

Långtidslagring av avloppsslam

– effekt på hygienisk kvalitet

Ingela Berggren

Ann Albiñ

Mats Johansson



VA-Forsk

VA-Forsk är kommunernas eget FoU-program om kommunal VA-teknik. Programmet finansieras i sin helhet av kommunerna, vilket är unikt på så sätt att statliga medel tidigare alltid använts för denna typ av verksamhet. FoU-avgiften är för närvarande 1,05 kronor per kommuninnevånare och år. Avgiften är obligatorisk. Nästan alla kommuner är med i programmet, vilket innebär att budgeten årligen omfattar drygt åtta miljoner kronor.

VA-Forsk initierades gemensamt av Svenska Kommunförbundet och Svenskt Vatten. Verksamheten påbörjades år 1990. Programmet lägger tonvikten på tillämpad forskning och utveckling inom det kommunala VA-området. Projekt bedrivs inom hela det VA-tekniska fältet under huvudrubrikerna:

Dricksvatten
Ledningsnät
Avloppsvattenrening
Ekonomi och organisation
Utbildning och information

VA-Forsk styrs av en kommitté, som utses av styrelsen för Svenskt Vatten AB. För närvarande har kommittén följande sammansättning:

Anders Lago, ordförande	Södertälje
Olof Bergstedt	Göteborgs VA-verk
Roger Bergström	Svenskt Vatten AB
Daniel Hellström	Stockholm Vatten AB
Stefan Marklund	Luleå
Mikael Medelberg	Roslagsvatten AB
Anders Moritz	Linköping
Peter Stahre	VA-verket Malmö
Jan Söderström	Sv Kommunförbundet
Göran Tägtström	Borlänge
Agneta Åkerberg	Falkenberg
Steinar Nybruket, adjungerad	NORVAR, Norge
Thomas Hellström, sekreterare	Svenskt Vatten AB

Författarna är ensamma ansvariga för rapportens innehåll, varför detta ej kan åberopas såsom representerande Svenskt Vattens ståndpunkt.

VA-Forsk
Svenskt Vatten AB
Box 47607
117 94 Stockholm
Tfn 08-506 002 00
Fax 08-506 002 10
svensktvatten@svensktvatten.se
www.svensktvatten.se

Svenskt Vatten AB är servicebolag till föreningen Svenskt Vatten.

Rapportens titel:	Långtidslagring av avloppsslam – effekt på hygienisk kvalitet
Title of the report:	The effect of long term storage of sewage sludge – sanitary quality
Rapportens beteckning Nr i VA-Forsk-serien:	2005-04
Författare:	Ingela Berggren, Ann Albihn, Mats Johansson, Sektionen för Miljö och Smittskydd, SVA
VA-Forsk-projektnr:	22-114
Projektets namn:	Långtidslagring av avloppsslam – effekt på hygienisk kvalitet
Projektets finansiering:	VA-Forsk och SVA
Rapportens omfattning Sidantal: Format:	23 A4
Sökord:	<i>Ascaris suum</i> , hygien, indikatorbakterier, lagring, <i>Salmonella</i> spp., slam
Keywords:	<i>Ascaris suum</i> , hygienic effect, indicator bacteria, <i>Salmonella</i> spp., sewage sludge, storage
Sammandrag:	Temperatur, tid och klimatets inverkan på den hygieniska kvalitén hos lagrat slam har undersökts i en fält- resp. laboratoriestudie. Kvalitén har bedömts utifrån reduktion av indikatorbakterier, <i>Salmonella</i> spp. och <i>Ascaris suum</i> .
Abstract:	The effects of temperature, time and climate on the hygiene quality of stored sewage sludge were investigated in field and a laboratory experiment. Quality was assessed in terms of reduction in indicator bacteria, <i>Salmonella</i> spp. and <i>Ascaris suum</i> .
Målgrupper:	Branschexpertis, beslutsfattare, forskare
Omslagsbild:	Slamlagring. Foto: Bengt Ekberg, SVA
Rapporten beställs från:	Finns att hämta hem som pdf-fil från Svenskt Vattens hemsida www.svensktvatten.se
Utgivningsår:	2005
Utgivare:	Svenskt Vatten AB © Svenskt Vatten AB

Förord

Statens Veterinärmedicinska Anstalt har med finansiellt stöd från VA-Forsk utfört en lagringsstudie av slam under år 2003/2004. Detta är den första vetenskapliga studien som utförts i syfte att bedöma den hygieniska kvalitén på slam som lagrats under svenska klimatförhållanden.

