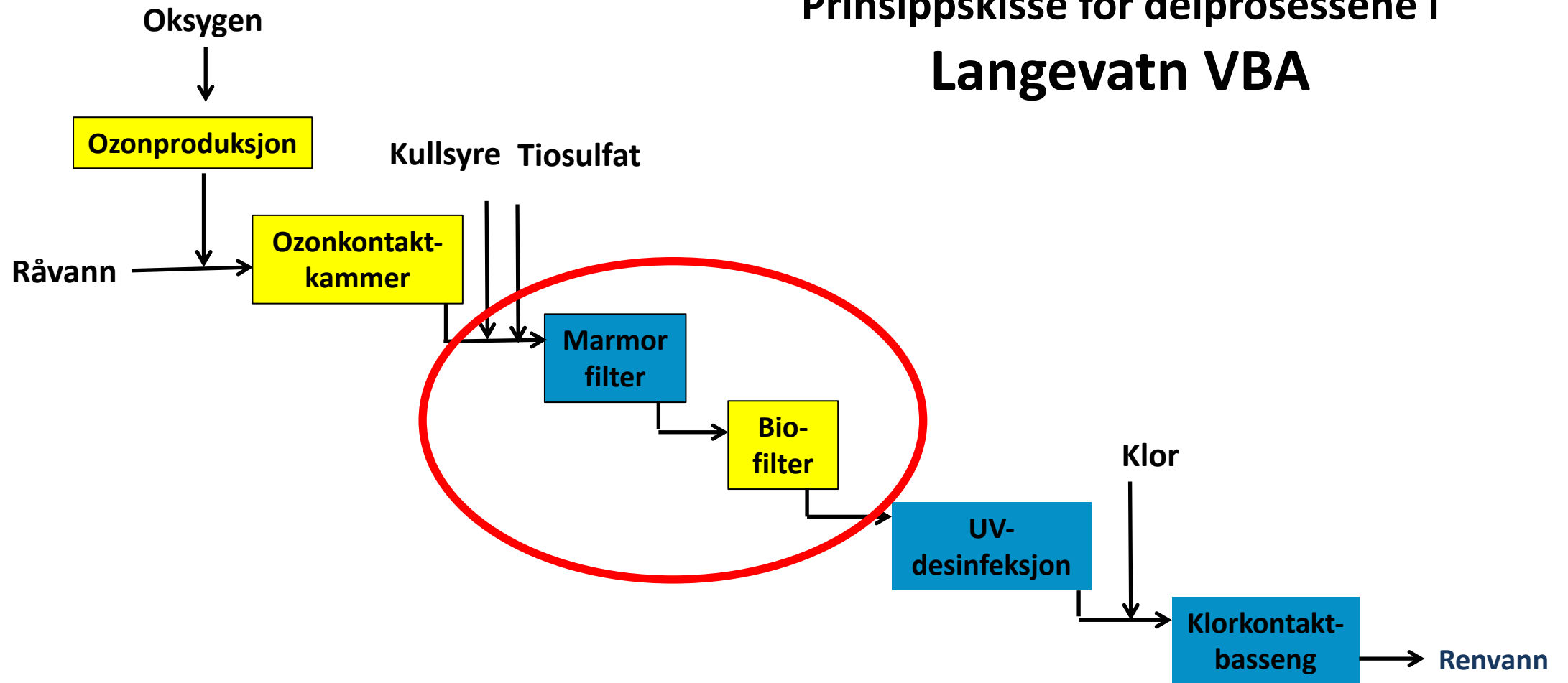


Forsøk for å kartlegge  
hygieniske barrierer i  
alkalisk- og biologisk filter  
på IVARs anlegg

Unni Synnøve Lea

# Prinsippskisse for delprosessene i Langevatn VBA

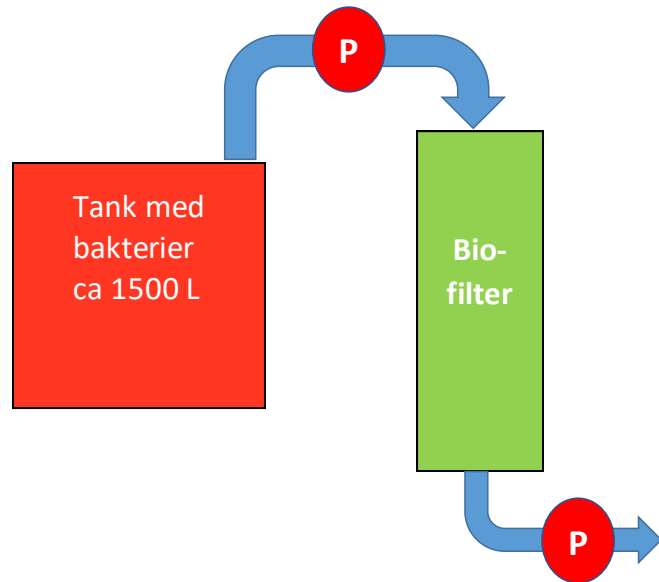


# Ønsker et bilde av barrieren hvert filter bidrar med i prosessen

- Ser på forskjell på inn og ut av filtrere
  - Log-reduksjon =  $\log(\text{inn}/\text{ut})$
- IVAR ønsket å teste med enkle dyrkingsmetoder
  - Har et pilotanlegg som egner seg for testing
  - Må ha et høyt og målbart utgangspunkt og målbart resultat til slutt for å kunne bestemme en reduksjon

