

Vannbehandling som hygienisk barriere mot *Cryptosporidium*, *Giardia* og bakteriesporer

Av Kari S. Ormerod og Vidar Lund

Kari S. Ormerod og Vidar Lund er ansatt som forskere ved Nasjonalt folkehelseinstitutt, Oslo, i avdeling for vannhygiene

Innlegg på fagtreff 17. november 2003.

Sammendrag

Kravene som er fastsatt i veilederen til drikkevannsforskriften fra 4. desember 2001 (1), for effektive hygieniske barrierer mot innvollparasittene *Giardia* og *Cryptosporidium*, lar seg oppfylle med eksisterende behandlingsprosesser for drikkevann, både for forbehandlingsprosesser og desinfeksjon. For uønskede bakteriesporer kan en høy UV-dose bringe konsentrasjonen av levedyktige sporer ned til et akseptabelt nivå.

Problemorganismene

Giardia intestinalis og *Cryptosporidium parvum* er innvollparasitter som forårsaker diaré sykdom hos mennesker og pattedyr. Mot *Giardia* finnes medisin, men det kan ta lang tid å bli kvitt parasitten. Mot *Cryptosporidium* finnes det hittil ingen medisin, men hos mennesker med normalt immunforsvar går sykdommen over av seg selv. Begge parasittene finnes i lav konsentrasjon i norske vannkilder, inkludert drikkevannskilder (2), men hittil har det her

i landet ikke vært registrert drikkevannsrelaterte utbrudd der slike innvollparasitter er funnet som årsak til utbruddet. På den annen side er det først i de senere år at avføring fra diarépasienter som oppsøker lege, blir undersøkt for innhold av disse parasittene. Det samme var tilfelle med utbrudd som skyldtes Norovirus (Norwalk-liknede virus). Først etter at viruset kunne påvises ved elektronmikroskopering av pasienters avføring, ble Norovirus funnet som årsak til hyppige og store vannrelaterte diaréutbrudd. For best mulig beskyttelse mot de nevnte parasittene, bør pasienter med nedsatt immunforsvar unngå å få i seg ukokt vann.

Clostridium perfringens er en bakterie som finnes i menneskers avføring, men i lav konsentrasjon i forhold til tarmbakterien *Escherichia coli*, som er den vanligste indikatorbakterien for fekal forurensning. *C. perfringens* kan bare vokse i fravær av oksygen. Den har imidlertid evnen til å omgi sitt arvemateriale og andre viktige deler av sitt indre, med et meget motstandsdyktig " skall", når omgivelsene blir ugunstige for over-

leving. Vi kaller dette ”sporer”, og *C. perfringens* er en sporedannende bakterie. Sporedannende bakterier som bare vokser i fravær av oksygen har fått fellesnavnet *Clostridium*, mens sporedannende bakterier som lever i nærvær av oksygen har fått fellesnavnet *Bacillus*. Begge typer bakterier kan infisere mat, og hvis de får vokse i maten, gi opphav til ”matforgiftning”, som oftest gir kvalme og oppkast. *C. perfringens* er imidlertid tatt med som analyseparameter i drikkevannsforskriften fordi den er en tarmbakterie som overlever lenger etter utslipp til vannkilder enn fekalindikatorene *E. coli* og intestinale enterokokker, den er derfor en indikator for gammel fekal forurensning. En vannkilde som viser fravær av de to sist nevnte fekalindikatorene, men viser innhold av *C. perfringens*, kan, hvis *C. perfringens* er kommet fra avføring, likevel inneholde smittestoff som virus og innvollparasitter. I likhet med de sporedannende bakteriene er også virus omgitt av et motstandsdyktig ”skall”. De nevnte innvollparasittene danner overlevingsstadier med motstandsdyktige ”skall” før de forlater tarmen med avføringen. Overlevingsstadiene for *Giardia* kalles ”cyster”, og for *Cryptosporidium* ”oocyster”.

Det er enklere å analysere for innhold av *C. perfringens* enn for virus og innvollparasitter. Derfor er denne bakterien inkludert som fekalindikator i drikkevannsforskriften. Som nevnt er den indikator for slike sykdomsmikrober fra tarm som har lang overlevingstid i vann. Avføringen til tamme og ville pattedyr kan inneholde

både *C. perfringens* og de nevnte innvollparasittene, så bakterien kan også indikere forurensning med avføring fra slike dyr. Hvis en vannkilde mottar utslipp av kommunalt avløpsvann vil *C. perfringens* alltid finnes i vannet, men i en konsentrasjon som er avhengig av fortykning og avstand fra utslippspunktet. Det samme gjelder for sykdomsfremkallende virus og innvollparasitter, hvis avføring fra syke mennesker eller bærere av smittestoffet er inkludert i avløpsvannet. Tarmvirus gir som hovedregel vannoverført sykdom hos mennesker bare hvis det stammer fra mennesker, derfor vil forekomst av *C. perfringens* indikere tilstedeværelse av smittsomt virus bare hvis avføring fra mennesker er tilført vannkilden. *C. perfringens* er imidlertid også en forråtnelsesbakterie, som deltar i nedbrytningen av døde dyr, f. eks. døde ville dyr i nedbørfeltet til vannkilder. Den kan tilføres vannet fra slike kadavre.

I ”Veileder til drikkevannsforskriften” (2), § 12 Krav til kvalitet, underpunkt Mikrobiologi, står følgende setning:

”Funn av *Clostridium perfringens* større enn 0 per 100 ml **etter vannbehandlingen** skal avstedkomme en undersøkelse for å avklare om det foreligger en mulig helsefare pga. forekomst av humanpatogene mikroorganismer. Dersom konklusjonen blir at funn av *Clostridium perfringens* etter vannbehandlingen ikke kan assosieres med en mulig helsefare, så innebærer ikke påvisningen et brudd med forskriften.”

Dette kan skje dersom behand-

lingen f. eks. inneholder en desinfeksjonsprosess som uskadeliggjører virus og invollsparasitter, men ikke til samme grad sporeformende bakterier. Videre står det:

”Funn av *Clostridium perfringens* i råvannet er tilsvarende et signal om at man må utrede behovet for vannbehandling”.

Som nevnt i det foregående, må man alltid forvente funn av *C. perfringens* i en vannkilde som mottar utslipp av kommunalt avløpsvann. For slike vannkilder må man da alltid utrede behovet for vannbehandling.