Salmonella är en av de smittämnen som uppmärksammats mest i dessa sammanhang och där tidigare studier utförda vid SVA visat att *Salmonella* är vanligt förekommande i svenskt slam. I aktuell studie har smittämnenas överlevnad studerats dels i ett fältförsök och dels under kontrollerade laboratorieförhållanden. Förutom *Salmonella* har indikatorbakterierna enterokocker och koliformer, samt överlevnaden hos inälvparasiten *Ascaris suum* undersökts.

Vi tackar VA-Forsk som stött studien finansiellt. Det analytiska arbetet har på ett förtjänstfullt sätt utförts med hjälp av personal vid Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt. Vi vill också rikta ett stort tack till personalen vid Uppsala reningsverk som ställt så väl försöksplats som eget arbete till förfogande under planering och genomförande av fältförsöket.

Innehåll

Förord	3
Sammanfattning	7
Summary	8
1 Bakgrund	9
2 Material och metoder	9
2.1 Slam som använts	9
2.2 Fältförsök	9
2.2.1 Försöksuppställning	9
2.2.2 Provtagning och provpreparering	10
2.2.3 Klimatdata	11
2.3 Inkubationsförsök	11
2.3.1 Försöksuppställning	11
2.3.2 Tillsätta mikroorganismer	11
2.3.3 Provtagning	11
2.4 Analyser	11
2.4.1 Indikatororganismer	11
2.4.2 Salmonella spp.	11
2.4.3 pH	12
2.4.4 Torrsubstanshalt, TS	12
2.5 Statistisk bearbetning	12
3 Resultat och diskussion	12
3.1 Fältförsöket	12
3.1.1 Reduktion av indikatorbakterier	12
3.1.2 Återisolering av Salmonella spp.	15
3.1.3 Klimat, lagertemperatur, pH och torrsubstanshalt	15
3.2 Inkubationsförsöket	17
3.2.1 Reduktion av indikatorbakterier	17
3.2.2 Salmonella	18
3.2.3 Ascaris suum	19
4 Sammanfattande resultat och slutsatser	19
5 Fortsatt arbete	20
Referenser	22

Sammanfattning

Vid SVA har en lagringsstudie på avloppsslam utförts i syfte att undersöka hygienisering vid långtidslagring under svenska klimatförhållanden. I studien ingick ett fältförsök i pilotskala, och ett inkubationsförsök i laboratorieskala. Fältförsöket pågick under april 2003 till maj 2004. Två slamlager på ca 15 m³ med rötat respektive obehandlat slam lagrades utan tak, vändningar eller inblandning av strukturförbättrande material. Lagringstemperaturen registrerades kontinuerlig på två djup och provtagning för mikrobiella analyser, pH och TS gjordes vid nio tillfällen vid fem provpunkter och på två djup i vardera lager. I inkubationsförsöket undersöktes överlevnad av enterokocker, koliforma bakterier (indikatorbakterier), *Salmonella* Typhimurium och *Ascaris suum* i obehandlat slam vid lagring i tre temperaturer 7, 13 och 21 °C under 7 månader.

Reduktionen av indikatorbakterier i fältförsöket var inte stabil under lagringens 12 månader utan perioder av tillväxt förekom i så väl det obehandlade som rötade slammet. Vidare fanns det, efter 12 månaders lagring, fortfarande enterokocker i det obehandlade slammet. De mikrobiella provtagningsrutiner som tillämpades i fältstudien visade på en stor variation i koncentration av indikatorbakterierna mellan de två provtagningsdjupen vid samma provtagningsstillfälle. *Salmonella* spp., som i tidigare studier visat sig vara vanligt förekommande i svenskt avloppsslam, var inte möjlig att återisolera i något av de två slamlagren efter 2 månaders lagring oavsett koncentrationen av *Salmonella* spp. vid försöksstart. Resultaten från inkubationsförsöket tyder på att andra faktorer utöver temperaturen kan vara av betydelse för reduktionen av *Salmonella* spp. under lagring. Vidare visade inkubationsförsöket att inälvparasiten *Ascaris suum* ser ut att ha en mycket god överlevnad i slam vid lagring under svenska klimatförhållanden. Inkubationsstudien visade också att de två indikatorbakterierna hade skilda reduktionsförlopp under lagring och att de koliforma bakterierna utifrån dessa resultat får anses som mindre lämpliga att använda som indikator av den hygieniska kvalitén vid slamlagring.

