
2.4 Konfirmerende analyser	9
2.4.1 Koliforme bakterier	9
2.4.2 Presumptive <i>E. coli</i>	10
2.4.3 Enterokokker.....	10
2.4.4 <i>Aeromonas</i> spp.....	11
2.5 Statistisk analyse.....	12
3. Resultater.....	13
3.1 Opplysninger fra spørreskjemaene	13
3.2 Oversikt over mikrobiologiske resultater	13
3.3 Koliforme bakterier.....	15
3.3.1 LES Endo.....	15
3.3.2 Colilert-18.....	16
3.3.3 Samsvar mellom resultater fra LES Endo og Colilert-18.....	16
3.4 Presumptive <i>E. coli</i>	16
3.4.1 mFC	16
3.4.2 Colilert-18.....	16
3.5 Enterokokker	17
3.5.1 Forekomst og artssammensetning	17
3.5.2 Følsomhet for antibiotika.....	17
3.6 <i>Aeromonas</i> spp.....	18
3.7 Kintall.....	19
4. Diskusjon.....	20
4.1 Vurdering av drikkevannsforsyningen.....	20
4.2 Vurdering av metodikk.....	21
4.2.1 Koliforme bakterier	21
4.2.2 Presumptive <i>E. coli</i>	22
4.3 Mikrobiologisk sammensetning.....	22
4.3.1 Koliforme på LES Endo-agar	22
4.3.2 Koliforme fra Colilert-18.....	22
4.3.3 Følsomhet overfor antibiotika hos enterokokker	22
4.3.4 Vurdering av patogenitet hos <i>Aeromonas</i> -isolatene.....	23
5. Konklusjon	24
Summary	25
Etterskrift	26
Referanser	27
Vedlegg: Spørreskjema benyttet i undersøkelsen	30

Sammendrag

Serveringssteder på fjellet benytter seg i stor grad av ikke-desinfisert drikkevann fra egne vannkilder. Drikkevannsforskriften stiller de samme kravene til vannforsyningen i slike virksomheter som i andre næringsmiddelbedrifter – vannet skal være hygienisk betryggende og være sikret mot forurensing ved to uavhengige hygieniske barrierer.

Denne rapporten baserer seg på mikrobiologiske analyser av vannprøver innsamlet fra 32 serveringssteder i fjellområder i Sør-Norge. Det ble samlet inn vannprøver ved sommersesongens begynnelse og slutt (begynnelsen av juli og slutten av august). Prøvene ble analysert med henblikk på forekomst av indikatorbakterier for fekal forurensing, heterotroft kimtall og *Aeromonas* spp.

Det ble funnet fekale indikatorbakterier på 15 av de 32 besøkte prøvestedene. Ved tre av stedene ble det påvist indikatorbakterier ved begge prøverundene, de øvrige prøvestedene hadde funn enten i juli eller i august. Disse funnene indikerer at de fleste kildene er mer utsatt for sporadisk forurensing enn kontinuerlig kontaminasjon. Dette kan tyde på at vannkildene som ble undersøkt er sårbare for forurensing, selv om prøvene i mange tilfeller ikke hadde forekomst av indikatorbakterier.

Vannet var generelt av bedre hygienisk beskaffenhet ved de prøvestedene som benyttet grunnvann som vannkilde enn der det ble brukt overflatevann.

1. Innledning

Drikkevann kan fungere som en vektor for smittsomme sykdommer. Teoretisk sett kan vann som utsettes for mikrobiologisk forurensing overføre ethvert smittestoff som har evne til å overleve i miljøet. Det er likevel et begrenset antall agens som regnes som spesielt viktige i forbindelse med vannbåren smitte. Disse agens har som regel en fekal-oral smittevei, slik at bruk av drikkevann forurenset med fekalier fra mennesker og dyr kan utgjøre en risikofaktor for spredning av sykdom.

Tilgangen på drikkevann av tilfredsstillende hygienisk kvalitet er bedre i den rike del av verden enn i utviklingsland. Vannbåren sykdom forårsaket av *Shigella* spp., *Vibrio cholerae* og *Entamoeba histolytica* forekommer oftest i områder av Asia, Afrika og Sør-Amerika med stor befolkningstetthet og dårlige sanitære forhold. Men også i land som USA, Storbritannia og Canada har det de senere årene forekommet større vannbårne utbrudd av blant annet patogene *E. coli* og cryptosporidiose (1).

I Norge har konsum av fekalt forurenset drikkevann blitt beskrevet som en risikofaktor for vannbåren sykdom. Det er beskrevet infeksjon med blant annet *Campylobacter* spp., *Salmonella typhimurium* og humane calicivirus som følge av at drikkevann ikke har blitt desinfisert eller som følge av rekontaminasjon av behandlet vann (2,3).

For å bedømme om drikkevann er hygienisk tilfredsstillende er det vanlig å påvise fekale indikatorbakterier. Det er ikke vanlig å undersøke vannet for forekomst av spesifikke patogener, da mangfoldet av patogene organismer vil gjøre slike undersøkelser for tid- og ressurskrevende. En ideell fekal indikatorbakterie skal ikke ha andre reservoarer enn tarminnhold og feces. Indikatorbakterien bør dessuten være mulig å påvise i en vannprøve så lenge den fekale forurensingen kan utgjøre en smittemessig risiko. Drikkevannsforskriften (4) gir sine mikrobiologiske kvalitetskrav til forekomst av disse gruppene av indikatorbakterier:

- koliforme bakterier (KB)
- termotolerante koliforme bakterier (TKB)
- enterokokker og fekale streptokokker (FS)
- sulfittreduserende klostridier (SK)

Ingen av disse bakteriene oppfyller idealkravene til en indikatorbakterie fullt ut. KB, FS og SK kan forekomme både i miljøet og i feces, mens desinfeksjon vil kunne føre til at mengden av TKB reduseres raskere enn patogene mikroorganismer (5).

Heterotroft kimtall ved 22 °C er en indikator for den dyrkbare forekomsten av lett nedbrytbart organisk stoff. Sopp- og bakteriekoloniene har ikke nødvendigvis fekal opphav, og er et generelt uttrykk for at vannkilden eller ledningsnettene gir gode vekstvilkår for mikroorganismer. I Nederland har konsentrasjonen av *Aeromonas* spp. i drikkevann blitt tatt i bruk som en tilsvarende indikator på vekstmulighetene i vannet. Forekomst av *Aeromonas* spp. i drikkevann kan også representere en helserisiko fordi enkelte stammer kan produsere toksiner med patogen effekt (6). Heterotroft kimtall ved 37 °C er en indikator for den dyrkbare forekomsten av bakterier som ikke har naturlig tilhold i vann.

I forbindelse med at den gjeldende drikkevannsforskriften av 1995 avløste det gamle regelverket (7,8) ble det stilt strengere forutsetninger for sikringen av vannkilder som forsyner næringsmiddelvirksomheter. Både det gamle og det gjeldende regelverket krever at alt vann som brukes i næringsmiddelvirksomheter er hygienisk betryggende. I kommentaren til den gjeldende forskriftens §15 er dette imidlertid konkretisert til at det må være minimum to uavhengige hygieniske barrierer i vannforsyningssystemet. I mikrobiologisk sammenheng er en hygienisk barriere en hindring som fjerner eller uskadeliggjør smittsomme agens, for eksempel vannkildens beskaffenhet eller en vannbehandlingsprosedyre (9).