”Reduksjon til akseptabelt nivå”

Før membranfiltreringens tid hadde man ikke prosesser som kunne fjerne alle uønskede partikler, deriblant smittestoff, fra drikkevann. Man måtte derfor sørge for at antall av eventuelle aktive smittestoff ble redusert til et konsentrasjonsnivå som gjorde det lite sannsynlig at noen ville bli syke av å drikke vannet. For drikkevann ble kravet at fekale indikatorer ikke skal påvises i 100 milliliters volum av ferdigprodusert drikkevann, samme når og hvor prøvene tas, og hvor mange prøver som analyseres. Drikkevannsforskriften angir i Tabell 4 ”Minimum årlig prøvetakingsfrekvens”. Frekvensen er avhengig av antall personer vannverket forsyner.

For å nå ned til et slikt akseptabelt nivå for alle slags komponenter man ikke ønsker i drikkevann, må drikkevannsforsyningen være sikret med minst to uavhengige hygieniske barrierer. En av disse er desinfeksjon. Den

andre kan være beskyttet nedbørfelt eller en vannbehandlingsprosess eller en kombinasjon av flere prosesser. Vannet må ikke inneholde noe som kan svekke desinfeksjonen. De vanligste betingelser er at farge og turbiditet må reduseres til et akseptabelt nivå. Veilederen til drikkevannsforskriften angir under § 14, ”Vannkilde og vannbehandling”, underpunkt ”Vannbehandling som hygienisk barriere”, hvilke krav som stilles til forskjellige vannbehandlingsprosesser for at de skal være en fullstendig hygienisk barriere mot uønskede mikrober. I denne sammenheng står det generelt at den enkelte vannbehandlingsmetode bør inaktivere bakterier og virus med minimum 99,9 % (3-log) og eventuelle parasitter med 99 % (2-log), for å bli betraktet som en hygienisk barriere. I all litteratur om inaktivering eller fjerning av mikrober er det snakk om antall ”log-reduksjoner” for å redusere antallet mikrober til et akseptabelt konsentrasjonsnivå. Hva dette innebærer skal forklares i det etterfølgende.

Om log-reduksjoner

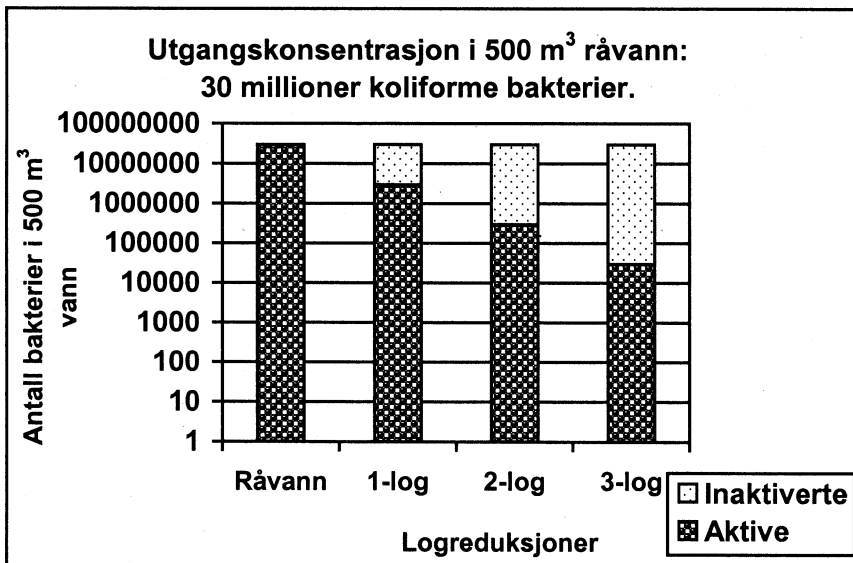
Før de foran nevnte invollsparasitter ble oppdaget som årsak til drikkevannsrelaterte sykdomsutbrudd, var klor det mest brukte desinfeksjonsmiddel for drikkevann. Det opprinnelige kravet til desinfisert vann var, som før nevnt, at koliforme bakterier ikke skulle påvises i 100 ml ferdig desinfisert vann. Dette ble oppnådd ved å sørge for at mikrobene i vannet hadde vært i kontakt med klor i vannet i minimum en halv time. I praksis ble dette utført ved å tilsette

nok klor til at vannet fremdeles inneholdt fritt klor, minimum 0,05 mg/l, etter minimum 30 minutter. Hvis vannkilden og dens nedbørfelt ble tilstrekkelig beskyttet mot forurensning fra mennesker og husdyr, var en slik desinfeksjonsprosess ansett som tilstrekkelig til å redusere tilfeldig fekal forurensning fra ville dyr til et akseptabelt nivå.

Den opprinnelig benyttede analysemetoden for koliforme bakterier var en såkalt rørmetode, der flere rør med bestemte volum av vannet ble testet for innhold av koliforme bakterier, og hvis noen av rørene viste at bakteriene var tilstede, ble den mest sannsynlige konsentrasjonen (Most Probable Number, MPN) i vannkilden bestemt fra en tilhørende statistisk tabell. I moderne versjon av denne teknikken benyttes nå, for drikkevann, 10 rør hvert med 10 ml vann, slik at hele 100 ml av vannet blir analysert. Hvis råvann analyseres etter denne teknikken, og hvis ett av rørene viser positiv respons, angir tabell 2 i Norsk standard NS 4790 Del 1 (4), at vannet mest sannsynlig inneholdt 1,1 koliforme bakterier per 100 ml (MPN-indeks), med et 95 % konfidensintervall på fra 0,03 til 5,6 bakterier/100 ml. Dette betyr, at hvis vi med en såkalt membranfiltermetode, som anvendes mest i dag, analyserer 100 volum á 100 ml av dette vannet, er det mest sannsynlig at vi i 95 av disse prøvene vil finne fra 0 til 6 koliforme bakterier per prøve, mens maksimum 5 prøver vil vise andre verdier. En drikkevannskilde med beskyttet nedbørfelt, lav farge og turbiditet og et innhold av koliforme bakterier på

dette nivå har hittil, før sporeformere og parasittcyster ble tatt med i vurderingen, kunnet bli benyttet med bare desinfeksjon som vannbehandlingsprosess. Desinfeksjonen ville da inaktivere eventuelle uønskede bakterier og virus med minst 3 logreduksjoner.

