

Erfaring til en SMB fra et EU-prosjekt i vann/miljø-teknologibransjen

Colifasts EU-prosjekt DEMOWATERCOLI - Demonstration of a Rapid Microbial Monitor for Operations and Quality Decision-making in the Water Industries

*små eller mellomstor bedrift

Av Sissel B. Ranneklev og James D. Berg

Dr. Sissel B. Ranneklev er Seniorforsker i Colifast
Dr. James D. Berg er gründer og styremedlem i Colifast,
og nå ansatt som Head of Intellectual Property i Selvaag Gruppen

English summary

This article summarises experiences from a SME (Small Medium Enterprise) participating in a EC financed project in the water and environmental technology industry.

Human diseases derived from drinking water occur more and more frequently and are a major global health concern. In order to determine the safety and hygienic quality of water, indicator organisms like *E. coli* and coliforms are monitored. Presence of the indicator organisms denotes the potential existence of major pathogens, including viruses and parasites. One problem with all microbial methods for determination of water quality is that they are retrospective. This means that the water has usually been consumed before the analyses are completed. There have been considerable efforts to try to develop new methods for rapid detection of micro-organisms in

water. However, these methods suffer from complexity, the need for specialised equipment and highly skilled laboratory staff, and unfortunately the time to results are most often lengthy, from 1 to 3 days.

Colifast, which is a Norwegian environmental technology company, has recently completed the two year "Demowatercoli" project financed in the EC 5th Framework. The project was coordinated by Colifast, with partners Ecole Nationale de La Santé Publique (France), Istituto Superiore di Sanità (Italy), and Thames Water Utilities Ltd (UK). Financial support of 500 000 euro was given from the EC. The main objective of the project was to demonstrate in the water industries that sensitive and rapid microbial at-line and laboratory systems are comparable to the relevant reference methods. Information about the initiation of the project, experiences, and results are described.

Sammendrag

Det norskeide miljøteknologiselskapet Colifast (www.colifast.no), som utvikler hurtiganalyser og instrumenter for måling av bakterier i vann og mat, har nylig avsluttet EU-prosjektet Demowatercoli. Prosjektet ble finansiert av EUs 5. rammeprogram, Quality of Life and Management of Living Resources under Key Action 1: Food, Nutrition, and Health. Prosjektet ble koordinert av Colifast og samarbeidspartnere var Ecole Nationale de La Santé Publique (ENSP), Frankrike, ved professor Jean Lesne; Istituto Superiore di Sanità (ISS), Italia, ved Dr. Lucia Bonadonna, og Thames Water Utilities Ltd (TW), UK, ved Dr. Annette Prescott og Dr. David Holt. Hensikten med prosjektet var å sammenligne Colifasts metoder for bestemmelse av indikatorbakteriene *E. coli*, koliforme og *Pseudomonas aeruginosa* i vann mot ISO-metoder. Resultater og erfaringer fra prosjektet samt informasjon om hvordan prosjektet ble initiert er beskrevet.

Søknadsprosess og prosjektbakgrunn

Prosjektet var et såkalt demonstrasjonsprosjekt, hvor man får mulighet til å vise fram ny teknologi. Slike demonstrasjonsprosjekter er økonomisk gunstige og vil kunne hjelpe til med å gjøre ny teknologi kjent, utprøvd og sammenlignet mot eksisterende teknologi. Den økonomiske rammen for prosjektet var 801 801 euro, hvor EU finansierte 500 000 euro. Colifast har tidligere deltatt i to EU-prosjekter som var preget av forsknings- og utviklingsarbeid. Disse

prosjektene danner fundamentet for Demowatercoli. Her skulle tidligere oppnådde resultater demonstreres og utprøves i en kommersiell og industriell situasjon. For at slike demonstrasjonsprosjekter skal få gjennomslag, må de også ha en nyhetsverdi som aller helst kan vise til forbedrede tjenester med en samfunnsmessig nytteverdi. I Colifasts tilfelle var argumentene:

- Mulighet for betydelig raskere varsling av høye nivåer *E. coli* og *P. aeruginosa* enn referansemetodene
- Mulighet for hel- og halvautomatisering av analysene
- Inntil 50 % kortere påvisningstid av indikatorbakteriene enn referansemetodene
- Spesifisitet* og sensitivitet** høyere enn 90 %

