

**AFSTERWE VAN MIKROÖRGANISMES
TEENWOORDIG IN RIOOLWATER
IN DIE MARIENE OMGEWING**

deur

JOHANNES FREDERIK PIETER ENGELBRECHT

1990

**VERHANDELING INGELEWER TER VOLDOENING AAN DIE VEREISTES
VIR DIE MEESTERSDIPLOMA IN MIKROBIOLOGIE
BY DIE SKOOL VIR LEWENSWETENSKAPPE
AAN DIE KAAPSE TECHNIKON**

INTERNE EKSAMINATOR: Mnr G J le Roux, M.Sc. (Agric.)

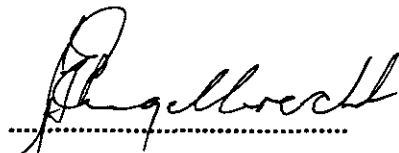
EKSTERNE EKSAMINATOR: Professor W O K Grabow, D.Sc.

VERKLARING

Hierdie verhandeling word ingelewer ter voldoening aan die vereistes vir die **Meestersdiploma in Mikrobiologie** by die Skool vir Lewenswetenskappe aan die Kaapse Technikon.

Ek verklaar hiermee dat die inhoud van hierdie verhandeling my eie werk verteenwoordig en dat die menings my eie is en nie noodwendig dié van die Kaapse Technikon nie.

November 1990

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J F P Engelbrecht', written over a horizontal dotted line.

J F P ENGELBRECHT

BEDANKINGS

Ek wil graag die volgende persone en hul instansies bedank:

- | | |
|---|---|
| <p>Dr Gideon Tredoux, Programbestuurder,
Divisie vir Watertegnologie, WNNR,</p> | <p>- vir sy raad, opbouende kritiek,
proeflees van verhandeling en
toesig oor die projek,</p> |
| <p>Mnr Giel le Roux, Senior Lektor,
Kaapse Technikon,</p> | <p>- vir sy opbouende kritiek en
toesig oor die projek,</p> |
| <p>Mnr Fred Vivier, Direkteur, Water- en
Afvalbeheer, Departement van Nasionale
Gesondheid en Bevolkingsontwikkeling
(DNGBO),</p> | <p>- vir sy volbehoue belangstelling
en finansiële bydrae deur DNGBO
om bykomende mikrobiologiese
ontledings te doen,</p> |
| <p>Mnr André van der Westhuizen,
Bestuurder, Mariene Wetenskap,
Stigting vir Navorsingsontwikkeling,</p> | <p>- vir finansiële ondersteuning deur
die Mariene Besoedelingsprogram
van SANKON,</p> |
| <p>Dr Ben van Vliet, Direkteur, Divisie
vir Watertegnologie, WNNR,</p> | <p>- vir finansiële ondersteuning en
toestemming om die data vir
hierdie verhandeling te gebruik,</p> |
| <p>Drieka Engelbrecht, my eggenote,</p> | <p>- vir haar volgehoue onderskraging
en hulp met die tikwerk.</p> |

Die beste benadering tot mariene besoedeling word duidelik in die volgende Franse gesegde omvat:

"Il vaut mieux prévenir que guérir"

SUMMARY

DIE-OFF OF MICRO-ORGANISMS PRESENT IN SEWAGE IN THE MARINE ENVIRONMENT

J F P Engelbrecht

The die-off in the marine environment of micro-organisms that are present in sewage was investigated. A literature survey was carried out and studies were done in the laboratory, at an offshore outfall and at a surf-zone outfall.

In the laboratory raw sewage was mixed with sea water at known dilutions and the die-off of faecal coliforms, faecal streptococci and coliphage was monitored. At the offshore sewage outfall a tracer, Rhodamine B,



was released in the pump station and the distribution of the plume around the diffuser was determined by means of the Rhodamine B concentrations and faecal coliforms counts. At the factory surf-zone outlet the Rhodamine B was injected into the pipeline. Samples were taken at 50 and 100 meter distance from the outlet. The die-off of faecal coliforms, faecal streptococci and coliphage was monitored.

The following results were obtained:

Literature study:

(i) Coliforms

- * Temperatures of 15 °C and lower are conducive to survival while nutrients, at a concentration as low as 2,5 mg/L organic carbon, stimulate growth. A rise in salinity has a negative effect on the organisms.
- * The T_{90} value in direct sunlight is <2 hours but varies considerably in the dark (>35 days). Changes in weather conditions, sunlight intensity, hours of sunlight, depth and turbidity of seawater and different seasons are the most important factors accounting for the variations in the T_{90} values.
- * It is, therefore, important for the initial dilution to be large enough. This will ensure that the bacterial counts conform to the water quality criteria, as the die-off rates in the marine environment are slow and not always adequate, except around mid day.

- * Faecal coliforms as a single parameter is not considered to be the best indicator of marine pollution.
- * The 1:4 ratio between faecal coliforms and faecal streptococci for human faeces and 1:0,7 ratio for animal waste are not applicable in the marine environment. The survival of faecal streptococci in seawater is better than that of faecal coliforms and the ratio therefore changes.

(ii) Enterococci and pathogens

- * The T_{90} value for faecal streptococci is double that of coliforms and also varies in the dark. In direct sunlight any change in sunlight intensity, change the T_{90} values.
- * In general the numbers of faecal streptococci and pathogens occurring in sewage are smaller than those of coliforms, but their survival time is longer. This could lead to a situation where the water quality complies with the criteria according to the coliform counts, while a health risk may exist due to the survival of pathogens.
- * Enterococci is considered to be a better indicator of sewage pollution in the marine environment than coliforms.

(iii) Enteric viruses and bacteriophages

- * There is no difference in the die-off rates of certain enteric viruses and some bacteriophages. Bacteriophage stay active as long as any enteric virus in seawater and can therefore be used successfully as an indicator of pollution in the marine environment.
- * The T_{90} values vary from one day to more than seven days in seawater. Micro-organisms and temperature changes are responsible for the "anti-virus activity" of seawater.

(iv) General

- * The initial dilution is the most important factor for the destruction of non-marine micro-organisms in the marine environment. The combined influence of sunlight, high salinity, predators and nutrient availability only plays a secondary role in the subsequent die-off.
- * Faecal streptococci, *Candida albicans* and coliphage show the best survival rates under all conditions. Their absence indicates that all non-marine microbiological activity has stopped.
- * Faecal streptococci, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans* and coliphage seem to be the best indicators for

faecal pollution in the marine environment. They represent indicator organisms, yeasts, pathogens and viruses.

- * It is possible that micro-organisms, still exist before final die-off. It may be that the micro-organisms are only damaged to such an extent that they cannot be cultivated on normal growth media.

- * The differences in T_{90} values of indicator and pathogenic micro-organisms, enteric viruses and bacteriophage found by different researchers arise due to the different conditions under which the experiments were done. From the literature it would seem that the success of an outfall can actually only be evaluated by local studies on the outfall itself.

Laboratory studies

- * The initial dilution is the most important factor and more than 90% of the bacteria were eliminated in this step. In all cases the bacterial counts were lower than the counts estimated with the dilution model.

- * The actual dilution needed to ensure that the bacterial counts are within the proposed standards can be much lower than the estimated physical dilution due to the initial die-off.

- * The initial dilution shock does not play such an important role in the inactivation of viruses. The initial dilution required must therefore be based on the virus concentration in the final effluent.
- * Irradiation by sunlight is an important factor for ensuring that die-off takes place after the initial dilution. The period and intensity of sunshine must be sufficient and seasonal variations must always be taken into account.
- * Lower temperatures cause lower die-off rates, but it may be indirectly linked to lower sunlight intensity.
- * The nutrient contents of effluents is important because it can sustain survival and growth of bacteria. This can lead to the spreading of the pollution plume at constant flow discharges in the surf-zone over a wider area.

The following recommendations are made:

- * Faecal streptococci and coliphage must be added to faecal coliforms as indicators of marine pollution.
- * *Candida albicans* as potential indicator of marine pollution must be investigated under South African conditions.

- * The chemical and microbiological quality of an effluent must be determined before permit conditions are laid down.

- * The total count of the indicators in the effluents must be used to determine the initial dilution required.

- * More stringent monitoring of constant flow surf-zone discharges must be implemented.

- * Impact and dilution studies must be done at each existing surf-zone outlet to determine if conditions are acceptable from a health risk point of view .

OPSOMMING

**AFSTERWE VAN MIKROËRGANISMES TEENWOORDIG IN
RIOOLWATER IN DIE MARIENE OMGEWING**

J F P Engelbrecht

Die afsterwe in seewater van mikroërganismes afkomstig uit riool is ondersoek. 'n Literatuurstudie en laboratoriumstudies is gedoen. Die ondersoek is in die laboratorium, by 'n afluende seeuitlaat en by 'n brandersone-uitlaat uitgevoer.

In die laboratorium is rourioolwater met seewater by bekende verdunnings vermeng. By die afluende seeuitlaat is Rhodamien B by die riool gevoeg om sodoende die rioolpluim in die see te volg. In die geval van die brandersone-uitlaat is Rhodamien B ook by die fabrieksuitvloeiing gevoeg om die verspreiding in die brandersone rondom die uitlaat te monitor. Monsters is van seewater, rourioolwater, seewater/rioolmengsels, fabrieksuitvloeiing en seewater/uitvloeiingmengsels geneem waarna mikrobiologiese ontleding uitgevoer is. Fekale kolivorme, fekale streptokokke en kolifaag is as mikrobiologiese aanwysers van oorlewing gebruik.

Die volgende gevolgtrekkings is gemaak:

Literatuurstudie

(i) Kolivorme

- * Temperature van 15 °C en laer bevorder oorlewing terwyl voedingstowwe so min soos 2,5 mg/L organiese koolstof vermeerdering teweeg bring. 'n Verhoging in soutgehalte het 'n nadelige uitwerking op die organismes.
- * Die T_{90} in direkte sonlig is <2 uur terwyl dit in die afwesigheid van sonlig uitermate wissel (>35 dae). Die T_{90} in direkte sonlig wissel egter met enige verandering ten opsigte van sonstraling. Veranderinge soos weersomstandighede, intensiteit van sonstraling, tydsduur van blootstelling, diepte en troebelheid van die seewater en seisoene, is van die belangrikste faktore wat 'n verandering in die T_{90} veroorsaak.
- * Dit maak dit dus noodsaaklik dat die aanvanklike verdunning so groot as moontlik moet wees. Dit moet verseker dat die bakterie getalle altyd binne die grense van riglyne en of standarde is, aangesien die afsterwe tempo in die mariene omgewing stadig is en nie altyd, behalwe rondom die middaguur, voldoende is nie.
- * Dit blyk dat fekale kolivorme as alleenstaande indikator, nie die beste aanwyser vir rioolbesoedeling in die mariene omgewing is nie.

- * Die verhouding van fekale kolivorme tot fekale streptokokke wat op menslike of dierlike besoedeling dui, geld nie in seewater nie omdat fekale streptokokke langer as fekale kolivorme in seewater oorleef.

(ii) Enterokokke en patogene

- * Die T_{90} in direkte sonlig is in die algemeen groter as die van kolivorme. Die T_{90} van fekale streptokokke kan selfs twee keer dié van kolivorme wees. Soos met kolivorme wissel die T_{90} gedurende die nag grootliks en geen syfer kon as riglyn verkry word nie. Enige afwyking in stralingsintensiteit beïnvloed ook die T_{90} in direkte sonlig.
- * Hoewel die getalle van fekale streptokokke en patogene in rioolwater in die algemeen laer is as die van kolivorme, is die tyd van afsterwe langer vir fekale streptokokke en sommige patogene. Dit kan veroorsaak dat dié patogene lank genoeg mag oorleef om siekte te veroorsaak terwyl die seewater aan die riglyne vir fekale kolivorme voldoen.
- * Enterkokke is 'n beter indikator as kolivorme vir rioolbesoedeling in die mariene omgewing.

(iii) Enteriese virusse en bakteriofage

- * Daar bestaan 'n betekenisvolle korrelasie tussen die oorlewing van sekere enteriese virusse en sekere bakteriofage. Dit dui daarop dat bakteriofage gebruik mag word as waardevolle indikator van die algemene oorlewing van menslike virusse.
- * Die T_{90} wissel van 1 dag tot >7 dae in seewater. Die teenwoordigheid van mikroörganismes en temperatuur verskille is die belangrikste faktore wat verantwoordelik is vir die "antivirus aktiwiteit" van seewater.

(iv) Algemeen

- * Die aanvanklike verdunning speel die belangrikste rol ten opsigte van die vernietiging van mikroörganismes teenwoordig in riooluitvloeiing wat in die mariene omgewing gestort word. Hierna word die afsterwe aangehelp deur die sinergistiese kiemdodende werking van sonlig, hoë soutgehaltes, roofvyande en voedseltekort, hoewel dit in baie gevalle redelik lank neem voordat daar volkome afsterwe is.
- * Fekale streptokokke, *Candida albicans* en kolifage oorleef waarskynlik onder die meeste omstandighede langer as baie patogene. Wanneer dit verdwyn, is dit baie onwaarskynlik dat enige mikrobiologiese aktiwiteit nog sal bestaan.

- * Fekale streptokokke, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans* en kolifaag blyk die geskikste te wees om fekale besoedeling in die mariene omgewing te monitor. Dit verteenwoordig indikator organismes, gisse, patogene en virusse.
- * In die mariene omgewing mag 'n klein persentasie van bakterieë tot so'n mate beskadig wees dat hulle nie op gewone selektiewe voedingsbodems kan groei nie, terwyl hulle tog nog lewensvatbaar is en onder ideale omstandighede kan herstel en vermeerder.
- * Die verskille in T_{90} waardes van indikator en patogene mikroörganismes, enteriese virusse en bakteriofage wat deur verskillende navorsers gevind is, is duidelik die gevolg van die verskil in omstandighede waarby die eksperimente uitgevoer is. Dit blyk gevolglik dat die sukses van elke uitlaat berus op 'n volledige plaaslike agtergrondstudie van al die betrokke faktore.

Laboratoriumstudies

- * Die aanvanklike verdunning is die belangrikste faktor om die vermindering in aantal bakterieë in die mariene omgewing teweeg te bring. In alle gevalle is die telling laer as wat die verdunningsmodel voorspel.

- * Die verdunning kan heelwat kleiner as die voorspelde fisiese verdunning wees om te verseker dat getalle van bakterieë binne die voorgestelde grense val.
- * Die aanvanklike verdunningskok speel nie 'n belangrike rol by die vermindering in virus getalle nie. Die aanvanklike verdunning moet gevolglik aangepas word om vir die aantal virusse in die uitvloeisel voorsiening te maak.
- * Sonlig is 'n belangrike faktor om te verseker dat afsterwe plaasvind na die aanvanklike skok en daar geen verdere verdunning plaasvind nie. Die tydsduur en intensiteit van sonstraling is egter baie belangrik en seisoenale verskille moet in ag geneem word.
- * Laer temperatuur veroorsaak vertraagde afsterwe, maar dit is dalk as gevolg van verswakte sonstraling en kan dus direk aan die sonlig faktor gekoppel word.
- * Die samestelling van die uitvloeisel is baie belangrik aangesien daar gevalle kan voorkom waar die voedselinhoud genoegsaam is om lewe van die organismes te onderhou. By uitlate in die brandersone wat konstant vloei kan dit veroorsaak dat 'n baie groot gebied om die uitlaat groot getalle mikroörganismes bevat.

Die volgende aanbevelings word gemaak:

- * Fekale streptokokke en bakteriofaag moet by fekale kolivorme gevoeg word om as aanwysers van mariene besoedeling te dien.
- * *Candida albicans* se moontlikhede as aanwyser moet by Suid-Afrikaanse toestande ondersoek word en moet moontlik uiteindelik by bogenoemde twee gevoeg word.
- * Die samestelling van enige uitvloeisel wat in die see gestort gaan word, moet chemies sowel as mikrobiologies ontleed word, voordat permitvoorwaardes omskryf word.
- * Die totale aantal aanwysers in die uitvloeisels moet gebruik word om die aanvanklike verdunning wat benodig word te bepaal.
- * Uitlate met 'n konstante vloeï in die brandersone moet strenger ten opsigte van permitvereistes gekontroleer word.
- * Impak en verdunningsstudies moet by bestaande uitlate uitgevoer word om vas te stel of dit nie dalk uit 'n gesondheidsoogpunt 'n ontoelaatbare praktyk is nie.

<i>Bedankings</i>	<i>iii</i>
<i>Summary</i>	<i>v</i>
<i>Opsomming</i>	<i>xii</i>

INHOUDSOPGAWE

<i>Lys van Tabele</i>	<i>xxi</i>
<i>Lys van Figure</i>	<i>xxii</i>

Hoofstuk

1 INLEIDING	1
1.1 Probleemstelling	2
1.2 Motivering	4
1.3 Sleutelvrae	5
1.4 Doelstellings	5
1.5 Werkplan	6
2 LITERATUURSTUDIE	8
2.1 Inleiding	9
2.2 Huidige Kennis	10
2.2.1 Druk, Temperatuur, Organiese inhoud	11
2.2.2 Soutgehalte, Temperatuur, Osmotiese skok, Sedimentasie	16
2.2.3 Sonlig, Voedsel	24
2.2.4 Roofvyande, Mededingers, pH, Kiemdodende stowwe.	37
2.3 Bespreking	40
2.4 Gevolgtrekkings	43

3	LABORATORIUMSTUDIE	47
3.1	Inleiding	50
3.2	Metodes	51
3.3	Modus Operandi	52
3.3.1	Eksperiment Een	53
3.3.2	Eksperiment Twee	54
3.3.3	Eksperiment Drie	57
3.3.4	Eksperiment Vier	59
3.3.5	Eksperiment Vyf	61
3.3.6	Eksperiment Ses	62
3.3.7	Eksperiment Sewe	63
4	BESPREKING	67
4.1	Samevatting	68
4.2	Bereiking van Doelstellings	68
5	GEVOLGTREKKINGS	71
5.1	Verdunning	72
5.2	Sonlig	72
5.3	Uitvloeiisel	73
6	AANBEVELINGS	74
6.1	Indikators	75
6.2	Permitte	75
7	BRONNELYS	76
7.1	Verwysings	77

LYS VAN TABELLE

1 Resultate van Eksperiment Een	83
2 Resultate van Eksperiment Twee	84
3 Resultate van Eksperiment Drie	85
4 a: Resultate van Eksperiment Vier: Sonlig Afwesig	86
b: Resultate van Eksperiment Vier: Sonlig Aanwesig	87
5 Resultate van Eksperiment Vyf	88
6 Resultate van Eksperiment Ses	89
7 Resultate van Eksperiment Sewe	90

LYS VAN FIGURE

1 Afsterwe van fekale kolivorme: eksperiment 2	91
2 Afsterwe van fekale streptokokke: eksperiment 2	92
3 Afsterwe van kolifaag: eksperiment 2	93
4 a: Afsterwe van fekale kolivorme met verdunning: eksperiment 3	94
b: Afsterwe van fekale kolivorme met tyd: eksperiment 3	94
5 a: Afsterwe van fekale streptokokke met verdunning: eksperiment 3	95
b: Afsterwe van fekale streptokokke met tyd: eksperiment 3	95
6 Afsterwe van fekale kolivorme: eksperiment 4	96
7 Afsterwe van fekale streptokokke: eksperiment 4	97
8 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 5 - oppervlak	98
9 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 5 - 5 meter	99
10 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 5 - 10 meter	100
11 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 5 - 15 meter	101
12 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 5 - 20 meter	102
13 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 6 - oppervlak	103
14 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 6 - 5 meter	104
15 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 6 - 10 meter	105
16 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 6 - 15 meter	106
17 Verspreiding van fekale kolivorme: eksperiment 6 - 20 meter	107
18 Afsterwe van fekale kolivorme: eksperiment 7	108
19 Afsterwe van fekale streptokokke: eksperiment 7	109
20 Afsterwe van kolifaag: eksperiment 7	110

Hoofstuk 1

INLEIDING

- 1.1 Probleemstelling
- 1.2 Motivering
- 1.3 Sleutelvrae
- 1.4 Doelstellings
- 1.5 Werkplan

Hoofstuk 1

INLEIDING**1.1 Probleemstelling**

Die uiteindelijke sukses van 'n seeuitlaat is direk afhanklik van die verdunning wat in die mariene omgewing verkry kan word. Hierdie sukses word bepaal volgens die mate waarin dit aan die voorgestelde Watergehalte Kriteria vir die Suid-Afrikaanse Kuswaters (Lusher 1984) voldoen. Hierin word nege toepaslike gebruike van seewater, met bepaalde voorwaardes, geïdentifiseer. Die belangrikste kriteria ten opsigte van die mikrobiologiese gehalte van die seewater is soos volg:

Toepaslike gebruik nr. 2: Direkte kontak ontspanning (swem, duik, branderski, ens,)

Maksimun Aanvaarbare Telling

	100 (50%)
Fekale kolivorme per 100 mL	400 (90%)
	2000 (99%)

Toepaslike gebruik nr. 4: Versameling van filtreervoeders gebruik as voedsel.

Maksimun Aanvaarbare Telling

	15 (50%)
Fekale kolivorme per 100 mL	45 (90%)

(X%) = persentasie monsters wat aan gegewe telling moet voldoen.

Die belangrikste maatstaf vir die verdunning van rioolwater is dus die

totale aantal indikator en patogene organismes teenwoordig in die seewater. Ontwerpingenieurs het gevind dat daar met redelike gemak aan al die toepaslike gebruike, met uitsondering van bogenoemde twee, voldoen kan word. Volgens die verdunningsmodel voldoen die seewater nie aan bogenoemde mikrobiologiese gehalte om te verseker dat daar nie 'n gesondheidsgevaar ontstaan nie.

Wanneer 'n uitvloeisel op die bodem van die see vrygestel word, word dit gewoonlik met behulp van 'n spruitstuk met verskeie poorte horisontaal met die see bodem uitgelaat. Dit veroorsaak dat die pad van die uitvloeiselpluim na die oppervlak verleng word met 'n groter verdunning tot gevolg. Die uitvloeisel het 'n laer digtheid as die seewater en styg dus met die geprojekteerde trajek na die oppervlak. Die onmiddellike verdunning begin sodra die uitvloeisel die poorte verlaat. Met die opwaartse beweging verhoog die verdunning soos dit met die omringende seewater in aanraking kom. Die opwaartse beweging stop gewoonlik wanneer dit die oppervlak vermengingsgebied bereik. Die uiteindelijke verspreiding weg van die uitlaat word beïnvloed deur seestrome en weersomstandighede. Die ontwerpingenieurs het gevolglik net beheer oor die aanvanklike verdunning en gedeeltelike beheer oor die verspreiding tot by die oppervlak.

Die graad van besoedeling word bepaal volgens die totale aantal indikator organismes teenwoordig in die seewater by die uitlaat. Rourioolwater bevat gemiddeld 100×10^7 fekale kolivorme per 100 mL. Die fisiese verdunning van rourioolwater in die see is gevolglik teoreties nie genoegsaam om aan die kriteria se vereistes te voldoen nie. Die ingenieurs gaan dus uiters konserwatief met hul ontwerp te werk om sodoende

te verseker dat die grootste moontlike verdunning verkry word. Die koëffisiënte wat die afsterwe van mikroorganismes in die mariene omgewing beskryf, word op baie lae tempo's, of selfs geen afsterwe, gebaseer.

1.2 Motivering

Daar bestaan geen voldoende studie in Suid-Afrika, veral in die koeler Atlantiese waters, waar die afsterwe van mikroorganismes, afkomstig uit rioolwater, onder plaaslike toestande in die mariene omgewing ondersoek is nie. Hierdie studie is gevolglik in opdrag van die Mariene besoedelingsprogram van die Suid-Afrikaanse Nasionale Komitee vir Oseanografiese Navorsing en die Departement van Nasionale Gesondheid en Bevolkingsontwikkeling uitgevoer.

In verdunningstudies (Tredoux & Engelbrecht, 1986) is gevind dat die werklike tellings van fekale kolivorme heelwat laer is as die voorspellings van die wiskundige modelle. Die ontwerp kriteria wat tans gebruik word, is op konserwatiewe aannames gebaseer en bring klaarblyklik onnodige kostes mee. Hierdie kriteria moet hersien word. Met die bepaling van werklike afsterwe syfers kan hierdie kriteria hersien word, terwyl die sukses van 'n seeuitlaat nogtans gewaarborg kan word. Groot besparings kan teweeg gebring word by die ontwerp en installering van seeuitlate. Die rede hiervoor is dat kleiner verdunnings nodig mag wees en korter pyplyne dus gebruik kan word. Dit kan egter net gebeur indien die laer tellings wat in die praktyk gevind is, wetenskaplik verantwoordbaar is.

1.3 Sleutelvrae

- (i) Watter faktore beheer die afsterwe van mikroörganismes in seewater?
- (ii) Hoe vergelyk die werklike mikrobiologiese tellings met die voorspelde waardes uit die verdunnings- en verspreidingsmodel?
- (iii) Is fekale kolivorme die geskikste indikator organismer om die mikrobiologiese gehalte van seewater te monitor?

1.4 Doelstelling

Die doel van hierdie studie is:

- (i) die bepaling van meer akkurate tempo's van afsterwe van mikroörganismes by 'n riooluitlaat in die mariene omgewing.
- (ii) die vergelyking van voorspelde waardes uit die verdunnings- en verspreidingsmodel met die werklike mikrobiologiese gehalte.
- (iii) vergelyking van die afsterwe van die gebruikelike indikator, naamlik fekale kolivorme, met die afsterwe van fekale streptokokke en kolifaag.

Die ontwerpingenieurs kan met die meer akkurate tempo's van afsterwe en die vergelyking daarvan met die voorspelde waardes hul ontwerp so aanpas dat die kostes tot 'n minimum beperk kan word.

Die gebruik van fekale kolivorme alleen as indikator van rioolbesoedeling word tans bevraagteken. Die algemene gevoel is dat die teenwoordigheid of afwesigheid van patogene organismer en virusse in seewater nie deur

die teenwoordigheid of afwesigheid van fekale kolivorme bevestig kan word nie. Die resultate van hierdie studie kan verseker dat die regte indikator organismes gebruik word om die gehalte van seewater by swemstrande te monitor. Dit sal weer verseker dat daar nie gesondheidsrisiko's by swemstrande ontstaan as gevolg van die teenwoordigheid van patogene organismes en virusse nie.

1.5 Werkplan

Dit is onmoontlik om alle faktore wat betrokke is by die afsterwe van mikroörganismes, afkomstig uit rioolwater, in die mariene omgewing asook die afsterwe tempo van alle indikator organismes, patogene organismes en virusse self in die laboratorium te ondersoek.

Om genoemde redes is die studie as volg uitgevoer:

- (i) Literatuurstudie
- (ii) Laboratoriumstudie
- (iii) Dataverwerking en evaluering
- (iv) Verslag

Die literatuurstudie is gebruik om die faktore te bepaal wat betrokke is by die afsterwe van indikator organismes, patogene organismes en virusse asook die onderskeie afsterwe tempo's.

Die laboratoriumstudie is gebruik om die gedrag van fekale kolivorme, fekale streptokokke en kolifaag te bepaal by die belangrikste faktore wat in die literatuurstudie geïdentifiseer is.

Daar is gepoog om die data van beide studies te integreer om sodoende die beste evaluering te verkry.

Hierdie verhandeling gee 'n oorsig oor die literatuur met betrekking tot die afsterwe van mikroörganismes in die mariene omgewing, en beskryf ook 'n aantal verdunningstudies wat in die laboratorium en op volskaal by seeuitlate uitgevoer is. Die relatiewe belangrikheid van die faktore wat die afsterwe van mikroörganismes in die mariene omgewing beheer, word uitgelig.

Hoofstuk 2

LITERATUURSTUDIE

2.1 Inleiding

2.2 Huidige kennis

2.2.1 Druk, Temperatuur, Organiese inhoud

2.2.2 Soutgehalte, Temperatuur, Osmotiese skok, Sedimentasie

2.2.3 Sonlig, Voedsel

2.2.4 Roofvyande, Mededingers, pH, Kiemdodende stowwe

2.3 Bespreking

2.4 Gevolgtrekkings

Hoofstuk 2

LITERATUURSTUDIE

2.1 Inleiding

By ons kusdorpe en stede beland alle afloopwater van die riviere en stormwater uiteindelik in die see. Toegang tot die riviere is onbeperk en rivierlope word gevolglik dikwels as toilet en vir die storting van afval gebruik. Die rivierwater dra dus in baie gevalle 'n hoë besoedelingslading. Stormwater uit beboude gebiede voer aan die ander kant alle vullis, fekale materiaal, reste van dooie diere, olies en smeermiddels vanaf die fabrieksterreine, strate en parkeergebiede saam see toe. Stormwatergehalte is vergelykbaar met dié van rourioolwater. Verder is die storting van onbehandelde riool, behandelde riooluitvloeisels en industriële uitvloeisels in die see 'n bekende feit. Sodanige storting vind wêreldwyd en op 'n verskeidenheid maniere plaas.

Aangesien die koste verbonde aan rioolwater behandeling op land baie hoog is, word daar van lang pype en tenkskepe gebruik gemaak om onbehandelde riool of verteerde rioolslyk tot 400 kilometer ver in die see te stort. Die afsterwe meganisme of gedrag van mikroorganismes teenwoordig in rioolwater aan dié oppervlak by afluende seeuitlate en in vlak brandersone seewater, word aanvaar as die wyse van afsterwe in die diepsee. In party gevalle word goed ontwerpte diepseepype teen 'n koste van etlike miljoene rande geïnstalleer. In ander gevalle word die onbehandelde uitvloeisels eenvoudig naby die hoogwatermerk oor die rotse gestort of met kort pype tot in die brandersone gevoer.