Indikatorbakteriernas varierande koncentration under lagringsperioden i fältförsöket indikerar en otillräcklig hygienisering. Detta innebär att det inte kan uteslutas att smittämnen, så som *Salmonella* spp., kan finnas kvar i icke detekterbara koncentrationer, som kan komma att tillväxa i slamlagren vid förändrade miljöbetingelser. Detta gör att bedömning av slammets hygieniska kvalitet blir osäker. För att kunna bedöma den hygieniska effekten av lagring bör en uppföljande fältstudie genomföras där reduktionen av smittämnen så som *Salmonella* spp. och *Ascaris suum* studeras mer ingående. Vilken slags slambehandling som föregår lagring ser också ut att vara av betydelse för det hygieniska slutresultatet och bör undersökas ytterligare.

Summary

A study on sewage sludge was carried out at SVA with the aim of investigating the sanitising effect of long-term storage under Swedish conditions. The study comprised a pilot scale field experiment (April 2002–May 2003) and a laboratory scale incubation experiment. Two approx. 15 m³ sludge heaps, one digested material and one untreated, were stored without turning or mixing with structure-improving material. Storage temperature was recorded continuously at two depths and samples were extracted for microbial analysis, pH and DM content on 9 occasions, at 5 sampling points and at 2 depths in each heap. The incubation experiment investigated the survival of enterococci, coliform bacteria (indicator bacteria), *Salmonella* Typhimurium and *Ascaris suum* in untreated sludge after storage at 7, 13 or 21 °C for 7 months.

The reduction in indicator bacteria in the field experiment was not stable during the 12 months of storage and periods of growth occurred in both digested and untreated sludge. In addition, after 12 months of storage, enterococci were still present in the untreated sludge. The microbial sampling schedule used in the field experiment showed a wide variation in concentrations of indicator bacteria between sampling depths on individual sampling occasions. *Salmonella* spp., which in previous studies have been shown to be commonly occurring in Swedish sewage sludge, could not be re-isolated from either of the sludge heaps after 2 months of storage, regardless of the concentrations of *Salmonella* spp. at the start of the experiment. The results of the incubation experiment indicate that other factors, in addition to temperature, can be important in reducing *Salmonella* spp. during storage. The incubation experiment also showed that the internal parasite *Ascaris suum* appeared to survive well in sludge during storage under Swedish conditions. The two indicator bacteria analysed in the incubation experiment had different reduction profiles during storage and the results showed that coliform bacteria were less suitable for use as indicators of the hygiene quality of sludge storage.

The variations in concentrations of the indicator bacteria during the storage period in the field experiment indicate an inadequate sanitising effect. This means that it is impossible to exclude the possibility that infection agents such as *Salmonella* spp. can remain in non-detectable concentrations and can grow in the sludge heap once conditions become more favourable. This makes the evaluation of the hygiene quality of sludge less reliable. To fully evaluate the effects on hygiene of sludge storage, a follow-up field study should be carried out in which the reduction in infection agents such as *Salmonella* spp. and *Ascaris suum* is studied in more detail. The type of sludge treatment preceding storage also appears to be important for the final effect on hygiene and should be investigated further.