# Innledende forsøk i biofilter reduksjon testet med E.coli

## Forsøksoppsett



- Materiale
  - Sauemøkk
- Ulike oppholdstider
  - 0,5 t oppholdstid
  - 1 t oppholdstid

Prøve-  
materiale



Overføres  
til tank



Pumpes til  
kolonne



Prøvetaking  
inn og ut av  
kolonne



Analyse



Resultat



# Test materiale

## Sauemøkk

- Problem med fiber-rester i kolonnen
  - Lite reproduerbare resultater (individ og fôr)
- ikke egnet i videre forsøk**

Videre forsøk utføres med renkulturer av

E.coli ATCC 25922 og Enterococcus faecium

Begge er i sikkerhetsklasse 1

# Log reduksjon av E.Coli ved ulik oppholdstid

## 0,5 t oppholdstid

Forsøk	Biofilm 0 uker	Biofilm 4 uker
B008	0,24	
B009		0,19

## 1 t oppholdstid

Forsøk	Biofilm 1 uke	Biofilm 2 uker
B004	0,76	
B005		0,85
B007	0,45	

Log-reduksjonen øker med oppholdstid.

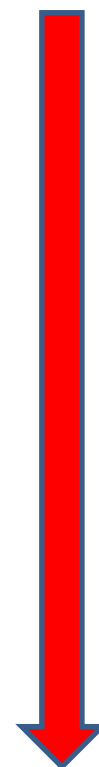
Vårt anlegg vil ha 1 times oppholdstid → Videre forsøk utføres med 1 times oppholdstid.

# Log reduksjon ved Enterococcus faecium

Forsøk	Biofilm 0 uker	Biofilm 1 uker	Biofilm 2 uker	Biofilm 3 uker	Biofilm 5 uker	Temp
B011					1,51	(mai) 6,9
B012	1,02					7,3
B013			1,5	1,31		8,0
B014					1,53	11,6
B015	0,98					11,7
B016			2,09	1,92		13,0
B017					2,05	15,1
B018	1,35					15,1
B019			2,25			15,3
B020			2,14	0,64		15,0
B021					1,42	15,2
B022					2,89	(sept) 13,1
<b>Snitt</b>	<b>1,12</b>			<b>1,55</b>	<b>2,16</b>	

Log-reduksjon øker med alder på biofilm  
Størst endring fra 0 til 3 uker gammel biofilm

Log-reduksjon øker med vanntemperatur(?)