Die storting van riool in die see het dieselfde besoedelingspotensiaal by klein en groot gemeenskappe wanneer daar nie op behoorlike wyse gestort word nie. Noukeurige beplanning en uitgebreide agtergrondstudies is noodsaaklik voordat enige storting toegelaat kan word. Die ondervinding het geleer dat by die meeste goed beplande afluende seeuitlate geen probleme ondervind word nie. Die vraag bestaan egter, of die verdunning altyd genoegsaam is sodat patogene bakterieë nie in groot getalle by swemstrande beland en sodoende 'n gesondheidsgevaar inhou nie. Die afsterwe of oorlewing van mikroörganismes na storting in die see was en bly dus steeds 'n vraag wat wye belangstelling uitlok. Verskeie menings is in dié opsig uitgespreek en 'n wye verskeidenheid van redes is gegee waarom daar oorlewing of afsterwe is.

2.2 Huidige kennis

Uit die literatuur is dit baie duidelik dat daar verskeie faktore bestaan wat bydra tot die afsterwe en die beheer van afsterwe tempo van mikroörganismes afkomstig uit rourioolwater in die mariene omgewing.

Die vroegste navorsers was terdeë bewus van die probleme ten opsigte van die afsterwe of oorlewing van mikroörganismes in die mariene omgewing, maar het nie voldoende apparaat en metodes gehad om dit te bestudeer nie (Coetzee 1961). Soos die tegnologie gevorder het, het latere studies wel bewys dat daar heelwat faktore bestaan wat die afsterwe of oorlewing van mikroörganismes beïnvloed.

Die volgende faktore word in die literatuur genoem:

- | | |
|-----------------------------|----------------------|
| (a) druk | (h) roofvyande |
| (b) temperatuur | (i) sonstraling |
| (c) organiese inhoud | (j) adsorpsie |
| (d) soutgehalte | (k) anorganiese ione |
| (e) osmotiese skok | (l) koagulasie |
| (f) sedimentasie | (m) vlokkulasie |
| (g) mededingers vir voedsel | (n) katalase afbraak |

Hoewel sommige hiervan op hul eie uitstaan as belangrike faktore is dit in die meeste gevalle gevind dat kombinasies van faktore nodig is om die afsterwe van mikroörganismes te verseker. Coetzee (1961) het byvoorbeeld verskeie enteriese patogene asook normale ingewandsbakterieë aan sekere omstandighede getoets. Alhoewel die soutgehalte van seewater 'n nadelige uitwerking op die bakterieë het, speel bykomende faktore belangriker rolle by die afsterwe van bakterieë in die mariene omgewing. Anorganiese ione soos perchloraat, jodaat (of ander geoksideerde vorme van jodium) en sulfied is potensieel toksies, maar sonlig en temperatuur, adsorpsie en sedimentasie, ultravioletstraling, belugting, kompetisie vir beskikbare voedsel en roofvyande speel ook 'n rol. Die bydrae tot afsterwe van die verskillende faktore word vervolgens bespreek:

2.2.1 Druk, Temperatuur, Organiese inhoud.

Faktore soos ultravioletstraling, mededingers vir voedsel, vyande, toksiese stowwe en sedimentasie het op dieptes van meer as 3 000 meter slegs 'n minimale uitwerking op die afsterwe van mikroörganismes. Die ultravioletstraling bereik nie die diepte nie en die mariene

mikrobiologiese lewe op hierdie dieptes is baie beperk.

Volgens Baross, Hanus en Morita (1974) kan *Escherichia coli* vir meer as 30 dae by 0 °C in seewater oorleef. Teoreties het die verhoging in druk dieselfde uitwerking as 'n verlaging in temperatuur ($PV=nRT$). Dit is dus moontlik dat 'n kombinasie van lae temperature en matige druk die oorlewing van nie-mariene bakterieë kan bevoordeel. Met die nabootsing van diepsee toestande is die oorlewing van *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, vegetatiewe *Clostridium perfringens* en *Vibrio parahaemolyticus* in seewater ondersoek. Die eksperiment is by 4 °C en druk van 1 tot 1000 atmosfeer oor 'n tydperk van drie weke uitgevoer. Kunsmatige seewater is gebruik aangesien dit nie moontlik was om seewater te bekom wat op dieptes van meer as 200 meter geneem was nie. Die gesamentlike uitwerking van druk, lae temperature en moontlik soutgehalte het die afsterwe (logaritmië) van die bakterieë soos volg beïnvloed:

	Ec	Sf	Cp	Vp		
Druk/Tyd (u) (atm)	300	350	200	300	40	300
1	3	2	-	3	-	2
250	1	0,5	6	-	-	2
500	*	0,5	6	-	-	**
1000	6	2	6	-	**	-

Ec = *Escherichia coli*

Sf = *Streptococcus faecalis*

Cp = *Clostridium perfringens*

Vp = *Vibrio parahaemolyticus*

(atm) = atmosfeer

(u) = tyd in uur

* = geen afsterwe

** = volkome afsterwe

Dit is duidelik dat *Escherichia coli* en *Streptococcus faecalis* meer weerstandbiedend teen die faktore is as die vegetatiewe organismes van *Clostridium perfringens* en *Vibrio parahaemolyticus*. Dit dui daarop dat eersgenoemde twee ongeskik is, om as indikator organismes van onlangse fekale besoedeling in diep waters gebruik te word. Die resultate toon ook dat *Streptococcus faecalis* lank by 4 °C by 'n druk van 1 atmosfeer kon oorleef en maak dit dan selfs ongeskik as indikator van onlangse rioolbesoedeling in kuswaters. Die afsterwe tempo van *Vibrio parahaemolyticus* is te vinnig om as indikator te dien. Die afsterwe tempo van die vegetatiewe vorme van *Clostridium perfringens* is stadiger as *Vibrio parahaemolyticus* maar, is heelwat vinniger as die van *Escherichia coli* en *Streptococcus faecalis*. Dit dui daarop dat *Clostridium perfringens* as 'n goeie indikator van onlangse fekale besoedeling in die afluende mariene omgewing kan dien.

Serratia marinorubra, 'n marienebakterium, en *Escherichia coli* sterf volgens Kim en Zobell (1971) vinniger by diepsee druk met verwante temperature van 3 °C tot 5 °C as by hoër temperature soos 8 °C tot 25 °C. Die bakterieë is aan 'n druk van tussen 1 en 'n 1000 atmosfeer by 4 °C, 8,5 °C, 15 °C en 25 °C blootgestel. *Escherichia coli* oorleef by 1 atmosfeer baie langer by 4 °C as by 8,5 °C en 25 °C. By 1000 atmosfeer is die afsterwe egter >2 dae by 4 °C in vergelyking met 4 en 5 dae by 8,5 en 25 °C. *Serratia marinorubra* daarenteen, wat normaalweg by 'n druk tussen 1 en 500 atmosfeer groei, het baie vinniger gesterf by 'n druk van 1000 atmosfeer by 4 °C as by 15 of 25 °C. By 500 atmosfeer is dit nie nadelig beïnvloed by enige van die temperature nie.

Volgens die literatuur is die kenmerkende gedrag van kolivorme in natuurlike seewater soos volg:

- * daar is oorlewing by 15 °C en laer temperature,
- * afsterwe by hoër temperature en
- * vermeerdering wanneer die water verryk word met peptone.

Graham en Sieburth (1973) het die gedrag van *Salmonella typhimurium* in seewater vergelyk met die gedrag van kolivorme. *Escherichia coli* en *Salmonella typhimurium* is vir 25 uur by 15 °C in 30 mg/L tripticase verrykte en onverrykte kunsmatige seewater geïnkubeer. Tripticase is gebruik aangesien dit proteïen afbraakprodukte bevat wat in riooluitvloeiing teenwoordig is. Daarna is die temperatuur verhoog na 25 °C vir 'n verdere 65 uur.

Albei kulture het onveranderd gebly totdat die temperatuur verhoog is. Daarna het beide begin afsterf in die onverrykte water en begin vermeerder in die verrykte water. *Salmonella typhimurium* is effens meer gevoelig vir die onverrykte seewater as *Escherichia coli*.

In verdere studies in onverrykte en verrykte (20 mg/L tripticase) kunsmatige seewater is die gedrag van *Salmonella typhimurium* by verskillende temperature ondersoek:

By 5 °C en 10 °C gedurende die eerste week van die eksperiment is 'n baie stadige vermindering in die aantal lewensvatbare selle bespeur in die onverrykte water. In die verrykte water het die getalle konstant gebly. By 18 °C en 25 °C het vermeerdering by die verrykte water plaasgevind terwyl daar in die onverrykte water vinnige afsterwe was met <0,02% oorlewing na vier en 'n half dae.

'n Volgende eksperiment het die uitwerking van verskillende konsentrasies voedingstof op die gedrag van die bakterie ondersoek. Die organisme is by 25 °C in 0, 5, 10, 20 en 30 mg/L tripticase verrykte kunsmatige seewater gekweek. Oorlewing van slegs 1,4% is in die onverrykte water na 24 uur gevind. By 5 mg/L verryking (2,5 mg/L organiese koolstof) was die vermeerdering 174% na 24 uur.

Die uitwerking van verskillende soutgehaltes met 20 mg/L tripticase verryking teenoor onverrykte kunsmatige seewater is ook ondersoek. In die teenwoordigheid van organiese materiaal met 'n verhoging van die soutgehalte (10‰, 20‰ en 30‰) is daar 'n vermindering in groei gevind. In die afwesigheid van organiese materiaal het die seewater met soutgehaltes van 10‰, 20‰ en 30‰ dieselfde kiemdodende uitwerking gehad en die afsterwe tempo was gevolglik by alle konsentrasies dieselfde. Gedistilleerde water met of sonder voedingstowwe het dieselfde kiemdodende uitwerking as kunsmatige seewater sonder voeding stowwe. Dit is dus duidelik dat wanneer daar selfs net 'n klein hoeveelheid organiese materiaal (2,5 mg/L) teenwoordig is, dan verloor die kunsmatige seewater sy kiemdodende effek.

Daar is ook gevind dat *in situ* en *in vitro* studies mekaar ondersteun en dat van die drie parameters naamlik soutgehalte, opgeloste organiese koolstof en spoormetale, laasgenoemde die grootste uitwerking het op die afsterwe van mikroörganismes, maar dat dit verminder word met die teenwoordigheid van organiese koolstof.

Wait en Sobsey (1980) het die afsterwe van *Salmonella typhi*, *Shigella sonnei*, *Esherichia coli*, 'n parvovirus, twee enteriese virusse, poliovirus tipe I en "minute" virus van muise, in 'n nabootsing

van 'n seeuitlaat ondersoek. Vars seewater is gebruik om die gedrag van die mikrobe by verskeie temperature te bepaal. Die afsterwe van *Escherichia coli* en die inaktivering van die virusse is vinniger as die van *Salmonella typhi* en *Shigella sonnei*.

Die T_{90} waardes (die tyd wat dit neem om 90% afsterwe te kry) het gewissel van 32 dae by 6 °C tot 12 uur by 28 °C en was omgekeerd verwant aan die watertemperatuur.

By dieptes van 3 tot 12 meter in die see het die T_{90} waardes verminder teenoor die T_{90} waardes wat in die laboratorium verkry is. Daar is ook gevind dat in sedimentmonsters die mikrobies stadig versamel en die oorlewing vergroot.

Halton en Nehlsen (1968) het gevind dat die oorlewing van bakterieë in koue water, soos die van die poolstreke, baie beter is as in 20 °C water. Na 35 dae het meer as 1% (36 000 per ml) *Escherichia coli* oorleef. Uitvloeisels wat by die poolstreke in die see gestort word, behoort gevolglik eers ontsmet te word.

2.2.2 Soutgehalte, Temperatuur, Osmotiese skok, Sedimentasie.

Jamieson, Madri en Claus (1976) het die afsterwe tempo van *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Leptospira interrogans* serotipe pomona, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae* biotipe El Tor en *Yersinia enterocolitica* in seewater by verskillende temperature en soutgehaltes getoets. Soutgehaltes van 5‰, 20‰ en 35‰ is gebruik. Monsters is vir 11 dae by 4 °C, 25 °C en 37 °C geïnkubeer.

Die volgende resultate is verkry:

- * *Candida albicans* het die eksperiment vir 11 dae by alle soutgehaltes en temperature oorleef.
- * *Escherichia coli* het by 4 °C en 25 °C die langste oorleef en die soutgehalte het nie 'n invloed gehad nie. Teen die vyfde dag is daar slegs oorlewing by 4 °C by alle soutgehaltes. Algehele afsterwe is teen die sesde dag gevind.
- * *Mycobacterium tuberculosis* het soos *Escherichia coli* gereageer, maar met beter oorlewing. Die organisme oorleef slegs by 4 °C en 25 °C tot die negende dag met volkome afsterwe teen die tiende dag.
- * *Leptospira interrogans* het slegs vir een dag by 4°C en 5‰ soutgehalte oorleef.
- * *Vibrio cholerae* kon nie een dag by 37 °C by 20‰ en 35‰ soutgehaltes oorleef nie. By 4 °C en 25 °C by 5‰ en 20‰ het volkome afsterwe op die vierde dag plaasgevind.
- * *Yersinia enterocolitica* het baie vinnig afgesterwe en het slegs met baie lae getalle by die 4 °C en 25 °C oorlewe tot die vierde dag.
- * *Salmonella typhi* se gedrag is soos *Mycobacterium tuberculosis*, maar met 'n swakker oorlewing. Volkome afsterwe is teen die sewende dag gevind.
- * *Shigella dysenteriae* het ook net by 4 °C en 25 °C tot die vyfde dag oorleef met afsterwe teen die sesde dag.

Salmonella typhi en *Shigella dysenteriae* se oorlewing is beter as dié van *Escherichia coli*. Dit dui aan dat fekale kolivorme nie 'n goeie aanwyser is vir die afwesigheid van patogene organismes nie.

Die potensiaal van *Candida albicans* as besoedelingsindikator in die mariene omgewing word egter in hierdie studie beklemtoon. Die skrywers meld dat daar 'n metode bestaan vir die vinnige konsentrasie, identifikasie en kwantifisering van *Candida albicans* wat die 18 uur inkubasie tydperk vir die kweking van organismes uitskakel.

In 'n ondersoek na die oorlewing van *Salmonella* spp. in seewater het Coetzee (1963) gevind dat *Salmonella paratyphi B* meer weerstandbiedend is teen die toestande as *Salmonella typhi*. Die onmiddellike afsterwe van *Salmonella typhi* as gevolg van die osmotiese skok was 38%. Die T_{90} is binne die eerste 4 uur. Die afsterwe gedrag van *Salmonella typhi* is dieselfde in gedistilleerde water as in seewater. Na die onmiddellike osmotiese skok in beide seewater en gedistilleerde water het afsterwe, ongeag die omgewing, geleidelik plaasgevind met volkome afsterwe na 120 uur.

Livingstone (1978) het die vernietiging van die eiers van *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*, *Taenia* en Haakwurm spesies asook die afsterwe van kolivormige bakterieë bestudeer. Hy het gevind dat sedimentasie en osmotiese skok verantwoordelik is vir die verdwyning van die parasieteiërs in die see en dat verdunning die belangrikste rol speel by die vermindering van kolivorme. Die moontlikheid dat genoemde mikroörganismes die kuslyn vanaf 'n goed

ontwerpte afluistering rioolseeuitlaat kan bereik, is dus baie gering. Hoewel die eiers van sekere van die parasitiese ingewandswurms tot 24 uur in seewater kon oorleef, besink die eiers egter baie vinnig as gevolg van hul soortlike gewig (s.g.). Die s.g. van seewater wissel tussen 1,0002 en 1,0271. Die meeste eiers dryf by 'n s.g. van 1,1800 terwyl 'n geringe styging selfs die "swaarste" eiers, soos dié van *Taenia* spesies sal laat dryf. Wanneer die rioolpluim vanaf 'n afluistering uitlaat dus die oppervlak bereik en die vette en olies opgebreek word, sal die eiers baie vinnig in seewater besink.

Die term "afsterwe" van bakterieë in die mariene omgewing is volgens **Xu, Roberts, Singleton, Attwell, Grimes en Colwell (1982)** nie die volle waarheid nie. Hulle het gevind dat sekere bakterieë tot so 'n mate beskadig word dat dit nie op gewone selektiewe voedingsbodems groei nie. Dit stem ooreen met die bevindinge van **Kapuscinski & Mitchell (1980)**. Hierdie verskynsel is met die gedrag van *Escherichia coli* en *Vibrio cholerae* by verskillende temperature en soutgehaltes getoets.

Na 96 uur inkubasie by 10 °C in water met 'n 5‰ soutgehalte is 89% aktiewe selle van *Escherichia coli* van die oorspronklike telling met direkte teenliggaam telling gevind. Daarteen kon slegs 30% van die oorspronklike aantal kolonievormende-eenhede op gewone voedingsbodems gekweek word. By 25 °C inkubasie is 37% aktiewe selle met direkte teenliggaam telling gevind teenoor 14% wat gekweek kon word.

Na 96 uur inkubasie in water met 25‰ soutgehalte is 'n soortgelyke gedrag gevind. By 10 °C was die totale telling ongeveer vyf keer meer as die aktiewe telling en die kolonies wat gekweek kon word. By 25 °C was

die kolonies wat gekweek kon word egter 'n 100 keer minder as die aktiewe telling en 'n 1000 keer minder as die oorspronklike telling. Die gedrag van *Vibrio cholerae* is soos die van *Escherichia coli*, maar met kleiner verskille by verskillende temperature. Hierdie bevindinge dui daarop dat *Escherichia coli* ongeskik is as indikator vir patogene mikroorganismes.

Gameson (1984) het die afsterwe van totale en fekale kolivorme, *Escherichia coli*, fekale streptokokke, *Salmonellae*, *Serratia marcescens* en spore van *Bacillus subtilis* in die donkerte by verskillende temperature en met verskillende parameters vergelyk. Die term T_{90D} (tyd wat dit neem om 90% afsterwe in die donkerte te verkry) word in hierdie studie gebruik om die T_{90} waardes in die afwesigheid van sonlig voor te stel. Die afsterwe van bakterieë in die afwesigheid van sonlig is 'n relatiewe stadige proses. Die T_{90D} by 25 °C wissel van dae tot weke teenoor die T_{90} wat enkele ure is. Daar is 'n verband gevind tussen die T_{90D} en temperatuur terwyl verandering in pH en soutgehalte van die seewater geen noemenswaardige veranderinge in T_{90D} veroorsaak nie. Met 'n daling van 25 °C tot 5 °C in die watertemperatuur vermeerder die T_{90D} van die verskillende organismes met die volgende faktore:

totale kolivorme	4,2
fekale kolivorme	7,0
fekale streptokokke	9,0
<i>Salmonellae</i>	3,4

Die T_{90D} van *Salmonellae* en fekale kolivorme vergelyk goed hoewel *Salmonellae* laer T_{90D} waardes by laer temperature en

hoër T_{90D} waardes by hoër temperature het. Die T_{90D} van fekale streptokokke is ongeveer twee maal meer as dié van fekale kolivorme. *Serratia marcescens* se afsterwe was heelwat vinniger as dié van fekale kolivorme terwyl die spore van *Bacillus subtilis* variant *niger* 'n onbeduidende afsterwe na nege dae getoon het. Soos reeds deur verskeie navorsers, in hierdie studie vermeld, gevind is, is die afsterwe van bakterieë stadiger in kunsmatige seewater as in natuurlike seewater.

In 'n studie om die verskil in aktiwiteite van twee dierlike virusse teenoor twee bakteriofaag in seewater te ondersoek het Girones, Jofre en Bosch (1989) gebruik gemaak van poliovirus 1, rotavirus SA11, bakteriofaag $\phi 2$ (aktief teenoor *Escherichia coli*) en B40-8 (aktief teenoor *Bacteroides fragiles*). Verskeie eksperimente met poliovirus 1 het bewys dat die inaktivering van virusse in seewater biologies van aard is.

In fosfaatgebufferde water by 20 °C het die poliovirus vir 21 dae stabiel gebly. In matige besoedelde seewater is die T_{90} waarde <2 dae en in effens minder en effens meer besoedelde seewater was die T_{90} >2 dae. Met hitte sterilisasie of na die byvoeging van antibiotika (penisillien of streptomisien), het die seewater geen invloed op die poliovirus nie.

Wanneer die seewater slegs deur 'n 2,00 mikrometer membraan gefiltreer word, is die inaktivering dieselfde as in natuurlike seewater. Met 0,22 mikrometer membraanfiltrering het die poliovirus egter vir 7 dae, die tydsduur van die toets, stabiel gebly. Filtrering met 'n 0,45 mikrometer

membraan het die antivirus aktiwiteit van die seewater slegs gedeeltelik ingekort.

Vergelykende toetse ten opsigte van die oorlewing van die virusse by 20 °C seewater in die laboratorium het getoon dat poliovirus 1 die vinnigste geïnaktiveer word. Rotavirus SA11 het die langste aktief gebly maar die verskil teenoor die bakteriofaag was gering. Die oorlewing van die virusse by 15 °C seewater *in situ* is ook bepaal sodat dit met die resultate van die laboratoriumstudie vergelyk kon word. Dit het weereens getoon dat poliovirus 1 die vinnigste geïnaktiveer word. Geen verskil ten opsigte van die uiteindelijke oorlewing kon egter by rotavirus SA11, kolifaag f2 en bakteriofaag B40-8 gevind word nie. Die verskil in afsterwe (in dae) by die laboratoriumstudie by 20 °C is soos volg:

Virusgroep	T ₉₀	T ₉₉	T _{99,9}
polio 1	1,0 (± 0,1)	2,0 (± 0,1)	2,8 (± 0,2)
f2	2,0 (± 0,1)	3,7 (± 0,1)	5,3 (± 0,03)
B40-8	1,5 (± 0,1)	3,2 (± 0,2)	5,3 (± 0,2)
rota SA11	2,7 (± 0,2)	4,3 (± 0,3)	5,8 (± 0,4)

Die verskil in afsterwe (dae) by die *in situ* studie by 15 °C is soos volg:

Virusgroep	T ₉₀	T ₉₉	T _{99,9}
polio 1	1,5 (± 0,1)	3,1 (± 0,2)	4,0 (± 0,3)
rota SA11	2,1 (± 0,1)	4,0 (± 0,3)	>7,0
f2	3,2 (± 0,3)	4,7 (± 0,2)	>7,0
B40-8	3,6 (± 0,2)	5,7 (± 0,3)	>7,0

Die verskil in temperatuur van die seewater in bogenoemde eksperimente is volgens die skrywers die oorsaak van die verskil in afsterwe van die

virusse. Temperatuur is naas bakteriologiese vyande die grootste faktor by die inaktivering van virusse. Virusse oorleef in die algemeen langer by laer temperature. Daar is gevind dat die werking van waterliewende mikroflora, wat vir die antivirus aktiwiteit van seewater verantwoordelik is, by laer temperature ingeperk word. Die resultate bewys dat bakteriofaag wel suksesvol as indikator vir enteriese virusse gebruik kan word. Verskeie navorsers het gevind dat kolivorme vinniger afsterf as bakteriofage. Dit dui daarop dat kolivorme tekortkominge het om as indikator van virusse in besoedelde seewater te dien. Die kostes verbonde aan die bepaling van enterovirusse veroorsaak dat hulle nie op 'n roetine basis bepaal kan word om die viologiese kwaliteit van seewater te bepaal nie. Die resultate van hierdie studie kan dus suksesvol gebruik word om die argumente teen die gebruik van kolifaag as indikator vir enteriese virusse die nek in te slaan.

Fattal, Vasl, Katzenelson en Shuval (1983) het die afsterwe van totale en fekale kolivorme, fekale streptokokke en enterovirusse by drie seewaterpunte vergelyk. Die ondersoek is opgedeel in 'n somertydperk (Mei tot Oktober) en 'n wintertydperk (November tot April). Die temperatuur van die seewater het gewissel tussen 15 °C en 29 °C met 'n gemiddelde van 25 °C gedurende die somertydperk en 19 °C gedurende die res van die jaar. Die elektriese geleiding van die seewater was gedurende die somertydperk effens hoër as gedurende die res van die jaar.

Totale en fekale kolivorme het 'n redelike vinnige afsterwe getoon teenoor fekale streptokokke en enterovirusse.

Fekale streptokokke het dieselfde afsterwe tempo as enterovirusse en kan dus as goeie indikator vir virus besoedeling in die mariene omgewing dien.

Tellings van bakterieë en virusse is laer gedurende die somertydperk as gedurende in die res van die jaar. Dit is die gevolg van die hoër sonstraling intensiteit en die langer ure daglig. Verskillende virusse is tot 5 kilometer vanaf die riooluitlaat gevind. Die feit dat virusse gevind is by strande waar die standarde volgens die fekale kolivorme tellings aanvaarbaar is, is 'n tekortkoming in die standarde. Daar moet in die toekoms gedink word om 'n virus indikator by die standarde te voeg.

2.2.3 Sonlig, Voedsel

Volgens die literatuur het **Pike, Gameson en Gould (1970)** gevind dat die T_{90} van *Escherichia coli* heelwat varieer met 'n minimum van 47 minute en 'n maksimum van 17,8 uur. Sonlig is die belangrikste faktor vir afsterwe van kolivorme aan die oppervlak en tot op enkele meter diepte. Wanneer seewater verouder word, verminder die kiemdodende uitwerking op bakterieë. Hulle het onbesoedelde seewater in die donkerte by 8 °C gestoor en dit met tussenposes van 3, 4, 5, 7 en 32 dae ondersoek. Na 5 dae en langer het hulle gevind dat die seewater se kiemdodende uitwerking verswak in vergelyking met kunsmatige seewater. Dit het egter altyd meer toksies as kunsmatige seewater gebly tot selfs na 18 maande se opberging. Dit bewys dat daar faktore in seewater is wat afsterwe veroorsaak wat nie eens deur opberging beïnvloed word nie.

In natuurlike en kunsmatige seewater by 20,6 °C is 'n T_{90} van 48,9 uur gevind. By 16 °C is gevind dat die T_{90} van kolivorme dubbeld is as by 20 °C. Van 0 °C tot 40 °C verminder die T_{90} met 'n faktor van 1,97 vir elke 10 °C verhoging in temperatuur.

Die uitwerking wat die verskillende soutgehaltes op die T_{90} het op rioolwater van twee verskillende areas (A en B) is soos volg:

		Soutgehalte (g/kg)			
		0	10	20	30
T_{90} (uur)	A	70	61	52	44
	B	63	52	41	30

Dit is duidelik dat die T_{90} op soortgelyke wyse verminder met 'n toename in die soutgehalte, maar dit blyk ook dat die oorlewingsvermoë van kolivorme kan wissel in verskillende rioolwaters.

Bellair, Parr-Smith en Wallis (1977) het gevind dat die hoogste afsterwe tempo van kolivorme ooreenstem met die tyd wanneer sonstraling die intensiefste is. Die T_{90} waardes het gewissel van 'n maksimum van 40 uur in die nag tot 'n minimum van 1,9 uur rondom die middaguur. Indien die intensiteit van sonlig by die oppervlak as 100% geneem word, is gevind dat by dieptes van 0,5 m, 2 m en 5 m die intensiteit ongeveer 80%, 40% en 10% respektiewelik is. Indien sonlig die belangrikste faktor vir afsterwe is, is dit duidelik dat die kiemdodende uitwerking nie baie dieper as 5 m sal strek nie.

Die studie is uitgevoer in Parsleybaai aan die suidekant van Sydney se hawe en by Balmoralstrand in Middelhawe, Sydney. Sonstraalintensiteit

lesings is vanaf Kensington (10 km vanaf toetsterrein) verkry. Die T_{90} waardes (in uur) is vir hierdie gebied soos volg bereken:

Tyd	T_{90}	Tyd	T_{90}	Tyd	T_{90}
0100	40	0900	3,2	1700	5,3
0200	40	1000	2,5	1800	6,7
0300	40	1100	2,3	1900	8,5
0400	40	1200	2,5	2000	11
0500	40	1300	2,9	2100	14
0600	19	1400	3,3	2200	20
0700	8	1500	3,9	2300	27
0800	4,6	1600	4,6	2400	34

Aangesien die weersomstandighede in Australië en Suid-Afrika redelik goed ooreenstem, kan bostaande tabel nuttig gebruik word.

Mitchell en Chamberlin (1978) het 87 verskillende studies vanaf 1954 tot 1973 se data getabuleer. Al hierdie studies is in direkte sonlig rondom die middaguur uitgevoer. Die T_{90} van kolivorme varieer tussen 37 minute en 5 uur 47 minute. Dit gee 'n verskil van 5 uur 10 minute wat 'n heelwat kleiner verskil is as die syfer van 17 uur 1 minuut wat in die studies deur **Pike et al. (1970)** gerapporteer is. **Coetzee (1961)** het in sy studie 'n T_{90} van 31,3 uur vir kolivorme aangegee. Die T_{90} in die 87 studies het 'n geometriese gemiddelde van 1,05 uur met 'n standaardafwyking van 0,27. Dit stem baie goed ooreen met die resultate van **Bellair, Parr-Smith en Wallis (1977)**.