(* = andelen av totale negative prøver som identifiseres som negative av den presumptive)

(** = andelen av totale positive prøver som identifiseres som positive av den presumptive)

Andre viktige argumenter for å få tilslag på søknaden, er at partnerne komplimenterer hverandre, både geografisk og funksjonelt. I vårt tilfelle var Colifast leverandøren, ENSP forskningspartneren, og ISS sluttbrukeren (kommersielt laboratorium)/forvaltningsorganet og TW sluttbrukeren. Dessuten var prosjektgruppen sammensatt av offentlige og private aktører, noe som er med og styrker søknaden ytterligere. Valg av partnere til prosjektet skyldes utelukkende tidligere kollegiale bekjentskaper, så det ble ikke foretatt et såkalt

partnersøk. EU-systemet har databaser for slike søk.

Fra Forskningsrådet ble det søkt om prosjektetableringsstøtte til utarbeidelse av EU-søknaden. Denne summen begrenser seg til 100 000 kr, og dekket maksimalt 50% av påløpte kostnader. Disse pengene ble benyttet til å dekke reisekostnader for å delta på møter/besøke partnere og fakturere interne timer til søknadsskriving. Finansieringen fra EU ble fordelt mellom partnerne slik at ISS og ENSP fikk dekket 100% av utgiftene, mens TW og Colifast fikk dekket 35%.

Etter at søknaden ble innlevert måtte den gjennom flere evalueringssrunder, og man fikk svar ca 1 år etter innleveringen. Selv om søknaden scoret høyt, ble den refusert i første omgang. Bl.a. var ikke forretningsidé, kommersialisering av resultat og økonomiske samfunnseffekter kvantifisert. Etter endringer ble ny søknad levert inn, som nå ga tilslag (score 4.45 av 5), men med noe redusert finansiering. Koordinatoren ble da invitert til et forhandlingsmøte, hvor det i praksis kun var mulighet til noen små justeringer bestemt av the Scientific Officer. Deretter ble "consortium agreement" utarbeidet og undertegnet. Her uttrykker partnerne sine målsettinger, forventninger til hverandre og hvordan man definerer eierskap til resultatene. Prosjektpartnerne i felleskap oppnevnte eksterne evaluører. Her får man mulighet til å knytte til seg solide fagpersoner. For oss falt valget på Dr. Tristan Simonart fra Pasteur Instituttet, Frankrike og Dr. Ana Audicana Uriarte fra Servicio de Epidemiología, Spania.

Pengebeløpet fra EU ble betalt ut i tre bolker, en forskuddsbetaling, et beløp midtveis basert på en regnskapsrapport og sluttbetaling etter at alle rapporter og dokumenter til EU var godkjente. Pengebeløpet dekket innkjøp av instrumenter/annet utstyr, arbeidstimer og reiser. Utgifter i forbindelse med opprettelse av patenter og beskyttelse av intellektuell eiendom kan også bli dekket av EU, noe som ikke ble benyttet i vårt tilfelle. I løpet av prosjektperioden ble det skrevet betydelig mengder dokumenter; kommersielle brosjyrer med oppstartinformasjon og sluttresultater, framdriftsrapporter hvert halvår, midtveis rapport, sluttrapport, møterapporter (2/år) og plan for teknisk implementering (TIP). I tillegg ble det utført betydelig mengder praktisk arbeid.

Teknisk innhold i prosjektet

Nivået av bakterier i ulike vannforekomster ble bestemt med ISOs og Colifasts metoder og sammenlignet mot hverandre. Teknisk informasjon om utførelse av prosjektet er gitt nedenfor.

Colifasts vekstmedia, instrumenter, installasjoner og vannprøver

Colifast har utviklet metoder for påvisning av bakterier i vann og mat. Teknologien baserer seg på måling av en enzymatisk reaksjon mellom målbakterier og komplimenterende fluorogene substrater. Sammensetningen av mediene er patentert, og påvisning av bakterier gjøres ved hjelp av instrumenter utviklet av Colifast.