Den ene av de hygieniske barrierene skal normalt være et desinfeksjonstrinn. For enkelte grunnvannskilder kan et godt beskyttet infiltrasjonsområde, løsmassenes filtrerende egenskaper samt tilstrekkelig oppholdstid i grunnen til sammen fungere som to hygieniske barrierer. Vannkilder som ikke benytter kontinuerlig desinfeksjon skal likevel ha mulighet for å desinfisere drikkevannet når dette er nødvendig.

Serveringssteder i fjellet har tradisjonelt basert seg på å bruke ubehandlet vann fra en nærliggende vannkilde. På grunn av begrenset menneskelig aktivitet er vannkilder i fjellet relativt lite utsatt for fekal forurensning, men også her kan dyr (beitedyr og viltlevende dyr) og mennesker forurense vannet. Lav næringstilgang og lav temperatur

i vannkilden kan fremme overlevelsen av mange patogene agens, og agens som *Aeromonas* spp. kan vokse i drikkevann ved lave temperaturer.

Drikkevannskildenes beskaffenhet og beliggenhet har lenge blitt oppfattet som god nok sikring av vannkvaliteten (10). Kravene i det gamle regelverket kunne bli oppfylt ut i fra disse forutsetningene. Da forskriftsendringen kom, betegnet Den Norske Turistforening kravet om desinfeksjon av vann fra alpine vannkilder som meningsløst, og ga uttrykk for at de ikke ville prioritere å skaffe utstyr for desinfeksjon av drikkevann på sine hytter (11).

Det finnes få tilgjengelige undersøkelser av drikkevannskvalitet ved serveringssteder i norske fjellområder. En undersøkelse Næringsmiddeltilsynet i Hallingdal foretok i 1991 viste at det var dårlig samsvar mellom de krav som myndighetene setter til en tilfredsstillende vannforsyning og eksisterende forhold på turistbedriftene på Golsfjellet (12).

I perioden 1976 til 1999 har Seksjon for vannhygiene ved Folkehelse samlet opplysninger om 11 tilfeller av vannbårne sykdomsutbrudd ved turistbedrifter i fjellheimen. Noen av tilfellene er meldt inn via Meldingssystemet for smittsomme sykdommer (MSIS), mens opplysninger om de andre vannbårne sykdomsutbruddene er samlet inn på annen måte (blant annet fra oppslag i media) (13).

Denne undersøkelsen har hatt som hovedmål å kartlegge den mikrobiologiske drikkevannskvaliteten på et utvalg av serveringssteder i fjellet med egen drikkevannsforsyning. I tillegg ble testmetoden Colilert-18 sammenlignet med membranfiltreringsmetoder for påvisning av koliforme bakterier og *E. coli* i drikkevann. Et utvalg av koliforme bakterier, termotolerante koliforme bakterier, enterokokker og *Aeromonas* spp. ble artstypet og karakterisert.

2. Materiale og metoder

2.1 Prøvesteder

Prøvestedene omfattet turistforeningshytter, private turisthytter, hoteller, sætrer og lignende som tilbyr matservering. Selvbetjente og ubetjente hytter hvor gjestene selv besørger matlagingen har ikke vært omfattet av denne undersøkelsen.

Ut i fra Den Norske Turistforenings (DNT) fortegnelse over hytter i fjellet (14,15,16) ble det valgt ut to geografiske områder med høy tetthet av serveringssteder; Hardangervidda/Skarvheimen og Jotunheimen/Breheimen. Ved hjelp av DNTs katalog og telefonkatalogen ble det funnet i alt 86 serveringssteder i disse områdene. Det ble sendt ut et spørreskjema til alle disse serveringsstedene der de ble spurt om de var villige til å være med i en undersøkelse (se vedlegg). Dette skjemaet ba om opplysninger om vannkildens beskaffenhet, kjente risikofaktorer til forurensing (bading, utslipp, ferdsel eller beitedyr), eventuell vannbehandling (for eksempel UV-desinfeksjon) og antall gjestedøgn.

2.2 Vannprøver

Det ble samlet inn to vannprøver fra hver hytte; én i begynnelsen av juli 2000 og én i slutten av august samme år. Vannprøvene ble tatt ut i henhold til Norsk Standard 4789 (17), med 1 liters prøvevolum fra hvert prøvested. Prøvene ble tatt ut fra flambert vannkran på kjøkkenet i autoklaverte glassflasker. På de stedene som hadde anlegg for UV-bestråling ble det dessuten tatt ut en prøve av det ubehandlede vannet. Prøvene ble fraktet til Oslo i isoporkasser med fryseelementer og ble deretter satt til kjøling ved 4 °C inntil analysearbeidet startet. Det gikk aldri mer enn 30 timer fra prøveuttak til analysestart.

2.3 Mikrobiologiske parametre

Prøvene ble analysert med henblikk på parametrene vist i Tabell 1.

Tabell 1: Oversikt over mikrobiologiske parametre brukt i undersøkelsen

Parameter	Benyttet metodikk	Beskrivelse av metodikk, typiske kolonier
Heterotroft kimtall ved 22 °C og 37 °C	NS-EN ISO 6222 (18)	Alle aerobe bakterier, gjær og mugg som danner kolonier på mediet under de dyrkingsbetingelser som er spesifisert.
Koliforme bakterier	NS 4788 (19)	Oksidase-negative bakterier som på selektivt vekstmedium danner syre og aldehyd fra laktose innen 24 timer ved aerob inkubering ved 37 °C. Typiske kolonier vil være mørk røde, ugjennomsiktige og med en karakteristisk metallglans på LES Endo Agar.
Termotolerante koliforme bakterier og presumptive <i>E. coli</i>	NS 4792 (20)	Termotolerante koliforme bakterier vil på selektivt medium danne syre fra laktose innen 24 timer ved aerob inkubering ved 44,5°C. Fargen kan variere fra grønnlig, lys blå til mørk blå avhengig av mengden syre som produseres fra laktose i mFC-agaren. Presumptive <i>E. coli</i> defineres som en termotolerant koliform bakterie som er i stand til å produsere gass fra laktose eller mannitol og indol fra tryptofan innen 24 timer ved 44,0 eller 44,5 ± 0,2 °C.
Koliforme bakterier og <i>E. coli</i>	Colilert-18 med QuantiTray (IDEXX Laboratories, Inc.), benyttet etter produsentens anvisning	Koliforme bakterier gir positiv ONPG-reaksjon som viser seg som gul fargereaksjon på Colilert-18. Dette indikerer tilstedeværelse av enzymet β-galaktosidase som produseres av koliforme bakterier. <i>E. coli</i> gir positiv MUG-reaksjon som viser seg som fluorescens ved bestråling med langbølget UV-lys (365 nm). Dette indikerer tilstedeværelse av enzymet β-glukuronidase som produseres av <i>E. coli</i> .
Enterokokker og fekale streptokokker (<i>S. bovis</i> og <i>S. equinus</i>)	NS-EN ISO 7899-2 (21)	Bakterier som har evnen til å redusere 2,3,5-trifenyltetrazoliumklorid til formazan og til å hydrolysere esculin ved 44 °C på de mediene som er spesifisert i standarden. Typiske kolonier vil vise en rød, rødbrun eller rosa farge enten i sentrum eller gjennom hele kolonien. Koloniene skal være katalasenegative. Membranfilter med typiske kolonier flyttes over til galle-esculinagar og inkuberes ved 44 °C i 2 timer. Positiv reaksjon på dette mediet viser seg som en mørkebrun til svart farge i mediet rundt kolonien og slike kolonier telles som intestinale enterokokker.
Presumptive <i>Aeromonas</i> spp.	Membranfiltrering med porestørrelse 0,45µm. Filtrene ble lagt på <i>Aeromonas</i> -agar (Difco CM833) med 10 µg / ml ampicillin)	Gram negative, oksidasepositive kolonier med typisk grønn farge.