Caldwell - Connell Ingenieurs (1979) het T_{90} waardes vir fekale kolivorme van 50 uur gedurende die nag en 2 uur gedurende die dag rondom die middaguur gevind. Die T_{90} van 1,05 uur van Mitchell en Chamberlin (1978) en 1,9 uur van Bellair et al. (1977) vergelyk uitstekend met hierdie bevindinge. Die minimum T_{90} waardes is gevind tydens die ure toe die sonstraling die intensiefste was. Hulle bevestig dus die feit dat sonlig 'n belangrike faktor by die afsterwe van mikroorganismes in seewater is. By sekere van die strande waar hulle *Escherichia coli* tellings gedoen het, het hulle gevind dat die tellings hoër was as die voorgestelde standarde. Hierdie probleem kon slegs opgelos word indien die rioolsuiweringsproses sodanig verbeter kon word sodat 96% van die *Escherichia coli* verwyder sou word of 'n verlenging van die seeuitlaatpyp wat 'n verdere verdunning van 24:1 moontlik sou maak. Dit is dus duidelik dat die oorspronklike ontwerp van 'n afluende seeuitlaat genoegsaam moet wees om die onmiddellike verdunning so groot as moontlik te maak.

In 'n vergelykende studie tussen die oorlewing van fekale streptokokke en *Escherichia coli* in seewater in lig en donker toestande het Evison en Tosti (1980) gevind dat fekale streptokokke langer in seewater oorleef as *Escherichia coli*.

Escherichia coli se T_{90} waardes in oggend sonlig by 24 °C tot 27 °C het van 2 tot 11 uur gewissel.

In die donkerte het dit gewissel van 55,5 uur by 25 °C tot 526 uur by 1,5 °C teenoor fekale streptokokke se T_{90} van 125 uur by 25 °C tot 1716 uur by 1,5 °C.

Die median T_{90} waardes in 28 varswater studies opgesom deur **Mitchell en Chamberlin (1978)** is 62,3 teenoor 2,25 uur in soutwater. Dit impliseer dat sonstraling nie alleen verantwoordelik is vir die verskil in afsterwe in lig en donker toestande nie. **Evison en Tosti (1980)** is van mening dat fisiese en chemiese faktore verantwoordelik is vir die vinnige afsterwe in soutwater.

Die resultate bewys dat enterokokke (*Streptococcus faecalis* en *Streptococcus faecium*) 'n beter indikator van fekale besoedeling in soutwater is as kolivorme.

Kapuscinski en Mitchell (1980) het suiwer kulture van fekale kolivorme en drie bakteriofage, MS2, ϕ X-174 en T7 by gefiltreerde seewater gevoeg om hul afsterwe te bepaal.

Die afsterwe van alle kulture was baie vinniger in sonlig as in die donkerte. Kolivorme het weer op hul beurt vinniger afgesterf in die aan- en afwesigheid van sonlig as bakteriofage.

Wanneer 'n ensiem (katalase) of 'n ensiem substraat (piruvaat) by die groeimediums gevoeg word, word hoër tellings van kolivorme by toetse in direkte sonlig verkry. Hulle het tot die gevolgtrekking gekom dat sonlig katalase afbreek en dat die organismes dan beseer word. Die beseerde bakterieë groei gevolglik nie op gewone kweekbodems nie en vals negatiewe resultate word sodoende verkry. Seewater gehalte van swemstrande voldoen dan valslik aan vereiste kriteria. Bakterieë is steeds teenwoordig, maar kan net nie gekweek word nie. 'n Gesondheidsrisiko is dus steeds teenwoordig. Hierdie afleidings stem saam met die resultate van

Xu, Roberts, Singleton, Attwell, Grimes en Colwell (1982) waar hul gevind het dat direkte seltellings hoër is as kolonie vormende eenhede op gewone kweekbodems.

Fujioka, Hashimoto, Siwak en Young (1981) het die uitwerking van sonlig op bakterieë in seewater ondersoek. Riolwater is 1 tot 1000 met seewater of fosfaat gebufferde water (FBS) vermeng en by 24 ± 2 °C in die aan- en afwesigheid van sonlig geïnkubeer.

In seewater in die afwesigheid van sonlig het die T_{90} vir fekale kolivorme gewissel van 21 tot 48 uur en vir fekale streptokokke van 36 tot 84 uur. In FBS het die getalle van die bakterieë vir 96 uur stabiel gebly.

In direkte sonlig was die T_{90} 30 tot 90 minute vir fekale kolivorme en 60 tot 180 minute vir fekale streptokokke in beide seewater en FBS.

Verskeie eksperimente is uitgevoer om te bepaal of dit die ultraviolet lig of die sigbare lig is wat die afsterwe veroorsaak. Die resultate het bewys dat sonlig se kiemdodende effek deur plastiek, glas en 3,3 meter helder seewater behou word. Verder is gevind dat die ultraviolet lig nie deur die plastiek en glas kan dring nie. Die sigbare lig en nie die ultraviolet lig nie, is dus die kiemdodende faktor van sonlig. Afsterwe in seewater, varswater en gedeïoniseerde water verskil in die aan- en afwesigheid van sonlig.

In seewater in die afwesigheid van sonlig het die bakterieë afgesterf by die 2de en 3de dag.

In varswater in die afwesigheid van sonlig het die getalle vir 3 dae stabiel gebly.

In sonlig is die T_{90} in seewater 36 minute vir fekale kolivorme en 98 minute vir fekale streptokokke met algehele afsterwe binne 180 minute.

In varswater in die aanwesigheid van sonlig is die T_{90} vir fekale kolivorme 114 minute terwyl 8% die 180 minute inkubasie tydperk oorleef. 45% van die fekale streptokokke het die inkubasietydperk oorleef.

In gedeïoniseerde water in sonlig is die afsterwe tempo van die bakterieë effens stadiger as in seewater.

In 'n verdere eksperiment het Fujioka et al. (1981) gevind dat fekale kolivorme en fekale streptokokke teenwoordig in die mis van beeste en hoenders dieselfde afsterwe tempo gehad het as dié vanuit stoelgang vanaf die mens. Onder sekere omstandighede dui 'n verhouding van fekale kolivorme en fekale streptokokke van meer as 4,0 op menslike besoedeling, en 'n verhouding van minder as 0,7 op dierlike besoedeling (Geldreich & Kenner, 1969). Hierdie aanduiding geld egter nie in seewater nie omdat fekale streptokokke langer as fekale kolivorme in seewater oorleef.

Die tempo waarteen die bakterieë afkomstig uit rioolwater by 'n aflandige seeuitlaat afsterf, hang volgens Gameson (1985) hoofsaaklik van twee belangrike faktore af:

- (i) voedseltekort en
- (ii) die beskadiging van selle as gevolg van sonstraling.

Die beskikbare voedsel in die see, behalwe miskien in die rioolpluim by 'n seeuitlaat, is gewoonlik heeltemal onvoldoende om die groei van

enteriese mikroorganismes te onderhou. Die bakterieë ondervind 'n gebrek aan voedsel en met die sonstraling as bykomende faktor sterf hulle vinnig af. Faktore soos gifstowwe vanaf alge en mariene organismes, mededingers vir beskikbare voedsel, roofvyande soos protosoa en bakteriofaag, sedimentasie en temperatuur speel 'n bykomende rol by die vermindering van enteriese mikroorganismes. So byvoorbeeld was die afsterwe tien keer vinniger by 25 °C as by 0 °C.

Die invloed van die soutgehalte van die seewater blyk onbelangrik te wees hoewel die afsterwe tempo van kolivorme verminder soos die soutgehalte verminder deur verdunning met rivierwater. Die beskikbare voedsel in die rivierwater mag egter meer wees en kan gevolglik 'n rol speel.

Sonstraling is verreweg die belangrikste faktor en is verantwoordelik vir die hoë afsterwe tempo gedurende die dag (100 keer vinniger by 20 °C) in vergelyking met die afsterwe gedurende die nag. Hierdie afsterwe gedurende die dag, wissel egter heelwat as gevolg van faktore soos weersomstandighede, stand van die son, diepte (die water bokant die bakterieë kan die straling verswak) en troebelheid van die seewater.

Twee meganismes ten opsigte van sonstraling is verantwoordelik by die beskadiging van selle:

- (i) Die opbreek van DNA by die korter ultraviolet golflengtes (293 nm tot 450 nm) en
- (ii) fotoöksidasie van chromofore by die langer golflengtes (ongeveer vanaf 400 nm tot 800 nm).

Aan die oppervlak word die totale kolivorm bevolking (100%) soos volg verminder:

- * 50% by golflengtes onder 370 nm,
- * 25% by golflengtes 370 nm tot 400 nm en
- * 25% by golflengtes 400 nm tot 500 nm.

Golflengtes hoër as 500 nm het blykbaar geen uitwerking nie.

Onder die oppervlak is egter gevind dat die vermindering soos volg verloop:

- * 25% by golflengte 380 nm,
- * 25% by golflengtes 380 nm tot 420 nm,
- * 25% by golflengtes 420 nm tot 460 nm,
- * 25% by golflengtes bokant 460 nm.

Dit mag egter heelwat wissel met diepte en troebelheid van die seewater. Volgens literatuur is die T_{90} waardes van kolivorme in sonlig 1 tot 2 uur in tropiese en subtropiese kuswaters en 5 uur in Britse kuswaters. 'n T_{90} van 10 uur sal dus 'n toepaslike waarde wees by die ontwerp van 'n pyplyn in Britse waters.

Volgens **Borrego en Romero (1983)** is intensiteit en tydsduur van sonstraling die belangrikste faktor wat verantwoordelik is vir die afsterwe van mikroörganismes in die mariene omgewing. Die resultate wat verkry word wissel egter geweldig met seisoene en duur van blootstelling aan die sonlig. Ander faktore soos seestrome, wind, oppervlak verdunning as gevolg van reën en wisseling in seewater temperatuur is enkeles wat bydra tot die afsterwe.

Die afsterwe van kolivorme in seewater is te vinnig en maak dit ongeskik as aanwyser van die aan- of afwesigheid van virusse. Bakteriofaag is 'n baie beter keuse as aanwyser aangesien dit dieselfde gedrag as enterovirusse in die mariene omgewing openbaar. Daarby is die ontleding van bakteriofaag relatief eenvoudig, vinnig en goedkoop. Die inaktivering van bakteriofaag is in steriele seewater, onbesoedelde en erg besoedelde seewater, kunsmatige seewater en steriele gedistilleerde water ondersoek. Bakteriofaag H55, S1, V2, 4 ϕ 2, 32 ϕ 1.5 & 32 ϕ 3.5 met ses *Escherichia coli* spesies as gashere is in die genoemde waters vir 30 dae by 18°C geïnkubeer en die vermindering in aktiwiteit is gemoniteer.

Die resultate na 30 dae was soos volg:

In geoutoklaveerde en membraanfiltreerde seewater het H55 en S1 tussen 7 en 8% van die oorspronklike aktiwiteit behou. V2 is meer weerstandbiedend en het nog 48% aktiwiteit gehad. Die aktiwiteit van al drie bakteriofaag is na 360 dae feitlik nul.

S1 se aktiwiteit verminder 10^6 keer in onbesoedelde seewater. In geoutoklaveerde skoon seewater, geoutoklaveerde en membraanfiltreerde skoon en besoedelde seewater en in steriele gedistilleerde water het dit vir 50 dae stabiel gebly met geen verandering in titer nie.

4 ϕ 2 is in erg besoedelde seewater die meeste benadeel met 'n 10^5 keer afname in aktiwiteit. In steriele gedistilleerde water en geoutoklaveerde seewater is die inaktivering minimaal en net 'n tienvoudige afname is gevind.

32,5 het 1000 keer verminder in onbesoedelde seewater teenoor 5 keer in steriele kunsmatige en gesteriliseerde erg besoedelde seewater.

3,5 het in membraanfiltreerde seewater 'n 10^5 keer vermindering getoon. In steriele kunsmatige en steriele skoon seewater is die vermindering 10 keer.

In die mariene omgewing met verskillende begin titers is die oorlewings-tyd soos volg gevind:

1:10	titer	2,4 minute
1:100	titer	11,4 minute
1:1000	titer	84,0 minute

Die T_{90} waardes het gewissel tussen 10,8 en 18,33 minute met 'n gemiddelde van 13,7 minute. Afhangende van die gasheer het virus aktiwiteite tussen 112 en 121 minute heeltemal afgeneem. Dit is baie duidelik dat daar geen verband is tussen die gedrag van die bakteriofaag met *in vitro* en *in situ* ondersoek. Die handeling van die bakteriofaag in die see behels faktore wat moeilik of glad nie bepaal kan word nie.

Die sinergistiese werking van sonstraling, soutgehalte en roofvyande in seewater is volgens De Vicente, Avilés, Borrego en Romero (1988) verantwoordelik vir die kiemdodende uitwerking van seewater op mikroörganismes. Die afsterwe van *Pseudomonas aeruginosa* in seewater is met kolivorme en fekale streptokokke vergelyk. Die uitwerking van sonlig en temperatuur op die bakterieë in membraanfiltreerde seewater, is

met die volgende drie eksperimente bepaal:

- * inkubasie by 4 °C in die donker,
- * inkubasie by 28 °C in die donker,
- * inkubasie by 20 °C vir 16 uur in sonlig en vir 8 uur in die donker.

Die T_{90} waardes in minute in sonlig (sonstraling spektrum het tussen 380 nm en 760 nm gewissel met 'n maksimum by 450 nm) vir die verskillende organismes is:

totale kolivorme	18
fekale kolivorme	19
fekale streptokokke	31
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29

Pseudomonas aeruginosa is vir 28 dae by 20 °C in die donker geïnkubeer om die uitwerking wat normale 0,85% soutoplossing (NSO), kunsmatige seewater (KSW), gefiltreerde seewater (FSW), geoutoklaveerde seewater (ASW) en natuurlike seewater (NSW) op die afsterwe het, te ondersoek.

In NSO en KSW het geen afsterwe plaasgevind nie. In FSW is 'n honderd-voudige afname waargeneem. In ASW is die afsterwe stadiger met slegs 'n sewevoudige vermindering. In NSW was dit heelwat vinniger met 10^6 keer vermindering.

In FSW na 28 dae by verskillende temperature in die donker is die afsterwe:

- * By 20 °C en 28 °C is die vermindering ongeveer 100 keer en by 4 °C is dit 1000 keer.

* In direkte sonlig by 20 °C is die vermindering egter 10⁶ keer.

Soos deur Borrego en Romero (1983) gevind is het hierdie outeurs bevestig dat die oorlewing van mikroörganismes in laboratoriumstudies baie beter is as *in situ* studies.

Blootstelling aan sonlig word volgens El-Sharkawi, El-Attar, Gawad en Molazem (1989) as krities noodsaaklik beskou om die seewater se self-reinigingsproses na rioolbesoedeling te bespoedig. Die uitwerking wat temperatuur, soutgehalte en sonlig op die afsterwe van *Salmonella typhi*, *Salmonella wein*, *Shigella flexneri* en *Escherichia coli* het, is ondersoek. Die bakterieë is in natuurlike seewater, gefiltreerde seewater, varswater en in normale soutoplossing (0,85%) vir een week by 25, 30, 35 en 40 °C geïnkubeer:

Tyd (in dae) vir die volledige afsterwe van die organismes, by die aangeduide temperature (°C) in die verskillende waters

Bakterie	Filtreerde seewater				Natuurlike seewater				Varswater				Normale Soutoplossing			
	25	30	35	40	25	30	35	40	25	30	35	40	25	30	35	40
	<i>S.typhi</i>	7	7	7	2	6	6	6	2	6	6	6	6	4	6	6
<i>S.wein</i>	4	4	3	3	4	4	4	3	6	6	4	4	7	5	7	5
<i>Sh.flexneri</i>	2	3	3	6*	4	3	4	2	6	7	5	2	3	4	4	3
<i>E.coli</i>	7	5	3	1	7	4	2	3	7	7	6	5	7	4	5	5

6* = ure

Die soutgehalte het geen uitwerking op die *Salmonellae* gehad nie terwyl *Shigella flexneri* en *Escherichia coli* langer in varswater as in seewater oorleef. Sonlig het 'n nadelige uitwerking op al die bakterieë gehad.

Tyd (in dae) vir die volledige afsterwe van die organismes, by die aangeduide omstandighede in die verskillende waters

Bakterie	Filtreerde seewater			Natuurlike seewater			Varswater dk	Normale Soutoplossing		
	sl	kl	dk	sl	kl	dk		sl	kl	dk
	<i>S.typhi</i>	8*	1	5	1	2		6	6	1
<i>S.wein</i>	4*	8*	6	1	1	6	6	1	5	6
<i>Sh.flexneri</i>	8*	6*	5	1	3	4	7	1	4	6
<i>E.coli</i>	8*	1	4	8	4	5	7	1	5	7

sl = sonlig (237 lux); kl = kunsmatige lig (130 lux); dk = Donker; 6* = ure

Dit is baie duidelik dat die afsterwe in die lig baie vinniger as in die donker is. Kunsmatige lig se nadelige uitwerking is minder as die van natuurlike lig.

2.2.4 Roofvyande, Mededingers vir voedsel, pH, Kiemdodende stowwe

Bdellovibrio en ander roofvyande se belangrikheid is deur Mitchell (1972) beklemtoon. Hy het gevind dat die getalle van roofvyande in onbesoedelde seewater baie laag is, maar met die byvoeging van ingewandsbakterieë vermeerder hul getalle dramaties. Deur ensiem werking verteer *Pseudomonads* die selwande van ingewandsbakterieë. Verder impliseer hy dat normale mariene mikroorganismes verantwoordelik is vir die vernietiging van virusse. Virusse bly egter tot 56 dae in die winter en 32 dae in die somer infektief. Die vernietiging van virusse is dus kompleks en die inaktivering kan nie op enkele faktore berus nie.

Nabbut en Kurayiyah (1971) het die gedrag van *Salmonella typhi* in natuurlike, gefiltreerde en geoutoklaveerde seewater ondersoek. Die resultate ten opsigte van mededingers vir beperkte voedsel, roofvyande (mariene organismes) en ongeïdentifiseerde toksiese stowwe word deur hierdie navorsers bespreek. Die antibakteriese werking van seewater is bepaal deur gebruik te maak van verskillende konsentrasies seewater. Die volgende resultate is verkry:

Konsentrasie seewater (%)	Oorlewing na 48 uur (%)
0*	24,8
25	34,9
50	16,2
75	10,1
100	6,7

* Gedeïoniseerde water

By 25% seewater is die oorlewing van bakterieë die beste en afsterwe neem toe soos die konsentrasie verhoog. By 25% seewater is die uitwerking van die soutgehalte minimaal. Die bydrae wat mariene bakterieë en ander faktore kan maak word verminder as gevolg van die verdunning.

Natuurlike, geoutoklaveerde (hitte sterilisasie) en gefiltreerde seewater is gebruik om die uitwerking van roofvyande en mededingers te bepaal.

Gefiltreerde seewater het nie dieselfde kiemdodende uitwerking as natuurlike seewater nie aangesien dit vry is van sekere mededingers en vyande en moontlik ook minder beskikbare voedsel bevat.

Geoutoklaveerde seewater is minder kiemdodend as gefiltreerde seewater as gevolg van vernietiging van die hitte-gevoelige stowwe en die *Bdellovibrio* vyande wat nie deur filtrasie agtergehou word nie. Die resultate bevestig die bevindinge van vroeëre navorsers dat wanneer seewater geoutoklaveer word, die bakterieë baie langer oorlewe. Die oorlewing van *Salmonellae typhi* was soos volg in:

natuurlike seewater	3 tot	6 dae
gefiltreerde seewater	6 tot	7 dae
geoutoklaveerde seewater	7 tot	12 dae

Roofvyande en mededingers vir voedsel asook toksiese ione in natuurlike seewater is waarskynlik die kiemdodende faktore volgens Chan en Li (1977). Die uitwerking van verskillende soutkonsentrasies asook die uitwerking van natuurlike, gefiltreerde en geoutoklaveerde seewater is op *Klebsiella aerogenes* getoets. *Klebsiella aerogenes* is 'n kolivorm en is een van die dominante groepe bakterieë in rioolwater en kom in groter getalle as *Escherichia coli* voor. Die eksperiment is vir 5 dae by 28 °C uitgevoer en die volgende resultate is verkry:

Tipe seewater	Afsterwe dag 1 (%)	Afsterwe dag 5 (%)
natuurlike	79	91
gefiltreer	70	86,8
geoutoklaveer	61,4	57,5
1,75% sout	78	87
2,50% sout	82	90
3,00% sout	87	98
pH 5,0	27	52
pH 6,0	51	75
pH 7,0	62	77
pH 8,0	92	98
pH 9,0	97	99

Dit is baie duidelik dat geoutoklaveerde seewater die minste kiemdodende uitwerking op die bakterie gehad het. Die bakterie vermeerder selfs na die aanvanklike afsterwe. Die resultate vergelyk baie goed met die resultate van Nabbut en Kurayiyah (1971).

Die hitte sterilisasie verhoog blykbaar die voedsel inhoud deur die afbreek van hittegevoelige stowwe en met die reste van die mariene organismes wat gedood word.

Soos deur verskeie ander studies reeds bespreek, het die afsterwe tempo verhoog soos die soutgehalte verhoog mits 'n sekere minimumperk oorskry is. Die afsterwe in vergelykende toetse met NaCl het dieselfde patroon gevolg, maar oorlewing was by elke konsentrasie egter beter. Die soutgehalte van die seewater wat gebruik is, is 3,0% en die gemete pH was 7,8.

Dit is ook uit die tabel baie duidelik dat die verhoging in pH 'n verhoging in afsterwe tempo veroorsaak. Dit blyk egter dat die vernietiging van roofvyanse en ander faktore wat met hitte sterilisasie uitgeskakel word, belangriker is as die verhoging in pH en soutgehalte wanneer water geoutoklaveer word.

2.3 Bespreking

Die seewater rondom ons kus bly 'n belangrike ontspanningsgerief asook 'n voedselbron. Die beskerming van ekosisteme veral by riviermondings teen mensgemaakte gifstowwe is almal se verantwoordelikheid. Alle vlakke van lewe is noodsaaklik om 'n volledige voedselketting te handhaaf. Dit is dus noodsaaklik dat die huidige mikrobiologiese gehalte van die seewater, voor die installering van enige seeuitlaat, vasgestel moet word sodat

enige veranderinge vroegtydig waargeneem kan word.

Die vraag, of die verdunning altyd genoegsaam is sodat bakterieë nie in groot getalle by swemstrande beland nie en sodoende 'n gesondheidsgevaar inhou nie, is in hierdie literatuurstudie op verskeie maniere benader. Dit is baie duidelik dat voor enige riooluitvloei of industriële uitvloei in die see gestort word, daar na al die faktore gekyk moet word om te bepaal of die verdunning en die afsterwe van mikroorganismes genoegsaam sal wees om veilige strande te verseker. Weersomstandighede, seewater temperatuur, ure sonlig, intensiteit van sonstraling, reën, verdunning, afstand vanaf swemstrande en die kweekareas van filtreervoeders is die belangrikste faktore wat ondersoek moet word. Die oorlewing van mikroorganismes in die mariene omgewing is deur alle navorsers bevestig. Aflandige riooluitlate moet gevolglik so ontwerp word dat die onmiddellike verdunning so groot as moontlik kan wees. Die afsterwe van mikroorganismes gedurende die nag is nie voldoende om te verseker dat die seewater van goeie mikrobiologiese gehalte is nie.

Standaard en kriteria ten opsigte van seewatergehalte stel gewoonlik 'n sekere hoeveelheid van 'n indikator organisme per 100 mL toetsmonster, as 'n persentasie voorkoms, as riglyn voor. Die tipe indikator word gewoonlik gekies omdat dit in groot getalle in riooluitvloei voorkom en maklik gekweek kan word. Dit hou in die meeste gevalle geen verband met siekte toestande nie en die totale aantal daarvan in seewater dien slegs as indikator vir die vlak van besoedeling. Die infektiewe dosis van patogene bakterieë en virusse verskil egter geweldig binne een groep bakterieë asook tussen verskillende groep bakterieë (Jawetz, Melnick en Adelberg 1987 en Burger 1989). So byvoorbeeld is die infektiewe

dosis van verskillende bakterieë en virusse soos volg:

<i>Yersinia pestis</i>	10^0		
<i>Salmonella typhi</i>	10^3		
<i>Salmonellae</i>	10^5	-	10^8
<i>Shigellae</i>	10^2	-	10^4
<i>Vibrios</i>	10^5	-	10^8
<i>Escherichia coli</i>	10^6	-	10^7
<i>Leptospira</i>	$< 10^2$		
Enterovirusse	$< 10^2$		
Hepatitis A	$< 10^2$		

Yersinia pestis is partykeer so virulent, veral in longpes, dat 'n enkele vegetatiewe sel genoeg is om die dood van die geïnfekteerde persoon te veroorsaak. Bogenoemde mikroorganismes kan in rioolwater voorkom sodra daar epidemiese siekte toestande of selfs net draers onder die gesonde gemeenskap voorkom.

Volgens Smith, Farrell en Dunican (1974) is 95% van alle weerstandbiedende *Escherichia coli* afkomstig van gesonde mense, waarvan tussen 30 en 70% draers is. Daar kan dus aanvaar word dat die verhouding tussen fekale kolivorme en *Escherichia coli* konstant sal bly. Om te bepaal of seewater enige verandering teweegbring in die antibiogramme van *Escherichia coli* is monsters by vyf punte geneem en ontleed.

Die ligging van hierdie punte en die gemiddelde tellings van fekale kolivorme is soos volg:

1 Naby riooluitlaat	44 000
2 0,5 kilometer van uitlaat	250
3 1,6 kilometer van uitlaat	739
4 3,2 kilometer van uitlaat	90
5 4,2 kilometer van uitlaat	120

Geen verskil ten opsigte van Ampicillin weerstandbiedende *Escherichia coli* is by die verskillende punte gevind nie. 59% van die stamme wat teen Ampicillien alleen weerstandbiedend was, kon dit oordra aan ander stamme. 87% wat teen twee of meer antibiotika weerstandbiedend was, kon dit aan ander stamme oordra. Die seewater het dus geen effek op die weerstandbiedenheid van die R⁺ *Escherichia coli* gehad nie.

Daar is tydens hierdie literatuurstudie gevind dat daar by strande waar daar nie riooluitlate is nie, wel bakterieë gevind word. Die navorsers het in hul ondersoek egter net riooluitlate by die betrokke strande bekyk en stormwateruitlate wat die besoedelingsbron kon gewees het, buite rekening gelaat. Die feit dat stormwatergehalte in baie gevalle met rioolwater vergelykbaar is en dus 'n belangrike draer van die mikro-organismes is, is ook al op verskillende plekke in die praktyk gevind soos deur Augoustinos, Kfir en Engelbrecht (1988) gerapporteer is.

2.4 Gevolgtrekkings

(i) Kolivorme

- * Temperature van 15 °C en laer bevorder oorlewing terwyl voedingstowwe so min soos 2,5 mg/L organiese koolstof vermeerdering teweeg bring. 'n Verhoging in soutgehalte het 'n nadelige uitwerking op die organismes.
- * Die T₉₀ in direkte sonlig is <2 uur terwyl dit in die afwesigheid van sonlig uitermate wissel (>35 dae). Die T₉₀ in direkte sonlig wissel egter met enige verandering ten opsigte van sonstraling.

Veranderinge soos weersomstandighede, intensiteit van sonstraling, tydsduur van blootstelling, diepte en troebelheid van die seewater en seisoene, is van die belangrikste.

- * Dit maak dit dus noodsaaklik dat die aanvanklike verdunning so groot as moontlik moet wees. Dit moet verseker dat die bakterie getalle altyd binne die grense van riglyne en of standarde is, aangesien die afsterwe tempo in die mariene omgewing stadig is en nie altyd, behalwe rondom die middaguur, voldoende is nie.
- * Dit blyk dat fekale kolivorme as alleenstaande indikator, nie die beste aanwyser vir rioolbesoedeling in die mariene omgewing is nie.
- * Die verhouding van fekale kolivorme tot fekale streptokokke wat op menslike of dierlike besoedeling dui, geld nie in seewater nie omdat fekale streptokokke langer as fekale kolivorme in seewater oorleef.

(ii) Enterokokke en patogene

- * Die T_{90} in direkte sonlig is in die algemeen groter as die van kolivorme. Die T_{90} van fekale streptokokke kan selfs twee keer die van kolivorme wees. Soos met kolivorme wissel die T_{90} gedurende die nag grootliks en geen syfer kon as riglyn uit die literatuur verkry word nie. Enige afwyking in stralingsintensiteit beïnvloed ook die T_{90} in direkte sonlig.

- * Hoewel die getalle van fekale streptokokke en patogene in rioolwater in die algemeen laer is as die van kolivorme, is die tyd van afsterwe langer vir fekale streptokokke en sommige patogene. Dit kan veroorsaak dat dié patogene lank genoeg mag oorleef om siekte te veroorsaak terwyl die seewater aan die riglyne vir fekale kolivorme voldoen.
- * Enterokokke is 'n beter indikator as kolivorme vir rioolbesoedeling in die mariene omgewing.