I det etterfølgende setter vi maksimum 6 koliforme bakterier per 100 ml som øvre grense for et råvann som bare skal desinfiseres, og beregner hva dette vil dreie seg om for et norsk vannverk som forsyner 1000 personer med drikkevann. På grunnlag av Folkehelseinstituttets vannverksregister har vi funnet at den gjennomsnittlige døgnproduksjonen ved et slikt vannverk er 500 m³, og at det delvolum som benyttes til husholdninger utgjør 180 liter per person per døgn. Figur 1 demonstrerer antall aktive koliforme bakterier i 500 m³ av råvannet, og det nivå man kommer ned til etter at desinfeksjonsprosessen har gitt 3 log¹⁰ reduksjoner i antall bakterier. For hver log-reduksjon (10 er grunntallet) blir konsentrasjonsnivået dividert med 10. Med det resterende nivå på 30.000 aktive koliforme bakterier i 500 m³ ferdig produsert drikkevann, vil hver person teoretisk bare motta 0,1 slike bakterier i sin daglige porsjon på 180 liter vann, eller 1 levende bakterie i løpet av 10 døgn. Dette er konsentrasjonsnivået etter 3 log-reduksjon, og regnes som akseptabelt nivå. Alle 30 millioner bakterier er fremdeles tilstede, men bare maksimum 30.000 av dem forventes å være aktive/levende.



Figur 1. Illustrasjon av opptil 3-logs inaktivering av koliforme bakterier ved desinfeksjon, fra et nivå på 6 bakterier/ 100 ml i råvannet.

Hygieniske barrierer ved vannbehandling.

Så godt som all publisert litteratur om fjerning/inaktivering av parasittcyster er basert på forsøk utført i forsøksanlegg ("pilot plants"). Grunnen er at det er vanskelig å produsere så store mengder cyster at log-reduksjoner kan fastsettes i fullskala-anlegg, og at det er meget arbeidskrevende å analysere store volum av behandlet vann for innhold av eventuelle parasittcyster. Bakterier og dyrkbare vira kan produseres i store kvanta, men man ønsker ikke å tilsette slike mikrober i anlegg som produserer drikkevann. Derfor utføres også forsøk med slike organismer i forsøksanlegg. I slike anlegg er det også lettere å holde forholdene konstant under hele undersøkelsesperioden, og å gjøre ønskede forandringer i prosessen under full kontroll.

Vannbehandlingsprosesser

1. Filtrering

1.1 Hurtigfiltrering.

Diverse undersøkelser har vist at generell hurtigfiltrering gir mindre enn 1 log-reduksjon i antall bakterier og parasittcyster: Teknikkene som var nevnt var:

Mikrosil med maskevidde 10-60 µm (mikrometer), hurtige sandfiltre og alkalisk filtre (marmorfiltre). Ionebytteranlegg for fjerning av humus (farge) var ikke nevnt i den gjennomførte litteratur, men må antas å tilhøre samme kategori.

1.2 Sakte sandfiltrering

Denne prosessen har vært undersøkt både i fullskala anlegg og i forsøksanlegg. En undersøkelse i fullskala-

anlegg baserte seg på de mikrobene som fantes i råvannet (5). Denne undersøkelsen ble utført i Canada i årene 1986 – 1988 under forhold med is og snø om vinteren slik som her i landet. Antall koliforme bakterier i råvannet om sommeren kunne ofte komme opp i 200-400 per 100 ml; noen ganger helt opp mot 1000/ml. Antall termotolerante koliforme var for lavt til å få 1 logs reduksjon av disse. Det var imidlertid sjelden passasje av koliforme bakterier ut fra filterene, derfor måtte logreduksjonene angis som ”større enn” (>) verdier. I perioden da antall koliforme bakterier i råvannet lå innen området 100 – 400 per 100 ml fant de logreduksjoner større enn 1,7 til 2,2, som kan angis som > 2. Ved to tilfeller, der det i 100 ml råvann ble funnet 920 koliforme bakterier, passerte i det ene tilfellet ingen koliforme bakterier filteret, slik at resultatet ble > 2,7 logreduksjoner, men det i det andre tilfelle passerte 40 koliforme/100 ml, slik at logreduksjonen bare ble på 1,4. **Bakteriesporer** har stort sett samme størrelse som aktive bakterier, og det forventes derfor samme reduksjon for disse som for de koliforme bakteriene. Det vil si, i fullskala sakte sandfiltre i regulær bruk kan det være opp til 2 logs (99,%) reduksjon, men lavere reduksjon forekommer fra tid til annen. De sporeformende *Bacillus*- og *Clostridium*-bakteriene forårsaker ikke sykdom direkte ved at vann drikkes, men først når de får formere seg i matvarer som vi spiser. Konsekvensen ved at de sporadisk passerer filteret, og ikke blir redusert ved etterfølgende desinfisering, er derfor ikke så alvorlig som

om dette var smittestoff som forårsaker sykdom selv når bare få bakterier finnes i vann som blir drukket.

Sakte sandfiltrering er hittil blitt regnet som en fullstendig hygienisk barriere mot smittestoff som virus og bakterier, det vil si, man antar at behandlingen fyller kravet om 3-logs reduksjon av denne type smittestoff. Denne undersøkelsen, som ble utført i løpet av en toårsperiode med gunstige forhold i sommerhalvåret, men med is og snø på filteret om vinteren, viser at dette ikke alltid er tilfelle.

Den samme undersøkelsen inkluderte også reduksjon i innholdet av *Cryptosporidium*- og *Giardia*-cyster. Innholdet av disse i råvannet var lavt, men cystene var kontinuerlig tilstede. I 67 prøver av filtrert vann tatt i 2-årsperioden viste kun 9 prøver at *Giardia*-cyster hadde passert filteret (13%), mens tilsvarende for *Cryptosporidium*-ocyster var 37 prøver med innhold av parasitten (55%). I to forsøk på bestemmelse av reduksjonsgrad ved samtidig analyse av råvann og filtrert vann, lå innholdet av *Giardia* i snitt på ca. 30 per 10 liter råvann, og disse ble redusert til 2/10 liter i filtrert vann. Dette utgjør 89% reduksjon, men bare 0,14 logreduksjoner. For *Cryptosporidium* ocyster var innholdet i snitt ca. 8 per 10 liter i råvannet og ca. 4 i filtrert vann, en reduksjon på bare 50%. Disse forsøkene ble utført i mars og april, da biofiltreringen ikke var så effektiv som i sommerperioden. Dette var, som før nevnt, undersøkelser utført i løpet av 21 måneder ved sakte sandfiltrering i et anlegg under normal

drift for produksjon av drikkevann, i et klima som tilsvarer den sørlige delen av Norge. **Ved dette anlegget tilfredstilte langsomfilteret ikke kravet til 2-logs reduksjon (99 %) av parasittcyster.**

