


The logo for Nemko Norlab, featuring the company name in a sans-serif font with a blue circular graphic element around the 'N'.

**Nemko** Norlab

A blurred background of a laboratory setting. A person wearing a white lab coat and gloves is working with a pipette and a test tube. In the foreground, there is a multi-well plate with blue liquid and a beaker. A large white machine, possibly a centrifuge, is visible in the background.

**Vannringen,**  
Bergen, 6.2.2025

**Somatiske kolifager**

Anne Kristin Gussiås



- Litt om oss





## Nemko Norlab AS

- Analyser, prøvetaking, rådgivning og kurs
  - 12 laboratorier
  - 120 ansatte
  - Kunder fra næringsmiddelindustri, sjømatnæringen, landbasert industri, eiendom, vannverk, offentlig og privat virksomhet
  - Kurs, webinar, e-læringskurs
- 
- [Film Nemko Norlab AS](#)



## Vår eier, Nemko Group

- Norsk stiftelse, hovedkontor i Oslo
- Testing, inspeksjon og sertifisering for produkter, personell og systemer
- 24 lokasjoner i Europa, Midtøsten, Nord-Amerika og Asia
- 630 ansatte globalt



# Kvalitet, godkjenninger og sertifiseringer

**Akkreditert**  
NS-EN ISO 17025

**Sertifisert**  
ISO 14001  
ISO 45001

## Godkjenninger

Sentral godkjenning for prosjektering av miljøsanering

Prekvalifisert leverandør; validert og registrert hos Achilles Oil & Gas og Magnet JQS





## Somatiske kolifager

- Bakgrunn
- Metoder
- Erfaring

# Drikkevann

## Bakgrunn

Dagens indikatorbakterier, som benyttes for å overvåke om drikkevann kan være påvirket av avføring fra mennesker og varmblodige dyr, har vist seg å ha begrenset overlevelse i forhold til en del humanpatogene virus. Det har derfor i lang tid vært søkt etter en bedre indikator på virusforekomst i drikkevann, som kan være et supplement til de indikatorbakteriene som benyttes i dag.

I den reviderte utgaven av EUs drikkevannsdirektiv er somatiske kolifager tatt inn som en ny parameter for virusforekomst. Somatiske kolifager skal nå inngå i risikovurderingen av de hygieniske barrierene i et vannforsyningssystem. Denne parameteren vil også bli tatt inn ved revidering av den norske drikkevannsforskriften.

Kilde: FHI



# Mattilsynet ba FHI vurdere parametere for å vurdere råvannskvaliteten

Argumentasjon:

**Somatiske kolifager bidrar til å avdekke patogene virus og er tatt med fordi de ansees som en bedre indikator for fekal virusforurensing enn E.coli**, men vi mangler dokumentasjon for grenseverdiene.

**Kolifager deler mange egenskaper med humane virus**, og er derfor nyttige for å vurdere tilstedeværelse av enteriske virus i vannmiljøet, samt effekten av behandlings- og desinfiseringsprosesser.

Somatiske kolifager inngår som parameter i forslag til revidert Drikkevannsforskrift og EUs Drikkevannsdirektiv. I forslag til revidert Drikkevannsforskrift står det at: «somatiske kolifager er obligatorisk å analysere for i drikkevannet dersom råvannsanalysene viser at det er mer enn 50 PfU/ 100 ml råvann. Somatiske kolifager skal da analyseres i drikkevannet for å beregne hvilken barriereeffektivitet (log-fjerning) vannbehandlingen har for patogene virus.»

Utover dette oppgis ingen grenseverdi, verken i EUs drikkevannsdirektiv eller forslag til ny Drikkevannsforskrift. Vi har ikke klart å finne litteratur som dokumenterer grensen for 50 pfu, men har lagt oss på linjen i forslag til revidert Drikkevannsforskrift. Dersom den blir stående i Drikkevannsforskriften er det naturlig at den inkluderes i denne klassifiseringen

I EU-direktivet er somatiske kolifager vektlagt som særlig aktuell indikator i grunnvann. Vi vil rette spørsmål om i EUs Drikkevannsdirektiv mener at den er mer aktuell for grunnvann enn overflatevann.