For å sammenligne ulike analyseprinsipper for koliforme bakterier og *E. coli* ble det ble valgt to metoder for disse parametrene. NS 4788 og NS 4792 baserer seg primært på forgjæring av laktose, mens Colilert-18 baserer seg på påvisning av enzymer som er spesifikke for de to bakteriegruppene.

Ved å inkubere Colilert-18 i QuantiTray får man en kvantifisering av koliforme og *E. coli* ved hjelp av en MPN (most probable number)-tabell.

2.4 Konfirmerende analyser

For å få renkultur fra de typiske koloniene fra primærskålene ble disse subkultivert på sekundære skåler som angitt nedenfor. Isolatene ble overført til blodskåler og nedfrost i kryorør (Microbank™, PRO-LAB Diagnostics, Canada) ved ± 70 °C i opptil et halvt år. Enkelte analyser av isolatene ble foretatt umiddelbart etter isoleringen, de resterende ble foretatt på de nedfrosne koloniene.

2.4.1 Koliforme bakterier

Et representativt utvalg av typiske koliforme kolonier fra LES Endo Agar ble sådd ut sekundært på Endo-agar. Dette tilsvarte ca. 50 % av koloniene fra hver primærskål. Fra sekundærskålen ble isolatene sådd ut på laktose-pepton-buljong (LPB) og verifisert som koliforme bakterier dersom de produserte gass ved 37 °C i henhold til ISO/DIS 9308-1 (tillegg B i NS 4788).

Fra Colilert-18 ble det valgt ut én eller to brønner fra hvert QuantiTray-brett med orto-nitro-fenyl- β -D-galaktopyranosid (ONPG)-positive reaksjoner. Etter sterilisering av overflaten på brettene ble det tatt ut materiale fra de positive brønnene som lå nærmest et definert hjørne på brettet. 20 μ l fra hver av disse brønnene ble sådd ut på McConkeyagar. Bakterier som produserte syre fra laktose (rosa utfelling) på dette mediet ble sådd ut på LPB ved 37 °C og testet for evne til gassproduksjon. De stammene som ikke ga typiske reaksjoner (anaerogene isolater) ble typet på testsystemet Roscozym-ENT (Rosco, Taastrup, Danmark). Dette testsystemet brukes til artsbestemming av *Enterobacteriaceae* ved at det registrerer 11 forskjellige biokjemiske reaksjoner. Resultatene sammenlignes med en database over typiske reaksjoner fra isolater med kjent identitet.

Sammenlikning av funn fra LES Endo agar med funn på Colilert-18 omfattet at isolatene fra LES Endo Agar også ble testet for ONPG-reaksjon og 4-metylumbelliferyl- β -D-glukuronid (MUG)-reaksjon.

Artssammensetningen av de koliforme koloniene fra ett av prøvestedene ble vurdert ved hjelp av testsystemet API 20 E (bioMérieux sa, Frankrike). API 20 E registrerer 20 biokjemiske reaksjoner og gir en artsdiagnose etter samme prinsipp som Roscozym-ENT. Et utvalg av de MUG positive koloniene fra et annet prøvested ble typet på samme måte.

2.4.2 Presumptive *E. coli*

Ved den ene prøverunden i august ble det benyttet feil inkubasjonstemperatur for TKB på mFC-agar. Disse resultatene ble derfor forkastet. På grunn av dette stod det bare igjen valide resultater fra ett prøvested.

Fra dette prøvestedet ble 20 av 24 typiske termotolerante kolonier fra mFC-agar sådd ut sekundært på mFC-agar. Isolatene fra sekundærskålene ble videre sådd ut på LPB og tryptonbuljong og verifisert som presumptive *E. coli* ved 44,5 °C i henhold til NS 4792. For å kunne sammenlikne resultater fra mFC-agar og Colilert-18, ble isolatene i tillegg testet for oksidasereaksjon, ONPG-reaksjon og MUG-reaksjon.

Fra Colilert-18 ble det valgt ut én brønn fra hvert QuantiTray-brett med MUG-positive reaksjoner. Det ble tatt ut materiale fra den positive brønnen som lå nærmest et definert hjørne på Quanti-Tray-brettet. 20 μ l fra hver brønn ble sådd ut på McConkeyagar. For å kunne sammenlikne resultatene fra mFC-mediet med resultatene fra Colilert-18, ble bakteriene som produserte syre fra laktose (rosa utfelling) sådd ut på tryptonbuljong og LPB ved 44,5 °C og verifisert som presumptive *E. coli* i henhold til NS 4792. De isolatene som ikke ga typiske reaksjoner ble identifisert ved hjelp av API 20 E.

2.4.3 Enterokokker

Et representativt utvalg av koloniene (17 av i alt 26) som oppfylte kravene angitt i NS-EN-ISO 7899-2 ble artsbestemt ved hjelp av testsystemet API 32 strep (bioMérieux sa, Frankrike). Dette er et testkit som benyttes for artsbestemming av streptokokker og beslektede organismer etter tilsvarende prinsipp som for API 20 E og Roscozym-ENT. Isolatene ble dessuten testet for følsomhet for penicillin, erythromycin, ampicillin, streptomycin, gentamicin, tetracyklin, trimetoprim og

kloramfenikol ved hjelp av NeoSensitabs™ (Rosco, Taastrup, Danmark) på Mueller-Hintonskåler og vankomycin og teikoplanin ved hjelp av Etest-strips (AB BIODISK, Sverige) på BHI-skåler. Testingen ble foretatt etter metodene som benyttes på Veterinærinstituttet (22,23). Bakteriene ble klassifisert som sensitive, intermediaære eller resistente ut i fra grenseverdier for hemningssoner angitt av produsentene.

2.4.4 *Aeromonas* spp.

Presumptive *Aeromonas* spp. ble sådd ut på blodskåler og inkubert anaerobt ved 30 °C i 24 timer. Isolater som hadde vokst anaerobt ble regnet som *Aeromonas* spp. Alle bakterier som vokste med avgrensede kolonier ble artsbestemt ved hjelp av følgende biokjemiske tester basert på data fra Janda (24): Hydrolyse av esculin, indolproduksjon, Voges-Proskauer-reaksjon, syreproduksjon fra sukrose og arabinose og gassproduksjon på Triple Sugar Iron-medium.

Isolatene ble testet for forekomst av aerolysin-gen ved hjelp av polymerasekjedereaksjon (PCR) etter metoden beskrevet av Ørmen og Østensvik (25). DNA-templater for bruk i PCR ble fremskaffet fra supernatanten av sentrifugerte, varmebehandlede bakteriesuspensjoner. Primerne PROM1F og PROM1R ble brukt, produktet av disse er en del av aerolysin-genets promotorregion med størrelse på 489 basepar. PCR-produktene ble separert ved elektroforese i agarosegel.