I vannforsyningen til London har sandfiltrering vært i bruk i minst 165 år, og er fortsatt i bruk i seks av Londons vannverk. Ansatte ved Thames Water Utilities og ved universitetet i Surrey har utført eksperimenter med reduksjon av *Cryptosporidium* oocyster i et forsøksanlegg som ble drevet som et fullskala filter (6). De tilsatte oocyster til råvannet, i snitt 4000 per liter i løpet av 3,5 timer. Ved uttak av 50 ml prøvevolum av filtrert vann fant de ingen oocyster, og heller ikke da prøvevolumet ble økt til 700 ml, tilsammen 750 ml fra samme tidsrom. Dette gir en reduksjon på $> 99,975\%$ ($> 3,6$ logreduksjoner). Filtreringshastigheten var i dette forsøket 0,3 m/time. De økte hastigheten til 0,4 m/time og gjentok forsøket. Ingen oocyster passerte filteret. Ved å slå sammen resultatene for alle de analyserte prøvene av filtrert vann som var uten oocyster, i alt 8 liter vann, fikk de en reduksjon på $> 99,997\%$ ($> 4,5$ logreduksjoner). Undersøkelsen av filterhuden viste at alle oocystene lå i de øvre 2,5 cm av filterhuden, ingen under. Dette er et eksempel på hvilke resultater som kan oppnås under helt optimal drift under en kortere periode. **Dette filteret tilfredstilte kravet om minimum 2 logreduksjoner av parasittcystene.**

Tilbakeholdelsen av mikroorganismer ved sakte sandfiltrering kom-

mer av at råvannet inneholder organisk stoff, såkalt "Natural Organic Matter", NOM. Mikroorganismer med vann som naturlig levested benytter NOM som næringsstoff. På norsk kan man bruke betegnelsen NOS, for Naturlig Organisk Stoff. I det øverste lag av filteret bygger det seg opp et lag av slike mikroorganismer, en biofilm, som vokser på grunnlag av dette organiske stoffet; det dannes en filterhud. Det er denne filterhuden som holder tilbake de uønskede mikrobene; slike som koliforme bakterier, eventuelle bakterie- og virus-smittestoff, samt invollparasitter. De sist nevnte mikroorganismene kan ikke formere seg på grunnlag av NOS i vannmassene, de formerer seg kun i pattedyrs tarmkanaler.

1.3 Biofiltrering

Det finnes også spesialprosesser som kalles biofiltrering, der formålet, i likhet med sakte sandfiltrering, er å fjerne NOS fra vannet før vannet går inn i distribusjonsnettet. Hensikten er å forhindre begroing - dannelse av store mengder biofilm - på ledningsveggene. Denne prosessen benyttes spesielt der ozonering inngår som fargejerningsprosess. Ozon bryter ned de kompliserte humusmolekylene til lavmolekylært organisk stoff, som tilsvarer NOS som næringsstoff for bakterier. Biofiltrering foregår vanligvis ved raskere filtreringshastighet enn ved sakte sandfiltrering.

I et prosjekt utført ved universitetet i Minnesota, USA (7), ble effekten av NOS og biofilm på tilbakeholdelse av *Cryptosporidium* oocyster ved hurtig-

filtrering, undersøkt i småskala laboratorieanlegg. Ett av formålene var å undersøke om vann med et lavt, men målbart innhold av NOS ville gi bedre tilbakeholdelse av oocyster på grunn av tynn biofilmdannelse i filteret, enn vann uten registrerbart NOS. Hele opplegget var laboratoriebasert: De brukte ikke sand, men glasskuler i filterkolonnene, biofilmen ble dannet ved tilsetning av én bestemt bakterie. Denne fikk tilført fortynnet næringsløsning i stedet for naturlig vann ved oppstarten av filtreringsprosessen, slik at glasskulene kunne bli dekket av en biofilm som var dannet på grunnlag av lavmolekylært organisk stoff. Forsøk med tilbakeholdelse av oocyster ble utført med glasskuler både uten og med biofilm, og med og uten tilsetning av NOS til vannet. Til sin overraskelse fant de at tilbakeholdelsen av oocyster i filteret var størst når glasskulene ikke var dekket av biofilm. Uten biofilm på glasskulene ble tilbakeholdelsen registrert til ca. 51%, men ble redusert til ca. 23% når glasskulene var dekket med biofilm. Etter tilsatts av 5 ug/liter (mikrogram/liter) av NOS, ble tilbakeholdelsen redusert til ca. 14%. De forklarte dette ved at det NOS som festet seg til oocystenes overflate økte den negative ladningen på deres overflate, slik at oocystene i økende grad ble frastøtt fra de negativt ladede glasskulene. Biofilmen på disse, som var dannet med acetat som organisk stoff i næringsløsningen, var også negativt ladet, med ikke til samme grad som cystene med NOS på overflaten. De konkluderte med at det var den ekstra negative ladningen på

grunn av NOS som var skyld i dårligere tilbakeholdelse av oocystene. De prøvde å oksidere det tilsatte NOS ved hjelp av klor, uten at det førte til større tilbakeholdelse. De antydte at bruk av et sterkere oksidasjonsmiddel, f.eks. ozon, kunne motvirke den økede negative ladningen på oocystenes overflate, slik at tilbakeholdelsen i det minste kunne sammenliknes med den for filtermasse uten biofilm, på 51%. Dette ligger imidlertid under de 99% som kreves for at prosessen skal kunne regnes som en fullstendig hygienisk barriere mot parasittcyster. Ozonering er, som før nevnt, en av metodene til fjerning av farge som skyldes humusstoff i vannet. Ozon er imidlertid også et desinfeksjonsmiddel som kan benyttes til inaktivering av cystene til innvollsparasitter (se under 3. Desinfeksjon).

Tilslutt i denne undersøkelsen ble vannet med innhold av parasittcyster og NOS tilsatt et aluminiumssalt som fellingsmiddel. Det ble tilsatt nok aluminiumssalt til at den negative ladningen på parasittcystene ble nøytralisert. Dette førte til en tilbakeholdelse i filteret på 73% (ca. 0,57 logreduksjoner). Teorien om at det er elektriske ladninger i biofilm på filtermassen og på cystene som fører til dårlig tilbakeholdelse av cyster i filteret, så ut til å stemme.