Kilde: Matilsynet.no

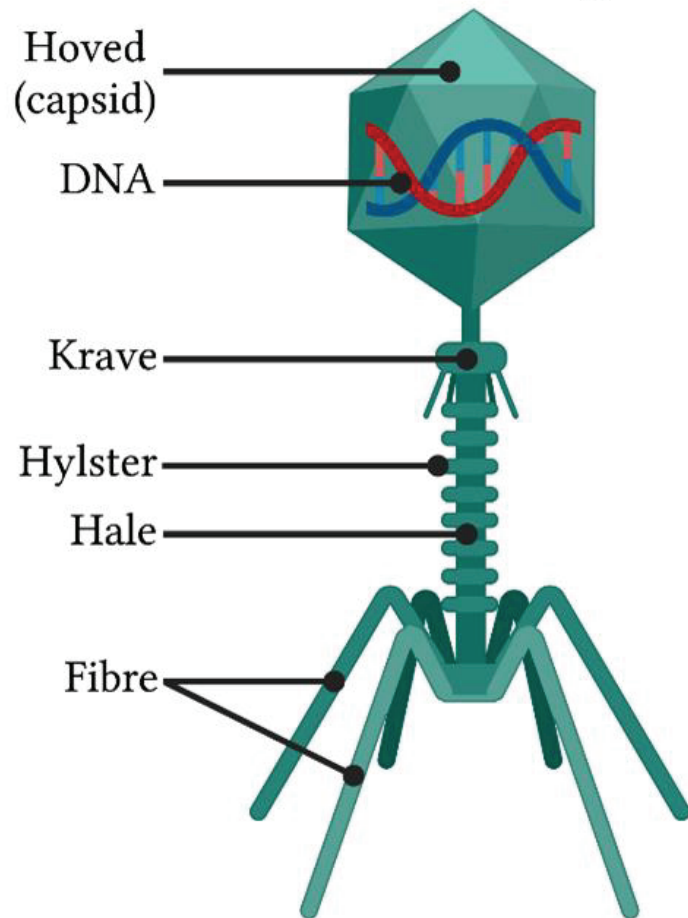


# Drikkevann analyser

## Dagens krav i Drikkevannsforskriften:

- råvannsanalyser og drikkevannsanalyser
- Bakteriologiske analyser
  - Indikatorbakteriene som brukes er for å overvåke om drikkevann kan være forurenset av avføring fra mennesker eller varmblodige dyr
  - Indikatorbakteriene har en begrenset levetid i vannet, i forhold til humanpatogene virus
- **Kommende krav:**
  - Somatiske kolifager blir tatt inn som en indikatoranalyse for virusforekomst i drikkevann.
  - Skal analyseres i tillegg til indikatorbakteriene
  - Antatt krav: < 50 PFU/100 ml i råvann
    - rentvann skal analyseres ved funn >50 PFU/100 ml i råvann