(iii) Enteriese virusse en bakteriofage

- * Daar bestaan 'n betekenisvolle korrelasie tussen die oorlewing van sekere enteriese virusse en sekere bakteriofage. Dit dui daarop dat bakteriofage gebruik mag word as waardevolle indikator van die algemene oorlewing van menslike virusse.
- * Die T_{90} wissel van 1 dag tot >7 dae in seewater. Die teenwoordigheid van mikroorganismes en temperatuur verskille is van die belangrikste faktore wat verantwoordelik is vir die "antivirus aktiwiteite" in seewater.

(iv) Algemeen

- * Die aanvanklike verdunning speel die belangrikste rol ten opsigte van die vernietiging van mikroorganismes teenwoordig in riooluitvloeiing wat in die mariene omgewing gestort word. Hierna word die afsterwe aangehelp deur die sinergistiese

kiemdodende werking van sonlig, hoë soutgehaltes, roofvyande en voedseltekort, hoewel dit in baie gevalle redelik lank neem voordat daar volkome afsterwe is.

- * Fekale streptokokke, *Candida albicans* en kolifage oorleef waarskynlik onder die meeste omstandighede langer as baie patogene. Wanneer dit verdwyn, is dit baie onwaarskynlik dat enige mikrobiologiese aktiwiteit nog sal bestaan.
- * Fekale streptokokke, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans* en kolifaag blyk die geskikste te wees om fekale besoedeling in die mariene omgewing te moniteer. Dit verteenwoordig indikator organismes, giste, patogene en virusse.
- * In die mariene omgewing mag 'n klein persentasie van bakterieë tot so'n mate beskadig wees dat hulle nie op gewone selektiewe voedingsbodems kan groei nie, terwyl hulle tog nog lewensvatbaar is en onder ideale omstandighede kan herstel en vermeerder.
- * Die verskille in T_{90} waardes van indikator en patogene mikroorganismes, enteriese virusse en bakteriofage wat deur verskillende navorsers gevind is, is duidelik die gevolg van die verskil in omstandighede waarby die eksperimente uitgevoer is.

Dit blyk gevolglik dat die sukses van elke uitlaat berus op 'n volledige plaaslike agtergrondstudie van al die betrokke faktore.

Hoofstuk 3

LABORATORIUMSTUDIE

3.1 Inleiding

3.2 Metodes

3.3 Modus operandi

3.3.1 Eksperiment Een

3.3.2 Eksperiment Twee

3.3.3 Eksperiment Drie

3.3.4 Eksperiment Vier

3.3.5 Eksperiment Vyf

3.3.6 Eksperiment Ses

3.3.7 Eksperiment Sewe

Hoofstuk 3

LABORATORIUMSTUDIE

3.1 Inleiding

Die afsterwe in seewater van mikroörganismes afkomstig uit riool is ondersoek. Die ondersoek is in die laboratorium, by 'n afluende seeuitlaat en by 'n brandersone-uitlaat uitgevoer.

In die laboratorium is rourioolwater met seewater by bekende verdunnings vermeng. By die afluende seeuitlaat is Rhodamien B by die riool gevoeg om sodoende die rioolpluim in die see te volg. By die brandersone-uitlaat is Rhodamien B by die fabrieksuitvloeiing gevoeg om die verspreiding in die brandersone rondom die uitlaat te monitor. Monsters is van seewater, rourioolwater, seewater/rioolmengsels, fabrieksuitvloeiing en seewater/uitvloeiingsmengsels geneem waarna mikrobiologiese ontledings uitgevoer is.

Twee groepe bakterieë naamlik fekale kolivorme en fekale streptokokke asook 'n groep verskillende bakteriofage (kolifage) wat almal *Escherichia coli* as gasheer gebruik, is gekies om as aanwysers vir die afsterwe tempo's van mikroörganismes in seewater te dien.

Fekale kolivorme word as indikator organisme by drinkwater standarde asook by die voorgestelde Watergehalte Kriteria vir die Suid-Afrikaanse Kuswaters gebruik. Dit gee 'n aanduiding van moontlike fekale besoedeling. Hoewel sekere bakterieë in hierdie groep afkomstig is uit

spysverteringskanaal van mense en ander warmbloedige organismes en dus met riool geassosieer kan word, is daar egter ander bakterieë in die groep wat afkomstig is van plante en die omgewing. Fekale kolivorme bestaan meestal uit *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Citrobacter* en *Enterobacter*. Eersgenoemde twee is die dominante groepe bakterieë en afhangende van die oorsprong, kom hulle gewoonlik afsonderlik as die dominant groep voor. Hulle is Gram-negatiewe bakterieë, party is motiel terwyl ander nie-motiel is, nie-spoorvormend, aerobies en fakultatief anaerobies. Die meeste groei beter in 'n effens verhoogde CO₂-omgewing tussen 10 °C en 45 °C (Cruickshank, 1965).

Fekale streptokokke word as indikator organisme by drinkwater standarde vir lewende hawe gebruik. Dit word ook tans deur US EPA (Cabelli, 1989) aanbeveel as indikator in die mariene omgewing om ten opsigte van gesondheids aspekte veilige swemstrande te monitor. Dit word verteenwoordig deur *Streptococcus faecalis* en *Streptococcus faecium* en is 'n belangrike flora van mense en diere se ingewandsbakterieë. Gram-positiewe bakterieë, nie-motiel, nie-spoorvormend, aerobies en fakultatief anaerobies. Groei gewoonlik beter by 'n effens verhoogde CO₂-omgewing tussen 10 °C en 45 °C. Dit groei in die teenwoordigheid van 6,5% natriumchloried en fermenteer laktose (Cruickshank, 1965).

Bakteriofage (kolifage) se aanwesigheid en/of afwesigheid hou verband met die status van die gasheer wat in hierdie geval *Escherichia coli* is. Dit kom in die algemeen in baie groter getalle as enteriese virusse voor. Die oorlewing daarvan in water dieselfde as enige virus en langer as die meeste bakterieë.

3.2 Metodes

Tellings van fekale kolivorm bakterieë is volgens "Standard Methods" (American Public Health Assosiation, 1985) se membraanfiltrasie metode uitgevoer. Watermonsters is met normale soutoplossing (0,85%) verdun om sodoende die beste verspreiding van kolonies op die kweekbodems te verkry. Enkel-verpakte, steriele, membrane (Schleicher & Schuell), 47 mm deursnee en 0,45 mikrometer porie grootte is in 'n veelvoudige tregter-membraanfiltrasie-eenheid (Schleicher & Schuell) gebruik. m-FC Agar (Difco Laboratories) is in 65 x 15 mm plastiek petribakkies as groeimedium gebruik. Monsters met 'n voorafbepaalde volume is deur hierdie membrane gefiltreer en die membrane is daarna op die kweekbodems geplaas. Kweekbodems is vir 18 tot 24 uur by 44,5 °C geïnkubeer. Alle blou kolonies op die m-FC Agar is as fekale kolivorm bakterieë getel.

Tellings van fekale streptokokke is volgens "Standard Methods" (American Public Health Assosiation, 1985) se membraanfiltrasie metode uitgevoer. Watermonsters is met normale soutoplossing (0,85%) verdun om sodoende die beste verspreiding van kolonies op die kweekbodems te verkry. Enkel-verpakte, steriele, membrane (Schleicher & Schuell), 47 mm deursnee en 0,45 mikrometer porie grootte is in 'n veelvoudige tregter-membraanfiltrasie-eenheid (Schleicher & Schuell) gebruik. m-Enterococcus Agar (Difco Laboratories) is in 65 x 15 mm plastiek petribakkies as groeimedium gebruik. Monsters met 'n voorafbepaalde volume is deur hierdie membrane gefiltreer en die membrane is daarna op die kweekbodems geplaas. Kweekbodems is vir 44 tot 48 uur by 44,5 °C geïnkubeer. Alle pienk tot donker rooi kolonies op m-Enterococcus Agar is as fekale streptokokke getel.

Kolifaag is volgens die dubbelagarlaag metode van Grabow, Bateman en Burger (1978) bepaal. *Escherichia coli* C/WG 4 is as gasheer gebruik en kweekbodems is vir 18 tot 24 uur by 37 °C geïnkubeer.

By die afluende seeuitlaat is 20 liter Rhodamien B, wat met water verdun (1:5) is, gedurende 'n pompperiode in die diepseepyp vrygestel. Die pompstasie het 'n pompsiklus van 5 min. gevolg deur 'n rusperiode van 15 min. Monsters is van die Rhodamien B/rioolwater mengsel met behulp van 'n tuinslang, wat deur duikers aan die eerste poort van die spruitstuk geheg is, uit die pyplyn geneem. Verdere monsters is aan die oppervlak, op 5, 10, 15 & 20 meter dieptes met 'n diepte monsternemer in die Rhodamien B/rioolwaterpluim geneem. Monsters is in 100 mL glasbottels geplaas, genommer en in die afwesigheid van lig gestoor. In die laboratorium is die Rhodamien B konsentrasies fotometries met 'n Turner Fluorometer gemeet. Die gemete konsentrasie van die Rhodamien B in die pyplyn is as basis (100% konsentrasie) gebruik waarvolgens die verdunnings van al die monsters bereken is.

By die brandersone seeuitlaat is 1 liter Rhodamien B in 'n mangat, wat ongeveer drie kilometers van die bek van die pyplyn is, vrygestel in die uitvloeisel. Monsters is geneem toe die Rhodamien B gekleurde uitvloeisel die bek bereik het. Hierna is monsters in die brandersone geneem sodra die spoorderpluim die 50 meter, 100 meter en 500 meter merk bereik het.

3.3 Modus Operandi

'n Totaal van sewe eksperimente is uitgevoer om die afsterwe tempo's van

genoemde mikroörganismes te bepaal. Vier hiervan is in die laboratorium uitgevoer en drie by bestaande see-uitlate (twee by 'n afluandige uitlaat en een by 'n brandersone-uitlaat).

Die verskille in die genoemde eksperimente is soos volg:

In die laboratorium;

1. Verdunning van 1:300 tot 1:800 van rourioolwater in natuurlike seewater (35‰ soutgehalte) in die afwesigheid van sonlig.
2. Verdunning van 1:3000 tot 1:9000 van rourioolwater in natuurlike seewater (35‰ soutgehalte) in die aan- en afwesigheid van sonlig.
3. Verdunning 1:3000 tot 1:8000 van rourioolwater in natuurlike seewater (35‰ soutgehalte) in direkte sonlig met tyd.
4. Verdunning 1:3000 van rourioolwater in natuurlike seewater (35‰ soutgehalte) in die aan- en afwesigheid van sonlig met tyd.

By 'n afluandige seeuitlaat;

5. Vergelyking van gemete fisiese verdunning met werklike bakteriële tellings by verskillende dieptes by 'n afluandige seeuitlaat.
6. Vergelyking van gemete fisiese verdunning met werklike bakteriële telling by verskillende dieptes by 'n afluandige seeuitlaat.

By 'n brandersone-uitlaat;

7. Verspreiding van konstante fabriekuitvloeisel (30 L/s) in natuurlike seewater (35‰ soutgehalte) in direkte sonlig met tyd.

3.3.1 Eksperiment Een: Vergelyking van verdunnings in die afwesigheid van sonlig.

Twee houers A en B met 'n inhoudsmaat van 90 liter elk is gebruik om die vergelyking te doen. Die houers het in die laboratorium in die afwesigheid van sonlig gestaan. In beide houers is 30 liter natuurlike seewater (35‰ soutgehalte) gegooi. By elke houer is 100 ml rourioolwater gepipetteer om die aksie van "spuit" verdunning by 'n afluende seeuitlaat na te boots. Dit gee 'n verdunning van 1:300 wat ooreenstem met die verdunning tot aan die see-oppervlak bokant die spruitstuk van 'n uitlaat wat in 30 meter water lê. Tien liter seewater is vervolgens elke ses minute by houer A gevoeg om sodoende die volgende verdunnings in A te kry 1:300, 1:400, 1:500, 1:600, 1:700 en 1:800. Houer B het slegs die eerste 10 L seewater ontvang om die 1:300 verdunning te verkry. Die houers het vir 'n 18 uur tydperk in die laboratorium bly staan. Die temperatuur van die water in beide houers was 23 °C gedurende die toets.

Monsters is soos volg geneem en ontleed:

- * rourioolwater
- * seewater voor en onmiddellik na rourioolwater by gevoeg is.
- * uit houer A onmiddellik na elke verdunning.

- * uit houer B met dieselfde tydverloop as uit A na elke verdunning.
- * uit beide houers na 18 uur.

Die resultate word in Tabel 1 weergegee. Soos uit die resultate gesien kan word was hierdie eksperiment 'n mislukking. Alle kweekbodems was so oorgroei dat geen tellings gedoen kon word nie. Selfs die kweekbodems van die monsters wat na 18 uur geneem en ontleed is, was ook oorgroei.

3.3.2 Eksperiment Twee: Vergelyking van verdunnings in die aan- en afwesigheid van sonlig

Twee houers A & B met 'n inhoudsmaat van 90 liter elk is gebruik om die toets uit te voer. Houer B het buite die laboratorium in direkte sonlig gestaan terwyl houer A in die laboratorium in die afwesigheid van sonlig gestaan het. In beide houers is 30 L natuurlike seewater (35‰ soutgehalte) gegooi. Hierby is 10 ml rioolwater gepipetteer om 'n begin verdunning van 1:3000 te kry. Dit stem ooreen met die verdunning aan die see-oppervlak 100 meter vanaf 'n punt direk bokant die spruitstuk van 'n uitlaat wat in 30 meter water lê. Hierna is 10 liter seewater ongeveer elke ses minute by elke houer gevoeg om sodoende die volgende verdunnings in elke houer te gee; 1:3000, 1:4000, 1:5000, 1:6000, 1:7000, 1:8000 en 1:9000. Hierna het die houers vir 18 uur in hul onderskeie posisies bly staan:

Monsters is soos volg uit beide houers geneem en ontleed:

- * rioolwater
- * seewater voor en na die byvoeging van rioolwater

- * onmiddellik na elke verdunning met 10 L seewater
- * na 18 uur staantyd

Die temperatuur van die water in houer B was aanvanklik 26 °C en 15 °C die volgende oggend na die 18 uur staanperiode. Die temperatuur van die water in houer A was 23 °C gewees.

Die resultate word in Tabel 2 aangetoon en in Figure 1, 2 en 3 grafies voorgestel. Uit die resultate is die volgende waargeneem.

Afwesigheid van sonlig:

- (i) Die skok van die aanvanklike verdunning is uitermate groot met die gevolg dat die werklike bakterie telling baie laer is as die fisiese verdunning. By 'n fisiese verdunning van 3000 toon die telling byvoorbeeld 'n verdunning van $1,19 \times 10^7$. Slegs 0,025% van fekale kolivorme en 0,026% van fekale streptokokke het hierdie verdunningskok oorleef.
- (ii) Die verdunningskok se uitwerking op die bakteriofaag is nie so groot nie. Die werklike telling (207) gee 'n berekende verdunning van 3300 wat baie goed vergelyk met die fisiese verdunning van 3000.
- (iii) Geen noemenswaardige afsterwe kon by al die organismes bespeur word tydens die opeenvolgende verdunnings nie. Die vermindering van die bakterieë is dus slegs die gevolg van die verdunning.

- (iv) Die persentasie organismes wat die periode na die verdunningskok tot aan die einde van die 18 uur staan tyd oorleef, is:

fekale kolivorme	15%
fekale streptokokke	7%
bakteriofaag	34%

Aanwesigheid van sonlig:

- (i) Soos in die geval van houer A het die aanvanklike verdunning 'n groot invloed op die bakterieë gehad, maar dit blyk dat in die sonlig daar wel 'n uitwerking op die bakteriofaag is. Die berekende verdunning op grond van die faagtelling is 4760 teenoor die 3000 van die fisiese verdunning.
- (ii) Die teenwoordigheid van sonlig by hierdie houer is 'n bykomende faktor wat afsterwe veroorsaak, bo en behalwe die vermindering as gevolg van die verdunning.
- (iii) Fekale kolivorme het gedurende die 18 uur staanperiode heeltemal afgesterf.
- (iv) Fekale streptokokke het nie gedurende die 18 uur volkome afgesterf nie. 3,1% van die aantal na die verdunningskok het die eksperiment oorleef. Die T_{90} van hierdie getal is dus gedurende die staanperiode bereik.
- (v) Die T_{90} van kolifaag is ook gedurende hierdie tydperk bereik met 'n 5,5% oorlewing van die aantal na die verdunningskok na die staanperiode.

Die slotsom is dus dat sonlig by hierdie eksperiment 'n bykomende uitwerking gehad het. Die resultate dui daarop dat fekale kolivorme meer gevoelig vir sonlig is en vinniger afsterf as die fekale streptokokke en kolifaag wat 'n soortgelyke afsterwe tempo handhaaf.

3.3.3 Eksperiment Drie: Vergelyking van verdunning in die aanwesigheid van sonlig met tydsverloop.

Een houer met 'n inhoudsmaat van 90 L is in direkte sonlig gebruik om die toets uit te voer. Hierin is 30 L natuurlike seewater (35‰ soutgehalte) gegooi. Hierby is 10 ml rourioolwater gepipetteer om die begin verdunning van 1:3000 te verkry wat ooreenstem met die werklike toestand soos by eksperiment 2 bespreek is. Hierna is verdunning met 10 L seewater ongeveer elke ses minute verhoog om sodoende die volgende verdunnings te verkry, 1:4000, 1:5000, 1:6000, 1:7000 en 1:8000. Geen verdere verdunning is gemaak nie en die gehalte van die seewater is vir 'n periode van 16 uur gemoniteer. Die toets het om 11h40 begin met 5/8 bewolktheid wat stadig verminder het sodat dit om 14h34 slegs 1/8 bewolk was. Die son het om 17h04 verdwyn en om 03h34 het dit liggies begin reën. Die temperatuur van die water in die houer het van 22 °C tot 25 °C gestyg waarna dit tot 18 °C gedaal het.

Die monsters is soos volg geneem:

- * rourioolwater
- * seewater voor en na byvoeging van rouriool
- * onmiddellik na elke verdunning
- * daarna elke halfuur tydens die 16 uur staanperiode (die water is eers goed geroer voor elke monsterneming)

Die resultate word in Tabel 3 en in Figuur 4 en 5 aangetoon. Uit die resultate is die volgende waargeneem:

- (i) Geen kolifaag is gevind nie. Die verspreiding van die gasheer *Escherichia coli* was baie swak en die vermoede is dat dit onvoldoende gegroei het om enige faag te onderhou.
- (ii) Soos in eksperiment twee het die aanvanklike verdunning 'n baie groot uitwerking op die bakterieë en die werklike telling is baie laer as wat volgens die fisiese verdunning verwag word.
- (iii) Die sonlig het 'n verhoogde afsterwe tempo tot gevolg.
- (iv) Fekale kolivorme se T_{90} van die begin getal na die verdunningskok is 39 minute teenoor fekale streptokokke se 159 minute.
- (v) Volkome afsterwe is by fekale kolivorme gevind na 99 minute en by fekale streptokokke na 189 minute.

Hierdie eksperiment, soos eksperiment twee bewys dat fekale kolivorme vinniger in direkte sonlig afsterwe as fekale streptokokke. Die toets is uitgevoer rondom die middaguur en die styging in temperatuur gee 'n aanduiding dat die sonstraling intensiteit hoër is as tydens die tweede eksperiment en dus voldoende was sodat algehele afsterwe van fekale streptokokke ook kon plaasvind.

3.3.4 Eksperiment Vier: Verdunning met tydsverloop in die aan- en afwesigheid van sonlig.

Twee houers met 'n inhoudsmaat van 90 L elk is gebruik. Die een houer A, het in die laboratorium in die afwesigheid van sonlig gestaan, terwyl die ander B, buite in direkte sonlig gestaan het. Dertig liter seewater is in elke houer gevoeg waarby 10 ml rourioolwater gepipetteer is om 'n 1:3000 verdunning te gee. Hierna is die houers vir 18 uur gemoniteer. Die temperatuur van die water het in houer A van 14,5 °C gestyg tot 17 °C om 18h55. Dit het 17 °C gebly tot 01h35 en effens gedaal tot 16,4 °C om 18h35. In houer B het dit gestyg van 14,5 °C om 11h30 tot 20,6 °C om 16h30. Hierna het die temperatuur gedaal tot 14,5 °C om 22h00. 'n Verdere daling tot 11,5 °C om 06h00 het geleidelik plaasgevind. Die temperatuur is heelwat laer as tydens die vorige toetse aangesien hierdie toets gedurende die winter uitgevoer is teenoor die eerste twee wat gedurende vroeg herfs uitgevoer is.

Monsters is soos volg uit beide houers geneem en ontleed.

- * rourioolwater
- * seewater voor en na die byvoeging van rioolwater
- * elke halfuur vir 18 uur (water is goed geroer voor elke monsterneming)

Die resultate word in Tabel 4 aangetoon en in Figure 6 en 7 grafies voorgestel. Daar is nie in hierdie eksperiment vir kolifaag ontleed nie aangesien daar eers na die geskikste eksperimentele verdunningsprosedure gesoek is.

Uit die resultate word die volgende waargeneem:

Afwesigheid van sonlig

- (i) Die aanvanklike verdunning het 'n groot uitwerking en die organismes kon nie hierdie skok oorleef nie. Hierdie eksperiment en die vorige twee het bewys dat die werklike telling baie laer is as die fisiese verdunning. Die onmiddellik vermindering is meer as 90%.
- (ii) 14,7% van die oorblywende fekale kolivorme na die verdunningskok het na 18 uur nog oorleef. Hier teenoor het 69,6% fekale streptokokke die 18 uur plus die verdunningskok oorleef.
- (iii) Met die laer temperature en die afwesigheid van sonlig moet die verdunning heelwat meer as 3000 wees om te verseker dat die bakterieë genoegsaam verminder word om aan die "watergehalte kriteria" te voldoen.

Aanwesigheid van sonlig

- (i) Die aanvanklike verdunning het dieselfde invloed as in houer A.
- (ii) Die sonlig het 'n bykomende uitwerking wat veroorsaak dat afsterwe plaasvind. Die tydsduur en intensiteit van die sonstraling moet egter genoegsaam wees anders is daar nie volkome afsterwe nie.

- (iii) Fekale kolivorme se T_{90} (na die verdunningskok) is 2 uur teenoor die 14,5 uur van fekale streptokokke. Die laer temperature (20,6 °C maksimum teenoor 25 °C maksimum by derde eksperiment) plus ander seisoenale verskille kan moontlik vir die verhoogde T_{90} verantwoordelik wees.
- (iv) Volkome afsterwe van fekale kolivorme het gedurende die 18 uur van die toets plaasgevind. 6% van die fekale streptokokke wat die verdunningskok oorleef het, het ook die res van die toets oorleef.

3.3.5 Eksperiment Vyf: Spoorderstudie met Rhodamien B by 'n afluiddige seeuitlaat.

Die voorkoms van fekale kolivorme rondom 'n afluiddige seeuitlaat is ondersoek. Die studie is uitgevoer deur 'n bekende hoeveelheid Rhodamien B oor 'n gegewe tydperk in die opgaartenk van 'n seeuitlaat vry te stel. Die spoorder word dan met behulp van die normale pompsiklusse deur die sisteem gevoer.

Monsters is aan die seeoppervlak geneem onmiddellik waar die spoorder verskyn het. Verdere monsters is dan by hierdie punt op dieptes van 5, 10, 15 & 20 meter so vinnig as moontlik geneem voordat daar na die volgende monsterpunt verskuif is. Die konsentrasie van die spoorder is vervolgens gemeet waarna die verdunning bepaal is deur dit te vergelyk met die konsentrasie van die Rhodamien B in die pyplyn self.

Die resultate word in Tabel 5 aangetoon en in Grafieke 8 tot 12 grafies voorgestel. Uit die resultate is die volgende waargeneem:

- (i) Die werklike telling van fekale kolivorme is by alle dieptes altyd laer as wat volgens die Rhodamien B konsentrasie verwag is. By twee monsters by die 20 meter diepte is die gemete "verdunning" egter hoër as die werklike telling.
- (ii) By die oppervlak en by die 5 meter diepte (een maal by die 15 meter diepte) is daar heelwat ontledings wat geen fekale kolivorme toon terwyl daar nog Rhodamien B gevind is.

3.3.6 Eksperiment Ses: Spoorderstudie met Rhodamien B by 'n afluende seeuitlaat.

Hierdie is 'n herhaling van die vorige eksperiment om vas te stel of die resultate mekaar ondersteun.

Die resultate word in Tabel 6 en in Grafieke 13 tot 17 aangetoon. Die volgende is waargeneem:

- (i) Soos in eksperiment vyf is die werklike tellings laer as verwag volgens die verdunning. Daar is egter by alle monster punte verdunnings wat groter is as die werklike telling. Dit moet egter in ag geneem word dat hoewel beide Rhodamien B en fekale kolivorme as spoorders vir die riool dien, die Rhodamien B slegs deur 'n enkele vrygestelde volume verteenwoordig word. Fekale

kolivorme daarteen kom normaalweg in rioolwater voor en was dus reeds vooraf in die see. Nuwe fekale kolivorme word dus voortdurend saam met die rioolwater in die see gestort. Dit veroorsaak gevolglik dat fekale kolivorme gevind word waar geen Rhodamien gemeet kon word nie.

- (ii) Hoër tellings as tydens die vorige toets is gevind. Dit is heel moontlik die gevolg van die korter tydperk waaroor die toets uitgevoer is. Die uitwerking van sonlig is nie gesien nie aangesien die eksperiment gestaak moes word omdat die pluim in 'n rotsagtige gebied inbeweeg het.

3.3.7 Eksperiment Sewe: Afsterwe rondom 'n brandersone-uitlaat.

Die voorkoms van fekale kolivorme, fekale streptokokke en kolifaag rondom 'n brandersone-uitlaat is ondersoek. Rhodamien B is by 'n mangat op die pyplyn in die uitvloeisel vrygestel. Hierdie mangat is ongeveer drie kilometers van die bek van die uitlaat sodat vermenging goed kon plaasvind.

Monsters is geneem toe die Rhodamien B gekleurde uitvloeisel die bek bereik het. Hierna is monsters geneem sodra die spoorderpluim die 50 meter, 100 meter en 500 meter merk bereik het. Die foto by die opsomming van hierdie verslag is by die 100 meter merk geneem. Die seewater by die 500 meter merk is slegs een maal ontleed om sodoende die fisiese verdunning met die werklike telling te vergelyk. Negentig liter seewater is by elk van die punte op 50 en 100 meter afstand geneem en in twee

houers geplaas. Houer A het die 90 liter seewater van die 50 meter merk bevat, terwyl B die seewater van die 100 meter merk ontvang het. Die bakke is buite in die sonlig geplaas. Monsters is vir 6 uur lank elke halfuur geneem en ontleed en daarna elke uur vir 'n verdere 12 uur. Die water in elke houer is behoorlik vermeng voor elke monsterneming. Die temperatuur van die water in beide houers het gestyg van 25,5 °C tot 28 °C en daarna gedaal tot 19,5 °C. Hierdie temperature is heelwat hoër as die vorige eksperimente aangesien die toets gedurende die somer uitgevoer is.

Die resultate word in Tabel 7 en in Grafieke 18, 19 & 20 voorgestel. Uit die resultate is die volgende waargeneem:

- (i) Soos reeds deur die laboratoriumtoetse vasgestel, is die verdunningskok verantwoordelik vir 'n groot afname in die getalle van die bakterieë. Die invloed op die virusse is egter nie so drasties nie. Die oorlewing van die verskillende organismes na die verdunningskok is:

fekale kolivorme	1,25%
fekale streptokokke	1,27%
kolifaag	30,80%

- (ii) Geen verskil in die getalle van fekale kolivorme is by die 50 en 100 meter merk gevind nie. Fekale kolivorme se getalle het dieselfde vir die volle duur van die eksperiment gebly. Die kweekbodems van fekale kolivorme kon egter slegs gedurende die eerste uur en 'n half getel word. Die verkeerde verdunning is

verkeerde verdunning is daarna gebruik en die kweekbodems is gevolglik oorgroei. Daar word altyd gepoog om 'n wye reeks verdunnings te gebruik sodat die verspreiding van kolonies tussen 30 en 300 op 'n kweekbodem is. Daar was dus meer as 300 kolonies by die laagste verdunning. Dit impliseer gevolglik dat die konsentrasie van fekale kolivorme meer as 30000 per 100 ml is. Hierdie probleem is gedurende die volle duur van die eksperiment ondervind. Dit is egter onbekend of die gedrag ook soos die van fekale streptokokke is.

- (iii) Fekale streptokokke het in houer A (50 meter merk) geleidelik afgesterf en die T_{90} was drie en 'n halfuur. Geen verdere afsterwe het egter gedurende die res van die eksperiment plaasgevind nie. Hoewel dieselfde gedrag ook by die 100 meter merk gevind is, is die afsterwe stadiger en die T_{90} is nie bereik nie. Na drie en 'n half uur het 11,25% van die organismes wat na die verdunningskok oorgebly het nog oorleef. Geen verdere afsterwe het gedurende die res van die tyd plaasgevind nie. Die tellings is hoër by die 100 meter merk as by die 50 meter merk. Dit dui aan dat die verspreiding van organismes rondom 'n brandersone-uitlaat nie eweredig is nie. Die voortdurende uitvloeï kon byvoorbeeld vooraf reeds die gebied by die 100 meter merk besoedel het
- (iv) In die geval van die virusse het die tellings na die verdunningskok by die 50 en 100 meter merk dieselfde gebly. Geen afsterwe het plaasgevind nie.