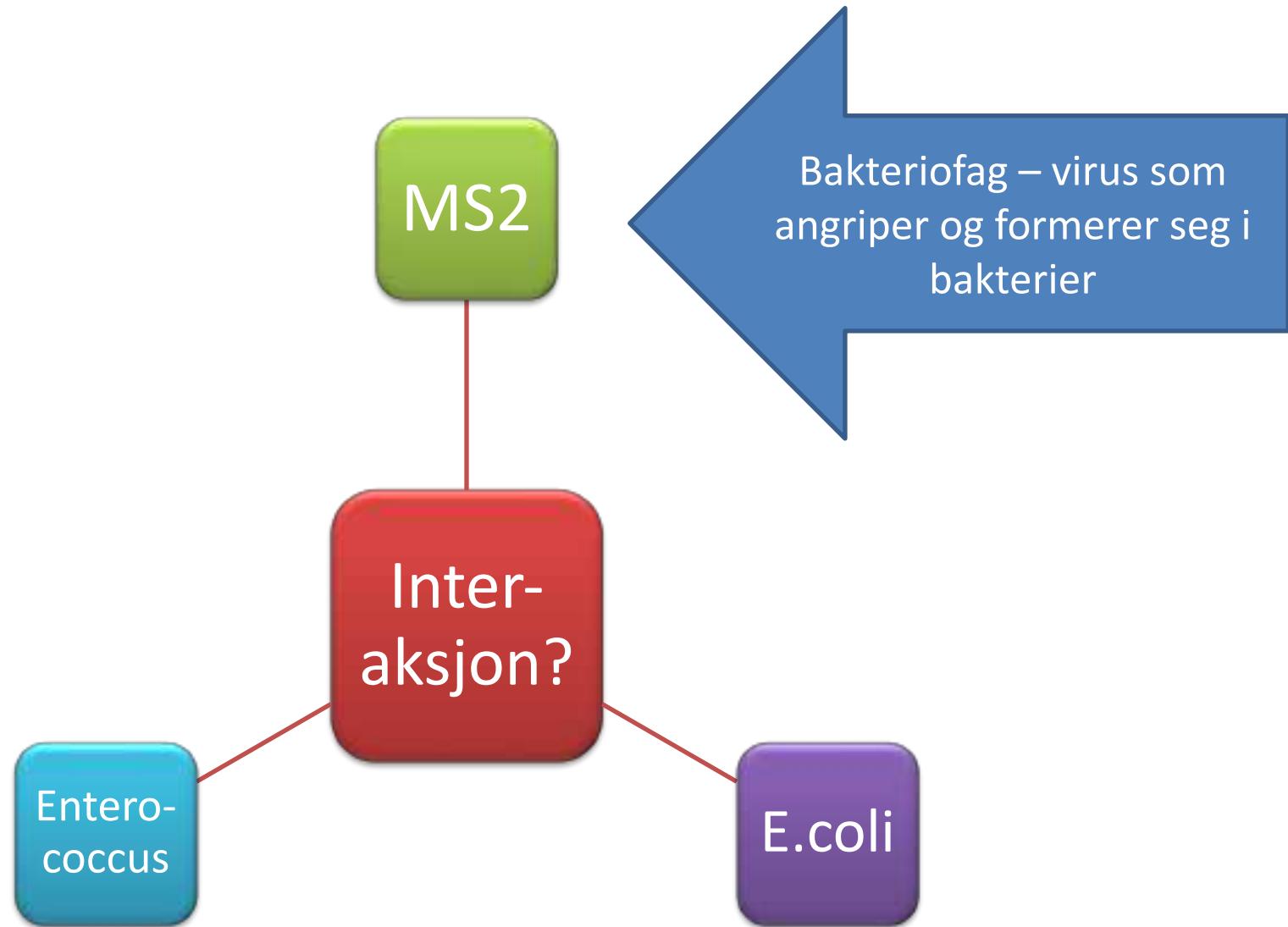
# Test materiale

1. E.coli ATCC 25922
  - Gir log-reduksjon
  - Reproduserbare resultat
  - **egnet i videre forsøk**
2. Enterococcus faecium
  - Gir log-reduksjon
  - Reproduserbare resultat
  - **egnet i videre forsøk**

# Videre arbeid



- Uttak etter 0, 1 og 3 uker
- Sjekke om vi får log-red over alkalisk filter og biofilter
  - blandetank → alkalisk filter → biofilter
- Teste **cocktail** av E.coli, Enterococcus og bakteriofagen MS2