1.4 Filtrering i diatomitt (DE)-filtre

DE er forkortelse for "Diatomaceous earth", som innebærer at filtermassen er basert på diatomeer (kiselalger). Denne filtermassen kan fås i forskjellig finhetsgrad. I et forsøksanlegg med vann tilsatt *Cryptosporidium*

oocyster ble tilbakeholdelsen av oocystene testet med DE av forskjellig finhetsgrad, med filterhastighetene 2,4 og 4,9 m/time (8). Tilbakeholdelsen av oocyster varierte fra 3,6 til 6 log-enheter, avhengig av finhetsgraden på filtermaterialet og filterhastigheten. Filtreringseffektiviteten økte signifikant med økende filterhastighet.

1.5 Membranfiltrering

I membranfiltreringsprosesser passerer vannet en membran med så tette porer at stoff helt ned på molekylnivå kan fjernes. De tetteste membraner benyttes ved fjerning av salt fra sjøvann, en prosess som kalles **omvendt osmose**. Membraner som benyttes til fjerning av uønskede stoffer fra ferskvann kan ha større poreåpninger, alt etter hva som ønskes fjernet fra vannet. De tetteste membranene, med nominell poreåpning på **10 nanometer (nm)** eller mindre, er i veilederen til den norske drikkevannsforskriften spesifisert som hygienisk barriere ovenfor **virus**, men vil også være barriere ovenfor bakterier, parasittcyster og mange forskjellige kjemiske stoffer. I Norge benyttes denne type membran også til fjerning av **humusstoffer** fra vannet. En membran med nominell poreåpning på **100 nm** vil ifølge veilederen være en hygienisk barriere mot **bakterier, inkludert sporer**, og parasittcyster. En membran med nominell poreåpning på **1000 nm** (1 µm) vil ifølge veilederen være en hygienisk barriere mot **parasittcyster** og andre partikler/mikroorganismer av tilsvarende eller større dimensjon.

Uttrykket ”nominell poreåpning” benyttes fordi filtrene ikke består av en membran med definerte hull i, men som en vev av meget tynne syntetiske fibre. Den nominelle poreåpningen blir bestemt ved spesiell testing av membranene.

Mange tester er utført også med forskjellige membraners evne til å fjerne mikrober fra vann. Her blir mikrobene virkelig fjernet, for de går kontinuerlig ut med vaskevannet, mens det rene vannet som har passert membranen går til vannforsyningen. Likevel har det vist seg at noen bakterier har passert membraner i anlegg under drift, som oftest sannsynligvis på grunn av små utettheter i pakninger og lignende, og ikke grunnet defekter i selve membranene. Som oftest, under testing i forsøksanlegg med opp til 1 million mikrober/ml testvann, blir resultatet at ingen mikrober passerer membranen. De japanske forskerne Hirata og Hashimoto (9) testet, i laboratorieanlegg, ulike membranprosessers evne til fjerning av *Cryptosporidium* oocyster ved ennå høyere konsentrasjoner av oocyster. På grunn av at de testet både ultrafiltrering, UF, med nominell ”cut-off” på 13.000 daltons, som tilsvarer en nominell poreåpning på ca. 5 nm, og mikrofiltrering, MF, med poreåpning på 250 nm, er en oversikt over de oppnådde resultater tatt med her i Tabell 4.

Tabell 4. Gjennomslag av *Cryptosporidium* oocyster ved membranfiltrering (9).

| Anlegg | Teknikk m/varianter* | Antall oocyster x 10 ⁶ | | | Antall logreduksjoner |
|------------|----------------------|-----------------------------------|-------------------|----------------------------|-----------------------|
| | | Per liter råvann | Belastet filteret | Gjenfunnet i filtrert vann | |
| Cross flow | UF | 0,69 | 12 | 0 | ≥ 7,1 |
| | UF | 1,5 | 29 | 0 | ≥ 7,5 |
| | UF | 1,3 | 25 | 0 | ≥ 7,4 |
| | MF | 1,3 | 23 | 0 | ≥ 7,4 |
| | MF | 2,7 | 49 | 0 | ≥ 7,7 |
| | MF | 250 | 650 | 20 | 7,5 |
| | MF | 250 | 3100 | 95 | 7,5 |
| Dead end | MF | 250 | 2100 | 120 | 7,2 |
| | MF | 250 | 1600 | 150 | 7,0 |
| | MF | 250 | 2500 | 175 | 7,2 |
| | MF | 250 | 2600 | 60 | 7,6 |

* Med filtreringshastigheter 0,05 m/sek for UF og 0,12-0,15 m/sek for MF, "Hollow fiber" membraner, i gjentatte tester.

Betegnelsene UF og MF i relasjon til de angitt poreåpninger er i henhold til de japanske forfatternes egne definisjoner, da det ikke finnes noen eksakt internasjonal definisjon av disse begrepene. Ved en råvannskonsentrasjon av oocyster på rundt 1 mill./liter, og en totalbelastning på filteret på mellom 10 og 50 millioner oocyster, passerte ingen filteret i den perioden testen ble utført. Først ved råvannskonsentrasjoner over dette nivå, med en totalbelastning i området 2000-3000 mill. oocyster i løpet av filtreringstiden, passerte fra 20 til 175 oocyster filterene. Uansett råvannskonsentrasjon og filtreringsprosess, var den funne reduksjonen større enn 7 log-enheter.

Slike konsentrasjoner er helt urealistisk for norske vassdrag som skal benyttes til framstilling av drikke-

vann. Den største nominelle porestørrelse for membraner som skal være hygienisk barriere mot parasittcyster, er i Norge satt til 1000 nm = 1 µm, og reduksjonen skal være på minst 2 logenheter. For begge de nevnte parasittene er infeksjonsdosen lav, under 100 oocyster/cyster. Tatt i betraktning at størrelsen av oocystene og cystene til de nevnte parasittene er henholdsvis 4 x 4,5 µm og (7-10) x (8-12) µm, burde en nominell porestørrelse på 1 µm være tilstrekkelig til å redusere antallet til et akseptabelt nivå.

Ved et nivå som er funnet i norske drikkevannskilder, 1-3 parasittcyster per 10 liter vann, vil en 2-logs reduksjon i alle vannbehandlingsprosesser tilsvare 1-3 parasittcyster per 1000 liter = 1 m³ vann. I USA har EPA (Environmental Protection Agency) fastsatt et maksimalt akseptabelt nivå

i drikkevann på 300 parasittcyster per 100 m³ vann. Ved 2-logs reduksjon av den registrerte maksimalkonsentrasjon i Norge er man nede på dette nivå.