- (v) By die 500 meter merk is die volgende persentasies ten opsigte van die begin getal gevind:

fekale kolivorme	0,87
fekale streptokokke	0,12
kolifaag	30,00

Die getalle van die fekale kolivorme is egter bereken aangesien die kweekbodem oorgroei is.

Die oorlewing van die organismes by hierdie eksperiment verskil van die vorige eksperimente. Die enigste werklike verskil is die chemiese samestelling van die uitvloeisel. Dit wil voorkom of die uitvloeisel meer voedingstowwe as rioolwater vir die voortbestaan van die organismes het. Dit stel hulle dus in staat om in die mariene omgewing te oorleef.

Volgens die literatuur is gevind dat vermeerdering van bakterieë plaas vind wanneer die water met voedingstowwe verryk word. So byvoorbeeld is *Escherichia coli* by 25 °C in kunsmatige seewater wat met 0, 5, 10, 20 en 30 mg/L tripticase verryk is, gekweek. Die resultate was soos volg:

- (i) Oorlewing van slegs 1,4% is in die onverrykte water na 24 uur.
- (ii) By 5 mg/L verryking (2,5 mg/L organiese koolstof) was die vermeerdering 174% na 24 uur.

Hoofstuk 4

BESPREKING

4.1 Samevatting

4.2 Bereiking van Doelstellings

Hoofstuk 4

BESPREKING

4.1 Samevatting

Bostaande eksperimente toon dat die afsterwe van mikroörganismes in seewater nie noodwendig die gevolg van 'n enkele faktor is nie. Die resultate van die laboratoriumstudie word deur verskeie ondersoeke, wat in die literatuurstudie beskryf is, ondersteun. Die T_{90} waardes van verskillende mikroörganismes verskil met verskillende eksperimente.

4.2 Bereiking van Doelstellings

Met verwysing na die doel van die ondersoek is die volgende afleidings gemaak:

Die bepaling van meer akkurate tempo's van afsterwe:-

- * Wanneer die organismes vir die eerste keer in kontak met die mariene omgewing kom, veroorsaak dit 'n "skok" wat nie baie suksesvol oorleef word nie. Meer as 90% van die bakterieë word onmiddellik vernietig, hoewel kolifage, en dus waarskynlik ook ander virusse dit baie beter kan verduur. Hierdie verdunningskok is nie gekoppel aan die soutgehalte van die seewater nie, aangesien verskeie navorsers, soos in die literatuurstudie gevind, bewys het dat die oorlewing in kunsmatige, gefiltreerde en geoutoklaveerde seewater

beter is as in natuurlike seewater. Die verdunningskok word heel moontlik deur die sinergistiese werking van baie faktore, soos wat in die literatuurstudie gevind is, bewerkstellig.

- * Die uitwerking van sonlig na die verdunningskok is 'n belangrike faktor soos deur die resultate van alle eksperimente getoon is. Die tyd en intensiteit van sonstraling moet egter voldoende wees om te verseker dat volledige afsterwe plaasvind.
- * Soos in die literatuurstudie gevind is die T_{90} van fekale kolivorme in direkte sonlig <2 uur terwyl fekale streptokokke se T_{90} twee keer die van kolivorme kan wees. Die T_{90} verskille by twee eksperimente in die laboratorium stem hiermee ooreen. In die een geval is die T_{90} 0,5 uur teenoor 2,5 uur (fekale kolivorme / fekale streptokokke) en in die ander geval 2 uur teenoor 14,5 uur. Die wisseling in T_{90} waardes van indikator en patogene mikroorganismes, enteriese virusse en bakteriofaag wat deur verskillende navorsers asook gedurende die laboratoriumstudie gevind is, is duidelik die gevolg van die verskil in omstandighede waarby die eksperimente uitgevoer word.

Hierdie resultate gee 'n aanduiding dat daar by die ontwerp van 'n seeuitlaat met 'n redelike mate van sekerheid (99%) aangeneem kan word dat die inaktivering van sekere bakterieë soos fekale kolivorme en fekale streptokokke twee tot drie orde meer is as die waarde van die voorspelde verdunning. Hierby kan 'n T_{90} waarde van <2 uur met veiligheid gebruik word.

Vergelyking van voorspelde waardes met werklike tellings:-

- * Dit is baie duidelik in alle eksperimente gevind dat daar geen verband tussen die voorspelde en werklike tellings van die bakterieë is nie. Die werklike telling is in die meeste gevalle 3 tot 4 orde kleiner as die begin getal. Die onmiddellike verdunning veroorsaak 'n geweldige "skok" aan die bakterieë. Hierdie verdunningskok is ook verantwoordelik vir die drastiese afname in bakterieë. Die afsterwe daarna word beïnvloed deur die verskillende faktore wat optree. Die verdunningskok het egter nie so 'n groot invloed op die virusse nie en die fisiese voorspelde waardes en werklike telling vergelyk redelik goed. Dit is dus duidelik dat deur net gebruik te maak van voorspelde waardes uit verdunningsmodelle daar baie konserwatief opgetree word.

Vergelyking van afsterwe tussen fekale kolivorme en streptokokke:-

- * Verskeie navorsers het bevind dat fekale kolivorme vinniger afsterf as fekale streptokokke. Die resultate van die eksperimente het ook gewys dat wanneer daar afsterwe is, kolivorme die eerste verdwyn. In alle eksperimente waar sonlig teenwoordig is, is volkome afsterwe van fekale kolivorme bereik, maar nie altyd vir fekale streptokokke nie. Hoewel fekale kolivorme in heelwat hoër getalle as fekale streptokokke in rioolwater voorkom om sodoende 'n goeie indikator vir besoedeling te wees, is die afsterwe te vinnig en gevolglik maak dit fekale streptokokke 'n beter indikator.

Hoofstuk 5

GEVOLGTREKKINGS

5.1 Verdunning

5.2 Sonlig

5.3 Uitvloeisel

Hoofstuk 5

GEVOLGTREKKINGS**5.1 Verdunning**

- * Die aanvanklike verdunning is die belangrikste faktor om die vermindering van die totale aantal bakterieë in die mariene omgewing teweeg te bring.
- * Die verdunning kan heelwat kleiner as die voorspelde fisiese verdunning wees om te verseker dat getalle van bakterieë binne die voorgestelde grense val.
- * Die verdunningskok speel nie 'n belangrike rol by die vermindering in virus getalle nie. Die aanvanklike verdunning moet gevolglik aangepas word om vir die virus getalle in die uitvloeisel voorsiening te maak.

5.2 Sonlig

- * Sonlig is 'n belangrike faktor om te verseker dat afsterwe plaasvind na die verdunningskok en daar geen verdere verdunning plaasvind nie. Die tydsduur en intensiteit van sonstraling is egter baie belangrik en seisoenale verskille moet in ag geneem word.

- * Laer temperatuur veroorsaak vertraagde afsterwe, maar dit is dalk as gevolg van verswakte sonstraling en kan dus direk aan die sonlig faktor gekoppel word.

5.3 Uitvloeisels

- * Die T_{90} van een mikroorganisme verskil in dieselfde soort uitvloei sel van verskillende oorsprong.
- * Die samestelling van die uitvloei sel is baie belangrik aangesien daar gevalle kan voorkom waar die voedselinhoud genoegsaam is om lewe van die organismes te onderhou. By uitlate in die brandersone wat konstant vlei kan dit veroorsaak dat 'n baie groot gebied om die uitlaat groot getalle mikroorganismes bevat.

Hoofstuk 6

AANBEVELINGS

6.1 Indicators

6.2 Permitte

Hoofstuk 6

AANBEVELINGS

6.1 Indikators

- * Fekale streptokokke en bakteriofaag moet by fekale kolivorme gevoeg word om as aanwysers van besoedeling te dien.
- * *Candida albicans* se moontlikhede as aanwyser moet by Suid-Afrikaanse toestande ondersoek word en moontlik moet dit uiteindelik by bogenoemde twee gevoeg word.

6.2 Permitte

- * Die samestelling van enige uitvloeisel wat in die see gestort gaan word, moet chemies sowel as mikrobiologies ontleed word, voordat permitvoorwaardes omskryf word. Die samestelling van die uitvloeisel kan van die verwagte verskil aangesien die moontlikheid bestaan dat insypeling van rioolwater of stormwater plaasvind.
- * Die konsentrasies van die aanwysers in die uitvloeiels moet gebruik word om die aanvanklike verdunning wat benodig word, te bepaal.
- * Uitlate met 'n konstante vloei in die brandersone moet strenger beheer word ten opsigte van permitvereistes. Impak en verdunningsstudies moet by bestaande uitlate uitgevoer word om vas te stel of dit nie dalk uit 'n gesondheidsoogpunt 'n ontoelaatbare praktyk is nie.

Hoofstuk 7

BRONNELYS

7.1 Verwysings

Hoofstuk 7

BRONNELYS**7.1 Verwysings**

AUGOUSTINOS, M.T., KFIR, R. en ENGELBRECHT, J.F.P., 1988. Load of health related micro-organisms in effluents discharged into False Bay. SANCOR, CSIR Progress report 1987/88.

BAROSS, J.A., HANUS, F.J. en MORITA, R Y., 1975. Survival of human enteric and other sewage micro-organisms under simulated deep-sea conditions. Applied Microbiology, 30(2), 309-318.

BELLAIR, J.T., PARR-SMITH, G.A. en WALLIS, I.G., 1977. Significance of diurnal variations in fecal coliform die-off rates in the design of ocean outfalls. Journal Water Pollution Control Federation, 49(9), 2022-2030.

BORREGO, J.J. en ROMERO, P., 1985. Coliphage survival in seawater. Water Research, 19(5), 557-562.

BURGER, P.J., 1989. Persoonlike kommunikasie. Tygerberg Hospitaal, Parowallei, Julie.

CABELLI, V., 1989 Personal communication, Bellville, January.

- CALDWELL - CONNELL ENGINEERS, 1979. **Geelong Ocean Outfall Study.**
Chapter 11, Chemical, Sand and Microbiological Conditions, South
Melbourne 3205, Australia.
- CRUICKSHANK, R., 1965. **Medical Microbiology.** Eleventh Edition, E &
S. Livingstone Limited, Edinburgh and London.
- CHAN, K. en LI, S.Y., 1977. Some factors affecting the survival of
Aerobacter aerogenes in sea water. **Geobios.**, 4(1), 3-7.
- COETZEE, O.J., 1961. The bacteriological problems of the discharge of
waste water into the Sea: a literature survey. **19th Annual Health
Congress Institute of Public Health**, CSIR Reprint No. R.W. 124.
- COETZEE, O.J., 1963. The viability of *Salmonella typhi* in sea water.
Institute of Public Health. June.
- DE VICENTE, A., AVILÉS, M., BORREGO, J.J. en ROMERO, P., 1988.
Die-off and survival of *Pseudomonas aeruginosa* in seawater.
Zbl. Bakt. Hyg. B., 186, 261-272.
- EL-SHARKAWI, F., EL-ATTAR, L., GAWAD, A.A. en MOLAZEM, S., 1989.
Some environmental factors effecting survival of fecal pathogens and
indicator organisms in seawater. **Wat. Sci. Tech.**, 21(1),
115-120.
- EVISON, L.M. en TOSTI, E., 1980. An appraisal of bacterial indicators of
pollution in seawater. **Progress in Water Technology**, 12(5),
591-599.

- FATTAL, B. VASL, R.J., KATZENELSON, E. en SHUVAL, H.J., 1983. Survival of bacterial indicator organisms and enteric viruses in the mediterranean coastal waters off Tel-Aviv. **Water Research** 17(4), 397-402.
- FUJIOKA, R.S., HASIMOTO, H.H., SIWAK, E.B. en YOUNG, R.H.F., 1981. Effect of indicator Bacteria in Seawater. **Applied and Environmental Microbiology**, 41(3), 690-696.
- GAMESON, A.L.H., 1984. Investigations of sewage discharges to some British coastal waters. **Technical Report TR201**, Water Research Centre, Medmenhan, Engeland.
- GAMESON, A.L.H., 1985. Application of Coastal Pollution Research. **Technical Report TR228**, Water Research Centre, Medmenhan, Engeland.
- GELDREICH, E.E. en KENNER, B., 1969. Concepts of fecal streptococci in stream pollution. **Jour. Water Pollut. Control Fed.**, 41, 336-352.
- GIRONES, R., JOFRE, J. en BOSCH, A., 1989. Natural inactivation of enteric viruses in seawater. **Jour. Environ. Qual.**, 18(1), 34-39.
- GRABOW, W.O.K., BATEMAN, B.W. en BURGER, J.S., 1978. Microbiological quality indicators for routine monitoring of waste waters reclamation systems. **Progress in Water Technology**, 10(5/6), 317-327.

- GRAHAM, J.J. en SIEBURTH, J. Mc N., 1973. Survival of *Salmonella typhimurium* in artificial and coastal sea water. **Rev. Intern. Oceanogr. Med.** Tome XXIX.
- HALTON, J.E. en NEHLSSEN, W.R., 1968. Survival of *Escherichia coli* in zero-degree centigrade sea water. **Journal Water Pollution Control Federation**, 40(5), 865-868.
- JAMIESON, W., MADRI, P. en CLAUS, G., 1976. Survival of certain pathogenic micro-organisms in sea water. **Hydrobiologia**, 50(2) 117-121.
- JAWETZ, E., MELWICK, S.L. en ADELBERG, E.A., 1987. **Review of Medical Microbiology**. 17th Edition, Appleton and Lange, Norwalk, California.
- KAPUSCINSKI, R.B. en MITCHELL, R., 1980. Photo-oxidative Effects of sunlight on fecal coliforms and viruses in marine surface waters. **American Society for Microbiology**. 80th Annual Meeting, May, Abstract Q 95.
- KIM, J. en ZOBELL, C.E., 1971. Death rates of Barophobic Bacteria at Deep-sea pressure and Temperature. **Bacteriological Proceedings 1971**. American Society for Microbiology. 71st Annual Meeting, May, Abstract G 201.

LIVINGSTONE, D.J., 1978. **Decay of micro-organisms in the marine environment.**Institute of Water Pollution Control Symposium on "Disinfection of Water", CSIR Conference Centre, Pretoria. November.

LUSHER, J A (Ed) 1984 **Water Quality Criteria for the South African Coastal Zone SANCOR Report No.94.**

MITCHELL, R., 1972. Ecological control of microbial imbalances. In: **Water pollution microbiology.** Ed. R Mitchell, Wiley Interscience, New York.

MITCHELL, R. en CHAMBERLIN, C., 1978. Survival of indicator organisms. In: **Indicators of viruses in water and food.** Ed. G. Berg, Ann Arbor Science, 15-37.

NABBUT, N.H. en KURAYIYYAH, F., 1971. . Survival of *Salmonella typhi* in sea water. **J. Hyg., Camb.**, 70, 223-228.

PIKE, E.B., GAMESON, A.L.H. en GOULD, D.J., 1970. Mortality of coliform bacteria in sea water samples in the dark. **Rev. Intern. Oceanogr. Med.** Tome XVIII - XIX.

SMITH, P.R., FARELL, E. en DUNICAN, K., 1974. Survival of R⁺ *Escherichia coli* in sea water. **Applied Microbiology**, 27(5), 983-984.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTE WATER., 1985. 16th Ed. American Public Health Association, Inc. Washington, DC.

TREDOUX, G. en ENGELBRECHT, J.F.P., 1986. Ad Hoc Investigation of the occurrence of faecal coliforms in the vicinity of the Camps Bay marine outfall, Appendix B, Measurements of initial dilution of a buoyant effluent, WRC Report No. 160/1/88.

WAIT, D.A. en SOBSEY, M.D., 1980. Die-off of Enteric Micro-organisms in seawater and marine sediments. American Society for Microbiology. 80th Annual Meeting, May, Abstract Q 94.

XU, HUAISHU, ROBERTS, N., SINGLETON, F.L., ATTWELL, R.W., GRIMES, D.J. en COLDWELL, R.R., 1982. Survival and Viability of Nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in Estuarine and Marine Environment. *Microbial Ecology*, 8, 313-323.

TABEL 1: RESULTATE VAN EKSPERIMENT EEN

Monster	Tyd	Verdunning	Fekale kolivorme x 10 000	Fekale streptococci x 10 000	Kolifaag x 1 000
Rouriool	15:00	-	286000	200000	72000
Seewater	15:05	-	0	0	0
A	15:07	300	>30	>30	>30
A	15:14	400	>30	>30	>30
A	15:20	500	>30	>30	>30
A	15:28	600	>30	>30	>30
A	15:35	700	>30	>30	>30
A	15:41	800	>30	>30	>30
Oornag A	09:33	800	>30	>30	>30
B	15:57	300	>30	>30	>30
B	16:07	300	>30	>30	>30
B	16:16	300	>30	>30	>30
B	16:22	300	>30	>30	>30
B	16:28	300	>30	>30	>30
B	16:34	300	>30	>30	>30
Oornag B	09:40	300	>30	>30	>30

TABEL 2: RESULTATE VAN EKSPERIMENT TWEE

Monster	Tyd	Verdunning	Fekale kolivorme (FK)	Verdunning volgens FK telling	Fekale streptococci (FS)	Verdunning volgens FS telling	Kolifaag Telling	Verdunning	Temperatuur (°C)
urriool	13:30	-	190000000000	-	31000000000	-	690000	-	-
sewater	13:35	-	0	-	0	-	0	-	-
A	13:41	3000	15900	11900000	2700	11500000	207	3300	22
A	13:49	4000	19700	96400000	2400	12900000	151	4600	23
A	13:55	5000	13800	13800000	1100	28200000	130	5300	23
A	14:01	6000	11700	16200000	900	34400000	106	6500	23
A	14:08	7000	4700	40400000	800	38800000	101	6800	23
A	14:14	8000	2100	90500000	1300	23800000	91	7600	23
A	14:22	9000	3600	52800000	1100	28200000	77	8900	23
ornag A	09:33	9000	2400	-	200	-	71	-	23
B	14:43	3000	15700	12100000	2080	14900000	145	4800	26
B	14:51	4000	7200	26400000	1580	19600000	101	6800	26
B	14:57	5000	2960	64200000	1240	25000000	80	8600	26
B	15:02	6000	1500	127000000	920	33700000	76	9100	26
B	15:08	7000	660	288000000	850	36500000	64	10800	26
B	15:14	8000	530	358000000	740	41900000	51	13500	26
B	15:20	9000	340	559000000	710	43700000	39	17700	26
ornag B	03:40	9000	0	-	*65	-	*8	-	26

= Sonlig afwesigheid; B = Sonlig aanwesig

= T90; Alle resultate per 100 mL

TABEL 3: RESULTATE VAN EKSPERIMENT DRIE

Monster	Tyd	Temperatuur (°C)	Fisiese Verdunning	Fekale kolivorme (FK)	Verdunning volgens FK telling	Fekale streptococci (FS)	Verdunning volgens FS telling	Kolifaag (KF)
Rioolwater	11:45	22	-	27500000000	-	21500000000	-	300000
Seewater	11:50	22	-	0	-	0	-	0
1	11:55	22	3000	6650	4100000	630	341000000	0
2	12:04	22	4000	4550	6000000	485	443000000	0
3	12:10	22	5000	2465	11200000	380	466000000	0
4	12:17	22	6000	845	325000000	290	741000000	0
5	12:25	22,5	7000	385	714000000	230	935000000	0
6	12:34	23	8000	340	809000000	210	102000000	0
7	13:04	23,5	8000	*40	-	155	-	0
8	13:34	24	8000	10	-	120	-	0
9	14:04	24,5	8000	0	-	80	-	0
10	14:34	25	8000	0	-	40	-	0
11	15:04	25	8000	0	-	*20	-	0
12	15:34	25	8000	0	-	0	-	0
13	16:04	24,5	8000	0	-	0	-	0
14	16:34	24	8000	0	-	0	-	0
15	17:04	23,5	8000	0	-	0	-	0
16	17:34	24,5	8000	0	-	0	-	0
17	18:04	24	8000	0	-	0	-	0
18	18:34	23,5	8000	0	-	0	-	0
19	19:04	23	8000	0	-	0	-	0
20	19:34	22,5	8000	0	-	0	-	0
21	20:04	22	8000	0	-	0	-	0
22	20:34	21,5	8000	0	-	0	-	0
23	21:04	21,5	8000	0	-	0	-	0
24	21:34	21	8000	0	-	0	-	0
25	22:04	21	8000	0	-	0	-	0
26	22:34	20,5	8000	0	-	0	-	0
27	23:04	20	8000	0	-	0	-	0
28	23:34	19,5	8000	0	-	0	-	0
29	00:04	19,5	8000	0	-	0	-	0
30	00:34	19	8000	0	-	0	-	0
31	01:04	19	8000	0	-	0	-	0
32	01:34	19	8000	0	-	0	-	0
33	02:04	18,5	8000	0	-	0	-	0
34	02:34	18,5	8000	0	-	0	-	0
35	03:04	18,5	8000	0	-	0	-	0
36	03:34	18	8000	0	-	0	-	0
37	04:04	18	8000	0	-	0	-	0
38	04:34	18	8000	0	-	0	-	0
39	05:04	18	8000	0	-	0	-	0
40	05:34	18	8000	0	-	0	-	0
41	06:04	18	8000	0	-	0	-	0
42	06:34	18	8000	0	-	0	-	0

TABEL 4a: RESULTATE VAN EKSPERIMENT VIER IN DIE AFWESIGHEID VAN SONLIG

Monster	Tyd	Temperatuur (°C)	Verdunning	Fekale kolivorme (FK)	Verdunning volgens FK telling	Fekale streptococci (FS)	Verdunning volgens FS telling
Rouriool	11:20	18	-	275000000000	-	23500000000	-
Seewater	11:25	14,5	-	0	-	0	-
A	11:35	14,5	3000	7650	36000000	568	41400000
A	12:05	14,5	3000	7650	-	680	-
A	12:35	14,5	3000	3350	-	514	-
A	13:05	14,7	3000	4650	-	616	-
A	13:35	15	3000	4650	-	616	-
A	14:05	15,4	3000	4650	-	856	-
A	14:35	16	3000	3350	-	798	-
A	15:05	16,4	3000	3600	-	764	-
A	15:35	16,4	3000	3850	-	880	-
A	16:05	16,8	3000	1580	-	832	-
A	16:35	16,4	3000	1566	-	752	-
A	17:05	16,4	3000	1566	-	1368	-
A	17:35	16,4	3000	1572	-	823	-
A	18:05	17	3000	1620	-	656	-
A	18:35	17	3000	1664	-	700	-
A	19:05	17	3000	1662	-	560	-
A	19:35	17	3000	1514	-	628	-
A	20:05	17	3000	1372	-	760	-
A	20:35	17	3000	1462	-	560	-
A	21:05	17	3000	1540	-	736	-
A	21:35	17	3000	1758	-	712	-
A	22:05	17	3000	1440	-	576	-
A	22:35	17	3000	1434	-	672	-
A	23:05	17	3000	1480	-	720	-
A	23:35	17	3000	1482	-	880	-
A	00:05	17	3000	1366	-	800	-
A	00:35	17	3000	1366	-	752	-
A	01:05	17	3000	1366	-	912	-
A	01:35	16,9	3000	1278	-	480	-
A	02:05	16,6	3000	1372	-	640	-
A	02:35	16,5	3000	1360	-	720	-
A	03:05	16,4	3000	1146	-	436	-
A	03:35	16,4	3000	1070	-	432	-
A	04:05	16,4	3000	1162	-	440	-
A	04:35	16,4	3000	1144	-	420	-
A	05:05	16,4	3000	1126	-	444	-
A	05:35	16,4	3000	1094	-	408	-
A	06:05	16,4	3000	1124	-	408	-

TABEL 4b: RESULTATE VAN EKSPERIMENT VIER IN DIE AANWESIGHEID VAN SONLIG

Monster	Tyd	Temperatuur (°C)	Verdunning	Fekale kolivorme (FK)	Verdunning volgens FK telling	Fekale streptococci (FS)	Verdunning volgens FS telling
Rouriol	11:20	18,5	-	2.75E+11	-	23500000000	-
Seewater	11:25	14,5	-	0	-	0	-
B	11:30	14,5	3000	7550	36400000	734	32000000
B	12:00	15,5	3000	6550	-	630	-
B	12:30	17,5	3000	2700	-	596	-
B	13:00	17,5	3000	1130	-	344	-
B	13:30	18,5	3000	600	-	434	-
B	14:00	19,5	3000	500	-	350	-
B	14:30	20,5	3000	66	-	386	-
B	15:00	20,4	3000	48	-	182	-
B	15:30	20,5	3000	26	-	250	-
B	16:00	20,6	3000	16	-	218	-
B	16:30	20,6	3000	6	-	180	-
B	17:00	20,2	3000	4	-	92	-
B	17:30	19,1	3000	12	-	122	-
B	18:00	18,6	3000	8	-	86	-
B	18:30	18,4	3000	0	-	110	-
B	19:00	17,6	3000	4	-	132	-
B	19:30	17,1	3000	6	-	132	-
B	20:00	16,6	3000	10	-	116	-
B	20:30	16,1	3000	12	-	80	-
B	21:00	15,6	3000	12	-	112	-
B	21:30	15,1	3000	4	-	68	-
B	22:00	14,5	3000	4	-	98	-
B	22:30	13,9	3000	4	-	86	-
B	23:00	13,9	3000	4	-	100	-
B	23:30	13,9	3000	4	-	80	-
B	00:00	13,6	3000	20	-	90	-
B	00:30	13,4	3000	6	-	68	-
B	01:00	13,1	3000	4	-	96	-
B	01:30	13,1	3000	4	-	124	-
B	02:00	12,6	3000	0	-	70	-
B	02:30	12,5	3000	4	-	56	-
B	03:00	12,4	3000	0	-	72	-
B	03:30	12,1	3000	0	-	72	-
B	04:00	12,1	3000	4	-	56	-
B	04:30	11,9	3000	4	-	60	-
B	05:00	11,9	3000	0	-	50	-
B	05:30	11,4	3000	0	-	52	-
B	06:00	11,5	3000	0	-	44	-

TABEL 5: RESULTATE VAN EKSPERIMENT VYF

Monster	Tyd	Fekale kolivorme (FK)	Verdunning volgens FK telling	Verdunning volgens Rhodamine	Monster	Tyd	Fekale kolivorme (FK)	Verdunning volgens FK telling	Verdunning volgens Rhodamine
Rouriol	11:50	2000000000	-	-		12:17	2980	670000	2540
Oppervlak	11:56	3290	610000	12600		12:48	0	-	12200000
	12:01	1250	1600000	5230		12:51	60	33000000	-
	12:07	19300	103000	6070		12:56	4090	489000	5660
	12:10	16000	125000	11500		12:59	1120	1790000	9540
	12:13	27800	72000	1800		13:01	9310	215000	10500
	12:17	8200	240000	2610		13:05	1890	1060000	209000
	12:26	1140	1750000	3090		13:07	5070	390000	24000
	12:45	100	20000000	347000		13:09	2670	749000	46800
	12:49	60	33300000	267000		13:14	4670	428000	7200
	12:51	130	15400000	2870000		13:21	650	3080000	9890000
	12:55	55	36400000	6400000		13:56	80	25000000	2870000
	12:59	0	-	3810000		13:59	1100	1800000	244000
	13:02	3760	530000	5070		14:07	190	10500000	94900
	13:07	542	3690000	16200		14:13	1180	1690000	49700
	13:13	30	67000000	1580000		14:39	10	200000000	5210000
	13:15	50	40000000	236000	10m Diepte	11:54	13300	150000	-
	13:19	40	50000000	15200		11:59	680	2940000	3800
	13:20	180	11100000	13700		12:05	17000	118000	11500
	13:51	0	-	539000		12:08	12400	161000	15400
	13:53	20	100000000	-		12:16	13100	153000	4300
	13:53	10	200000000	44200000		12:20	8600	233000	11600
	13:54	0	-	41000		12:45	40	50000000	4390000
	13:55	1530	1310000	27900		12:58	805	2480000	119000
	13:55	0	-	61300		13:00	8650	231000	3630
	13:56	10	200000000	262000		13:01	10700	187000	17600
	13:57	20	100000000	1130000		13:06	4040	495000	14200
	13:59	30	67000000	409000		13:07	20	100000000	236000
	14:03	0	-	801000		13:08	75	27000000	877000
	14:04	0	-	38100		13:16	5200	384000	302000
	14:06	40	50000000	35600		13:19	3150	635000	15200
	14:07	10	200000000	25000		13:58	1600	1250000	53000
	14:08	0	-	2870000		14:04	2200	910000	1220000
	14:10	0	-	5750000		14:12	6800	294000	34200
	14:11	0	-	3020000		14:46	150	13300000	1710000
	14:12	10	200000000	209000	15m Diepte	11:53	1260	1590000	-
	14:16	0	-	152000		12:00	2290	873000	284000
	14:18	10	200000000	562000		12:15	330	6060000	17000
	14:38	0	-	133000		12:22	2190	913000	15700
	14:40	0	-	120000		12:27	1080	1850000	539000
	14:42	0	-	6400000		12:54	0	-	2220000
5m Diepte	11:52	10	200000000	8370000	20m Diepte	11:51	825	2420000	15900000
	11:57	10400	190000	-		11:58	5170	387000	2540
	12:03	7500	270000	80100		12:06	880	2270000	5750000
	12:06	15900	125000	4500		12:14	3050	656000	14700
	12:15	4010	499000	4960		12:24	3850	519000	98400