1 Bakgrund

Avloppsslammets användning i jordbruket och dess innehåll av bl.a. tungmetaller, läkemedelsrester och smittämnen har sedan länge varit föremål för debatt i Sverige. Målet i Naturvårdsverkets aktionsplan för återföring av fosfor är att 60 % av fosfor skall återföras från avloppsslam år 2015, varav 30 % skall återcirkulera till jordbruket. Dock är riskerna för smittspridning vid användning av avloppsslam svåra att bedöma och dåligt utredda (Schönning 2003). Vi vet att den hygieniska säkerheten för dagens avloppsslam vanligen är dålig vilket bl.a. innebär att slammet innehåller många olika sjukdomsframkallande mikroorganismer, s.k. patogener (Carrington 2001). *Salmonella* är en av de patogener som uppmärksammas mest i dessa sammanhang och där en tidigare studie gjord vid SVA visar att *Salmonella* är vanligt förekommande i slam (Sahlström *et al.* 2004). De kommande EU-direktiven kommer att ställa krav på slammets hygieniska kvalitet, innan vidare användning på bl.a. jordbruksmark och grönytor.

I både Sverige och Norge har det diskuterats huruvida långtidslagring kan ge en godtagbar hygienisering i kombination med den konventionella slambehandlingen. Långtidslagring av avloppsslam vill gärna ses som en enkel och resurseffektiv hygieniseringsmetod. I dagsläget är det, vid företrädesvis många mindre reningsverk, den enda metod som finns att tillgå för att försöka säkerställa den hygieniska kvalitén på slammet. Antalet mikroorganismer i slammet minskar generellt under långtidslagring (Dumontet *et al.* 1999) men lagringen sker ofta okontrollerat och öppet vilket gör det svårt att förutsäga den reduktion av mikroorganismer som sker. Detta beror delvis på att de yttre miljöfaktorerna, så som temperatur och nederbörd, varierar och har stor inverkan på den mikrobiella aktiviteten i slammet. Hitintills finns det inga utländska studier publicerade som entydigt visar att lagring kan fungera som hygieniseringsmetod och studier av lagring under svenska klimatförhållanden saknas helt. Den hygieniska effekten vid långtidslagring behöver därför utvärderas ytterligare.

2 Material och metoder

I studien har två försök genomförts, ett fältförsök i pilotskala, och ett inkubationsförsök i laboratorieskala. I fältförsöket undersöktes effekten av lagring på överlevnad av *Salmonella* och indikatorbakterier vid två olika slambehandlingar. I inkubationsförsöket undersöktes effekten av temperatur på överlevnad av *Salmonella* Typhimurium, indikatorbakterier och *Ascaris suum*.

2.1 Slam som använts

I syfte att studera eventuella skillnader i hygienisk kvalitet efter lagring av slam från olika slambehandlingsmetoder användes slam från två olika reningsverk, benämnda A och B. Råslammet i reningsverk A genomgår en mesofil anaerob rötning följt av mekanisk avvattning medan reningsverk B har en primär sedimentationsprocess och mekanisk avvattning av sitt råslam. I fältförsöket användes slam från reningsverk A och B och i inkubationsförsöket användes slam från reningsverk B. Båda försöken är utförda på färskt slam som samlades in direkt efter avvattningssteget vid respektive reningsverk och analyserades innan försöksstart (tabell 2-1 nedan).