2 Koagulering (flokkulering) og filtrering

Ved koagulering tilsettes et stoff som ved riktig surhetsgrad (pH) danner såkalte fnokker (flocks på engelsk) som fanger opp partikler og organisk stoff i vannet. Fnokkene fjernes ved flotasjon eller sedimentering med eller uten filtrering, eller ved direktefiltrering. Fellingsmidler kan være jern- og aluminiumssalter, eller kitosan (laget av rekeskall). Disse prosessene er bedre istand til å fjerne både bakteriesporer og parasittcyster fra vannet enn filtrering alene. En rekke undersøkelser er utført for å gjøre disse prosessene optimale for

fjerning av virus, bakterier og parasittcyster. Undersøkelsene har vist at det er mulig å oppnå opptil 2-log reduksjon av parasittcyster, men da må prosessene kjøres under optimale betingelser (10). Det skal lite til av uregelmessigheter for at cyster slipper igjennom.

Turbiditeten er et mål på vannets innhold av små partikler, og er funnet å være en god parameter også for bedømmelse av mulig innhold av parasittcyster. Ongerth og Pecorado (11) undersøkte fjerning av *Cryptosporidium* oocyster og *Giardia* cyster ved flokkulering og filtering i flermediafiltre. De undersøkte spesielt hvordan tilbakeholdelsen av cyster og oocyster ble påvirket ved avvik fra optimal drift av filterne. Det viste seg at bare små avvik i driften kunne føre til store avvik i tilbakeholdelsen av parasittcystene, som vist i tabell 2.

Tabell 2 Tilbakeholdelse av parasittcyster i flermediafiltre (11)

| Parasitt | Antall log-reduksjoner | |
|-----------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| | Optimal drift, turbiditet < 0,30 NTU | Suboptimal drift, turbiditet 0,36 NTU |
| Giardia | 3,1-3,6 | 1,3 |
| Cryptosporidium | 2,7-3,1 | 1,5 |

Giardia-cystene er litt større enn *Cryptosporidium*-oocystene, derfor holdes de i noe større grad tilbake i filterne.

I tillegg kommer usikkerhet med tilbakeholdelse av cyster etter tilbakespyling av filtre. Under tilbakespylingen løsner cystene fra filtermassen og de fleste føres ut med spylevannet,

men noen blir igjen og blir ført ut med det første vannet som kommer ut av filteret etter rengjøring. Spørsmålet er da hvor raskt etter endt tilbakespyling dette vannet kan føres inn i vannforsyningssystemet igjen. Ved gjenbruk av deler av spylevannet som råvann, kan dette også føre til økt innhold av cyster i råvannet (12). Store sykdoms-

utbrudd har funnet sted med dette som årsak, selv om vannet oppfylte alle kvalitetskrav før det igjen ble sendt inn på nettet. Det største utbruddet skjedde i Milwaukee, USA i 1993, der antall syke ble estimert til nær 400.000.

I veilederen til den norske drikkevannsforskriften er det angitt at turbiditeten ut fra hvert filter under normal drift skal være mindre enn 0,2 NTU, og at dette om nødvendig skal overvåkes kontinuerlig. Dersom dette følges burde man være sikker på at behandlingsprosessen fungerer som en hygienisk barriere.

3. Desinfeksjon

For alle desinfeksjonsprosesser er hensikten å redusere antallet av uønskede mikrober til et nivå man kan leve med. Britisk standard har følgende definisjon på desinfisering, under BS 5283:1986, Glossary, section 1: **"Disinfection – The destruction of micro-organisms, but not usually bacterial spores.** It does not necessarily kill all micro-organisms, but reduces them to a level acceptable for a defined purpose, for example, a level which is harmful neither to health nor to the quality of perishable goods".

Desinfeksjon er en hygienisk barriere, men desinfeksjon er ikke det samme som sterilisering. Ved sterilisering drepes alle aktive mikrober; parasittcyster, bakterier og virus. Den britiske definisjonen på desinfeksjon hadde unntak for bakteriesporer, fordi allerede da definisjonen ble utformet, var det kjent at bakteriesporer var resistente mot desinfeksjonsmidler,

som for drikkevann vesentlig var klor. Bakteriesporer har siden vist seg å ha stor toleranse også overfor andre desinfeksjonsmetoder, som for eksempel UV-bestråling. Også parasittcystene viste seg å være resistente mot klor og andre desinfeksjonsmidler. Dels viste dette seg å være virkelig, og dels var det et utslag av at analysemetodene som ble benyttet ikke skilte godt nok mellom infektive og ikke infektive cyster. Etter UV-desinfeksjon viste det seg nemlig at "larvene" inne i cysten ikke var inaktivert, slik at de kom ut og dermed reagerte som levende i analysemetoden. Arvestoffet var imidlertid skadet, slik at den ikke kunne formere seg, heller ikke i tarmen til smittede individer. I det etterfølgende gjennomgås de forskjellige desinfeksjonsprosessers evne til å inaktivere de nevnte parasittcystene og sporene av *C. parfringens*, prosesser som kan regnes som hygieniske barrierer. For *C. parfringens* finnes det få publikasjoner om inaktivering, og inntil videre må en regne bakteriesporer som meget resistente mot alle desinfeksjonsmidler. Antall sporer må derfor reduseres ved koaguleringsprosesser eller membranfiltrering.

3.1 Desinfeksjonsdoser

For alle kjemiske desinfeksjonsmidler er desinfiseringen avhengig av dosen som benyttes. Dosen er et produkt av desinfeksjonsmidlets konsentrasjon i vannet og den tiden det får virke på organismen. Benevnelse på dose er dermed minutter x mg /liter. Felles-trekk er at det kreves en minimumstid og en minimumskonsentrasjon for at

desinfeksjonsmidlet skal ha tilstrekkelig skadeeffekt. Effekten er temperaturavhengig, som for andre kjemiske reaksjoner, og kan variere med vannets surhetsgrad. For desinfeksjonsmidler øker effekten ved økende temperatur. Alle de kjemiske desinfeksjonsmidlene er oksidasjonsmidler, som kan oksidere alle oksiderbare stoff i vannet. Organisk stoff, f.eks. humusstoffer, lar seg oksidere, likeledes reduserte uorganiske salter. Mengden desinfeksjonsmiddel reduseres dermed under prosessen, både på grunn av reaksjon med de uønskede mikrobenes og med andre oksiderbare stoffer i vannet. Dermed vil konsentrasjonen av aktivt desinfeksjonsmiddel i vannet under desinfeksjonsprosessen avta, og det blir vanskelig å angi nøyaktig konsentrasjon, og dermed dose. To måter å angi

desinfeksjonsmidlets konsentrasjon er i bruk. Vanligst er angivelse av restkonsentrasjonen etter endt virkningstid, sluttkonsentrasjonen. Dosen som da beregnes må anses som en minimumsdose. Alternativt kan en ta utgangspunkt i konsentrasjonen ved start og ved slutt. Den effektive konsentrasjonen av desinfeksjonsmiddel, C_{effektiv} , beregnes som kvadratroten av produktet av start- og sluttkonsentrasjonen (= geometrisk middelverdi)(13):

$$C_{\text{effektiv}} = (C_{\text{start}} \times C_{\text{slutt}})^{0,5}, \text{ og effektiv dose: } D_{\text{effektiv}} = C_{\text{effektiv}} \times \text{virkningstiden, i mg} \times \text{min/liter.}$$