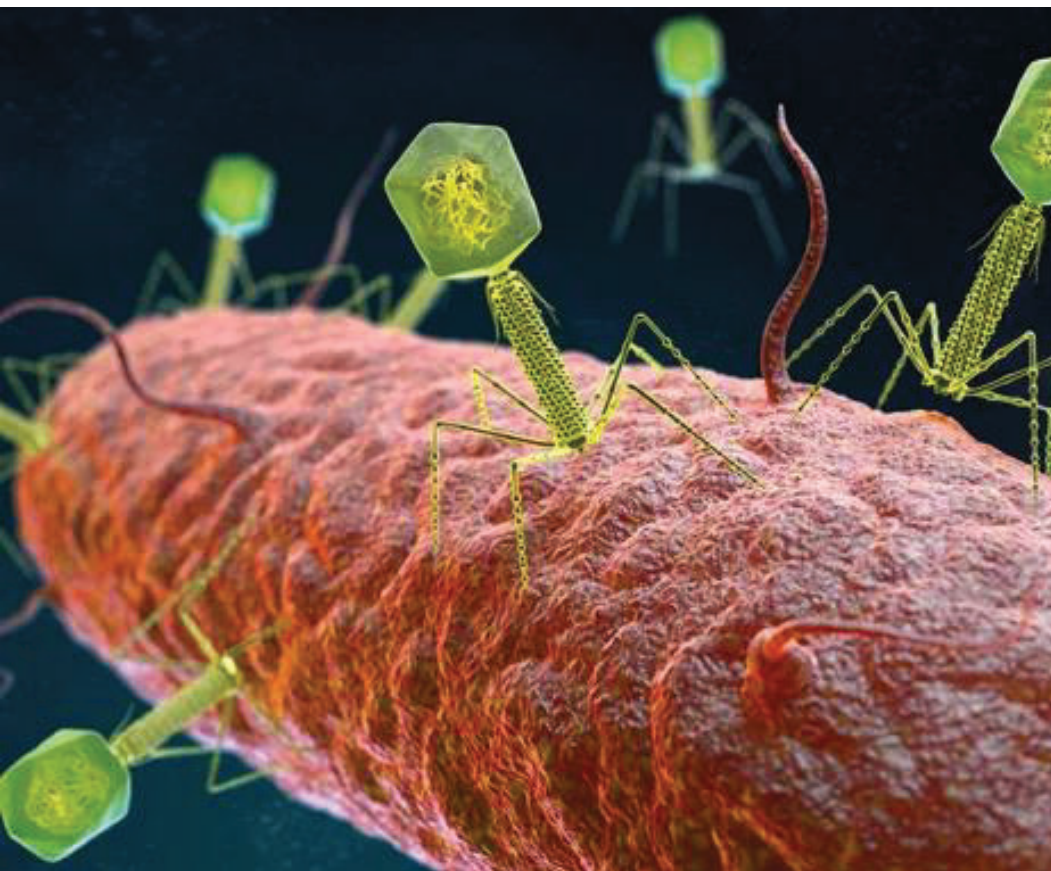
## Bakteriofag



## Bakteriofag

- bakterievirus

- Infiserer bakterier
- Formerer seg inne i bakterien
- Finnes overalt der det er bakterier
- Stort antall



Shutterstock. Illustrasjon av bakteriofag, virus som infiserer bakterie

## Bakteriofag

Virus som infiserer bakterier

## Kolifag

Virus som infiserer E.coli

Kolifager er virus som infiserer bakterier, og skilles ut med avføring fra mennesker og varmblodige dyr, men kan også formere seg i bakterier i naturen. Tilstedeværelse av kolifager i drikkevann indikerer svikt i beskyttelse av råvannkilder eller vannbehandling som skal holde tilbake/inaktivere sykdomsfremkallende virus. (Kilde FHI)

---

---

ICS 07.100.20; 13.060-40.10  
Språk: Engelsk

## Vannundersøkelse Påvisning og telling av bakteriofager Del 2: Telling av somatiske kolifager (ISO 10705-2:2000)

Water quality  
Detection and enumeration of bacteriophages  
Part 2: Enumeration of somatic coliphages  
(ISO 10705-2:2000)

## Metode i forslag DVF

### NS-EN ISO 10705-2

Water quality — Detection and enumeration of bacteriophages — Part 2: Enumeration of somatic coliphages

### NS-EN ISO 10705-3:2024

Vannundersøkelse - Påvisning og telling av bakteriofager -  
Del 3: Validering av metoder for konsentrasjon av  
bakteriofager fra vann (ISO 10705-3:2003)



## Forberedelser

### Stamkultur med E.coli – fryses inn

- To forskjellige, en for prøver med lavt bakterieinnhold og en annen for prøver med høyt bakterieinnhold
- E.coli stamme overføres til 50 ml MSB, Modified Sholten's buljong
- Inkuberes ved 36 °C i 20 timer – ristes
- Tilsett 10 ml steril glyserol
- Fordel i rør med 0,5 ml i hvert
- Fryses ved -70°C eller i flytende nitrogen



## Arbeidskultur

- Romtemperer et rør med stamkultur
- Overførestil McConkey agarskål, inkuberes til neste dag
- 50 ml MSB tempereres til romtemperatur
- Tilsett 3-5 laktosepositive kolonier fra McConkey agarskål til MSB
- Inkuber MSB 5 timer v/ 36°C – ristes forsiktig
- Tilsett 10 ml sterilt glyserol og bland
- Fordeles på rør, ca 1,2 ml i hvert
- Lagres ved -70°C i inntil 2 år