2.2 Fältförsök

2.2.1 Försöksuppställning

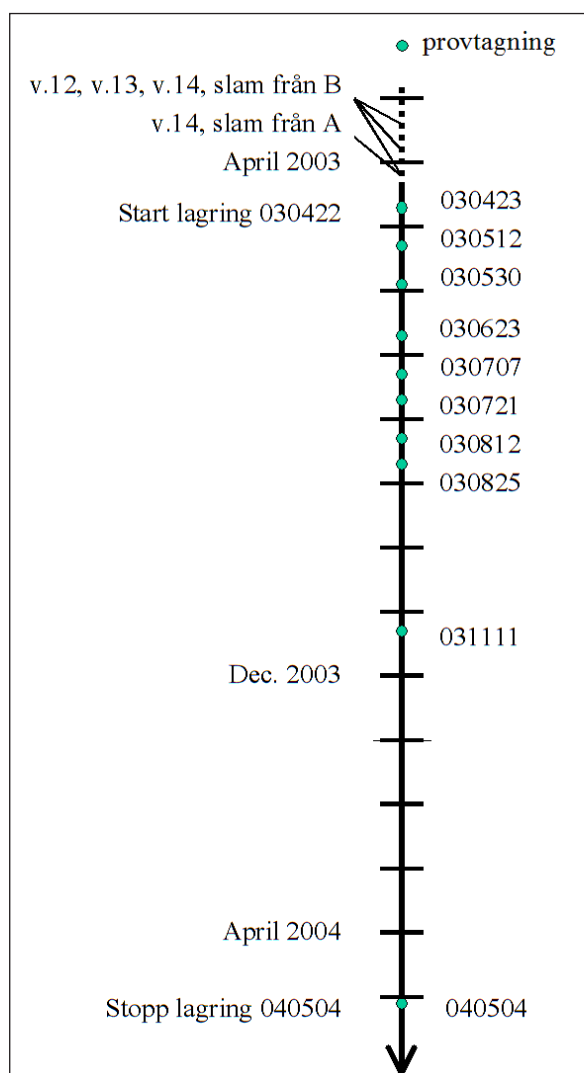
Slam från reningsverk A och B samlades in under en respektive tre veckors tid (figur 2-1, nedan). Två slamlager, på ca 15 m³ vardera, iordningställdes på plats godkänd för slamlagring. Två dataloggers (Tinytag Plus; INTAB Interface-Teknik AB, Stenkullen) placerades ut i vardera slamlager på två djup, 30 och 60 cm, för registrering av temperatur 4 ggr per dygn. Lagringen pågick i 377 dagar med start 030422 och

Tabell 2-1. Egenskaper på slammet i studien vid försöksstart.

	Reningsverk A ¹ (rötat)		Reningsverk B ² (obehandlat)	
	fältförsök		fältförsök	inkubationsförsök
pH	7,0		7,2	7,2
TS	31 %		30 %	29 %
Enterokocker	Log 5,1 cfu/g TS		Log 6,2 cfu/g TS	Log 5,5 cfu/g TS
Koliforma bakterier	Log 5,6 cfu/g TS		Log 6,0 cfu/g TS	Log 6,5 cfu/g TS
Salmonella spp.	1 100 MPN/100 g		300 MPN/100 g	Ej förekomst av <i>S. Typhimurium</i>
Salmonella serotyp isolerade vid försöksstart	S. Rissen S. Tornow S. Branderup		S. Subsp.I=9.12:-:1.5	
Tid från avvattning i reningsverken till försöksstart	3 veckor		3-5 veckor	6 dagar

¹ Reningsverk med 130700 populationsekvivalenter anslutna.

² Reningsverk med 2570 populationsekvivalenter anslutna.



Figur 2-1. Tid för insamling och anläggande av två slamlager med rötat resp. obehandlat slam samt datum för provtagning.

avslut 040504. Lagringen skedde på cementplatta utan tak, vändningar av slammet under lagringstiden eller inblandning av strukturförbättrande material.

2.2.2 Provtagning och provpreparering

Under lagringsperioden gjordes nio provtagningar för bakteriella analyser samt för bestämning av pH och torrsustans (TS). Vid försöksstart markerades fem provpunkter, jämt fördelade över respektive slamlager, i syfte att få samma provtagningpunkter vid varje provtagningstillfälle. Slamproven togs ut på två djup, 10–30 och 30–60 cm, vid respektive provpunkt. Provtagningsutrustningen bestod av PVC-rör, 40 mm i diameter, försedda med djupmarkering, som trycktes ner till 30 respektive 60 cm djup (de översta 10 cm avlägsnades innan provtagning). Slampluggarna trycktes ut med hjälp av ett mindre PVC-rör (pluggrör), förslutet i ena änden. Vid varje provtagningstillfälle användes ett provtagningsrör och ett pluggrör per djup och lager. Nya rör användes vid varje provtagningstillfälle. Proverna transporterades i kylväska och analyserades inom 6 timmar från provtagning.

Enterokocker, koliforma bakterier, pH och TS analyserades i fyra samlingsprov – ett för vardera provtagningsdjup och slamlager. Mängd och förekomst av *Salmonella* spp. analyserades på varje enskilt prov, totalt 20 st. per provtillfälle, i 25 g slam.