I dette prosjektet ble de flytende vekstmediene Colifast *E. coli*, Colifast 6 (for koliforme bakterier) og Colifast *Pseudomonas aeruginosa* uttestet. For *E. coli*, koliforme bakterier og *Pseudomonas aeruginosa* benyttes henholdsvis substratene 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUGlu), 4-methylumbelliferyl- β -D-galatoside (MUGal) og L-arginine-7-amido-4-methylcoumarin (L-arg-AMC), som er fluorogene. Mediene er i tillegg gjort ytterligere selektive ved tilsetning av enzym-indusere og hemmere som reduserer vekstmuligheter av konkurrerende flora. Ved tilstedeværelse av målbakterier vil substratene hydrolyseres. Dette måles som økning i fluoresens.

Instrumentene som ble testet ut i Demowatercoli var Colifast at Line Monitor (CALM) og Colifast Analyser (CA) som henholdsvis er hel- og halvautomatiske. Begge instrumentene er utstyrt med autosamlere (for å ta ut delprøver), inkubatorer med plass til 78 prøverør og fluorimetre. Vekstmedium fylles på prøveglass i inkubatoren, og tas ut og autoklaveres etter bruk. Ved bruk av CA må vannprøve oppfylles manuelt på prøveglass, mens CALM tar vannprøve selv, v.h.a. en sprøytepumpe som er koblet til vannkilden. Alle prøver ble inkubert ved 37 °C.

CALM ble benyttet til å analysere råvann hos TW fra Themsen etter rensing på sandfilterbed med granulert aktivt kull i topp og bunn. Her fjernes fine partikler, kjemikalier, pesticider og bakterier. Ved normal bruk vaskes bedene etter 60 dager, og regenereres etter tre dager. I Demo-

watercoli ble CALM anvendt for å se om man kunne redusere regenereringstiden, da man i stor grad styrer renheten til filtrene etter rensing ved måling av *E. coli* og koliforme bakterier. CALM tok ut prøver automatisk fra ledningsnett 2 ganger daglig. Hensikten med TW-installasjonen var å vurdere CALMs funksjonalitet under industrielle forhold.

CA ble benyttet i laboratoriumforsøk hos ISS og ENSP for bestemmelse av spesifisitet og sensitivitet til mediene, tid til resultat foreligger og ekvivalensen mellom Colifasts metodene og referansemetodene. Råvann, behandlet vann, podede vannprøver, flaskevann, kildevann og klorbehandlet badevann ble analysert. Ekvivalens mellom metodene ble bestemt etter ISO 17994. Prøver analysert ved ISS og ENSP ble membrafiltret (0.45 μ m) og filtrene plassert i prøveglass med Colifast medium.

Referansemetoder

Sensitivitet og spesifisitet til Colifast mediene *E. coli* og *P. aeruginosa* ble bestemt. I tillegg ble tid til resultat foreligger og ekvivalens mellom Colifasts metoder og referansemetoder bestemt. Som referansemetoder for påvisning av *E. coli*, *P. aeruginosa* og koliforme bakterier ble henholdsvis ISO 9308-1, EN-ISO 12780 og Colilert® (www.Idexx.com) benyttet.

ISS og ENSP bestemte *E. coli* etter ISO 9308-1 og bekreftet resultatene ytterligere med API 20NE fra BioMerieux (www.BioMerieux.com). I ISO 9308-1 membranfiltreres 100 ml vannprøve og membranen plassert på Lactose-TTC agar som inkuberes ved

36±2°C i 21±2 timer. Kolonier som har en gulaktig farge blir talt som presumptive. Disse ble dyrket videre i 21±2 timer og kolonier som gir positivt utslag på indoltest og negativt på oksidasetest ble talt som *E. coli*. Ytterligere konfirmasjon av utvalgte kolonier ble gjort med API 20NE. Her inokuleres bakteriene i brønner hvor de testes for 20 ulike biokjemiske reaksjoner.

Koliformebakterier og *E. coli* ble hos TW bestemt ved hjelp av Colilert®. Dette er tilsvarende enzymatiske tester som Colifasts, men hvor substratet o-nitrophenyl-β-D galactopyranoside (ONPG) benyttes til å påvise koliformebakterier. Resultater leses av etter 18-22 timer.