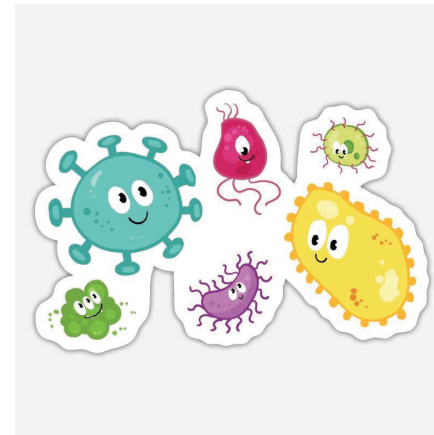


## Forberedelse på analysedag

- Tin et rør med arbeidskultur, oppnå romtemperatur
  - 50 ml MSB romtempereres i erlenmeyerkolbe
  - Tilsett 0,5 ml arbeidskultur
  - Inkuber ved 36 °C maks 3,5 timer – rist forsiktig
  - Mål absorbans ca hver halvtime
  - Skal oppnå en celletetthet på ca  $10^8$  cfu/ml
  - Absorbans på ca 2,5; bølgelengde 235,7 nm
- 
- Smelt ssMSA agar, 50 ml tilsettes 0,3 ml CaCl-løsning (forventer lav bakgrunnsflora).  
Forventes høy bakgrunnsflora tilsett også nalidixinsyre
  - Fordel 2,5 ml ssMSA i rør. Sett i vannbad 45°C

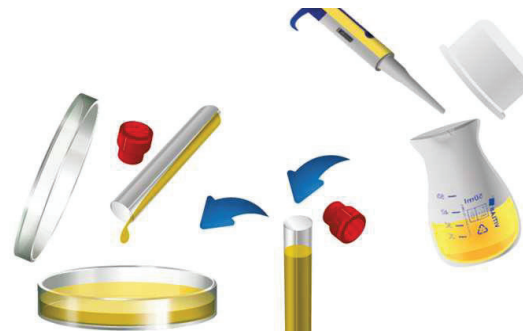
## Utførelse

- Tilsett 1 ml vannprøve, forvarmet
- Tilsett 1 ml inokulert E.coli kultur ( $10^8$ ) til hvert rør, forvarmet. Bland forsiktig – unngå dannelse av luftbobler
- Hell rørets innhold på 9 cm MSA agarskål
- Fordel jevnt – la tørke
- Inkuberes ved  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  i  $18 \pm 2$  timer
- Tell antall plakkdannende enheter, pfu