Tabell 5 viser kravene til kjemiske desinfeksjonsprosesser som hygienisk barriere ifølge veilederen til drikkevannsforskriften.

Tabell 5. Kjemiske desinfeksjonsprosesser som hygienisk barriere.

| Desinfeksjonsmiddel | Minimum virkningstid, minutter | Minimum konsentrasjon, mg/l | Målt som | Barriere mot |
|---------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------|--|
| Klor | 30 | 0,05 | Sluttverdi | Virus og bakterier |
| Ozon | 10 | 0,1 | Sluttverdi | Virus og bakterier |
| Ozon | 10 | 5 | Sluttverdi | Virus, bakterier, bakteriesporer og parasittcyster |

For bestråling med ultraviolett lys, UV-desinfeksjon, inngår UV-intensitet målt som mW/cm^2 i stedet for konsentrasjon. Desinfeksjonseffekten oppnås meget raskt, og tiden angis derfor i sekunder. Benevnelsen på

dose blir dermed mWs/cm^2 (milliwattsekund per kvadratcentimeter) (= mJ/cm^2). For UV-desinfeksjon er kapasiteten til UV-aggregat enten fastsatt ut fra beregnede verdier for UV-dosen, eller basert på en ny, stan-

dardisert biodosimeter-test, der kapasiteten til aggregatene er knyttet til antall logreduksjoner av en bestemt *Bacillus*-art, som oppnås ved en målt UV-dose på 40 mWs/cm².

Kravene til UV-desinfeksjon som hygienisk barriere, ifølge veilederen til den norske drikkevannsfor-skriften, er som følger:

En minimumsdose på 30 mWs/cm² er en barriere mot virus, vegetative bakterier og parasitter.

En minimumsdose på 40 mWs/cm² er en barriere mot bakteriesporer.

3.2 Resultat fra testing av effekt av forskjellige desinfeksjonsprosesser for drikkevann.

Tabell 6 viser effekten av tre kjemiske desinfeksjonsmidler mot *Cryptosporidium* oocyster.

Tabell 6. Nødvendige doser for inaktivering av *Cryptosporidium* oocyster ved kjemiske desinfeksjonsmidler.

| Desinfeksjons- middel | Temp. °C | pH | Dose (C x t verdi) mg min./l | Dose basert på | | Antall log- reduksjoner | Litteratur |
|--------------------------|-------------|----|---------------------------------------|----------------|------------|----------------------------|------------|
| | | | | Tid i min. | mg/l slutt | | |
| Klor | 25 | 7 | 7.200 | 1.440 | 5 | 0 | 14 |
| | 25 | 7 | 7.200 | 90 | 80 | 2 | |
| Klordioksid* | 22 | 8 | 30 | 30 | 1,1 | 1 | 14 |
| | | | 105 | 59 | 1,78 | 2 | |
| Ozon** | 1 | | 51,2 | | | 2 | 13 |
| | 3 | | 42,3 | | | 2 | |
| | 10 | | 21,7 | | | 2 | |

* Klordioksid er per i dag ikke godkjent til bruk som desinfeksjonsmiddel i Norge.

** Maksimum tillatt dannelse av bromat fra eventuell bromid i vannet, 5 ug/l.

For klor er en undersøkelse tatt med, som viser hvorfor klordesinfeksjon er uaktuell som vannbehandlingsprosess mot denne mikroorganismen. En sluttkonsentrasjon på 5 mg/l er for lav til å ha desinfiserende effekt på oocystene. Klordioksid kan være et aktuelt desinfeksjonsmiddel, men for å oppnå 2 logreduksjoner blir kontakttiden lang, eller tilsetningen må økes, men med fare for tilbakedannelse av for store mengder kloritt, som er vist å kunne være kreftfremkallende. Opplysningene om ozon er basert på en undersøkelse av temperaturens innflytelse på inaktivering av oocystene, der ønsket reduksjon var 2 logenheter.

Til slutt vises, i tabell 7, en sammenstilling av forskjellige smittestoffers følsomhet ovenfor desinfisering ved UV-bestråling. De fleste av dataene stammer fra en nederlandsk oversikts-

artikkel (15), og noen fra egne resultater. For Adenovirus viser publiserte undersøkelser nødvendige doser både under og over 100 mWs/cm². Kattcalicivirus er nær beslektet med

Tabell 7. Nødvendige UV-doser for å oppnå en 3-logs reduksjon av forskjellige mikrober

| UV-doser i mWs/cm ² | | | |
|---|---|--|---|
| < 10 | 10-30 | 31 - 100 | > 100 |
| Vegetative bakterier <i>Cryptosporidium</i> oocyster <i>Giardia</i> cyster | Poliovirus Hepatitt A virus Rotavirus Katte-calicivirus* | Adenovirus <i>Bac. subtilis</i> sporer Laboratorieproduserte sporer av <i>Clostridium</i> <i>perfringens</i> | Adenovirus Sulfitreducerende sporeformere i vannprøver |
| * Dette viruset er beslektet med Noroviruset som er smittestoff for mennesker. | | | |

Noroviruset som angriper mennesker, så nødvendig UV-dose for inaktivering antas å være på samme nivå (16). Noroviruset har hittil ikke latt seg dyrke i laboratorier, derfor benyttes det tilsvarende kattevirus som indikator. Både egne undersøkelser og en publisert artikkel (15) konkluderer at laboratorieproduserte sporer av *Clostridium perfringens* er mer sensitive mot UV-bestråling enn tilsvarende sporer funnet i naturlige vannmasser. Dette kan komme av at laboratorieproduserte sporer består av sporer med varierende resistens, slik at log-reduksjonen som bestemmes i tester blir relativt høy. I naturlige vannprøver har antakelig bare de mest resistente sporene av *C. perfringens* overlevd, slik at den funne log-reduksjonen ved testing blir lavere. I drikkevannsforskriften fra 4. desember 2001 ble en ny metode for analyse av *C. perfringens* i vann anbefalt. Før dette ble en metode benyttet som ga som resultat "Sulfitreducerende sporeformere". Denne metoden inkluderte også noen få andre anaerobe bakterier, hvis de var tilstede. Dette er

grunnen til at resultatene for *C. perfringens*, fra naturlige vannprøver, i tabell 7 er angitt som "Sulfitreducerende sporeformere".