ENSP og ISS bestemte *P. aeruginosa* etter EN-ISO 12780. 250 ml vann membranfiltreres og membranen plasseres på et *Pseudomonas* Agar Base/CN Agar, som inkuberes ved 36±2°C i 44±4 timer. Kolonier som er blå/grønne telles som konfirmerte *P. aeruginosa*. Kolonier som ikke er blå/grønne, men fluoriserer telles som presumptive, hvor identitet bekreftes ved videre dyrking på næringsagar og konformasjon i aceta- mid buljong (for produksjon av ammonium). Rød/brune kolonier som ikke fluoriserer under UV-lys telles som presumptive *P. aeruginosa*. Disse rød/brune koloniene testes videre for positiv respons for oksydase og ammonium produksjon. Rød/brune kolonier som gir positiv utslag for oksidasetest og ammonium produksjon, inkuberers videre på King's B agar i 5 dager. Kolonier fra King's B agar som fluoriserer under UV-lys telles som *P. aeruginosa*.

Resultater

Resultatene er her basert på konklusjoner fra framdriftsrapportene, slutt-rapporten og evalueringer gitt av de eksterne evaluørene.

Sensitivitet og spesifisitet

Sensitivitet (SE) og spesifitet (SP) ble bestemt etter følgende formler:

$$SE = TP/(TP+FN)$$

$$SP = TN/(TN+ FP)$$

Her er TP: totalt antall positive, FN: antall falske negative, TN: total antall negative, FP: antall falske positive.

Sensitivitet og spesifisitet for Colifasts *E. coli* og Colifast *P. aeruginosa* media er gitt i Tabell 1.

Målbakterie	SE (%)	SP (%)
<i>E. coli</i> (n* = 767)	98	97
<i>P. aeruginosa</i> (n = 441)	99	98

Tabell 1. Beregnet spesifisitet og sensitivitet for mediene Colifast *E. coli* og Colifast *P. aeruginosa* målt på CA. Alle typer vannprøver er representert *= antall prøver analysert

Ekvivalens mellom referansemeter og Colifasts metoder

For bestemmelse av ekvivalensen mellom metodene ble ISO 17994 benyttet. Dette er en meget omfattende protokoll for bestemmelse av ekvivalens mellom to mikrobiologiske metoder. Bl. a. bør minimum 6 ulike akkrediterte laboratorier delta i uttestingen, det stilles strenge krav til antall prøver man må analysere, prøvemateriale (bl.a. prøveuttak, poding) og beregninger av resultater.

Colifasts metoder og referanse-metodene ble sammenlignet mot hverandre i et Tilstedeværelse(+)/Fravær(-) -format. Ifølge ISO 17994 krever det et vell av prøver for å teste to Tilstedeværelse(+)/Fravær(-) metoder mot hverandre. Dette skyldes at prøver hvor begge metoder gir samme resultat +/+ eller -/- ikke bidrar til den statistiske vurderingen av ekvivalensen mellom metodene. F.eks er det påkrevd å analysere 1 540 divergente prøver (+/- eller -/+) i tillegg til de prøver som gir like resultat, for å påvise en gjennomsnittlig relativ differanse på 10% mellom metodene med 95% konfidensintervall. Et slikt antall divergente prøver ble ikke oppnådd i Demowatercoli. For beregning av ekvivalens mellom to Tilstedeværelse(+)/Fravær(-) metoder, benytter man seg av Poisson fordelingen. Hvor:

$$x^2 = (n_A - n_B)^2 / (n_A + n_B)$$

n_A er her antall prøver hvor metode A gir positivt utslag og metode B gir negativt utslag og

n_B er her antall prøver hvor metode A gir negativt utslag og metode B gir positivt utslag.

Dersom $x^2 \geq 4$ er metodene A og B ulike.

Beregninger fra ISS og ENSP viste at $x^2 \leq 4$ for *E. coli* og *P. aeruginosa* mediene. For *E.coli* var 114 av 501 prøver divergente, mens for *P. aeruginosa* var 88 av 639 prøver divergente. Fra x^2 beregningen er metodene "ikke ulike".

Tid til resultat foreligger etter nivået av bakteriekonsentrasjon

Tid til resultat (TTR) forelå ble beregnet. Dette er tid fra man starter analysene på CA instrumentene til svar leses av (CFU/100 ml). TTR for *E. coli* og *P. aeruginosa* i ulike konsentrasjoner er gitt i henholdsvis Tabell 2 og 3.