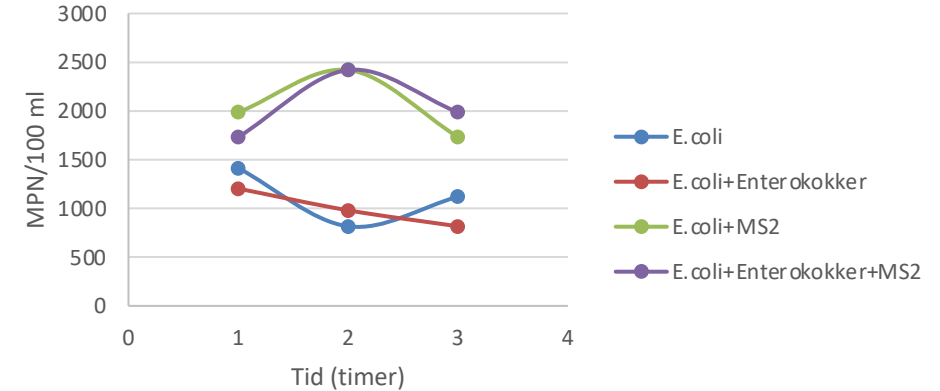
# Test av interaksjon

## Kombinasjoner

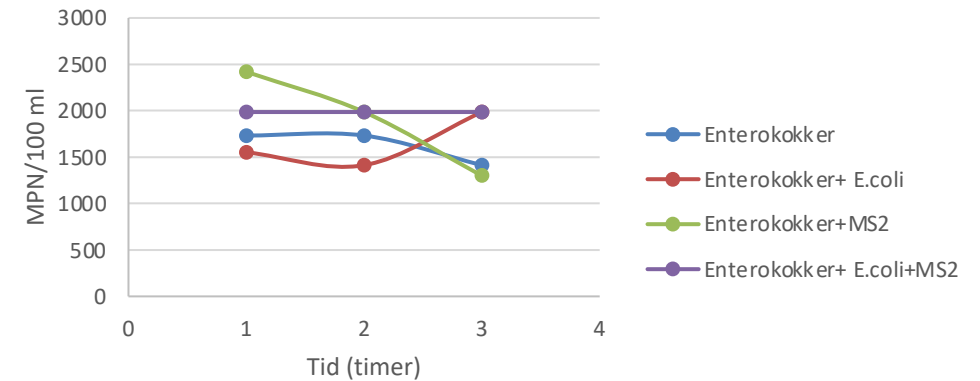
1. Blank
2. E.coli
3. Enterokokker
4. MS2
5. E.coli+Enterokokker
6. E.coli+MS2
7. Enterokokker+MS2
8. E.coli+Enterokokker+MS2

✓ Ingen interaksjon mellom organismene

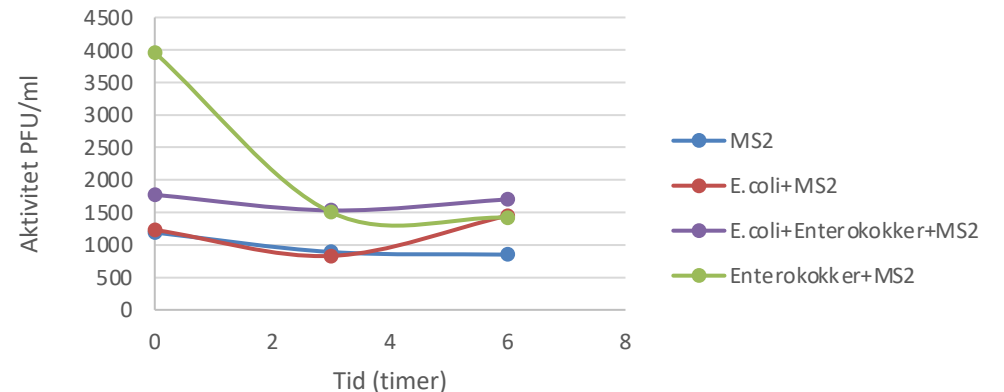
E.coli-aktivitet i komb. med Enterokokker og MS2



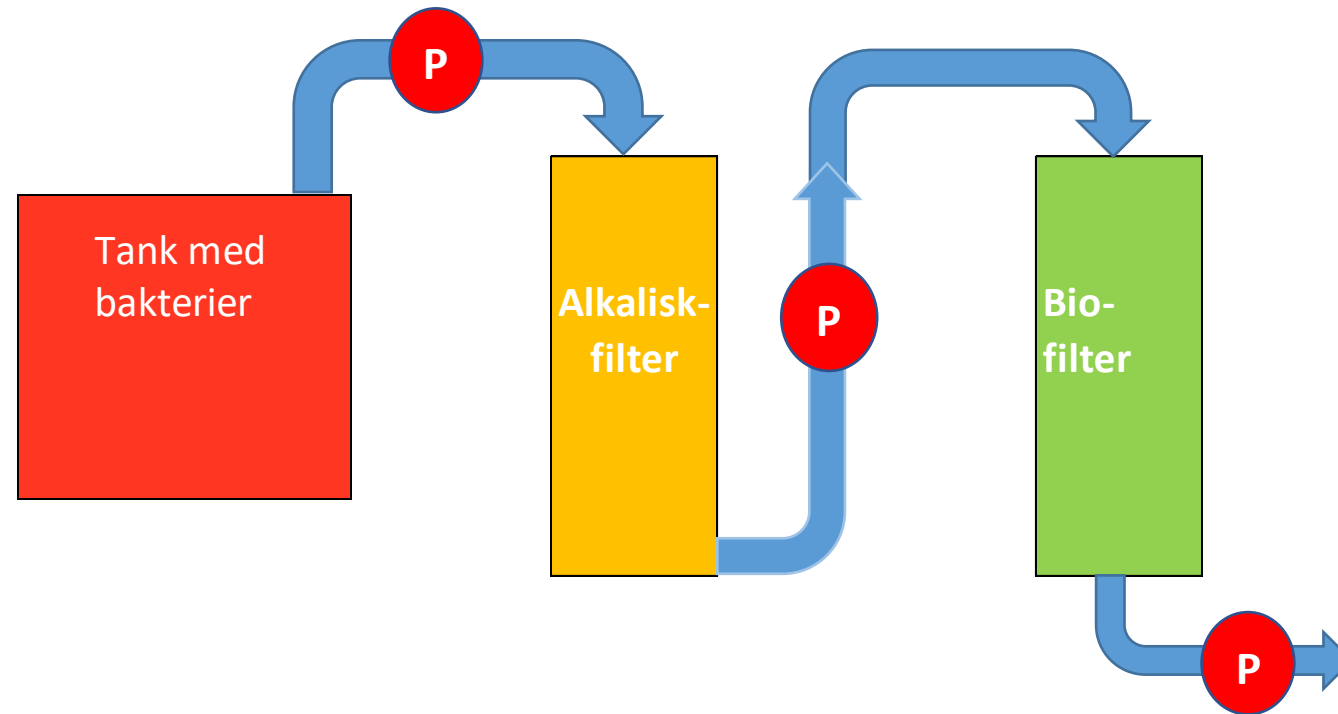
Enterokokk-aktivitet i komb. med E.coli og MS2