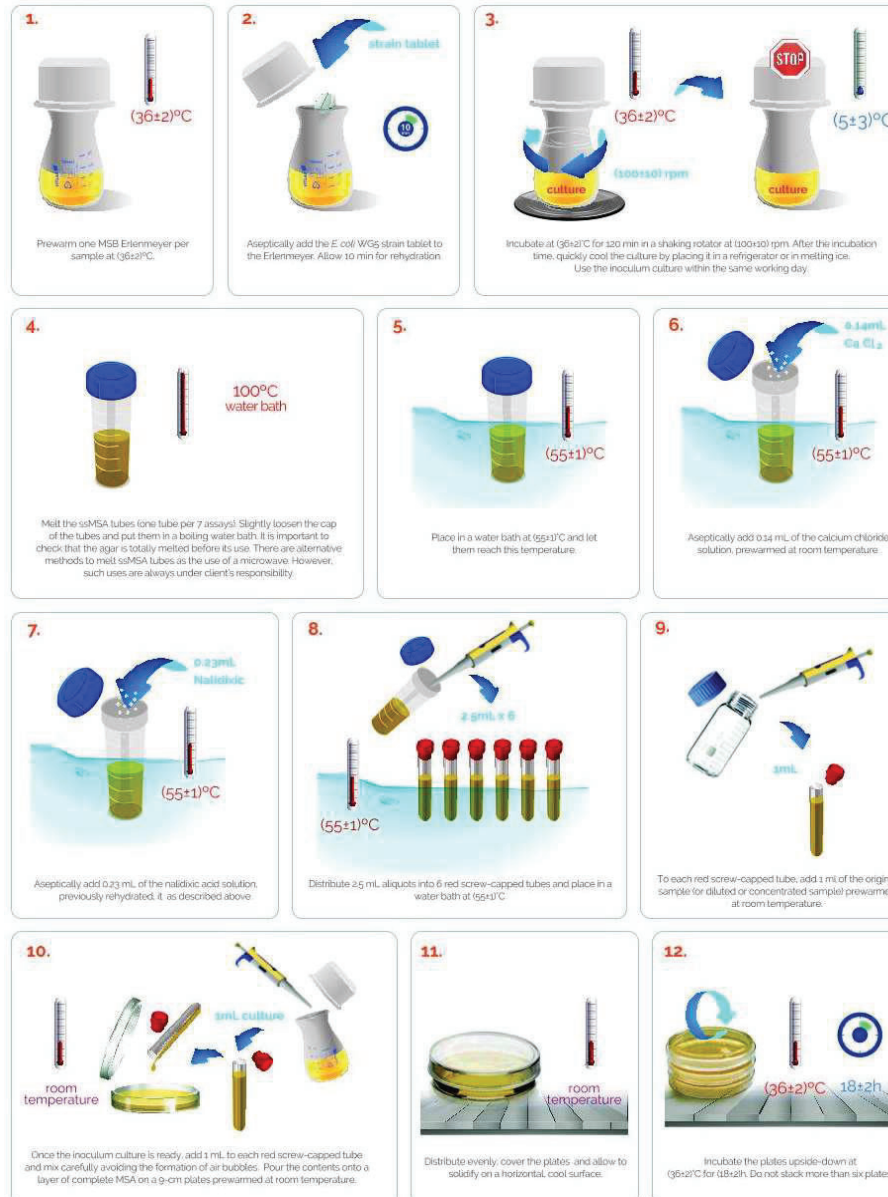


# Bluephage EASY kit (råvann)

- Kit med alt innhold unntatt agarskålene
- Kit for råvann i hht NS-EN ISO 10705-2
- 12 steg
- Analysevolum: 1 – 10 ml råvann.
- Egnet for prøver med høy konsentrasjon av bakterier
- Dyrkingsmedium: Modified Sholten's Agar



**Bluephage EASY KITS – ISO Kit - BP160I**



**1.** Prewarm one MSB Erlenmeyer per sample at  $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$ .

**2.** Aseptically add the E. coli WGS strain tablet to the Erlenmeyer. Allow 10 min for rehydration.

**3.** Incubate at  $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$  for 120 min in a shaking rotator at 1000±50 rpm. After the incubation time, quickly cool the culture by placing it in a refrigerator or in melting ice. Use the inoculum culture within the same working day.

**4.** Melt the s4MSA tubes (one tube per 7 assays). Slightly loosen the cap of the tubes and put them in a boiling water bath. It is important to check that the agar is totally melted before its use. There are alternative methods to melt s4MSA tubes as the use of a microwave. However, such uses are always under client's responsibility.

**5.** Place in a water bath at  $(55\pm 1)^{\circ}\text{C}$  and let them reach this temperature.

**6.** Aseptically add 0.14 mL of the calcium chloride solution, prewarmed at room temperature.

**7.** Aseptically add 0.23 mL of the nalidixic acid solution, previously rehydrated, it as described above.

**8.** Distribute 2.5 mL aliquots into 6 red screw-capped tubes and place in a water bath at  $(55\pm 1)^{\circ}\text{C}$ .

**9.** To each red screw-capped tube, add 1 mL of the original sample (or diluted or concentrated sample) prewarmed at room temperature.