Konsentrasjonsområde (<i>E. coli</i> CFU/100 mL)	TTR (timer)
0-10	14
11-30	12
31-50	10
51-150	8

Tabell 2. TTR for ulike konsentrasjoner *E.coli*. Kun resultatene fra ISS vises.

Konsentrasjonsområde (<i>P. aeruginosa</i> /100 mL)	TTR (timer: min.)
0-10	16:48
11-30	14:42
31-100	14:00

Tabell 3. TTR for ulike konsentrasjoner *P. aeruginosa*. Kun resultatene fra ISS vises.

CALMs funksjonalitet under industrielle forhold

CALM tok ut prøver fra sandfilterbed daglig og i duplikat. Samtidig ble det tatt ut prøver for analyse med Colilert® for bestemmelse av koliforme bakterier og *E. coli*. Resultater fra perioden august/oktober er vist i Figur 1.

spesifisitet til Colifast *E. coli* medium var høye, og tilsvarende andre kommersielle medier (Grant 1997). I prosjektet sammenlignet man to ulike målemetoder; Colifasts enzymatiske metoder mot tradisjonelle metoder som bygger på andre biokjemiske prinsipper. Deteksjon av *E. coli* med ISO 9308-1 baserer seg på bakteriens evne til å fermentere laktose og produsere indole fra tryptofan, mens Colifasts enzymatiske metode baserer seg på aktiviteten til enzymet β -D glucuronidase. Ved sammenligning mellom to ulike målemetoder vil forskjellige resultater fremkomme når man har anaerogene stammer (gir ikke typiske reaksjoner). Det er kjent fra litteraturen at flere stammer *E. coli* ikke fermenterer laktose og gir negativ reaksjon for indole (Gavini et al. 1985) og er β -D glucuronidase negative (Chang et al. 1989). Heldigvis er de fleste *E. coli* stammer laktose/indole og β -D glucuronidase positive (Manafi et al. 1991), slik at man oppnår samme resultat. I tillegg er de enzymatiske mediene ytterligere optimalisert for deteksjon av mål bakteriene (Fiksdal et al. 1997; Tryland and Fiksdal 1998). ISO 9308-1 som er en kvantitativ metode ble sammenlignet mot Colifasts *E. coli* som var satt opp i et kvalitativ (fravær/nærvær)-format. Dette medfører en nedgradering av ISO 9308-1, som da blir omgjort til en kvalitativ fravær/nærvær metode. ISO 9308-1 er også beregnet på vann tiltenkt human konsum, med lave nivåer av bakterier, siden mediet har lav selektivitet. Prøver fra overflatevann er derfor ikke beregnet for ISO 9308-1. For å få tilgang på tilstrekkelig antall

prøver med indikatorbakterier, var man nødt til å benytte seg av bl.a. overflatevann og podede prøver. I følge ISO 17994 er dette lov, men sluttresultatet kan bli påvirket, da høyt kimtall vil kunne fortrenge mål bakteriene og bakterier med samme biokjemiske egenskaper som *E. coli* vil kunne bli detektert. Dette er et velkjent problem med Lactose-TTC agar som benyttes i ISO 9308-1 (Schets et al. 2002; Pitkänen et al. 2007).

For påvisning av *P. aeruginosa* er det foreløpelig bare ISO EN 12780 som er godkjent metode i Drikkevannsforskriften. Den største ulempen med ISO EN 12780 er at den er meget arbeidskrevende og man kan risikere å måtte vente i sju dager før resultat foreligger, men den krever også en viss erfaring, da fenotypiske karakterer vil varierer som kan gi uriktige tellinger (Morais et al. 1997). Dette har medført at man har prøvd å utvikle andre metoder som PCR (Khan og Cerniglia 1994), chemiluminescent in situ hybridization (CISH) (Stender et al. 2007), impedanse (Szita, et al. 2007), og enzym/fluorisens (Elston et al. 2007) for påvisning av *Pseudomonas aeruginosa* i vann. Til vår kjennskap er det kun CISH metodikken fra Millipore (www.Millipore.com) som er kommersialisert. PCR metoder har fått liten gjennomslag for påvisning av indikatorbakterier i drikkevann sammenheng, da de ikke kan skille mellom døde og levende celler, man må ofte ha et oppkonsentrerings trinn av bakterier (som forlenger analyse-tiden) og i tillegg er instrumenteringen omfattende.