Aktivitet av MS2 i komb. med E.coli og Enterokokker



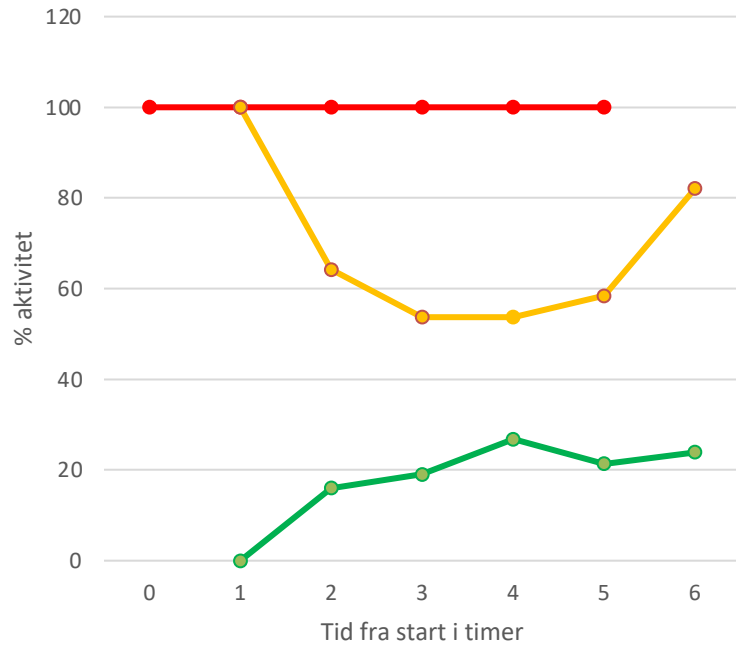
# Nytt pilotoppsett



- Mikroorganismekoktail blandes i alkalisert vann i tank
- Oppholdstid i alkalisk filter beregnet til ca 0,5 t
- Oppholdstid i biofilter beregnet til ca 1 t