2.2.3 Klimatdata

Data på daglig nederbörd och lufttemperatur under lagringstiden erhöles från en närliggande (ca 5 km) klimatstation (http://grodden.evp.slu.se/slu_klimat/index.html).

2.3 Inkubationsförsök

2.3.1 Försöksuppställning

Slam från reningsverk B samlades in vid ett tillfälle och förvarades vid +4 °C under ca 1 vecka i avvaktan på försöksstart. Slammet analyserades negativt med avseende på förekomst av *Salmonella* (*S.*) *Typhimurium*. Sex portioner på vardera 1 kg slam vägdes in och inokulerades med *S. Typhimurium*. Därefter fördes slammet tillsammans med nylonpåsar innehållande ägg av *Ascaris (A.) suum* växelvis över i glaskärl, 3 dm³. Behållarna försågs med lock och inkuberades i tre temperaturer 7 ± 0,8 °C, 13 ± 0,7 °C och 21 ± 0,4 °C, två kärl per temperatur, under 214 dagar. Syretillgången i kärnen reglerades genom kontinuerlig luftning och vattenhalten hölls konstant genom tillsats av sterilt destillerat vatten vid behov.

2.3.2 Tillsatta mikroorganismer

Inokulum med *Salmonella* preparerades genom att odla upp en cellkultur av *S. Typhimurium*, i tryptonbuljong (Difco) under 24h vid 37 °C till en slutlig cellkoncentration på log 8,1 MPN/g slam TS. Vid uppodlingen användes en renkultur av *S. Typhimurium* 178, resistent mot trimethoprim, och som ursprungligen isolerats från slam av Sahlström *et al.* (2004). Cellkulturen odlades upp i direkt anslutning till försöksstart.

Icke embryonerade nematodägg plockades från maskar av *Ascaris suum* hämtade ur tarminnehåll från svin efter normalslakt. Därefter preparerades nylonpåsar (70x70 mm², porstorlek 30 µm) med ca log 4 *A. suum* ägg/påse varefter de förslöts med fog (Johnson *et al.* 1998). De färdigpreparerade påsarna förvarades i 0,1N- sulfatsyra vid +4 °C i avvaktan på försöksstart.

2.3.3 Provtagning

Under inkubationstiden togs slamprover med två till tre veckors mellanrum för bestämning av mängd enterokocker, koliforma bakterier och *S. Typhimurium* samt för analys av pH och TS. Vid sex tillfällen, plockades två nylonpåsar med *Ascaris* ägg ut ur varje kärl för undersökning av andelen viabla ägg. Vid samtliga provtagningar användes sterila pincetter. Proverna analyserades i direkt anslutning till provtagning.

2.4 Analyser

Samtliga bakteriella analyser är utförda enligt ackrediterade standardmetoder NMKL (Nordisk Metodkommitté för Livsmedel) vid SVA:s bakteriologiska laboratorium.

2.4.1 Indikatororganismer

Den naturliga förekomsten av antalet enterokocker och koliforma bakterier (37 °C) i slammet bestämdes enligt NMKL 68:2:1992 respektive NMKL 44:4:1995.

I inkubationsförsöket studerades överlevnaden hos tillsatta nematodägg vid sex tillfällen. Nylonpåsar innehållande *Ascaris* ägg undersöktes mikroskopiskt och minst 100 ägg per påse differentierades som icke embryonerade respektive embryonerade. Överlevnaden hos de icke embryonerade äggen bekräftades genom en ytterligare inkubering under 21 dagar i 0,1N- sulfatsyra vid 21 °C med efterföljande mikroskopering av minst 100 ägg per påse. Efter 21 dagars inkubering i 21 °C kontrollerades även rörligheten hos de embryonerade larverna. En kontroll med *Ascaris* ägg lagrade i 0,1N- sulfatsyra vid 21 °C och undersöktes med avseende på överlevnad i början och i slutet av inkubationsförsöket.

2.4.2 *Salmonella* spp.