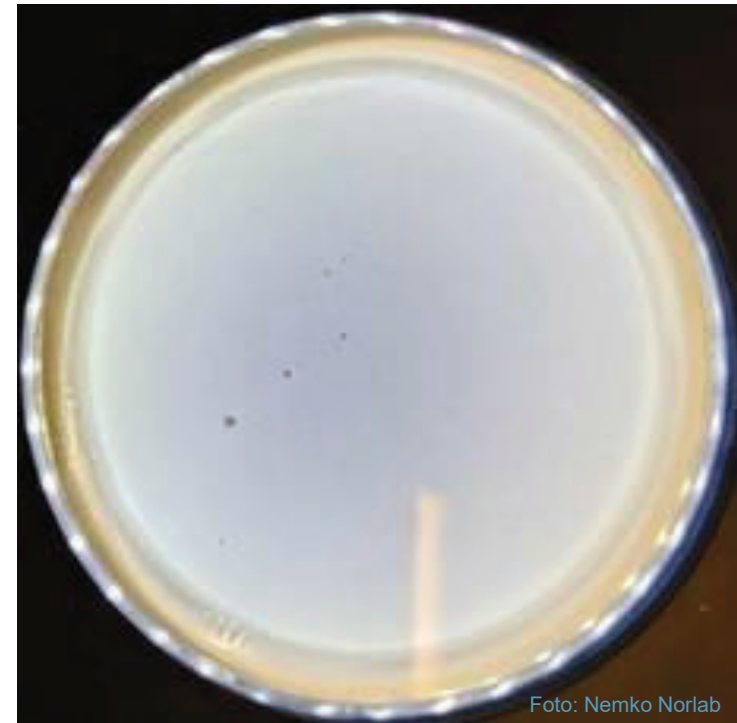
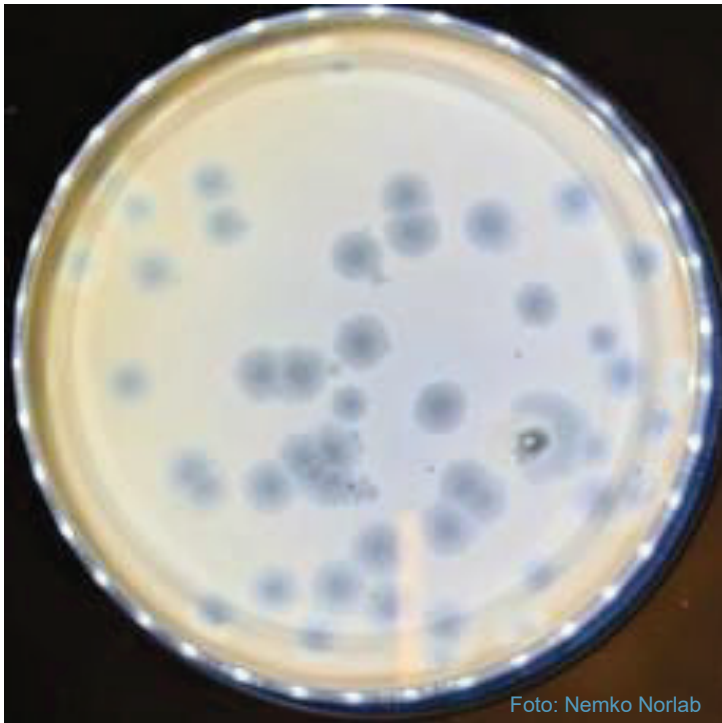
**10.** Once the inoculum culture is ready, add 1 mL to each red screw-capped tube and mix carefully avoiding the formation of air bubbles. Pour the contents onto a layer of complete MSA on a 9-cm plates prewarmed at room temperature.

**11.** Distribute evenly, cover the plates, and allow to solidify on a horizontal, cool surface.

**12.** Incubate the plates upside-down at  $(36\pm 2)^{\circ}\text{C}$  for 18±2h.

Kilde: bluephage

## Somatiske kolifager på MSA skål





# Erfaring



- Enkelt at alt er i et kit. Grei steg for steg veiledning
- Hele prosessen tar flere timer, men mye tid mellom stegene i starten
- Liten mengde (1 ml) råvann som testes, ingen vekst gir < 100 PFU/100 ml
- Ved test av 10 ml råvann blir det lett klumper i røret med ssMSA. Temperering av vannprøven viktig, jobbe raskt. Ha neste steg klart
  - Blir få prøver pr sett i kitet -
- Samle prøveinnlevering for å starte flere prøver på samme tid
- Tid fra uttak til analysestart, 48 timer? 72 timer?
- Verifisering av metoden og søknad akkreditering vil komme – når revidert DVF gjøres gyldig

Takk for meg!

*Anne Kristin Gussiås*

901 17 895

*[anne.kristin.gussias@nemkonorlab.com](mailto:anne.kristin.gussias@nemkonorlab.com)*