Isolatene ble videre testet for produksjon av aerolysin ved hjelp av verocelletest som beskrevet av Ørmen og Østensvik (25). Testen baserte seg på at det ble tilsatt supernatant fra sentrifugerte bakteriekulturer til vero-celler som hadde vokst i et medium med lavt innhold av aminosyren leucin. Etter to timers inkubering ved fysiologiske betingelser (37 °C, 5 % CO₂) fikk cellene tilgang på vekstmedium med radioaktivt merket leucin. Etter en ny inkubasjon i en time ble cellene vasket, og den radioaktive strålingen fra cellekulturene registrert i en scintillasjonsteller. Svikt i opptak av radioaktivt leucin ble oppfattet som en effekt av toksinpåvirking av verocellene. Cytotoksisiteten ble beregnet ved å sammenligne strålingen fra cellekulturene med blindprøver som ikke hadde blitt utsatt for bakteriesupernatant. Cytotoksisiteten ble gradert som høy (80-100 % celledød), moderat (20-80 % celledød) eller lav (mindre enn 20 % celledød).

2.5 Statistisk analyse

Det ble forsøkt å påvise sammenheng mellom typen vannkilde (overflatevann/grunnvann) og funn av indikatorbakterier ved hjelp av kjikvadrattest med kontinuitetskorreksjon (26). Denne testen ble også benyttet for å vurdere sammenhengen mellom funn av aerolysin-gen og cytotoxissiteten i *Aeromonas*-stammene.

Metodene for påvisning av koliforme bakterier ble sammenlignet ved å se hvorvidt resultatene fra NS 4788 lå under, innenfor eller over 95 %-konfidensintervallet for MPN-verdien fra Colilert-18.

3. Resultater

3.1 Opplysninger fra spørreskjemaene

Det lyktes å få respons fra 76 av de 86 serveringsstedene som ble kontaktet. Ut i fra disse svarene ble 17 hytter ekskludert fordi de hadde vannforsyning fra større vannverk eller fordi virksomheten hadde opphørt. Av de resterende 59 ble det valgt ut 32 steder ut i fra et ønske om å få med drikkevannskilder av ulik art (overflatevann, grunnvann, vannbehandlingsrutiner) og beliggenhet. Hos mange av prøvestedene som i skjemaet anga at de hadde UV-anlegg viste det seg at disse anleggene ikke eksisterte eller ikke var i bruk. En oversikt over de faktiske forholdene på prøvestedene finnes i Tabell 2.

Tabell 2: Oversikt over vannkilder og vannbehandling

Type vannkilde	Ingen vannbehandling	UV-behandling	Sandfiltrering	Totalt
Overflatevann	12	3	1	16
Grunnvann	16	0	0	16
Totalt	28	3	1	32

Av spørreskjemaene fremgikk det at alle de 16 prøvestedene med overflatevannkilder hadde en eller flere risikofaktorer i tilsigsområdene for vannkilden, eller at hytteeieren ikke hadde oversikt over disse.

3.2 Oversikt over mikrobiologiske resultater

En oversikt over prøvestedene som ved en eller begge prøverundene hadde mikrobiologiske funn over grenseverdier gitt i drikkevannsforskriften er vist i Tabell 3 og Tabell 4. Ved prøvesteder med vannbehandling er det resultatene fra det behandlede vannet som er talt med.

Det ble funnet fekale indikatorbakterier på 15 av de 32 besøkte prøvestedene. Ved tre av stedene ble det påvist indikatorbakterier ved begge prøverundene, de øvrige prøvestedene hadde funn enten i juli (seks steder) eller i august (seks steder).

En kjikvadrattest av forekomsten av indikatorbakterier relatert til typen vannkilde (Tabell 2) viste en signifikant sammenheng ($p < 0,05$) mellom bruk av overflatevann og

forekomst av fekale indikatorbakterier sett under ett. For enkeltparametrene ble det ikke påvist noen tilsvarende signifikant sammenheng.

Tabell 3: Funn av fekale indikatorbakterier i drikkevann fra serveringssteder i fjellet. Tallene angir antall prøvesteder som hadde funn i en eller begge prøverundene.

Mikrobiologiske parametre	Antall prøvesteder med funn				Grenseverdier pr. 100 ml relatert til drikkevannsforskriften
	Overflatevann Totalt 16		Grunnvann Totalt 16		
Koliforme bakterier					
– LES Endo	9	56,2 %	3	18,8 %	0
– Colilert-18	9	56,2 %	1	6,2 %	MPN < 1
Termotolerante på mFC*	1	6,1 %	0	0,0 %	0
<i>E. coli</i> fra Colilert-18	4	25,0 %	1	6,2 %	MPN < 1
Enterokokker	6	37,6 %	2	12,4 %	0
Alle indikatorbakterier under ett	11	68,8 %	4	25,0 %	

* Verdiene for termotolerante fra mFC er ufullstendige, da resultatene fra den ene prøverunden ble forkastet på grunn av feil inkubasjonstemperatur.

Tabell 4: Kimtall over veiledende norm eller *Aeromonas* spp. i drikkevann fra serveringssteder i fjellet. Tallene angir antall prøvesteder som hadde funn i en eller begge prøverundene.

Mikrobiologiske parametre	Antall prøvesteder med funn				Veiledende verdier pr. 100 ml gitt i drikkevannsforskriften
	Overflatevann Totalt 16		Grunnvann Totalt 16		
Kimtall 22°C	4	25,0 %	4	25,0 %	100
Kimtall 37°C	2	12,5 %	0	0,0 %	10
<i>Aeromonas</i> spp.	2	12,5 %	1	6,2 %	*

* Drikkevannsforskriften gir ingen veiledende norm. Alle prøvested med funn av *Aeromonas* spp. er regnet med.

Det ble påvist små mengder koliforme bakterier (1-4 kolonidannende enheter (cfu) pr. 100 ml) på LES Endo i tre prøver som var negative etter Colilert-18. Tilsvarende ble det påvist et lavt nivå (MPN: 3,1 / 100 ml) av koliforme på Colilert-18 i én prøve som ikke hadde funn på LES Endo-agar.

Det ble påvist lave nivåer (1 cfu / 100 ml) av enterokokker i to prøver som ikke hadde funn av andre indikatorbakterier. For øvrig ble funnene av termotolerante koliforme bakterier, *E. coli* og enterokokker gjort i prøver med funn av koliforme etter NS 4788 eller Colilert-18.

Tre av prøvestedene hadde anlegg for desinfeksjon ved hjelp av UV-bestråling. På alle disse stedene ble kintallet redusert med én til to logaritmiske enheter. Effekten på koliforme bakterier var mer sprikende: Ved ett prøvested var det en klar reduksjon av koliforme, ved et annet var det like mange koliforme før og etter UV-behandlingen, mens det tredje hadde funn av koliforme etter vannbehandlingen, men ikke før.

3.3 Koliforme bakterier

3.3.1 LES Endo

Ved 12 av 32 prøvesteder ble det funnet koliforme bakterier, med nivåer i størrelsesorden 1 – > 150 cfu / 100 ml. Av disse var det tre steder som fikk påvist koliforme både i juli og i august. Ni av disse tolv prøvestedene hadde overflatevann som vannkilde.