Konklusjon

Ved riktig valg av kjente behandlingsprosesser for drikkevann er det i Norge mulig å oppnå to uavhengige hygieniske barrierer mot parasittcyster og bakteriesporer ved å følge de kravene til log-reduksjoner som er angitt i veilederen til drikkevannsforskriften. Grunnen til dette er at de vannkilder som vi benytter til fremstilling av drikkevann har mindre belastning med smittestoff og andre uønskede komponenter enn vannkilder som benyttes i mange andre land.

Klorering har vist seg å være en dårligere desinfeksjonsmetode enn vi tidligere trodde. Lavklorering kan imidlertid benyttes som desinfeksjonsprosess dersom parasittcyster og bakteriesporer ikke forventes å være et problem, f.eks. for grunnvann av drikkevannskvalitet. UV-bestråling kan benyttes som desinfeksjonspro-

sess for alle vann som tilfredsstillere kravet til UV-transmisjon. Hvis innhold av bakteriesporer antas å kunne være et problem, f. eks. for næringsmiddelindustri, helseinstitusjoner el.l., må en biodosimetrisk bestemt UV-dose på 40 mWs/cm², legges til grunn for fastsettelsen av kapasiteten på UV-anlegget. De andre nevnte desinfeksjonsprosesser kan også vurderes, men kan være mindre aktuelle ut fra praktiske eller økonomiske hensyn.

Beskyttet nedbørfelt som hygienisk barriere kan vurderes ut fra mulig tilfeldig forurensning av vannkilden, og ut fra eksisterende nivå av uønskede stoffer, inkludert mikroorganismer. Vannet skal kunne drikkes i en kort periode, uten høy risiko for smitteoverføring, dersom desinfeksjonen skulle svikte. Barrierens høyde kan diskuteres ut fra konsekvensen hvis smitteoverføring likevel skulle skje.

Samme krav stilles til andre vannbehandlingsprosesser som hygienisk barriere, behandlet vann skal kunne drikkes selv om etterfølgende desinfeksjon i en kort periode svikter. For vannkilder som er resipient for kommunalt avløpsvann, skal alltid behovet for en barriere basert på en vannbehandlingsprosess før desinfeksjonstrinnet vurderes.

4. Litteratur

1. Forskrift om vannforsyning og drikkevann (Drikkevannsforskriften). Det kongelige Sosial- og Helsedepartement, Oslo 4. desember 2001.
2. SNT Rapport 6/2000 *Cryptosporidium* og *Giardia* i drikkevasskjelder i Noreg.
3. Veileder til Drikkevannsforskriften. Helsedepartementet februar 2002.
4. NS 4790 (1989): Vannundersøkelse Teknikker for kvantitativ bestemmelse av mikroorganismer fra vann, sedimenter og kloakkslam. Del 1: Generelt utstyr, valg av analyseteknikk, lagring av data. Norges standardiseringsforbund, Oslo.
5. Fogel, D., Isaac-Renton, J., Guasparini, R., Moorehead, W., and Ongert, J. (1993): Removing *Giardia* and *Cryptosporidium* by slow sand filtration. *Journal AWWA* **85** (11):77-84.
6. Timms, S., Slade, J, Fricker, C and Clarke, B. (1998): Removal of *Cryptosporidium* by Slow Sand Filtration. Poster presentation, (Adresse til forfatter: Thames Water Utilities Ltd., Manor Farm Road, Reading, RG2 0JN, UK), 19th Biennial Conference of the International Association on Water Quality, June 21-26, Vancouver, Canada.
7. Dai, X., Hozalski, R.M. (2002): Effect of NOM and biofilm on removal of *Cryptosporidium parvum* oocysts in rapid filters. *Wat. Res.* **36**: 3523-3532.

8. Ongerth, J.E., and Hutton, P.E. (1997): DE filtration to remove *Cryptosporidium*. Journal AWWA **89(12)**:39-46.
9. Hirata, T., and Hashimoto, A. (1998): Experimental assessment of the efficacy of microfiltration and ultrafiltration for *Cryptosporidium* removal. 19th Biennial Conference of the International Association on Water Quality, June 21-26, Vancouver, Canada. Prepublication paper.
10. Finch, R., and Belosevic, M. (2002): Controlling *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in drinking water by microbial reduction processes. J. Environ. Eng. Sci. **1**:17-31.
11. Ongerth, J.E., and Pecorado, J.P. (1995): Removing *Cryptosporidium* using multimedia filters. Journal AWWA **87**:83-89.
12. Karanis, P., Schoenen, D., and Seitz, H.M. (1996): *Giardia* and *Cryptosporidium* in Backwash Water from Rapid Sand Filters Used for Drinking Water Production. Zbl. Bakt. **284**:107-114.
13. EPA (2001) National Primary Drinking Water Regulations: Long Term 2 Enhanced Surface Water Treatment Rule, Pre-Proposal draft.
14. Oppenheimer, J.A., Aieta, E.M., Trussel, R.R., Jacangelo, J.G. and Najm, I.N. (2000) Evaluation of *Cryptosporidium* Inactivation in Natural Waters. ISBN 1-58321 027-X, American Water Works Association Research Foundation (AWWRF).
15. Hijnen, W.A.M., Van der Veer, A., Beerendonk, E.F. and Medema, G.J. (2002) Increased resistance of environmental anaerobic spores to inactivation by UV. Poster presentation at IWA-AWWA International Symposium on Waterborne Pathogens, Cascais, Portugal.
16. Thurston-Enriquez, J.A., Haas, C.N., Jacangelo, J., Riley, K., and Gerba, C.P. (2003): Inactivation of Feline Calicivirus and Adenovirus Type 40 by UV Radiation. Appl. Environ. Microbiol. **69**:577-582.