Den kvalitativa undersökningen av slammet för påvisande av förekomst av *Salmonella* spp. gjordes

enligt NMKL 71:5:1999. Slamprovet preanrikades i buffrat peptonvatten (Oxoid) i 24 h vid 37 °C, anrikades i Rappaports-Vassiliadis buljong (Oxoid) i 24 h vid 42 °C och isolerades på Xylose-Lysine-Dexycolate agar plattor (Lab M; Axel Johnson Lab system inc. Solna) (kompletterat med 32 µg trimethoprim i inkubationsförsöket) samt på Brilliant-Grön-Fenol Röd agar plattor (Oxoid) i 24 h vid 37 °C. Misstänkta *Salmonella*-kolonier verifierades biokemiskt och serologiskt. Typning av verifierade salmonella-kolonier gjordes enligt Kauffman-White schemat (Popoff & Le Minor Leon 2001).

Slamprov uttaget för kvantitativ bestämning av *Salmonella* analyserades utifrån tre provmängder med förhållandet 100:10:1 och med fem prover per nivå. De 15 delproverna behandlades i enlighet med anrikningsproceduren (NMKL 71:5:1999). Koncentrationen av *Salmonella* spp. i slamprovet beräknades utifrån erhållet antal *Salmonella*-positiva respektive -negativa delprov med hjälp av en MPN-tabell (MPN = most probable number) (APHA *et al.* 1995).

2.4.3 pH

Mätning av pH har utfördes enligt Svensk Standard; SS-EN 12176:1998. Slam motsvarande 5,0 g TS vägdes in och slammades upp i vatten till en totalvikt av 100 g och analyserades omgående med en glaselektrod.

2.4.4 Torrsubstanshalt, TS

Slammets TS-halt bestämdes utifrån dubbelprov som vägdes in och torkades i 105 °C till konstant vikt (APHA *et al.* 1992).

2.5 Statistisk bearbetning

Den exponentiella reduktionshastigheten av mikroorganismerna under inkubationsförsöket är uttryckt enligt formeln $N = N_0 e^{-kt}$ där N är den bakteriella koncentrationen vid tidpunkten t , N_0 den initiala bakteriekoncentrationen och k den specifika reduktionshastigheten. Students t-test har använts för

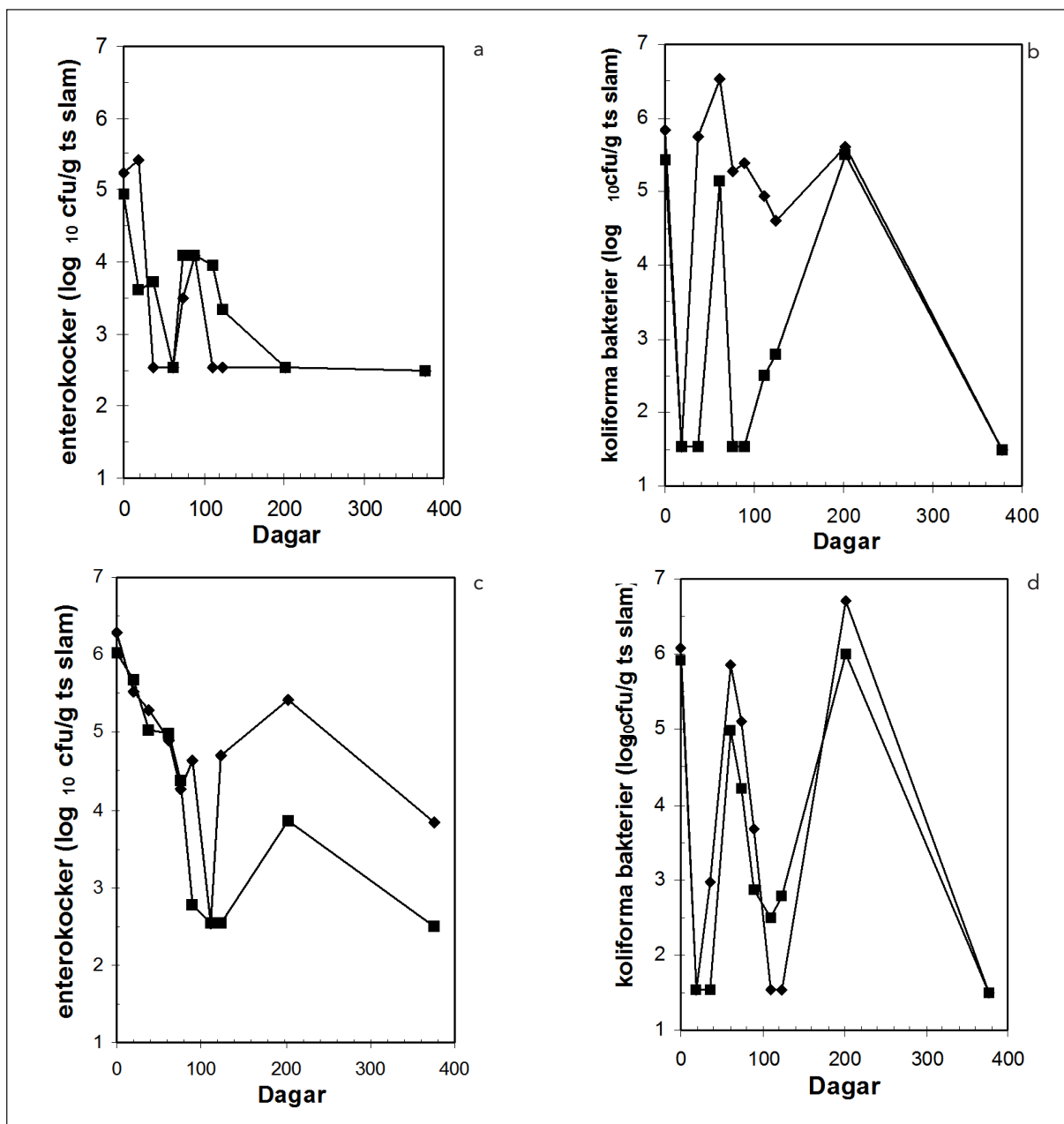
beräkning av signifikans ($p < 0,05$) mellan behandlingarna.