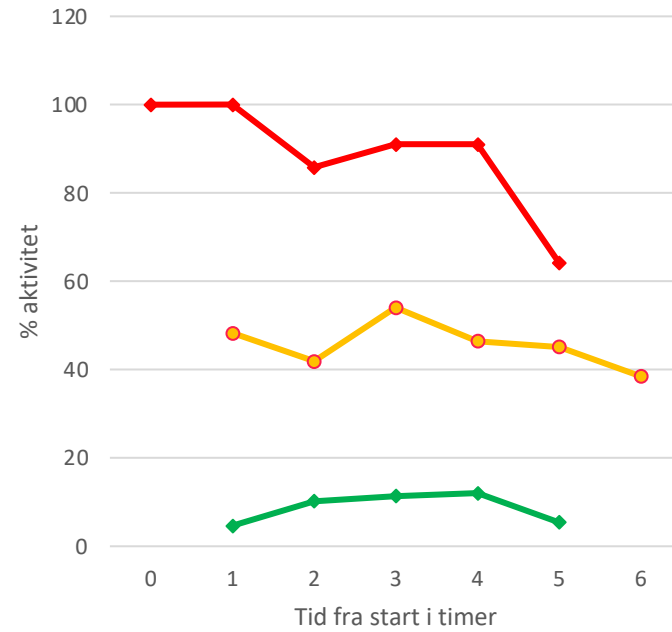
# E.coli

E.coli, nyspylte kolonner, n=2



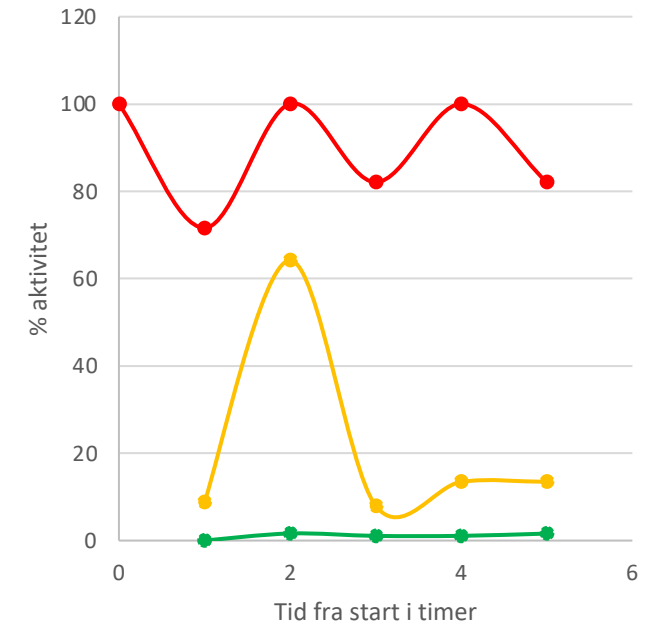
● Tank ● Alkalisk ● Biofilter

E.coli, 1 uke gammel biofilm n=2



● Tank ● Alkalisk ● Biofilter

E.coli, 3 uker gammel biofilm n=1



● Tank ● Alkalisk ● Biofilter

# Log-reduksjon av E.Coli

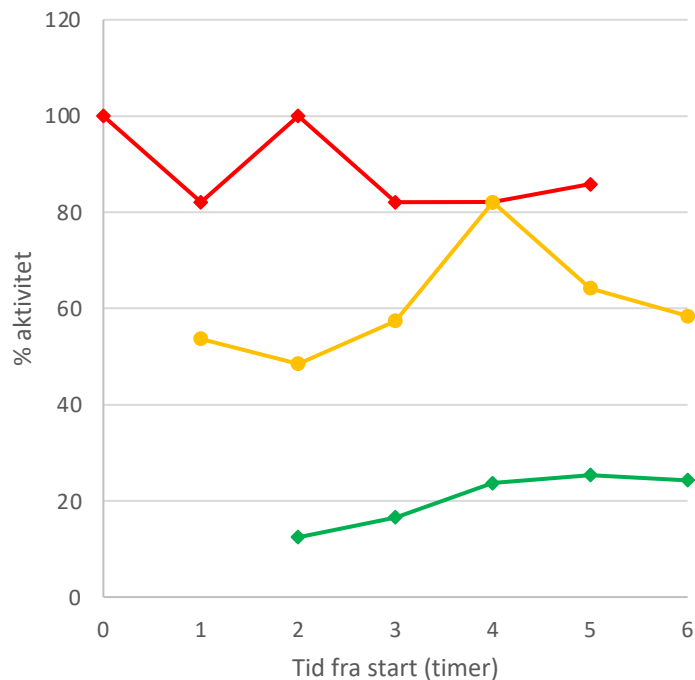
	Nyspylt (n=2)	1 uke gammel biofilm (n=2)	3 uker gammel biofilm (n=1)
Alkalisk filter (T/A)	0,18	0,30	0,77
Biofilter (A/B)	0,48	0,77	1,08
Totalt (T/B)	0,55	1,07	1,82



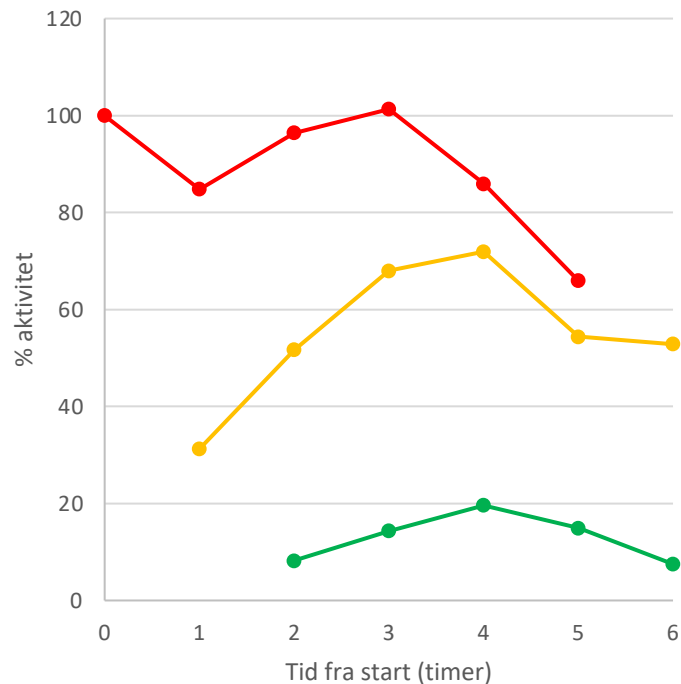
1. Økende log-reduksjon over tid
2. Biofilter fjerner bedre E.coli enn alkalisk filter