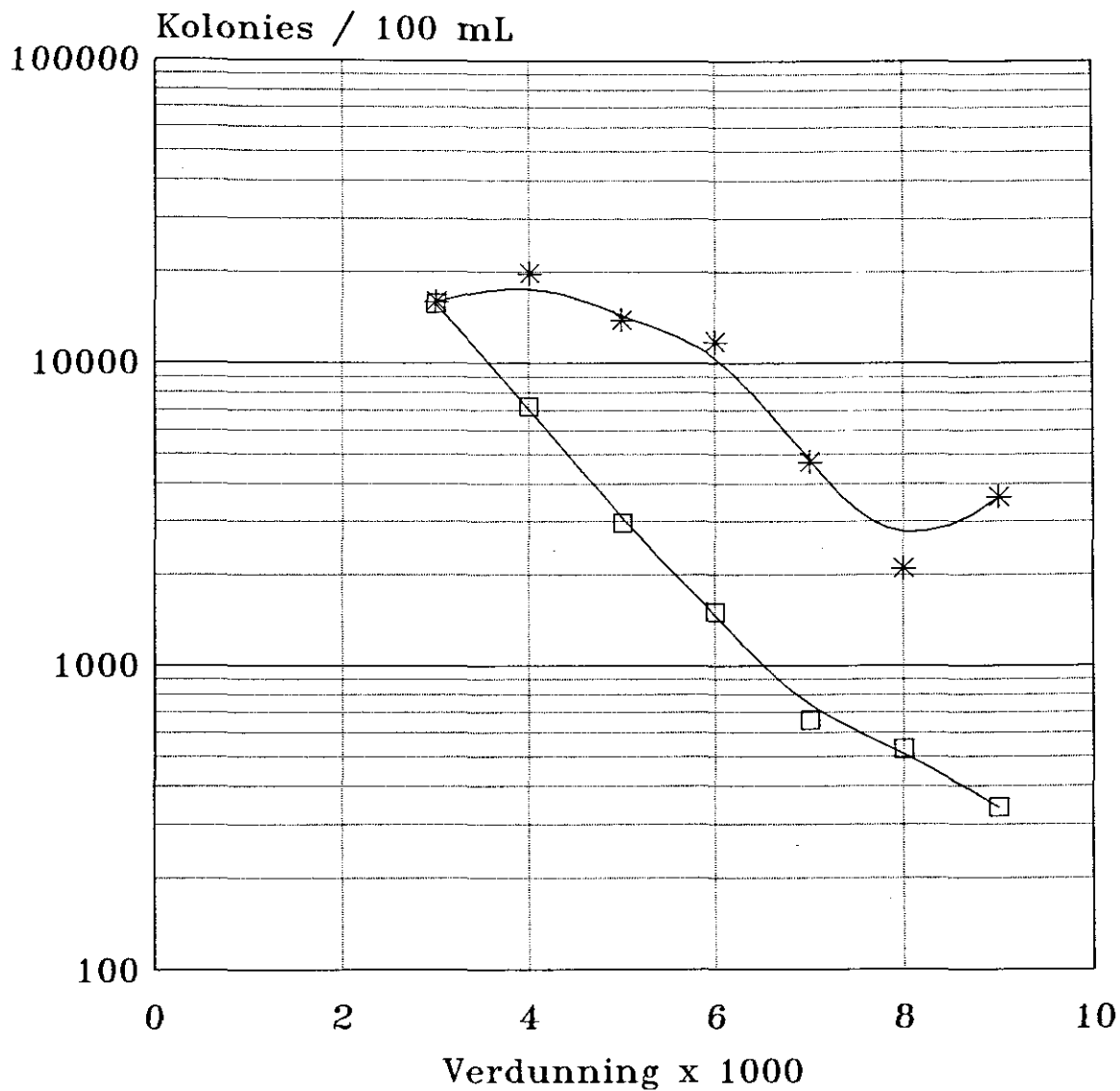
TABEL 6: RESULTATE VAN EKSPERIMENT SES

Monster	Tyd	Fekale kolivorme (FK)	Verdunning volgens FK telling	Verdunning volgens Rhodamien	Monster	Tyd	Fekale kolivorme (FK)	Verdunning volgens FK telling	Verdunning volgens Rhodamien
Rouriool	11:18	5800000000	-	-	Oppervlak	12:48	7000	829000	7230
Oppervlak	11:27	6200	935000	19300		12:49	6340	915000	5960
	11:29	13300	436000	3930	5m Diepte	11:31	8400	690000	7920
	11:31	14100	411000	11800		11:36	10700	542000	3160
	11:33	10800	537000	732		11:39	7300	795000	2330
	11:36	13100	443000	2180		11:41	7900	734000	2100
	11:39	6600	897000	3290		11:44	9800	591000	4080
	11:42	8200	707000	2470		11:46	17600	330000	4910
	11:43	2650	2190000	2370		11:48	1660	3490000	4600
	11:44	3600	1610000	2080		11:51	1110	5230000	5270
	11:45	4100	1410000	2370		11:53	10900	532000	58500
	11:49	8000	725000	2550		11:56	13200	439000	174000
	11:52	740	7840000	2470		12:00	10200	569000	222000
	11:56	8600	674000	4330		12:11	11900	487000	15300
	11:58	3100	1870000	3510		12:13	10500	552000	58500
	12:01	8900	652000	4830	10m Diepte	11:23	30	193000000	-
	12:12	12100	479000	11000		12:26	16200	358000	13200
	12:31	70	82900000	2830000		11:29	8500	682000	6100
	12:31	1460	3970000	269000		11:35	1290	4500000	5270
	12:32	545	10600000	101000		11:38	9100	637000	5720
	12:32	1460	3970000	7660		11:40	1140	5080000	17100
	12:32	160	36300000	1060000		11:42	5800	1000000	5720
	12:32	2800	2070000	6310		11:45	2400	2420000	17400
	12:33	1760	3300000	9380		11:47	2500	2320000	6700
	12:33	1600	3630000	8710		11:49	150	38700000	174000
	12:33	1200	4830000	6880		11:52	680	8530000	2830000
	12:34	1780	3560000	5000		11:54	1640	3540000	6540000
	12:35	90	64000000	42900		11:58	8600	674000	1590000
	12:35	100	58000000	43900		12:01	4560	1270000	-
	12:38	2530	2290000	4910		12:04	5500	1050000	327000
	12:38	1840	3150000	5000		12:09	11600	500000	-
	12:39	2600	2230000	6220		12:12	7400	784000	-
	12:39	2580	2250000	6880	15m Diepte	11:58	2900	2000000	-
	12:40	2830	2050000	15500		12:00	965	6010000	973000
	12:40	13000	446000	112000		12:02	1870	3100000	-
	12:41	1250	4640000	561000		12:07	1390	4170000	218000
	12:42	4900	1180000	229000		12:09	11000	527000	824000
	12:42	1520	3820000	953000		12:11	1310	4430000	346000
	12:43	965	6010000	884000		12:13	1990	2910000	187000
	12:43	9800	592000	97300	20m Diepte	11:25	3280	1770000	1810000
	12:44	600	9700000	132000		11:27	3100	1870000	796000
	12:44	1320	4400000	263000		11:31	2290	2530000	281000
	12:45	5000	1160000	104000		11:34	2600	2230000	214000
	12:45	11000	527000	108000		11:40	5700	1020000	3070000
	12:45	8000	725000	21600		11:44	3170	1830000	973000
	12:46	5000	1160000	15900		11:48	1100	5270000	-
	12:46	4400	1320000	24100		11:46	2100	2760000	785000
	12:46	7200	805000	9010		11:50	7650	758000	11600000
	12:47	3530	1640000	5270		11:54	220	26400000	8320000

TABEL 7: RESULTATE VAN EKSPERIMENT SEWE

Monster	Tyd	Temperatuur (°C)	Fekale kolivorme		Fekale streptococci		Kolifaag	
			50m	100m	50m	100m	50m	100m
Uitvloeisel	13:40	26	3450000	-	2000000	-	1500	-
Seewater	13:40	21	0	-	0	-	0	-
1	13:40	25,5	43000	45000	25400	36800	462	450
2	14:10	28	45000	44000	17200	12400	475	400
3	14:40	28	46000	45000	5500	14900	738	475
4	15:10	28	42000	44000	9300	11800	575	225
5	15:40	28	>30000	>30000	4980	7000	388	338
6	16:10	28	>30000	>30000	3990	8400	475	350
7	16:40	28	>30000	>30000	3010	4140	462	300
8	17:10	28	>30000	>30000	1680	4060	400	462
9	17:40	28	>30000	>30000	2160	3980	338	388
10	18:10	28	>30000	>30000	2050	4140	475	475
11	18:40	27,7	>30000	>30000	1890	4040	388	450
12	19:10	27	>30000	>30000	2320	4000	363	575
13	19:40	26,5	>30000	>30000	1490	4450	450	388
14	20:40	26	>30000	>30000	1990	3965	475	388
15	21:40	24	>30000	>30000	1580	4100	438	400
16	22:40	23,5	>30000	>30000	1990	4065	438	450
17	23:40	22,5	>30000	>30000	1850	4260	400	400
18	00:40	21,8	>30000	>30000	2050	4010	475	388
19	01:40	21,5	>30000	>30000	1890	3460	450	462
20	02:40	21	>30000	>30000	1610	4160	388	225
21	03:40	21	>30000	>30000	1750	4090	225	388
22	04:40	20,5	>30000	>30000	1810	3860	375	475
23	05:40	20,1	>30000	>30000	1600	3950	462	462
24	06:40	20	>30000	>30000	1650	4045	475	400
25	07:40	19,5	>30000	>30000	1810	3995	388	350
500 meter	13:40	21	>30000		2400		450	

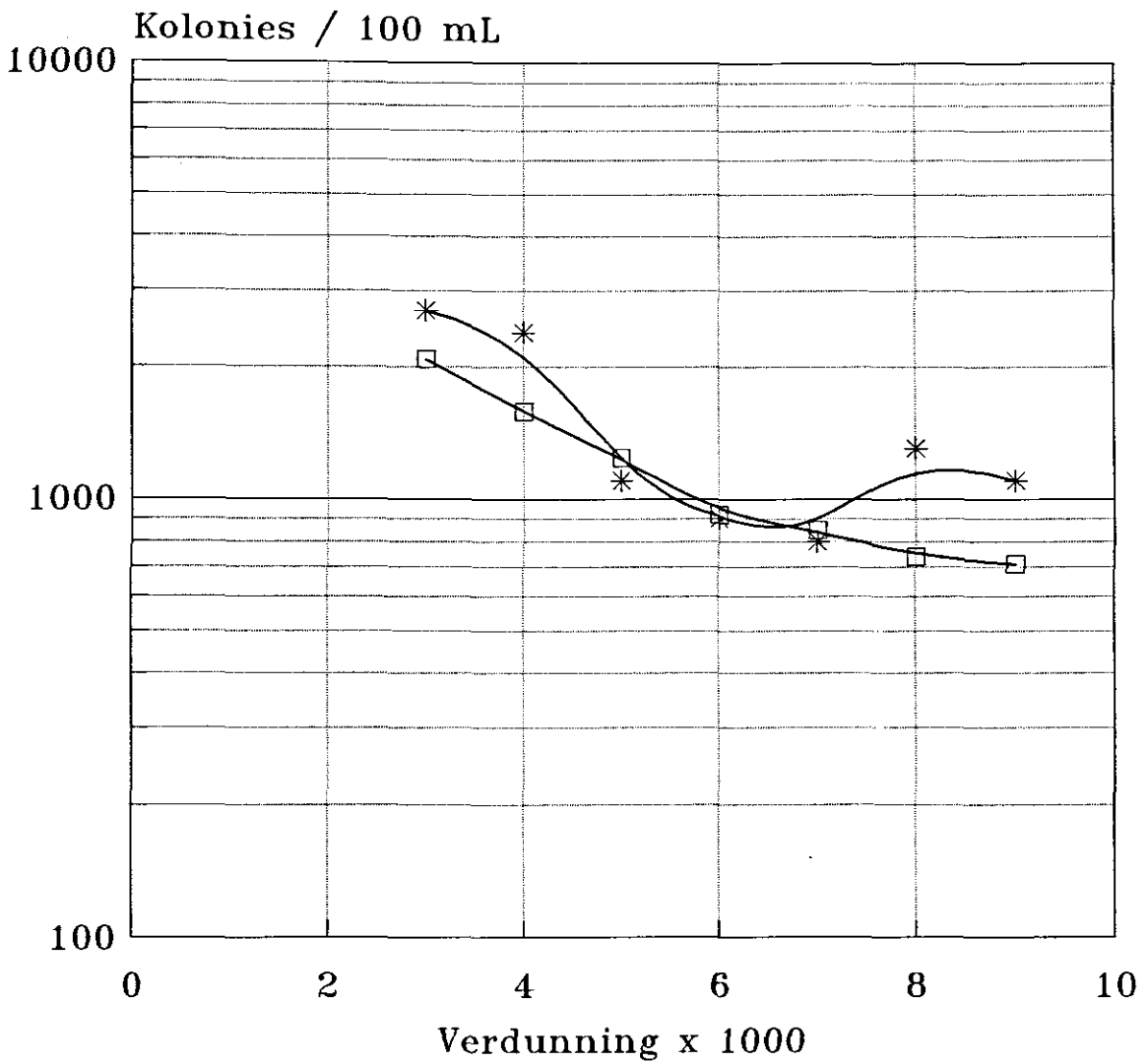
EKSPERIMENT TWEE
Fekale kolivorme



* Sonlig Afwesig □ Sonlig Aanwesig

FIGUUR 1: AFSTERWE VAN FEKALE KOLIVORME
NA VERDUNNING IN DIE LABORATORIUM

EKSPERIMENT TWEE
Fekale streptococci

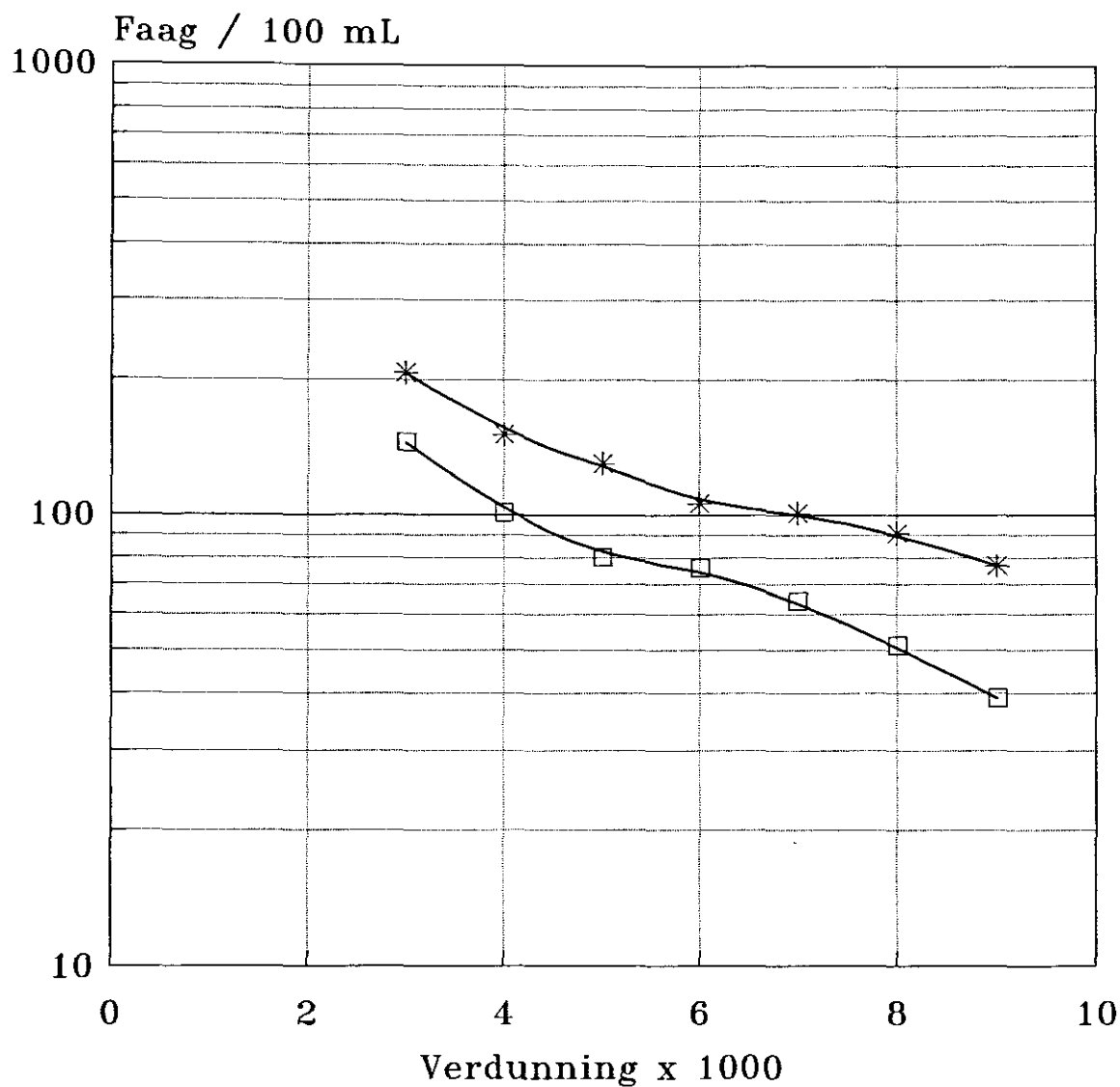


—*— Sonlig Afwesig —□— Sonlig Aanwesig

FIGUUR 2: AFSTERWE VAN FEKALE
STREPTOCOCCI NA VERDUNNING IN DIE
LABORATORIUM

EKSPERIMENT TWEE

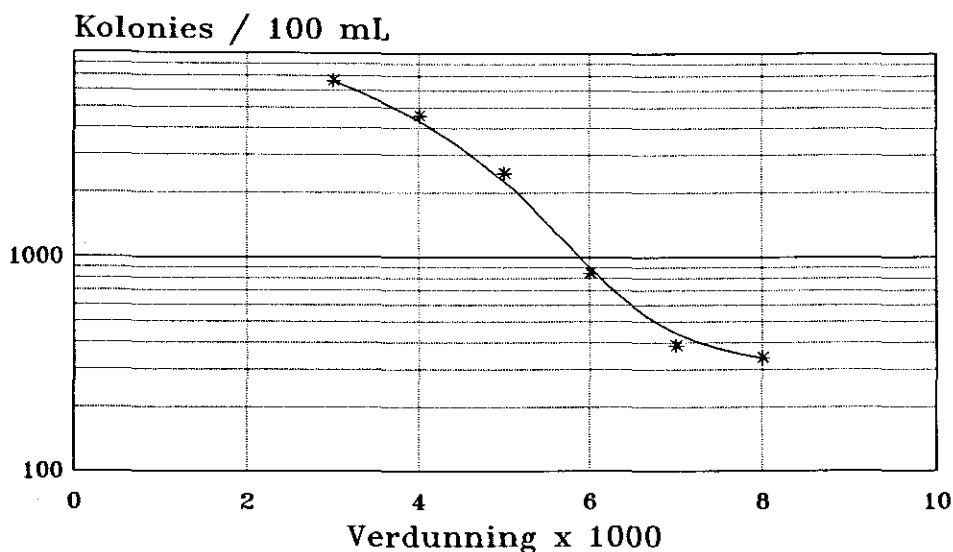
Kolifaag



—*— Sonlig Afwesig —□— Sonlig Aanwesig

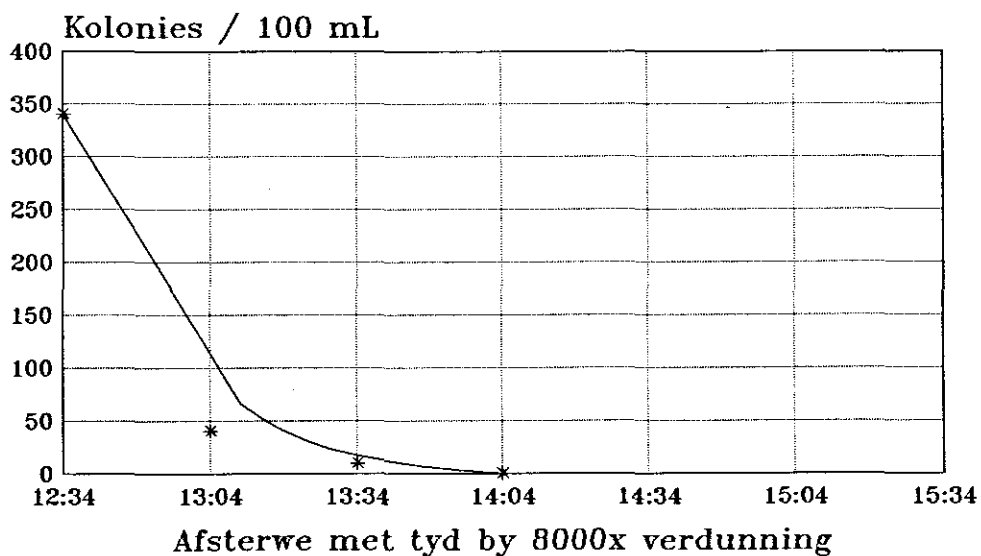
FIGUUR 3: AFSTERWE VAN KOLIFAAG NA
VERDUNNING IN DIE LABORATORIUM

EKSPERIMENT DRIE
Fekale kolivorme



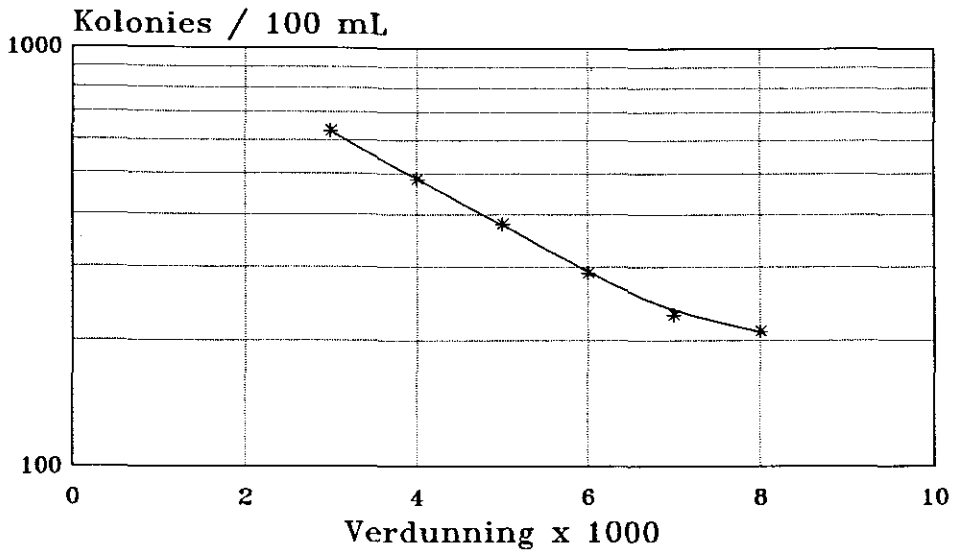
**FIGUUR 4a: AFSTERWE VAN FEKALE KOLIVORME
NA VERDUNNING IN DIE LABORATORIUM
IN SONLIG**

EKSPERIMENT DRIE
Fekale kolivorme in Sonlig



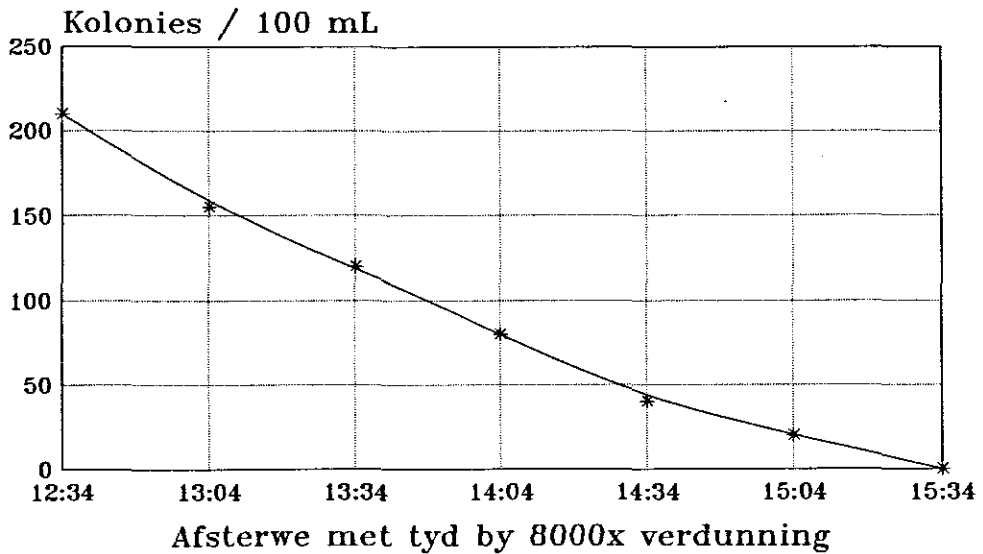
**FIGUUR 4b: AFSTERWE VAN FEKALE KOLIVORME
MET TYD NA VERDUNNING IN DIE
LABORATORIUM IN SONLIG**

EKSPERIMENT DRIE
Fekale streptococci



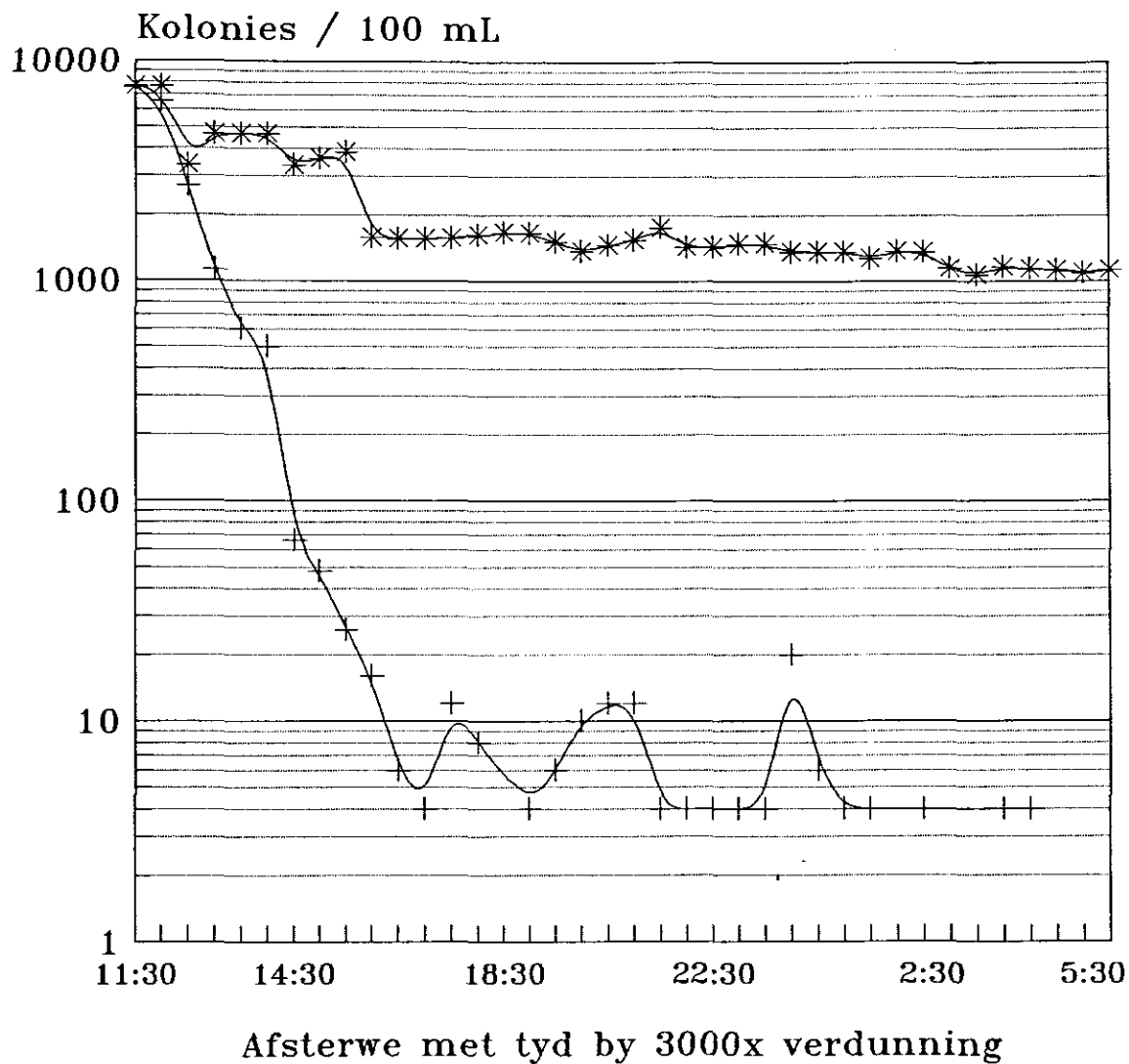
FIGUUR 5a: AFSTERWE VAN FEKALE
STREPTOCOCCI NA VERDUNNING IN DIE
LABORATORIUM IN SONLIG