Spesifisitet og sensitiviteten til Colifasts *Pseudomonas aeruginosa* var høy og tilsvarende andre kommersielle medier (Kodaka et al. 2003). Tilsvarende problemstillinger gjaldt for sammenligningen av *Pseudomonas aeruginosa* metodene som for *E.coli*; her sammenlignet man ISO EN 12780 som er en tradisjonell biokjemisk kvantitative metode mot Colifasts kvalitative og enzymatiske metode. Fra resultatene tydet det på at de fleste *Pseudomonas aeruginosa* stammene som ble påvist med ISO EN 12780 var i stand til å hydrolysere L-arg-AMC.

Statistisk analyse av datamateriale indikerte at det ikke var noe forskjell mellom Colifasts metoder og de tradisjonelle metodene. Dersom man skulle følge ISO 17994 for bestemmelse av ekvivalens mellom to fravær/nærvær metoder måtte man ha betydelig flere divergente prøver for å kunne trekke en endelig slutning. Et slikt høyt antall prøver ble ikke oppnådd under forsøkene. Ved å sammenligne metodene i et kvantitativt format i stedet for et kvalitativt (fravær/nærvær) format ville man ha krav til betydelig færre prøver for å bestemme ekvivalensen mellom metodene.

Tid til resultat (TTR) foreligger er et dilemma i mikrobiologi. De fleste mikrobiologiske analyser er retrospektive, siden det ofte er et krav til at cellene skal være levedyktige eller lar seg oppformere. Dette medfører ofte at vann og andre næringsmidler som er blitt testet allerede er konsumert eller ute av "systemet" før resultat foreligger. TTR var betydelig kortere med Colifasts teknologi enn de

tradisjonelle metodene. For påvisning av *E. coli* med tradisjonell metode må man vente i minst 21 timer før man kan lese av platene første gang. Dersom konfirmasjon er påkrevd vil man måtte dyrke bakteriene i ytterligere 21 timer og i tillegg bruke tid for å utføre den endelige konfirmasjonen. Med Colilert-18 fra Idexx som også er en enzymatisk fravær/nærvær metode kan man få svar etter 18 timer. For Colifast vil TTR for 1-10 cfu *E. coli*/100 ml være 14 timer, mens for 51-150 cfu *E. coli*/100 ml kan man få svar etter 8 timer. For påvisning av *P. aeruginosa* er TTR lang, med 7 dagers ventetid til endelig resultat. Colifasts teknologi ga her betydelig raskere svar. Vi anbefaler at man i et fravær/nærvær format leser av prøverørene etter 18 timer, dette for å forsikre seg om at eventuelle svekkede/ redusert organismer rekker å oppformere seg.

Industrielle erfaringer

Uttesting av CALM i en industriell setting gav oss flere erfaringer. Brukermanualer måtte tilpasses og gjøres enklere og mer brukervennlige slik de kunne brukes av alle operatørene. Operatørstøtte ble i hovedsak gitt pr. telefon eller via mail. Betydningen av at manualer og utstyr er enkelt å operere og at man i størst mulig grad begrenser valgmuligheter (til å gjøre feil) for operatørene er noen av våres beste erfaringer. Prosjektet ga oss også inntrykk i hvordan man arbeider under industrielle forhold, noe som er ulikt såkalte forskningsmiljøer. Under industrielle forhold må alt være så enkelt som mulig, det går raskt unna i svingene og man

arbeider under ”samlebåndprinsippet”. Bl.a. viste det seg at oppfylging av prøverør med medium var en vanskelig jobb, som fordrer noe kunnskap i å arbeide aseptisk. Dette medførte at man etter Demowatercoli utviklet ferdigfylte engangsplastbrett med medium som komplimenterer inkubatorblokkene. Dette har økt brukervennligheten og kundene har blitt uavhengig av tilgang til laboratorium. Fagmessig kom CALM godt ut av prosjektet, og ga tilsvarende like resultater som Colilert®. Redusert sensitivitet med CALM ble observert ved lave nivåer av bakterier når man analyserte kun 10 ml prøve mot Colilert® 100 ml. Dette viser hvor viktig det er å analysere tilstrekkelig volum prøve ved lave nivåer av bakterier.