# Enterokokker

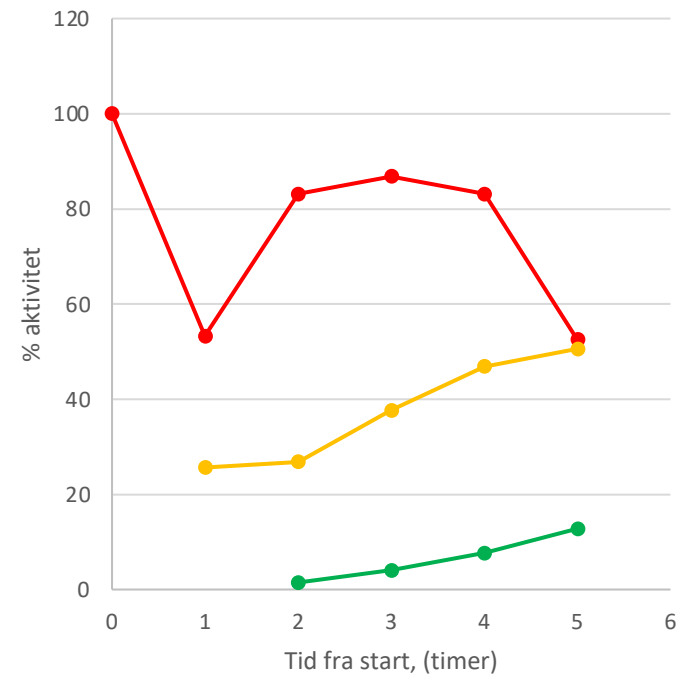
nyspylt kolonne n=3



1 uke gammel biofilm n=3



3 uker gammel biofilm, n=3



—●— Tank    —●— Alkalisik    —●— Biofilter

—●— Tank    —●— Alkalisik    —●— Bio

—●— Tank    —●— Alkalisik    —●— Biofilter

- Økende tilbakeholding av Enterokokker med biofilmalder



# Log-reduksjon for Enterococcus faecium

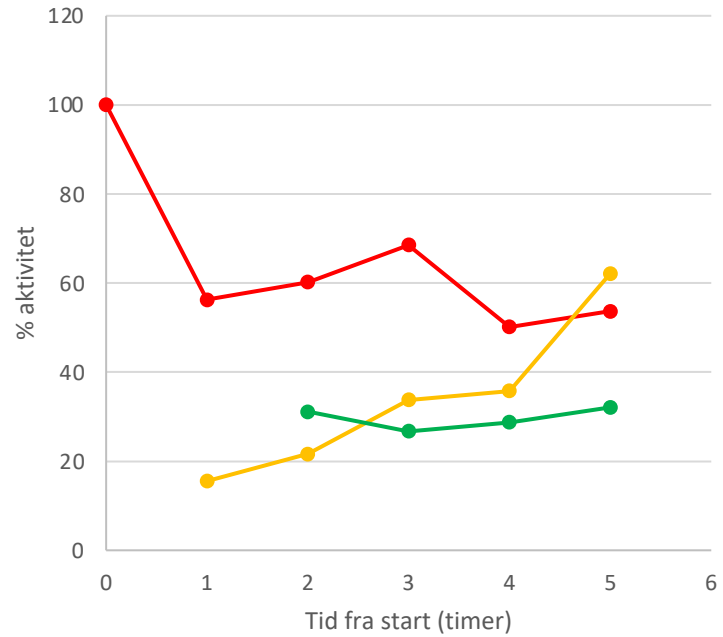
	Nyspylt (n=3)	1 uke gammel biofilm (n=3)	3 uker gammel biofilm (n=3)
Alkalisk filter (T/A)	0,19	0,32	0,65
Biofilter (A/B)	0,50	0,96	1,39
Totalt (T/B)	0,68	1,29	2,06



1. Økende log-reduksjon over tid
2. Biofilter fjerner bedre Enterococcus faecium enn alkalisk filter