Det ble tatt ut 47 isolater fra presumptivt koliforme kolonier. 44 isolater (93,6 %) ble verifisert som koliforme ved gassproduksjon fra LPB ved 37 °C etter ISO/DIS 9308-1. Alle de 45 presumptivt koliforme koloniene som ble testet på ONPG ga positiv reaksjon.

Fra ett prøvested ble alle de 16 koloniene fra membranfilteret forsøkt identifisert på API 20 E. Én av disse koloniene produserte ikke gass fra LPB. Seks av isolatene (37,5 %) ble bestemt til å være *Enterobacter cloacae*, to isolater (12,5 %) ble bestemt til å være *Citrobacter freundii* og to isolater (12,5 %) ble bestemt som *Klebsiella pneumoniae pneumoniae*. Seks av isolatene (37,5 %) lot seg ikke identifisere. Det ene isolatet som ikke ble verifisert som koliform på LPB ble identifisert på API 20 E som tilhørende genus *Klebsiella*, *Enterobacter* eller *Serratia*, men ikke artsbestemt.

Fra ett av prøvestedene var alle de 16 koloniene på filteret MUG-positive, dette indikerer forekomst av *E. coli*. Et tilfeldig utvalg bestående av fem av disse ble plukket ut og verifisert som *E. coli* ved hjelp av API 20 E.

3.3.2 Colilert-18

Ved i alt 10 prøvesteder ble det funnet koliforme bakterier, med MPN-verdier i området 1,0 – > 200,5 / 100 ml. Av disse ti prøvestedene var det tre steder som fikk påvist koliforme både i juli og i august. Ni av de ti prøvestedene hadde overflatevann som vannkilde.

35 isolater fra 13 ulike vannprøver ble undersøkt for gassproduksjon på LPB ved 37 °C. 33 av isolatene (94 %) ga ikke gassproduksjon. Disse ble typet på Roscozym-ENT, hvor 27 av isolatene (81,8 %) kom ut som *Enterobacter cloacae*, tre (9,1 %) som *Klebsiella ozaenae* mens de siste tre (9,1 %) ble uspesifikt bestemt til enten *Citrobacter koseri* eller *Enterobacter cloacae*.

3.3.3 Samsvar mellom resultater fra LES Endo og Colilert-18

69 par av verdier for koliforme fra LES Endo og Colilert-18 ble sammenlignet. Av disse var 51 prøvepar hvor ingen av metodene påviste koliforme bakterier. Av de resterende 18 ga 10 ekvivalente verdier. I fem av prøveparene lå verdiene fra NS 4788 under 95 %-konfidensintervallet for Colilert-18, mens tre prøvepar hadde verdier fra NS 4788 som lå høyere enn det tilsvarende konfidensintervallet.

3.4 Presumptive *E. coli*

3.4.1 mFC

Ved prøverunden i juli ble det påvist termotolerante bakterier fra ett prøvested som hadde 24 cfu / 100 ml. 20 kolonier fra dette prøvestedet lå enkeltvis på membranfilteret. Alle disse ble isolert og verifisert som presumptive *E. coli* etter NS 4792. Disse isolatene var dessuten ONPG- og MUG-positive og oksidasenegative.

3.4.2 Colilert-18

Det ble funnet brønner med typisk reaksjon for *E. coli* fra fem ulike prøvesteder, med MPN-verdier i området 1,0 – 23,8 / 100 ml. Fire isolater fordelt på tre av stedene ble forsøkt verifisert som presumpitiv *E. coli*. Et isolat ga ikke gassproduksjon på LPB og ble artstypet på API 20 E. Denne ble her identifisert som *E. coli*.

3.5 Enterokokker

3.5.1 Forekomst og artssammensetning

Det ble det funnet enterokokker i vannprøvene fra åtte prøvesteder, i størrelsesorden 1 – 9 cfu / 100 ml. Ved to av prøvestedene ble det påvist enterokokker ved begge prøverundene.

17 isolater fordelt på de åtte prøvestedene ble artsbestemt på API 32 strep, resultatene finnes i Tabell 5. Det ble påvist forekomst av *E. coli* (positiv MUG-reaksjon) ved fire av disse prøvestedene. Artene *Enterococcus hirae* og *Enterococcus casseliflavus* ble påvist i de prøvene hvor det samtidig ble påvist *E. coli*, samt i to prøver hvor det ikke ble påvist mer enn 1 enterokokk / ml. De øvrige enterokokkene ble påvist i prøver med varierende forekomst av koliforme bakterier.

Tabell 5: Artssammensetning av enterokokker påvist etter NS-EN ISO 7899-2

Art	Antall	Andel
<i>Enterococcus hirae</i>	6	35,3 %
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	3	17,6 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	5,9 %
<i>Enterococcus durans</i>	1	5,9 %
<i>Enterococcus faecium</i>	1	5,9 %
Usikker identifikasjon	5	29,4 %

3.5.2 Følsomhet for antibiotika

En stamme av *Enterococcus hirae* viste resistens overfor trimetoprim. Seks isolater hadde intermediær reaksjon overfor ulike antibiotika. Resultatene er summert i Tabell 6.

Tabell 6: Følsomhet overfor antibiotika hos enterokokker isolert fra vannprøvene

Bakterie	Resistens	Intermediær følsomhet
<i>Enterococcus hirae</i>	Trimetoprim	
<i>Enterococcus hirae</i>		Gentamicin
<i>Enterococcus hirae</i>		Erythromycin, tetracyklin
<i>Enterococcus casseliflavus</i>		Vankomycin
<i>Enterococcus durans</i>		Kloramfenikol
<i>Enterococcus faecalis</i>		Erythromycin, trimetoprim
Ikke identifisert		Trimetoprim

3.6 *Aeromonas* spp.

Det ble funnet *Aeromonas* spp. ved tre av prøvestedene. Nivåene lå mellom 1 og > 1500 cfu / 100 ml. Ved alle disse var det dessuten forekomst av indikatorbakterier som inngår som parametre i drikkevannsforskriftens kvalitetskrav. 20 av *Aeromonas*-isolatene fordelt på alle prøvestedene ble artsbestemt. Ti isolater (50 %) ble bestemt til å være *A. hydrophila*, tre isolater (15 %) kom ut som *A. caviae*, tre isolater (15 %) som *A. schubertii* mens de resterende fire (20 %) ble bestemt som *A. trota*.

Halvparten av de 20 isolatene ga et PCR-produkt som var forenelig med aerolysin-genet.

Av de 20 isolatene viste ni (45 %) høy toksisitet, fire (20 %) moderat toksisitet mens de resterende sju (35 %) viste lav cytotoxiskitet.

Relasjonen mellom funn av *Aeromonas*-art, aerolysin-gen og verocelletoksisitet er vist i Tabell 7. Det ble ikke påvist noen klar sammenheng mellom forekomst av aerolysin-gen og høy verocelletoksisitet.