Program-/prosjekterfaringer

Deltagelse i programmet var en byråkratisk prosess, som i perioder krevde tålmodighet og evne til å være nøyaktig. For Colifast var deltagelsen utelukkende et positivt løft både økonomisk og faglig. Demonstrasjonsprosjektet var en gunstig måte å få testet ut teknologien forskningsmessig og industrielt i flere områder i Europa parallelt. Samtidig blir man en del av EUs nettverk, noe som medfører at man lettere kan skaffe seg kontakter eller bli kontakter av andre. Tilsagnet fra EU gir et visst kvalitetsstempel, som kan benyttes i markedsføring og til spredning av informasjon. Prosjektet ble brukt til å knytte til seg distributører, og mens prosjektet pågikk var installasjonene gode demonstrasjonsfelt for potensielle kunder.

Partnerne i prosjektet var aktive, og resultater fra prosjektet har blitt presentert muntlig på konferanser, i tidsskrifter og kapitler i bøker (Bonadonna 2000; Bonadonna et al. 2005; Bonadonna et al. 2007; Bonadonna et al. 2007b; Prescott and Holt 2003; Prescott et al. 2003).

Tilsvarende demonstrasjonsprosjekter burde også finnes i Norge. Innovasjon Norge (IN) har riktignok IFU/OFU (industrielle forsknings- og utviklingskontrakter/offentlige forsknings- og utviklingskontrakter) ordningen, hvor man kan få dekket inntil 35 % av utviklingskostnadene. Fagfeltet miljøteknologi er lite utviklet i Norge. I Norden er vi blant de minste produsenter av miljøteknologi, og i tillegg mangler vi offentlig statistikk om temaet. Beregninger antyder at Norge har en eksportverdi av miljøteknologi som tilsvarende ca 0.8 milliarder NOK. Verdensmarkedet for miljøteknologi øker 5-20 % årlig, og OECD antar at i 2010 vil det være på 6 000 milliarder norske kroner (Eriksen 2006). Statens forurensningstilsyn (SFT) har på oppdrag fra Miljøverndepartementet kartlagt status og behov vedrørende miljøteknologi med sikte på hvordan Norge kan bli et foregangsland. Et samlet forslag fra SFT, IN og NFR (Miljøteknologi - Forslag til samarbeidsmodell og tiltak fra 2008, april 2007), støtter økt offentlig satsning på miljøteknologi. En av pilarene i deres forslag er satsning på demonstrasjonsprosjekter, med finansiering av fysiske installasjoner som komplimenteres med kunnskapsdeling mellom forvaltningsorganer og nærings-

liv. Behovet for demonstrasjonsprosjekter er stort og vil bidra til å forbedre vilkårene for miljøteknologi i Norge, slik feltet kan gi økt verdiskapning og være en pådriver for moderne miljøpolitikk.

Referanser

Bjergbæk, L. A. and Roslev, P. 2005. Formation of nonculturable *Escherichia coli* in drinking water. *Journal of Applied Microbiology*. 99: 1090-1098.

Bonadonna L. 2000. Rapid analysis of microbial contamination of water. p. 161-182 in *Rapid and on-line instrumentation for food quality assurance*. Woodhead Publishing in Food Science and Technology. I.E. Tothill. 406 pp.

Bonadonna L., C. Cataldo, M. and Semproni. 2007. *Pseudomonas aeruginosa* in water: an early warning system for its determination (submitted to *J Microbiol Method*)

Bonadonna L., M. Semproni, and C. Cataldo. 2007b. A rapid method for the analysis of *Escherichia coli* in water (submitted to *J Appl Microbiol*)

Bonadonna L., M. Semproni, C. Cataldo. 2005. Metodi rapidi per l'analisi delle acque: la determinazione di *Escherichia coli*, *Igiene e Sanità Pubblica*. 17:271-279 (italiensk m/eng. oppsummering).

Byrd, J., XU, H. S., and Colwell R. R. 1991. Viable but nonculturable bacteria in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*. 57:875-878.