EKSPERIMENT DRIE
Fekale streptococci



FIGUUR 5b: AFSTERWE VAN FEKALE
STREPTOCOCCI MET TYD NA VERDUNNING
IN DIE LABORATORIUM IN SONLIG

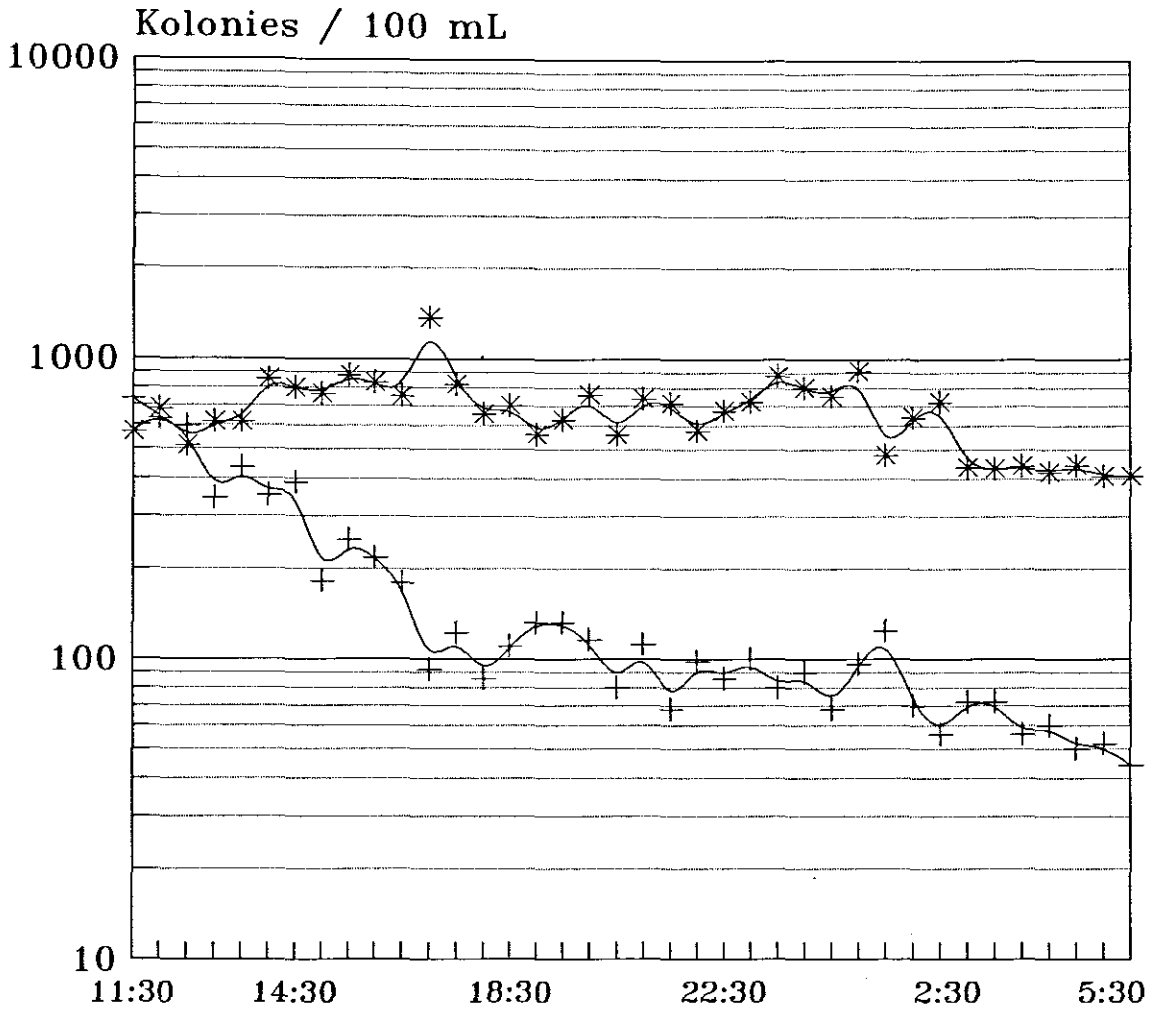
EKSPERIMENT VIER
Fekale kolivorme



* Sonlig Afwesig + Sonlig Aanwesig

FIGUUR 6: AFSTERWE VAN FEKALE KOLIVORME
MET TYD NA VERDUNNING IN DIE
LABORATORIUM

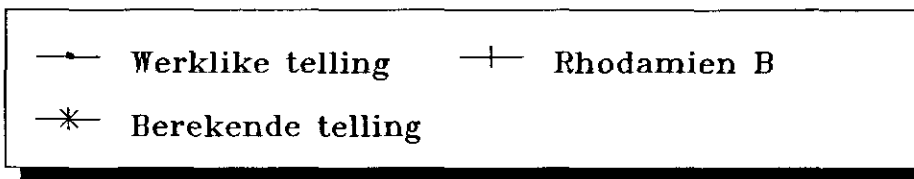
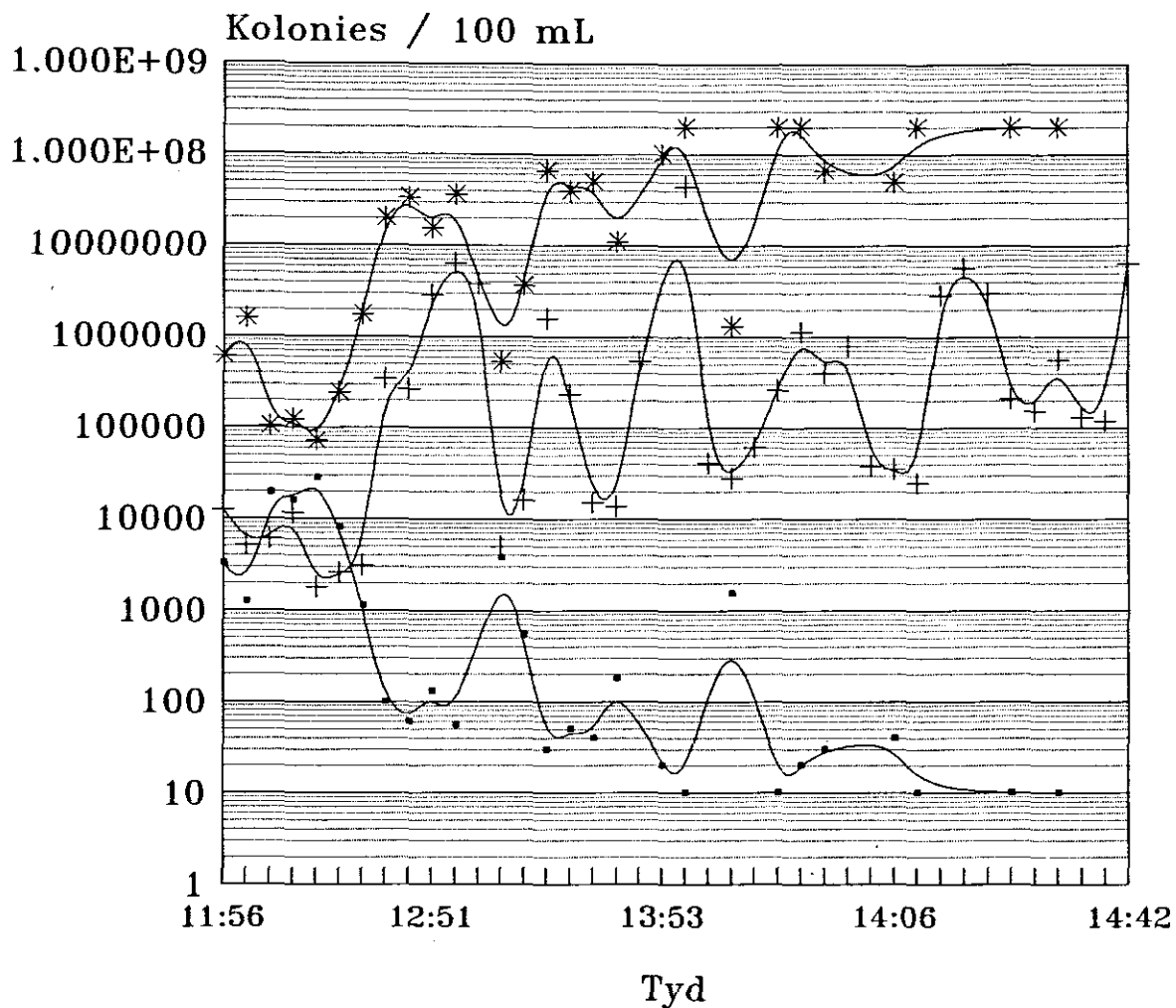
EKSPERIMENT VIER
Fekale streptococci



—*— Sonlig Afwesig —+— Sonlig Aanwesig

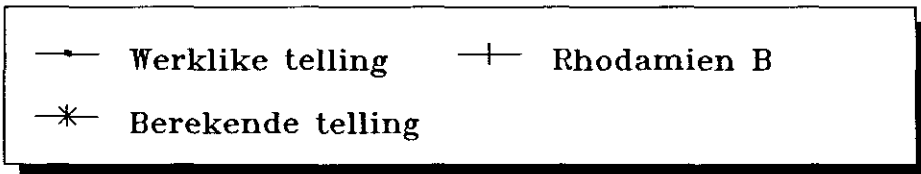
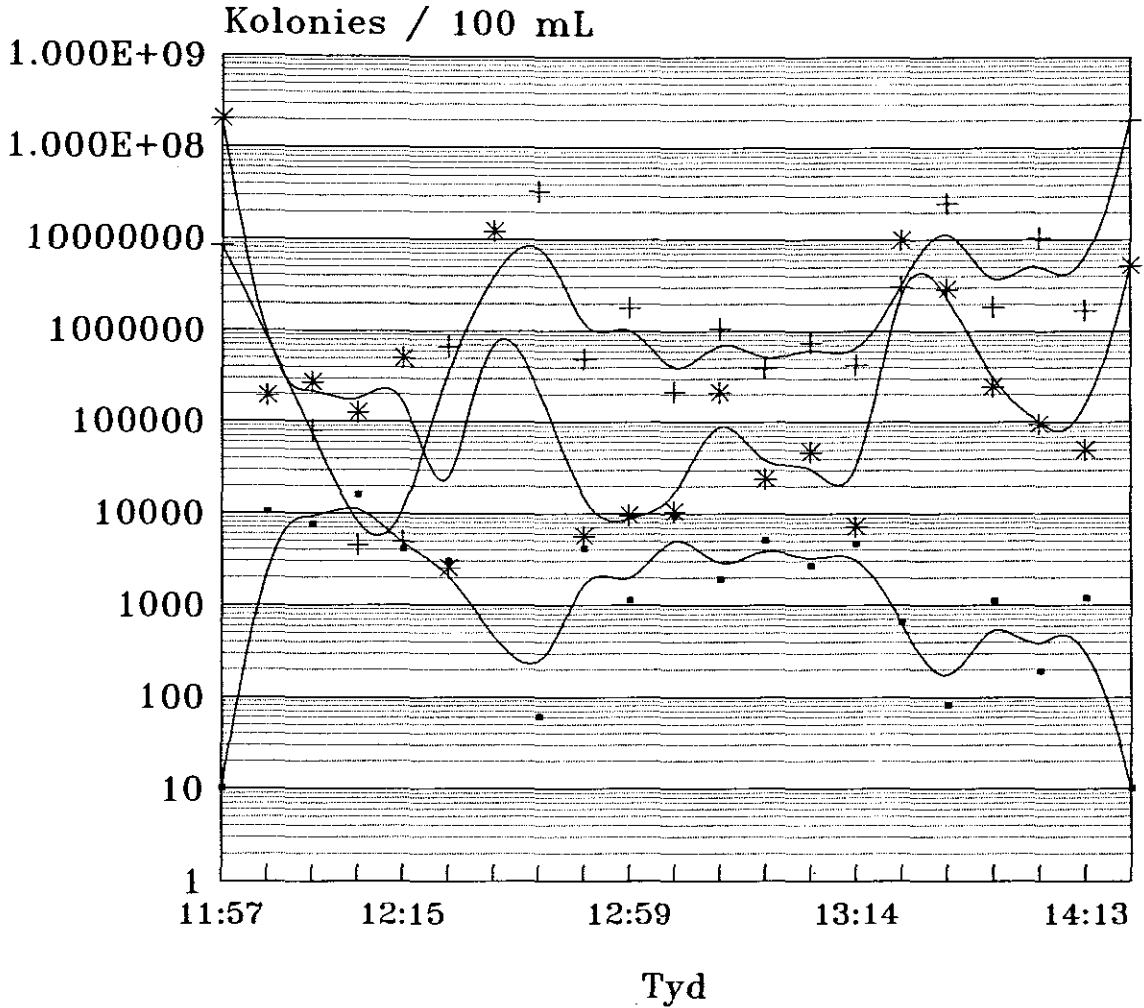
FIGUUR 7: AFSTERWE VAN FEKALE
STREPTOCOCCI MET TYD NA VERDUNNING IN
DIE LABORATORIUM

EKSPERIMENT VYF
Fekale kolivorme



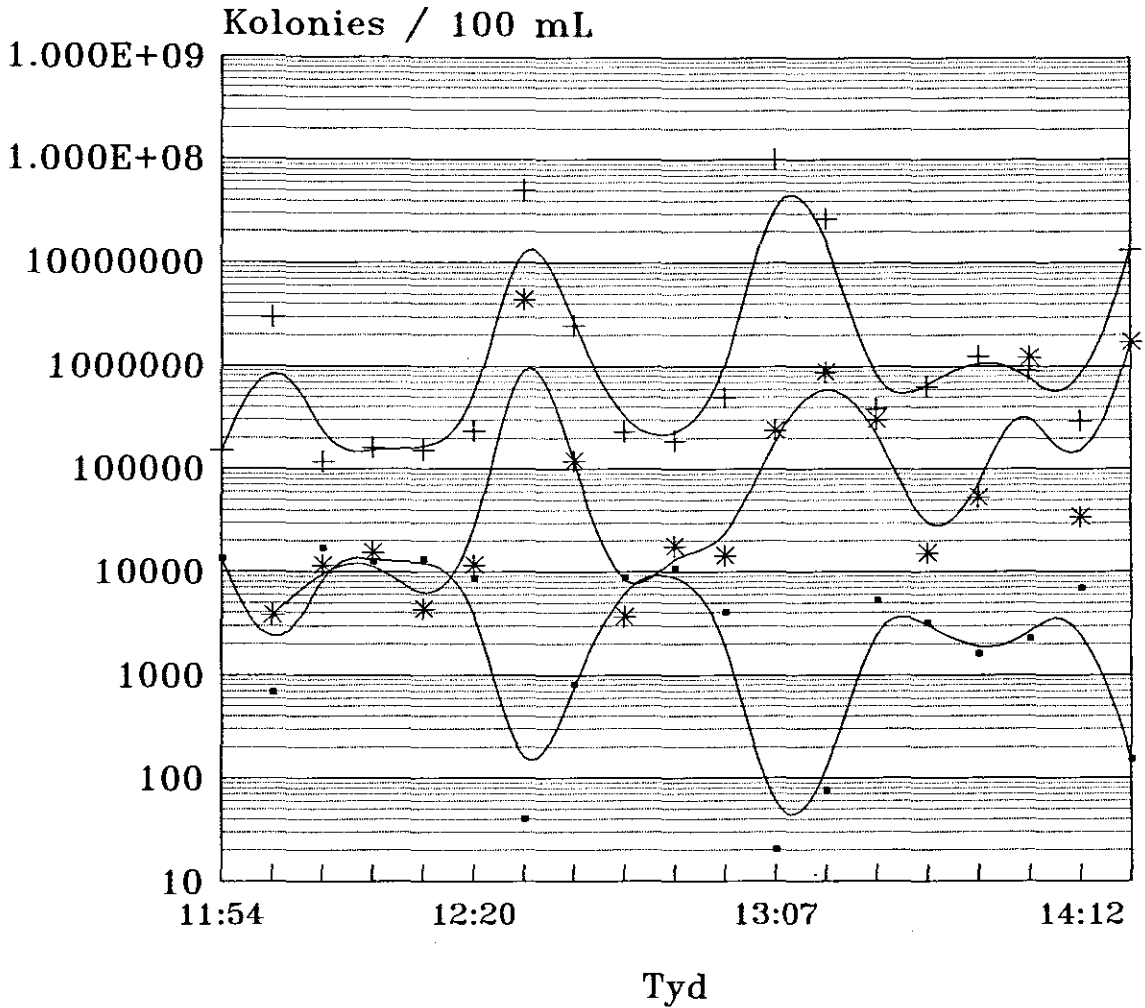
FIGUUR 8: VERSPREIDING VAN FEKALE KOLIVORME AAN DIE SEE-OPPERVLAK NA VERDUNNING BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT

EKSPERIMENT VYF
Fekale kolivorme



FIGUUR 9: VERSPREIDING VAN FEKALE KOLIVORME OP 5 m DIEPTE NA VERDUNNING BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT

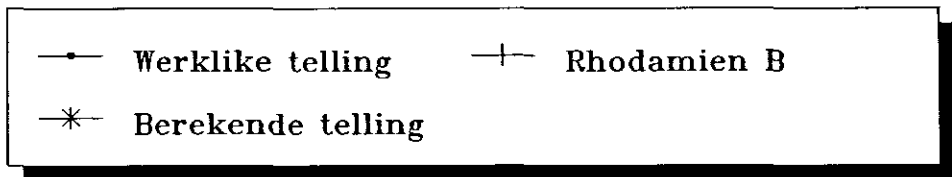
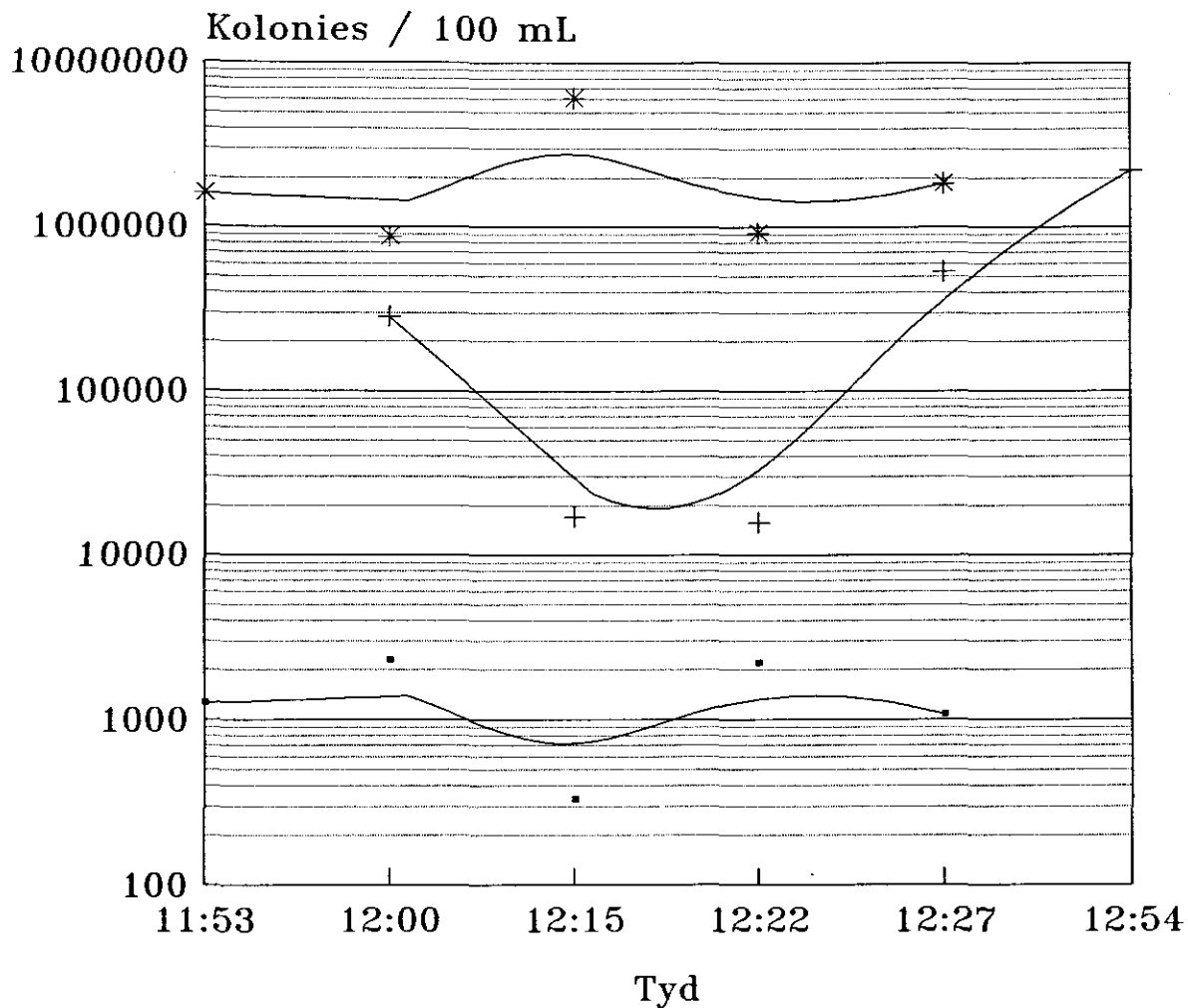
EKSPERIMENT VYF
Fekale kolivorme



—•— Werklike telling —+— Rhodamien B
—*— Berekende telling

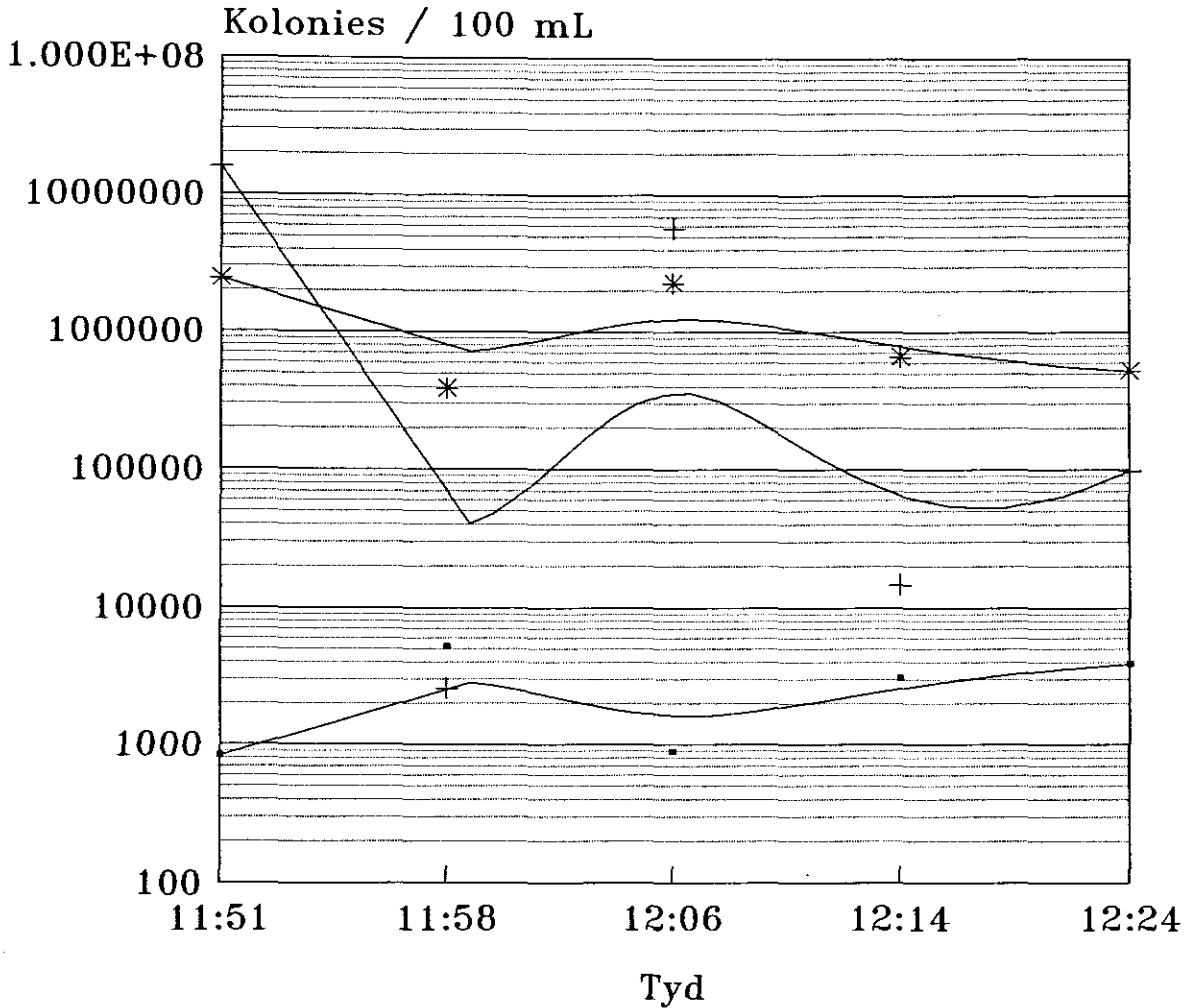
FIGUUR 10: VERSPREIDING VAN FEKALE KOLIVORME OP 10 m DIEPTE NA VERDUNNING BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT

EKSPERIMENT VYF
Fekale kolivorme



FIGUUR 11: VERSPREIDING VAN FEKALE KOLIVORME OP 15 m DIEPTE NA VERDUNNING BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT

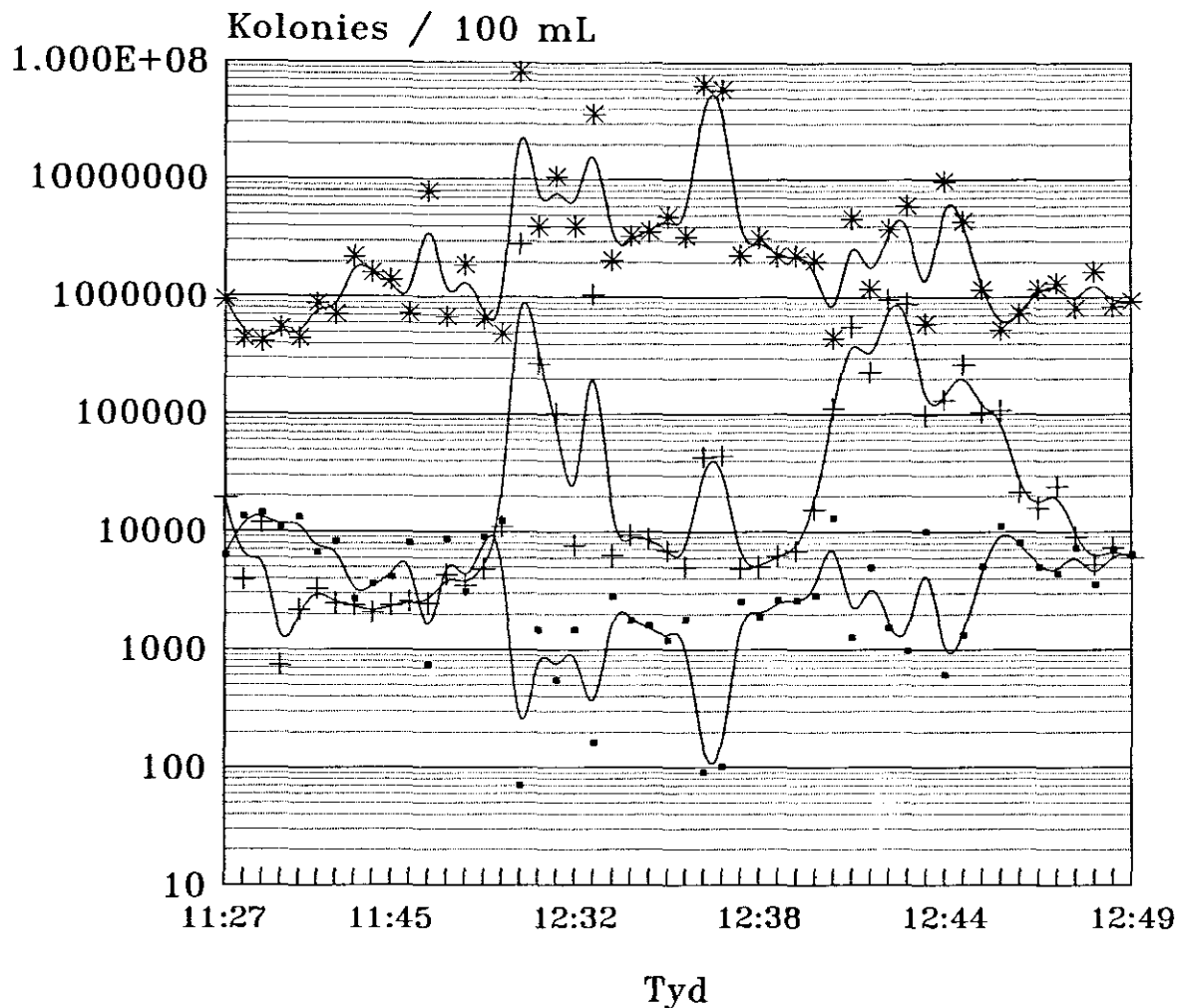
EKSPERIMENT VYF Fekale kolivorme



—●— Weklike telling —*— Berekende telling
 —+— Rhodamien B

FIGUUR 12: VERSPREIDING VAN FEKALE KOLIVORME OP 20 m DIEPTE NA VERDUNNING BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT

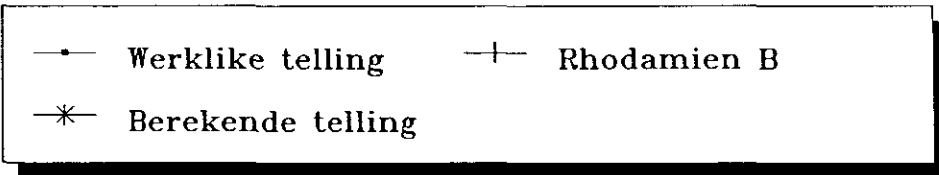
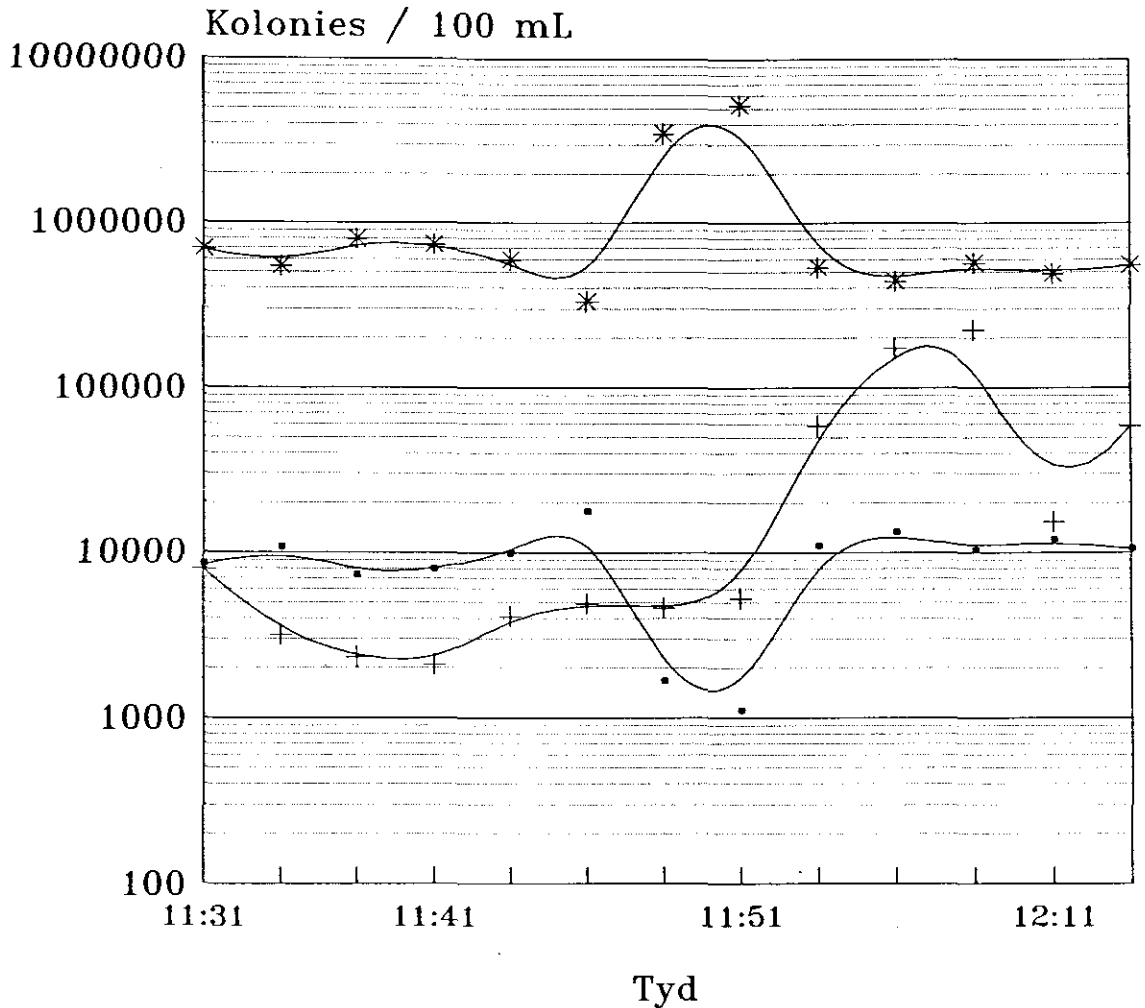
EKSPERIMENT SES
Fekale kolivorme



—•— Werklike telling —+— Rhodamien B
—*— Berekende telling

FIGUUR 13: VERSPREIDING VAN FEKALE KOLIVORME AAN DIE SEE-OPPERVLAK NA VERDUNNING BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT

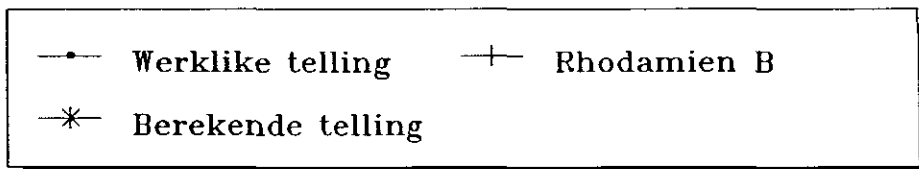
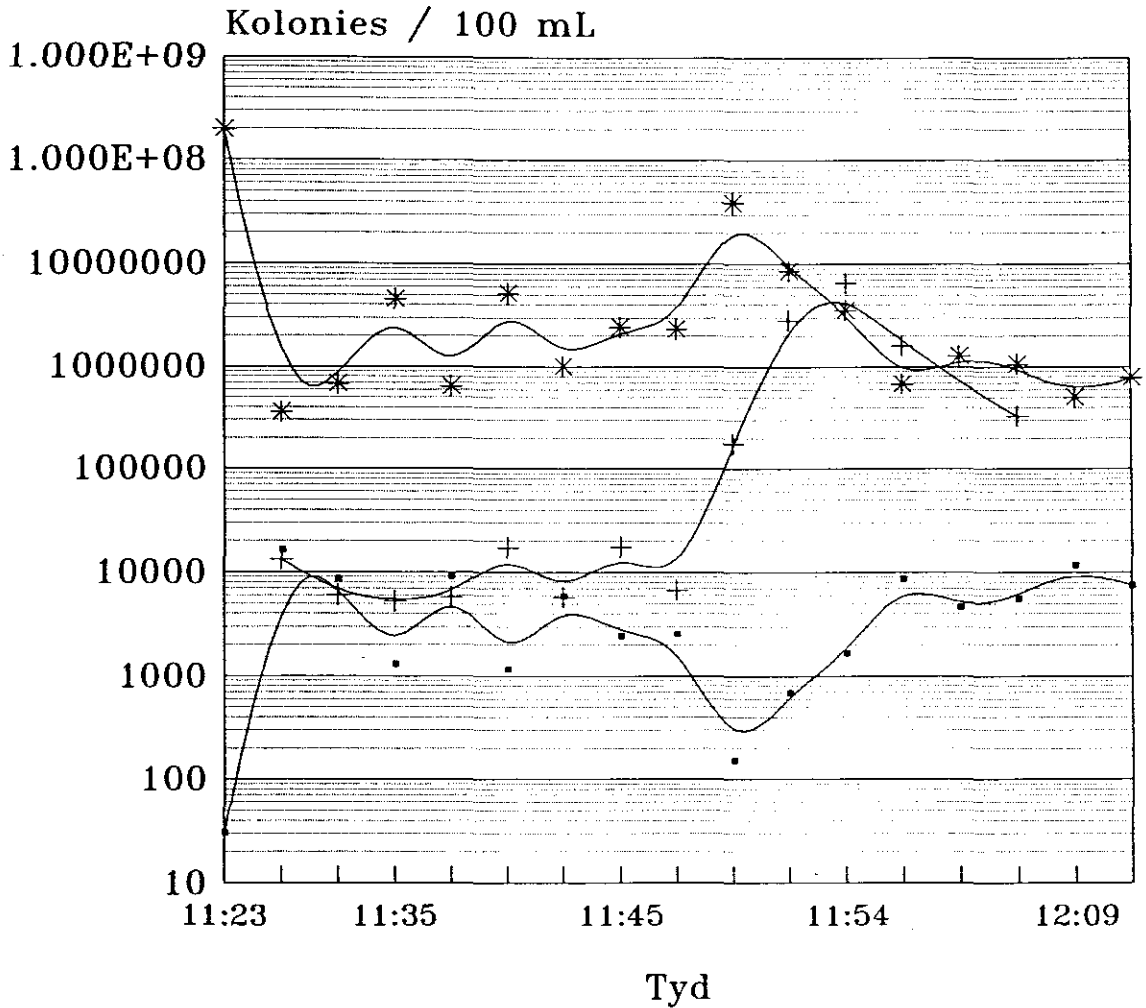
EKSPERIMENT SES Fekale kolivorme



**FIGUUR 14: VERSPREIDING VAN FEKALE
KOLIVORME OP 5 m DIEPTE NA VERDUNNING
BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT**

EKSPERIMENT SES

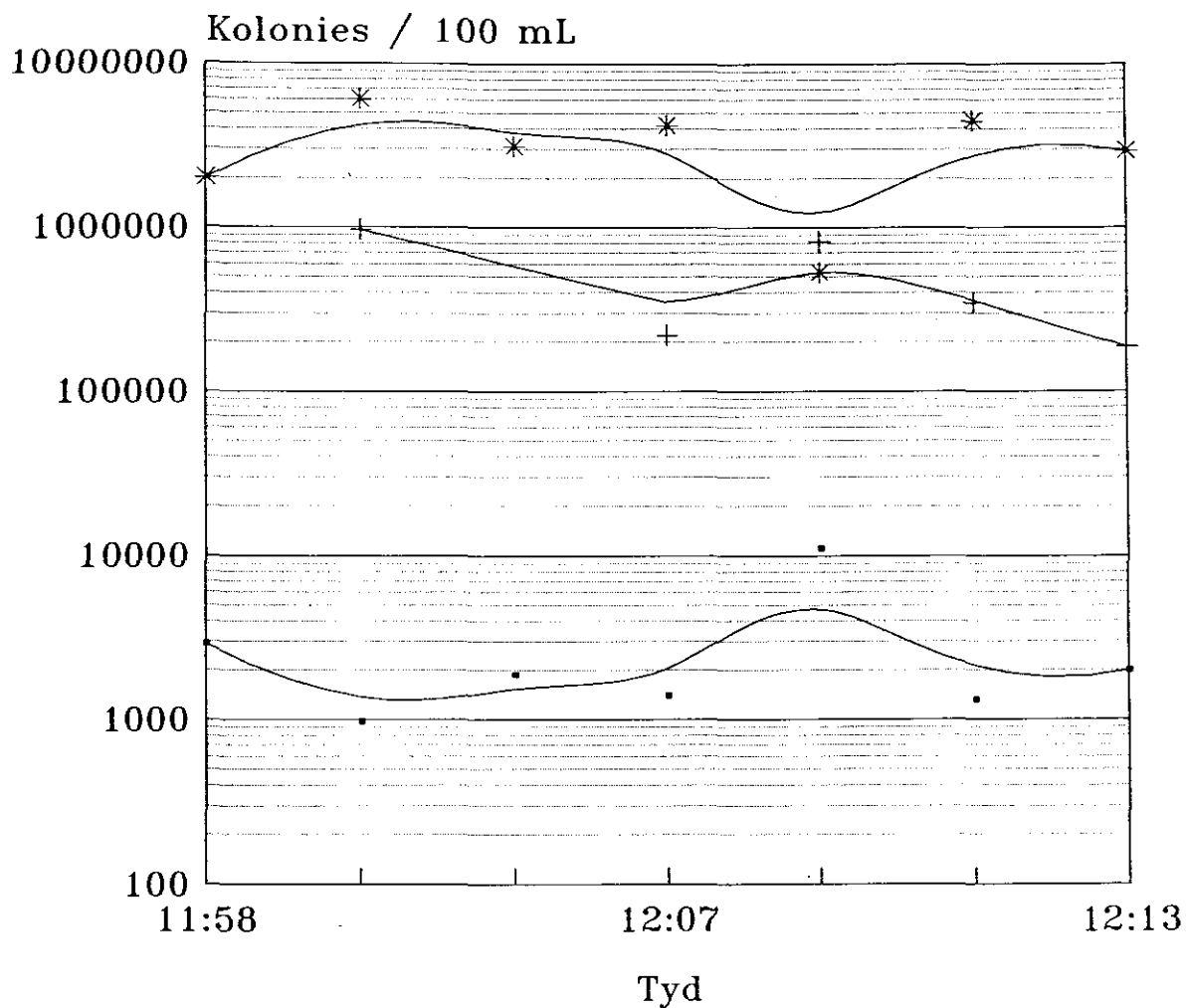
Fekale kolivorme



FIGUUR 15: VERSPREIDING VAN FEKALE KOLIVORME OP 10 m DIEPTE NA VERDUNNING BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT

EKSPERIMENT SES

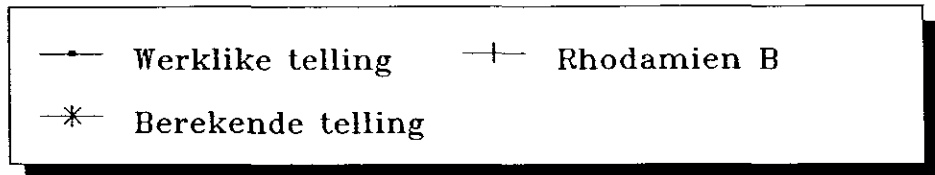
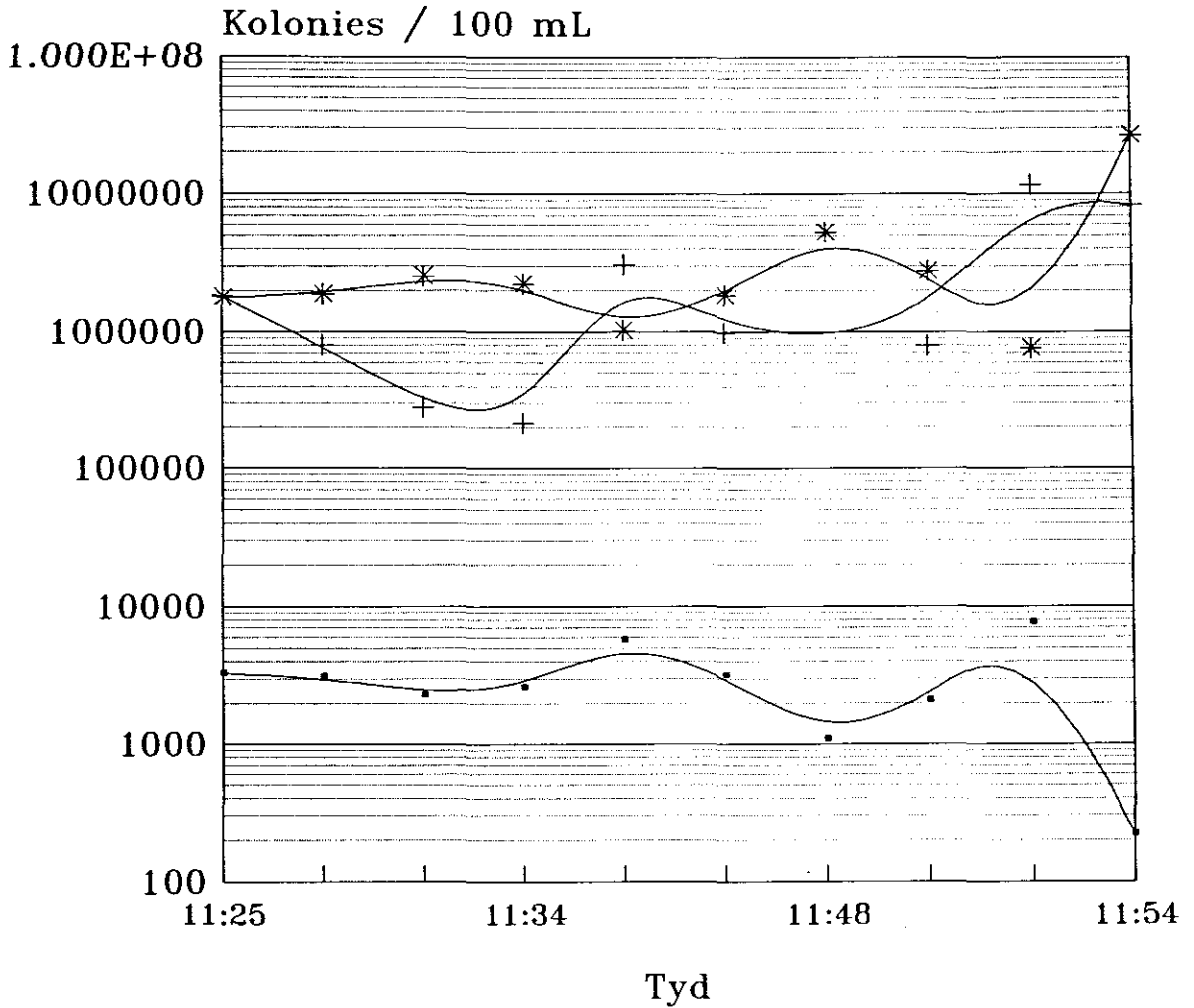
Fekale kolivorme



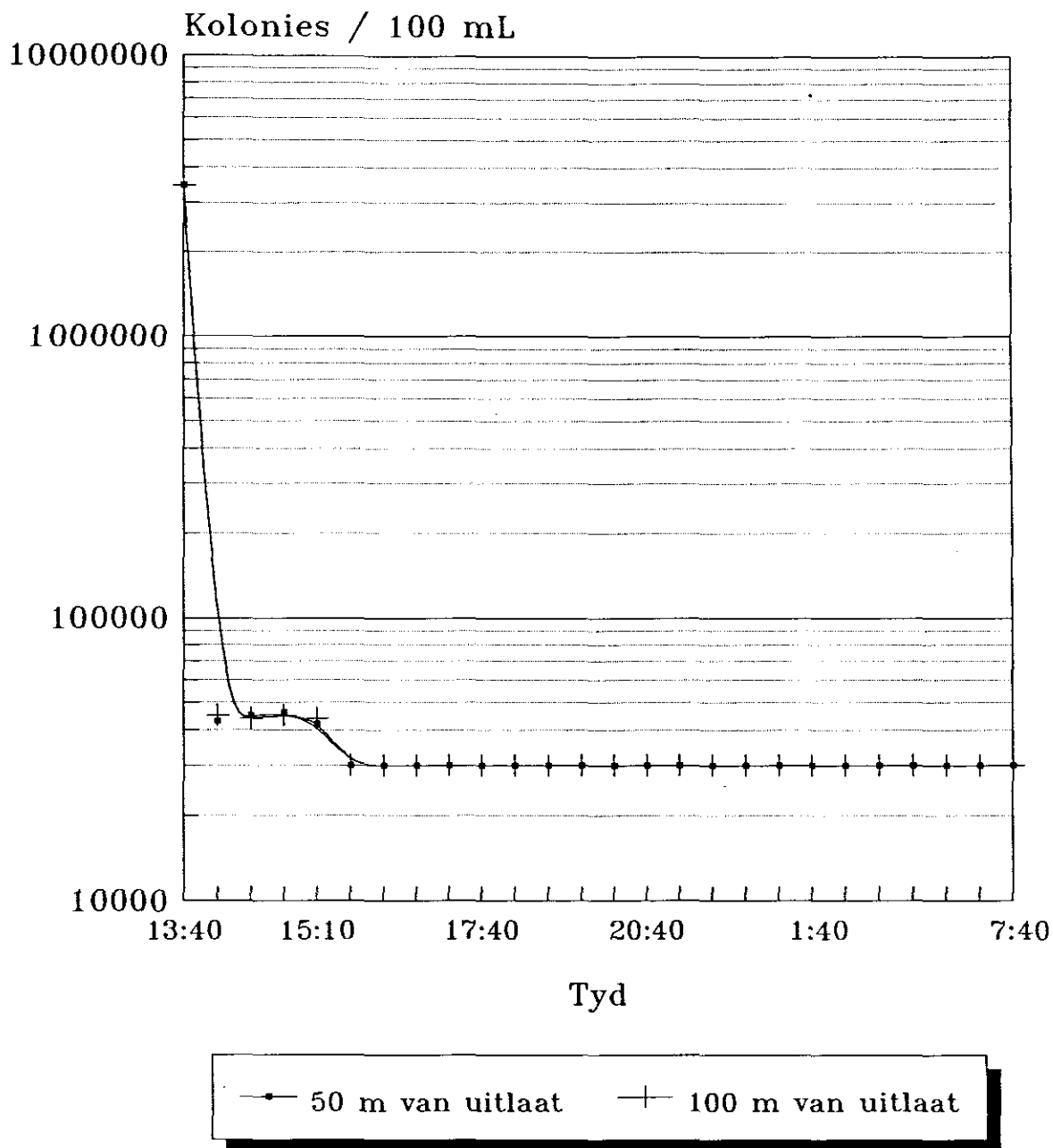
—•— Werklike telling —+— Rhodamien B
 —*— Berekende telling

FIGUUR 16: VERSPREIDING VAN FEKALE KOLIVORME OP 15 m DIEPTE NA VERDUNNING BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT

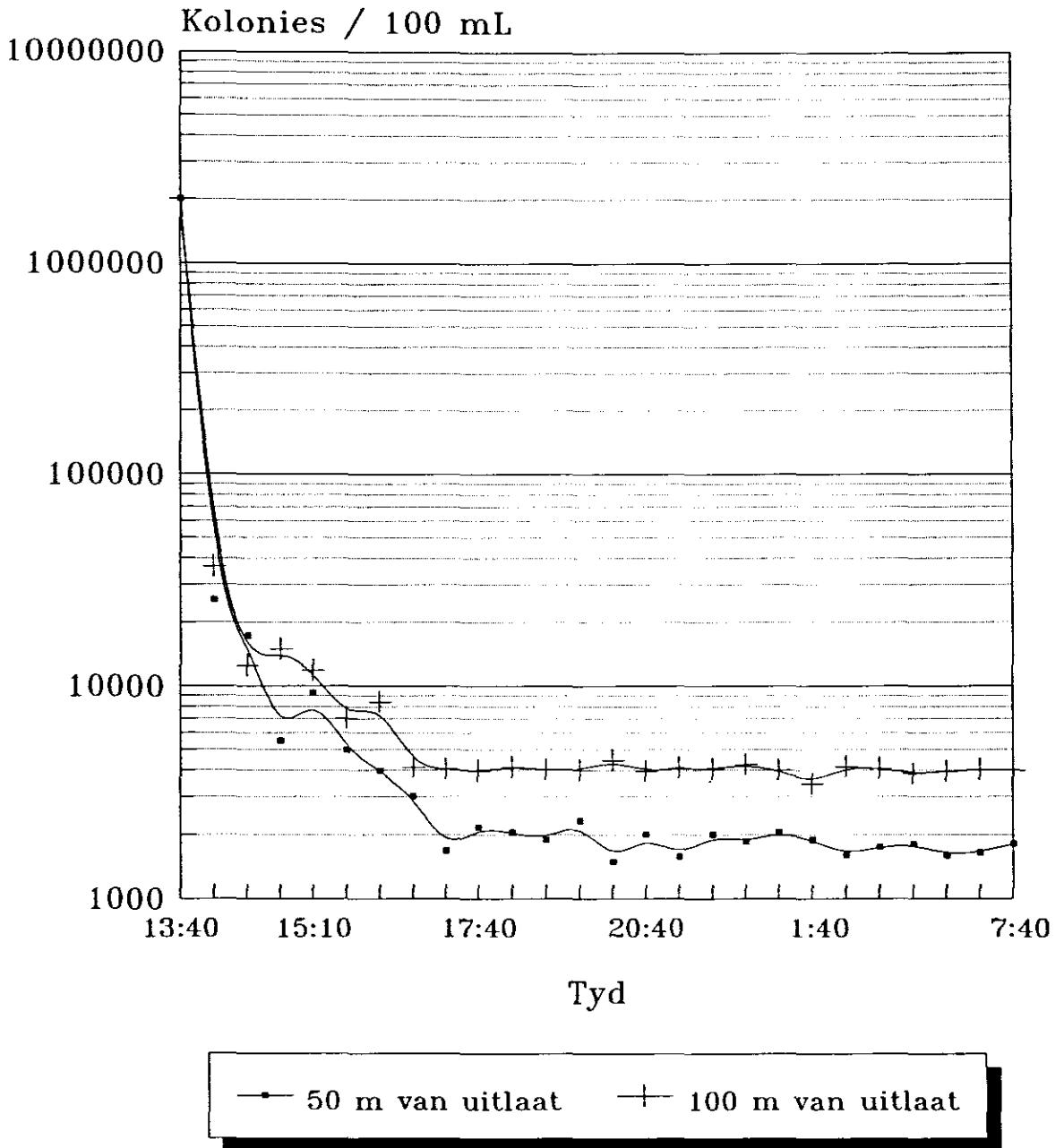
EKSPERIMENT SES
Fekale kolivorme



FIGUUR 17: VERSPREIDING VAN FEKALE KOLIVORME OP 20 m DIEPTE NA VERDUNNING BY 'n AFLANDIGE SEEUITLAAT

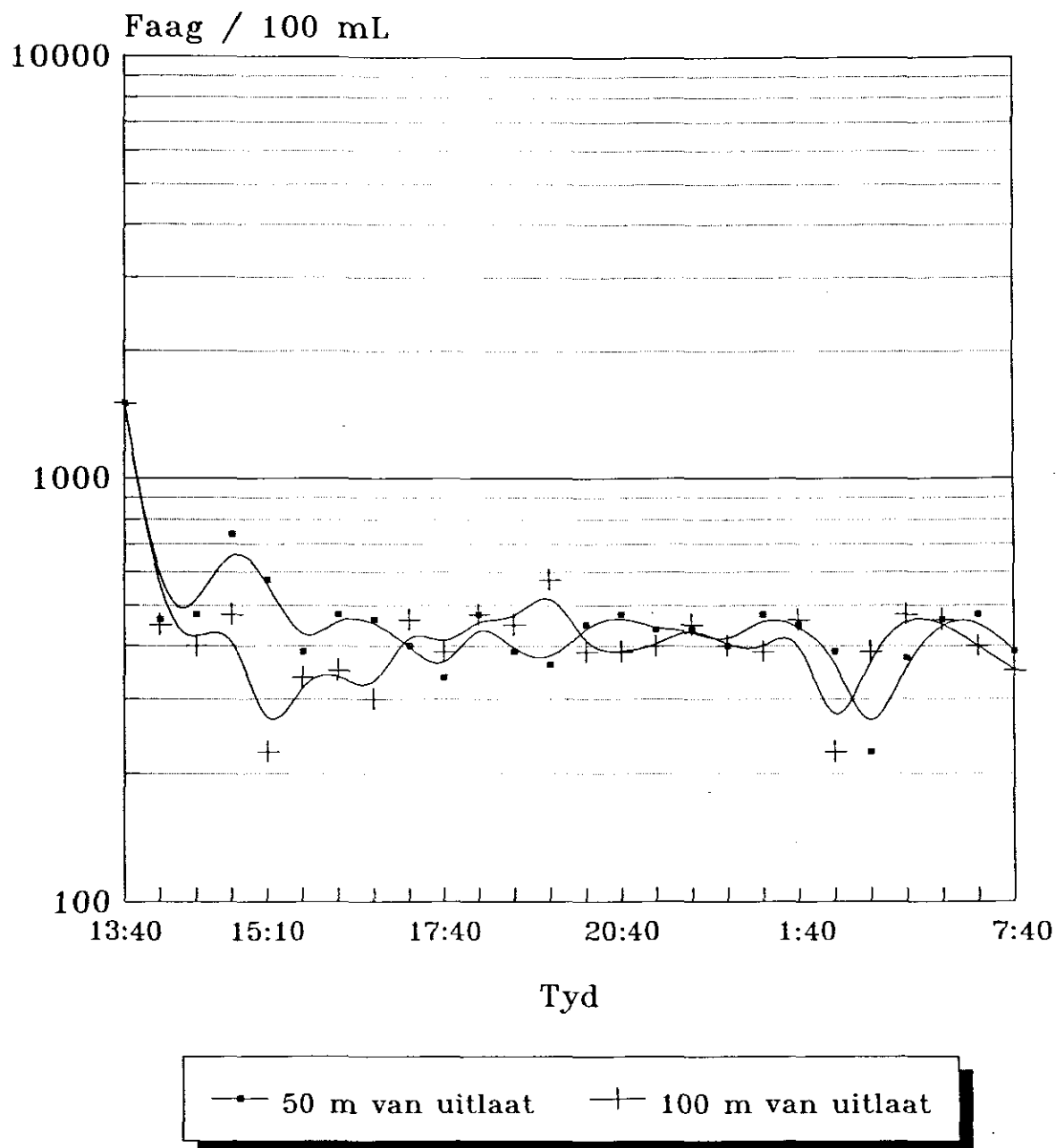
EKSPERIMENT SEWE
Fekale kolivormeFIGUUR 18: AFSTERWE VAN FEKALE KOLIVORME
NA BRANDERSONE VERDUNNING

EKSPERIMENT SEWE
Fekale streptococci



FIGUUR 19: AFSTERWE VAN FEKALE
STREPTOCOCCI NA BRANDERSONE VERDUNNING

EKSPERIMENT SEWE
Kolifaag



FIGUUR 20: AFSTERWE VAN KOLIFAAG
NA BRANDERSONE VERDUNNING