Tabell 7: Forhold mellom *Aeromonas*-art, forekomst av aerolysin-gen og verocelletoksisitet

Art	Aerolysin-gen	Toksisitet		
		Høy	Moderat	Lav
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	5	2	
	÷	1	1	1
<i>Aeromonas caviae</i>	+			
	÷	1		2
<i>Aeromonas schubertii</i>	+			1
	÷		1	1
<i>Aeromonas trota</i>	+	1		1
	÷	1		1
Sum	+	6	2	2
	÷	3	2	5

3.7 Kimtall

8 av prøvestedene hadde kimtall som overstiger de veiledende normene gitt i drikkevannsforskriften. Nivåene var opptil 27 cfu / ml ved 37 °C i 1 døgn og 2250 cfu / ml ved 20 °C i 3 døgn. To av stedene hadde for høye kimtall både i juli og i august. Fire av prøvestedene hadde for høye kimtall uten at det ble påvist indikatorbakterier. På et av disse prøvestedene ble vann fra en grunnvannsbrønn oppbevart i en tank før det ble sendt til ledningsnettets på hytta. Kimtallet var godt nedenfor grenseverdiene før lagring, mens det steg til 190 / ml etter at det hadde gått gjennom tanken.

4. Diskusjon

4.1 Vurdering av drikkevannsforsyningen

Det ble funnet fekale indikatorbakterier på 15 av de 32 besøkte prøvestedene. Ved tre av stedene ble det påvist indikatorbakterier ved begge prøverundene, de øvrige prøvestedene hadde funn enten i juli eller i august. Disse funnene indikerer at de fleste kildene er mer utsatt for sporadisk forurensing enn kontinuerlig kontaminasjon. Dette kan tyde på at vannkildene som ble undersøkt er sårbare for forurensing, selv om prøvene i mange tilfeller ikke hadde forekomst av indikatorbakterier.

Ikke overraskende ble det påvist en sammenheng mellom bruk av overflatevann og funn av fekale indikatorbakterier. Dette er en velkjent risikofaktor for fekal forurensing, og er beskrevet av bl.a. Ormerod (27).

Ingen av grunnvannskildene og bare fire av overflatevannkildene hadde noen hygienisk barriere (UV-behandling eller sandfiltrering) ut over beskyttelsen som ligger i vannkildens beliggenhet. Av spørreskjemaene fremgikk det at ingen av prøvestedene som benyttet overflatevann hadde restriksjoner på aktiviteter som kunne forurense vannkilden. Vannkildens beliggenhet i seg selv utgjorde derfor ikke en tilstrekkelig sikring av vannkvaliteten på denne typen prøvesteder.

I forkant av en del av prøveuttakene hadde det vært mye regnvær i områdene rundt prøvestedene. Store nedbørsmengder kan forårsake utvasking av mikroorganismer fra fekalier og annet organisk materiale som kan nedsette den hygieniske kvaliteten på drikkevannet. Ved prøveuttakene kommenterte flere av hyttebestyrerne at vannet gjerne ble av dårligere kvalitet i slike perioder og at vannprøvene "pleide å være fine ellers".

De mikrobiologiske resultatene fra de tre stedene som benyttet UV-desinfeksjon viste at slik behandling ga en reduksjon av kimtall, mens effekten på antallet koliforme bakterier var mer usikker. Selv om prøvematerialet er begrenset kan dette være en indikasjon på at bruk og vedlikehold av disse anleggene ikke nødvendigvis blir gjennomført på korrekt måte.

Våre resultater tyder på at drikkevannskilder i fjellområder ikke er så uberørte av forurensing som mange har antatt. Særlig overflatevannkildene kan være utsatte for fekal kontaminasjon, men det ble også påvist fekale indikatorbakterier i vannprøver som

stammet fra grunnvann. Kravet om doble hygieniske barrierer er derfor relevant for den typen serveringssteder som er omfattet av denne undersøkelsen.

For de fleste serveringsstedene vil vannkildens beskaffenhet under normale forhold sannsynligvis kunne utgjøre en hygieniske barriere sammen med et desinfeksjonstrinn. En del overflatevannkilder er likevel så utsatte for forurensing at virksomheten bør få iverksatt restriksjoner på aktiviteter som kan forurense denne eller bytte vannkilde.

Det bør foretas en utprøving av hva slags desinfeksjonssystemer som er best egnet som sekundær hygienisk barriere. Det må være enkelt for brukerne av slike systemer å kontrollere at utstyret fungerer tilfredsstillende.

4.2 Vurdering av metodikk

4.2.1 Koliforme bakterier

Det var godt samsvar mellom NS 4788 og Colilert-18 når det gjaldt å påvise hvorvidt det forekom koliforme bakterier i en vannprøve. En del prøver ga positivt utslag etter en av metodene, mens den andre var negativ. I disse tilfellene hadde det positive resultatet bakteriekonsentrasjoner i området 1-4 cfu / 100 ml. Ved bakterienivåer som ligger nær deteksjonsgrensen for en test vil man kunne forvente at enkelte prøver gir positive funn mens det ikke lar seg gjøre å påvise bakterien i en parallell prøve tatt ut fra samme sted på samme tidspunkt.

Ideelt sett skulle NS 4788 og Colilert-18 gi ekvivalente verdier for antall koliforme i et gitt prøvevolum. I denne undersøkelsen har det blitt funnet samsvarende verdier for 61 av 69 prøver (88 %). Overensstemmelsen mellom metodene er svært god når det gjelder tilstedeværelse/fravær av koliforme bakterier. I de prøvene hvor det ble påvist koliforme hadde 10 av 18 prøver ekvivalente nivåer av koliforme, mens åtte prøver ga verdier etter NS 4788 som lå utenfor 95 %-konfidensintervallet til verdien som ble bestemt ved hjelp av Colilert-18.

Presumptivt koliforme fra LES Endo-agar og brønner med gul fargereaksjon ble forsøkt verifisert som koliforme på bakgrunn av gassproduksjon på LPB ved 37 °C.

Verifiseringsprosentene ble svært forskjellige; hhv. 94 % og 6 %. Tidligere studier har funnet varierende andeler av aerogene, ONPG-positive isolater fra Colilert-18; 10 – 100 % (28) og 33 % (29).

Den store divergensen i andelen aerogene isolater fra de ulike metodikkene kan skyldes at det har blitt plukket flere store enn små kolonier fra LES Endo. Østensvik (29) beskriver at gassproduksjon på LPB er mer hyppig fra store (1-3 mm) enn små kolonier (< 1 mm) fra LES Endo-agar.

4.2.2 Presumptive *E. coli*

På grunn av feil inkubasjonstemperatur av TKB på mFC-agar ble det fremskaffet så få resultater at datagrunnlaget for å sammenligne NS 4792 og Colilert-18 er svakt. Det ble ikke observert noen avvik mellom resultater fra de to metodene, bortsett fra ett *E. coli*-isolat som ikke ga gassproduksjon på LPB. Anaerogene *E. coli* har blitt påvist i tidligere studier (29).

4.3 Mikrobiologisk sammensetning

4.3.1 Koliforme på LES Endo-agar

Fra det prøvestedet hvor alle de typisk koliforme koloniene på membranfilteret ble artsbestemt endte alle isolatene bestemt til genus som omfattes av de koliforme genera (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* og *Citrobacter*) (30). Seks av 16 isolater ga ikke noen spesifikk artsdiagnose. Dette kan ha sammenheng med at databasen for biokjemiske reaksjoner som API 20 E bygger på baserer seg på kliniske isolater snarere enn miljøisolater (31).