Chang, G.W., Brill, J., and Lum, R. 1989. Proportion of α -D-glucuronidase-negative *E. coli* in human fecal samples. *Applied and Environmental Microbiology*. 55:335-339.

Elston, C., Wallach, J., and Saulnier, J. 2007. New continuous and specific fluorometric assays for *Pseudomonas aeruginosa* elastase and LasA protease. *Anal Biochem*. 368:87-94.

Eriksen, R., 2006. Nettverkssamarbeid i Norden for eksport av miljøteknologi. Prosjekt 05031, Nordic Innovation Centre (Norden), 33 sider.

Fiksdal, L., Tryland, I., and Nelis, H. 1997. Rapid detection of coliform bacteria and influence of non-target bacteria. *Wat. Sci. Tech*. 11-12: 415-418.

Gavini, F., Leclere H., Mossel D.A.A.1985. *Syst. Appl. Microbiol.*, 6:45-58.

George, I., Petit, M., and Servais, P. 2000. Use of enzymatic methods for rapid enumeration of coliforms in freshwaters. *J. of Applied Microbiology* 88: 404-413

Grant, M.A., 1997. A new membrane filtration medium for simultaneous detection and enumeration *E. coli* and total coliforms. *App. Environ. Microbio.* 63:3526-3530.

- Khan, A.A. and Cerniglia C.E. 1994. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* from clinical and environmental samples by amplification of exotoxin A gene using PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 52:1190-1194.
- Kodaka, H., Iwata, M., Yumoto, S., and Kashitani, F. 2003. Evaluation of a new agar medium containing ceftrimide, kanamycin and nalidixic acid for isolation and enhancement of pigment production of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples. *J. Basic Microbiol.* 43(5):407-413.
- Manafi, M, Kneifel, W., and Bascomb, S. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostic. *Microbiological Reviews* 55: 335-348.
- Morais, P.V., Mesquita, C., Andrade J.L, and Da Costa, M. 1997. Investigation of persistent colonization by *Pseudomonas aeruginosa* like strains in a spring water bottling plant. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:851-856.
- Miljøteknologi forslag til samarbeidsmodell og tiltak fra 2008. (www.sft.no/nyheter/dokumenter/miljoteknologi_plan_2007.pdf)
- Pitkänen, T., Paakkari, P., Miettinen, I., Heinonen-Tanski, H., Paulin, L., and Hänninen, M. 2007. Comparison of media for enumeration of coliform bacteria and *Escherichia coli* in non-disinfected water. *J. of Microbial Methods* 68:522-529.
- Prescott, A.M. and Holt, D. 2003. Demonstration of a Rapid Microbial Monitor for Water Quality Monitoring. IWA 2003 South Africa Sustainability Conference.
- Prescott, A.M., Nicolau, J.M., and Holt, D. 2003. Demonstration of a Rapid Microbial Monitor for Water Quality Monitoring. *Water Quality Technology Conference Proceedings*, Philadelphia.
- Rompré, A., Servais, P. Baudart, J., and de-Roubin M.R. 2002. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and approaches. *J. Microbial Methods* 49: 31-54.
- Schets, F.M., Nobel, P.J., Strating, S., Mooijmann, K.A., Engels, G.B., and Brouwer A. 2002. EU Drinking Water Directive reference methods for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* compared with alternative methods. *Lett Appl Microbiol* 34:227-31.
- Stender, H., Broomer, A., Oliveira, K., Perry-O'Keefe, H., Hylding-Nielsen, J.J., Sage, A., Young, B., and Coull, J. Rapid detection, identification, and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* in bottled water using peptide nucleic acid probes.
- Szita, G, Gyenes, M. Soós, L, Rétfalvi, T., Békési, L., Ciskó, G., and Bernáth, S. 2007. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in water samples using a novel synthetic medium and impedimetric technology. *Lett Appl Microbiol.* 45: 42-46.

Tryland, I. 1999. Rapid enzymatic detection of microbial water quality. Dr. Ing. avhandling 55, Institutt for vassbygging, NTNU.

Tryland, I. and Fiksdal, L. 1998. Enzyme Characteristics of β -D Galactosidase and β -D-Glucuronidase-Positive Bacteria and their interference in Rapid methods for detection of waterborne Coliforms and Escherichia coli. Applied and Environmental Microbiology 64:1018-1023.