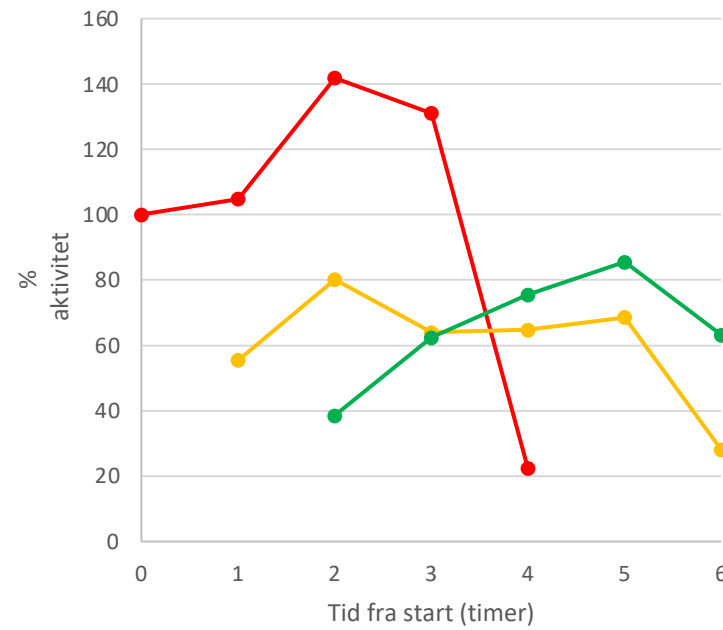
# MS2

nyspylt kolonne n=2



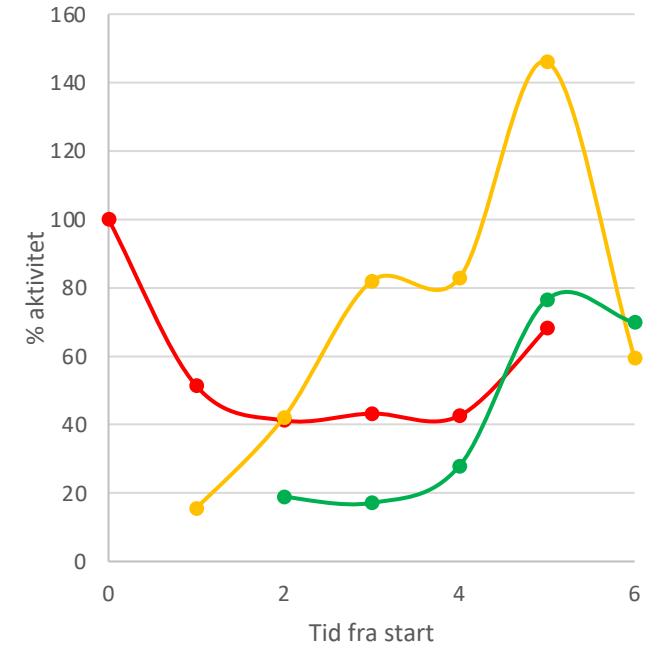
—●— Tank    —●— Alkalisk    —●— Biofilter

1 uke gammel biofilm n=1



—●— Tank S1    —●— Alkalisk S1    —●— Biofilter S1

3 uker gammel biofilm n=1



—●— Tank S1    —●— Alkalisk S1    —●— Biofilter S1

# MS2

	Nyspylt	1 uke gammel biofilm*	3 uker gammel biofilm
Alkalisk filter (T/A)	0,25	0,11	0,24
Biofilter (A/B)	0,38	0,02	0,23
Totalt (T/B)	$(0,38+0,68)/2=0,53$	0,13	0,87

\* Korrigert 1 prøve-verdi



1. Ser ikke sammenheng mellom log-reduksjon og alder på biofilm.
2. Ser ikke forskjell mellom log-reduksjon over alkalisk- og biofilter.

# Teori mot Langevatn funn

## Data fra litteraturen

	Bakterier	Virus
Alkalisk filter	0,50	0,25
Biofilter	0,5	0,25

## Våre funn- 3 uker gammel biofilm

	Snitt av E.coli og Enterokokker	MS2
Alkalisk filter	$(0,77+0,65)/2 =$ <b>0,71</b>	0,24
Biofilter	$(1,08+1,39)/2 =$ <b>1,24</b>	0,23

# Teori mot Langevatn funn

## Data fra litteraturen

	Bakterier	Virus
Alkalisk filter	0,50	0,25
Biofilter	0,5	0,25

## Våre funn- 3 uke gammel biofilm

	Snitt av E.coli og Enterokokker	MS2
Alkalisk filter	$(0,77+0,65)/2 = 0,71$	0,24
Biofilter	$(1,08+1,39)/2 = 1,24$	0,23

# Teori mot Langevatn funn

## Data fra litteraturen

	Bakterier	Virus
Alkalisk filter	0,50	0,25
Biofilter	0,5	0,25

## Våre funn- 3 uker gammel biofilm

	Snitt av E.coli og Enterokokker	MS2
Alkalisk filter	$(0,77+0,65)/2 = 0,71$	0,24
Biofilter	$(1,08+1,39)/2 = 1,24$	0,23

### Foreløpig oppsummering:

Våre funn indikerer at log-reduksjonene gitt i litteraturen er

- lavere enn våre resultat for bakterier både over alkalisk- og biofilter
- er samme nivå som våre funn for virus

# Oppsummering



---

Sauemøkk gav varierende bakteriekonsentrasjoner

– uegnet til spiking-forsøk

---

Renkultur gav reproduerbare nivå og enklere forsøkgjennomføring

---

Ikke interaksjon mellom mikroorganismene

---

Log-reduksjon påvist for E.coli, Enterokokker og MS2

---

Ulik log-reduksjon oppnådd for virus og bakterier testet

---

E.Coli og Enterococcus har høyest log-reduksjon over biofilter

---

Høyere log-reduksjon for bakterier enn litteraturen viste spesielt biofilter

Takk for oppmerksomheten!