4.3.2 Koliforme fra Colilert-18

33 av 35 isolater som reagerte som koliforme på Colilert-18 ga ikke gassproduksjon på LPB. Artsbestemmingen av disse viste likevel at disse bakteriene tilhørte de koliforme genera. Etter ISO/DIS 9308-1 ville disse anaerogene isolatene ikke blitt betegnet som koliforme bakterier og forekomsten av disse ville dermed blitt underestimert.

Østensvik (29) testet blant annet ONPG-positive bakterier for gassproduksjon på LPB. 33 % av de undersøkte gule brønner fra Colilert-18 var anaerogene. Dette kan tyde på at gassproduksjon på LPB ikke er et egnet identifikasjonskriterium og at en vil få mange falske negative ved bruk av denne metoden. Dette underbygger fjerning av gassproduksjon som kriterium ved verifikasjon av koliforme og *E. coli* i den nye NS-EN ISO 9308-1 (32).

4.3.3 Følsomhet overfor antibiotika hos enterokokker

De undersøkte isolatene viste i liten grad resistens mot de antibiotika de ble testet overfor. Enterokokker kan ha både naturlig og ervervet resistens ovenfor antibiotika.

Naturlige resistensmekanismer er en permanent egenskap som er tilstede hos alle stammer av et spesifikt genus eller en art. Ervervet resistens utvikles som et resultat av mutasjoner eller horisontal overføring av resistensgener etter antibiotikapåvirkning (33).

Undersøkelser av følsomhet ovenfor antibiotika hos enterokokker i fjørfeproduksjon har vist stor forekomst av vankomycinresistente stammer (34). I denne studien ble det påvist svært lite resistens hos miljøisolatene fra drikkevannet i fjellet. Det er liten sannsynlighet for at tilsigsområdene til de undersøkte vannkildene har vært særlig utsatt for fekal forurensing fra dyr og mennesker behandlet med antibiotika. Bakteriene har dermed ikke utviklet resistens i nevneverdig grad.

4.3.4 Vurdering av patogenitet hos *Aeromonas*-isolatene

Det ble påvist *Aeromonas* spp. ved tre ulike prøvesteder. Alle disse prøvestedene hadde forekomst av fekale indikatorbakterier. Halvparten av isolatene ble bestemt som *A. hydrophila*, mens de andre var jevnt fordelt mellom *A. caviae*, *A. schubertii* og *A. trota*. Dette samsvarer godt med artssammensetningen som ble funnet av Ørmen og Østensvik (25).

Flere *Aeromonas*-arter er beskrevet i sammenheng med vannbårne utbrudd av gastroenteritt. Av de artene som ble påvist er *A. hydrophila* og *A. caviae* beskrevet som de viktigste humanpatogene artene (35). 50 % av de isolerte stammene ga positiv test for aerolysin-genet, men det var ingen klar sammenheng mellom forekomst av aerolysin-genet og nivået av cytotoxissitet påvist i verocelletesten.

Tre isolater (15 %) viste høy cytotoxissitet og to isolater (10 %) viste moderat cytotoxissitet uten å bære aerolysin-genet. Dette tyder på at noen av de miljøstammene som ble isolert kan produsere andre toksiner eller stoffer som virker cytotoxisk og som da er potensielt patogene. Resultatet samsvarer med andre undersøkelser av cytotoxissitet hos *Aeromonas* spp. (25).

Prøvematerialet er for lite til å trekke noen klar konklusjon. Det ble påvist *Aeromonas* spp. ved relativt få steder, men det var stor forekomst av potensielt patogene stammer blant isolatene.

5. Konklusjoner

- Undersøkelsen har vist at serveringssteder i fjellet i stor grad benytter seg av drikkevannskilder som er dårlig sikret mot forurensing som kan utgjøre en smitterisiko. Det benyttes i liten grad desinfeksjon. Svært få av vannforsyningssystemene oppfyller forskriftskravene om hygienisk sikring. Et første skritt for å redusere sårbarheten vil være å realisere prinsippet om to uavhengige hygieniske barrierer mellom råvann og drikkevann.
- Det bør foretas en utprøving av hva slags desinfeksjonssystemer som er best egnet som sekundær hygienisk barriere under forhold med ustabil elektrisitetsforsyning og begrensede muligheter for vedlikehold.
- Det har blitt påvist stammer av koliforme bakterier og *E. coli* som ikke lar seg verifisere på bakgrunn av forgjæring av laktose slik det beskrives i ISO/DIS 9308-1 og NS 4792. Dette underbygger fjerning av gassproduksjon som kriterium ved verifikasjon av disse indikatorbakteriene.
- Utbredelsen av antibiotikaresistens i de isolerte enterokokkstammene var lav.

Summary

Most establishments in Norwegian alpine areas that serve food rely on non-treated drinking water from local water sources. Norwegian drinking water regulation requires that water used in such businesses is of satisfactory hygienic quality, and sheltered against contamination by two independent protective measures.

This report is based on microbiological analysis of water samples collected from 32 establishments in alpine areas of southern Norway. The samples were collected in early July and the end of August, which corresponds to the beginning and the end of the summer season. The water was examined for the presence of bacterial indicators of faecal contamination, culturable microorganisms and *Aeromonas* spp.

Faecal bacterial indicators were found in 15 of 32 locations. Such indicators were revealed in both July and August at three of the locations, the other locations had findings in one of the samplings. These results indicate that most of the examined water sources are more susceptible to sporadic than continuous contamination. This points towards vulnerability against contamination, even though faecal indicators were not present in many samples.

In general, the hygienic properties of the water were better at the sites that used ground waters than those that used surface waters.

Etterskrift

Vi takker våre veiledere Yngvild Wasteson og Øyvind Østensvik for faglig støtte under felt- og laboratoriearbeidet og under skriveprosessen. Vi fikk god hjelp av laboratoriepersonalet ved Fagseksjon for næringsmiddelhygiene med avlesingsarbeid og medietillaging. Øyvind Ørmen takkes spesielt for assistanse under laboratoriearbeidet med *Aeromonas*-stammene.

Vi har satt pris på samarbeidet med bestyrerne på serveringsstedene vi besøkte.

Stipendiat Ingrid Melkild takkes for kritisk gjennomlesing av manuskriptet.

Undersøkelsen er utført med økonomisk støtte fra Statens Næringsmiddeltilsyn. IDEXX bidro med reagenser og utstyr til Colilert-18.

Rapporten kan lastes ned fra <http://home.no/blazius/fjellvann/>

Referanser

1. Ford TE, Colwell RR. A global decline in microbiological safety of water: A call for action. Washington D.C.: American Academy of Microbiology, 1996.
2. Wasteson Y, Kapperud G. Drikkevann og patogene bakterier – epidemiologi og risikofaktorer. *Nor Vet Tidsskr* 1998; 110: 585-591.
3. Myrmel M, Wasteson Y. Drikkevann og patogene virus. *Nor Vet Tidsskr* 1998; 110: 592-596.
4. Sosial og helsedepartementet. Forskrift om vannforsyning og drikkevann m.m. fastsatt av Sosial- og helsedepartementet 1. januar 1995. Oslo 1995.
5. Østensvik Ø. Fekale indikatorbakterier i drikkevann. *Nor Vet Tidsskr* 1998; 110: 606-614.
6. Legnani P, Leoni E, Soppelsa F, Burigo R. The occurrence of *Aeromonas* species in drinking water supplies of an area of the Dolomite Mountains, Italy. *J Appl Microbiol* 1998; 85: 271-276.
7. Helsedirektoratet. Forskrift om drikkevann m.m. og vannforsyningsanlegg fastsatt av Helsedirektoratet 28. september 1951. Oslo 1951.
8. Sosial og helsedepartementet. Forskrift om kvalitet m.v. av drikkevann til bruk i næringsmiddelvirksomhet fastsatt av Sosial- og helsedepartementet 24. juni 1994. Oslo 1994.
9. Krogh T, Hofshagen T. Hygieniske barrierer. *Nor Vet Tidsskr* 1998; 110: 578-584.
10. Grieg N. Vand. I: Norge i våre hjerter. Oslo: Gyldendal, 1929.
11. Huseby P. Regler tar knekken på turisthyttene. *Nationen*, 1. juli 1998.
12. Stavn A. Sikrere vannforsyning for turistbedrifter. Næringsmiddeltilsynet i Hallingdal, 1991.
13. Lund V, Folkehelsa. Personlig meddelelse, 2001.
14. Den norske turkatalogen. Fjell og Vidde 1999; nr. 3: 43-49.
15. Planleggingskart for Hardangervidda og Skarvheimen. Den norske turistforening, 1997.
16. Planleggingskart for Jotunheimen, Den norske turistforening, 1999.
17. Norsk Standard NS 4789: Vannundersøkelse, prøvetaking for bakteriologisk undersøkelse av vann; 1. utgave 1990. Norges Standardiseringsforbund, Oslo.

18. Norsk Standard NS-EN ISO 6222: Vannundersøkelse, bestemmelse av dyrkbare mikroorganismer (kintall) – kolonitelling ved innstøping i næringsagarmedium; 2. utgave 1999. Norges Standardiseringsforbund, Oslo.
19. Norsk Standard NS 4788: Vannundersøkelse, koliforme bakterier – membranfiltermetode; 1. utgave 1990. Norges Standardiseringsforbund, Oslo.
20. Norsk Standard NS 4792: Vannundersøkelse, termotolerante koliforme bakterier og presumptive *E. coli* – membranfiltermetode; 1. utgave 1990. Norges Standardiseringsforbund, Oslo.
21. Norsk Standard NS-EN ISO 7899-2: Vannundersøkelse, påvisning og telling av intestinale enterokokker. Del 2: Membranfiltreringsmetode; 1. utgave 2000. Norges Standardiseringsforbund, Oslo.
22. Metodesamling for Veterinærinstituttet: ME_0009: Bakterier, resistensbestemmelse – agardiffusjon; utgave 1.10 (1998). Veterinærinstituttet, Oslo.
23. Metodesamling for Veterinærinstituttet: ME_0013: Bakterier, resistensbestemmelse – MIC ved Etest; utgave 1.20 (1999). Veterinærinstituttet, Oslo.
24. Janda JM, Abbott SL, Carnahan AM. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. I: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, ed. *Manual of Clinical Microbiology* 6th ed. Washington, D.C.: ASM Press, 1995: 477-482.
25. Ørmen Ø, Østensvik Ø. The occurrence of aerolysin positive *Aeromonas* spp. and their cytotoxicity in Norwegian water sources. *J Appl Microbiol*, 2001; 90: 797-802.
26. Kirkwood BR. *Essentials of Medical Statistics*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1988.
27. Ormerod, K. Norske drikkevannskilder, mikrobiologiske karakteristika. *Nor Vet Tidsskr* 1998; 110: 624-632.
28. Eckner, KF. Comparison of membrane filtration and multiple-tube fermentation by the Colilert and Enterolert methods for detection of waterborne coliform bacteria, *Escherichia coli*, and enterococci used in drinking and bathing water quality monitoring in Southern Sweden. *Applied and Environmental Microbiology* 1998; 64: 3079-3083.
29. Østensvik Ø. Coliform bacteria and *Escherichia coli* in Norwegian drinking water sources – Comparison of methods based on the fermentation of lactose and methods based on the activity of specific enzymes. I: Proceedings of the 2000 Water Quality Technology Conference. Salt Lake City, Utah. American Water Works Association, Denver, Colorado.
30. Holmes, B. *The Enterobacteriaceae: General characters*. I: Balows A, Duerder BI, eds. *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. Vol. 2: Systematic Bacteriology. 9th ed. London: B. I. Arnold, 1998.

31. Måsvær N, bioMerieux Norge AS. Personlig meddelelse, 2001.
32. Norsk Standard NS-EN ISO 9308-1: Vannundersøkelse, påvisning og telling av *Escherichia coli* og koliforme bakterier. Del 1: Membranfiltreringsmetode; 1. utgave 2000. Norges Standardiseringsforbund, Oslo.
33. Simonsen GS. VanA-type glycopeptide resistant enterococci in Norway: Reservoirs – transmission – persistence. Tromsø: Department of Medical Microbiology. University and University Hospital of Tromsø, 2000.
34. Borgen K, Sørum M, Wasteson Y, Kruse H. VanA-type vancomycin-resistant enterococci (VRE) remain prevalent in poultry carcasses 3 years after avoparcin was banned. *Int. J Food Microbiol.* 2001; 64: 89-94.
35. Granum PE, red.: Smittsomme sykdommer fra mat. Næringsmiddelbårne infeksjoner og intoksikasjoner. 2. utg. Kristiansand: Høyskoleforlaget, 1999.

Vedlegg: Spørreskjema benyttet i undersøkelsen

Spørreskjema i forbindelse med undersøkelse av mikrobiologisk drikkevannskvalitet i fjellet

Prøvested xx

1. Driver dere med serveringsvirksomhet?

- Ja Nei

2. Hva slags drikkevannskilde har dere?

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Grunnvann (brønn boret i fjell) | <input type="checkbox"/> Grunnvann (brønn boret i løsmasser) |
| <input type="checkbox"/> Elv, bekk | <input type="checkbox"/> Innsjø, vann, tjern |
| <input type="checkbox"/> Offentlig godkjent vannverk | <input type="checkbox"/> Ikke godkjent vannverk |
| <input type="checkbox"/> Cisterne (regnvann) | <input type="checkbox"/> Annet, spesifiser: |
| <input type="checkbox"/> Vet ikke | |

Dersom dere har elv, bekk, innsjø, vann, tjern eller vannverk som vannkilde, vennligst oppgi navnet på denne på forrige side (sammen med opplysningene om hytta).

3. Hva slags rensing/desinfeksjon av drikkevannet blir utført før det drikkes eller brukes i matlaging?

- Klorering Filtrering UV-bestråling Ozonbehandling
 Annet, spesifiser:
 Vet ikke

4. Er det mulig at vannkilden kan forurenses på grunn av noen av faktorene nedenfor (kryss av mulige forurensingskilder)?

- Bading i vannkilden
 Åpne sanitæranlegg (utedo, vaskevann o.l.)
 Utslipp av forurensing til vannkilden
 Ferdsel i vannkildens tilsigsområde*
 Beitedyr i vannkildens tilsigsområde*
 Vet ikke

* vannkildens tilsigsområde: det området som tar i mot nedbør som renner ut i vannkilden

5. Ca. hvor mange gjester serverer dere i løpet av en sommersesong (juni-