3 Resultat och diskussion

3.1 Fältförsöket

3.1.1 Reduktion av indikatorbakterier

Antalet koliforma bakterier reducerades kraftigt under anläggningsfasen vilket dock sammanföll väl med den initiala temperaturökningen i de båda slamlagren (figur 3-1, tabell 3-1). Temperaturstegringen i slamlagren visar på en generell ökning av den biologiska aktiviteten vilket gav en tillfällig hämmande effekt på de koliforma bakterierna. Enterokockerna reducerades däremot inte initialt (figur 3-1, tabell 3-1). Under lagringsperioden som följde identifierades två perioder under juni och november månad då koncentrationen av de koliforma bakterierna ökade till samma nivå som vid start för lagring (figur 3-1, tabell 3-1). Till skillnad från de koliforma bakterierna tillväxte enterokocker aldrig så kraftigt att de översteg den initiala koncentrationen. Gemensamt för båda indikatorbakterierna var dock att den bakteriella reduktionen inte förblev stabil över tiden, något som även Jepsen *et al.* (1997) visat vid såväl sommar- som vinterlagring av slam. Klimatets inverkan har i andra studier visat sig vara av stor betydelse för det bakteriella reduktionsförloppet (Gibbs *et al.* 1995, 1997; Jepsen *et al.* 1997). Förändringen av indikatorbakteriernas koncentration under lagringsperioden sammanföll relativt väl med växlingen i klimatet (figur 3-1 och 3-2). Reduktionen under juli månad av enterokocker samt de koliforma bakterier i lagret med det obehandlade slammet följdes i slutet av augusti av en tillväxt (figur 3-1) i samband med lägre dygns-temperaturer och ökad nederbörd (figur 3-2, tabell 3-2). Enterokockerna i det rötade slamlagret ökade däremot i antal under den varma perioden för att därefter reduceras från slutet av juli månad. Gantzer *et al.* (2001) erhöll liknande resultat där koncentrationen av *E. coli* och enterokocker reducerades under



Figur 3-1 a–d. Reduktionsförloppet för indikatorbakterier under lagring av (a) och (b) rötat samt (c) och (d) obehandlat slam. Varje provtagningsdjup (◆) 10–30 cm och (■) 30–60 cm representerar ett samlingsprov av fem stickprov i respektive slamlager.

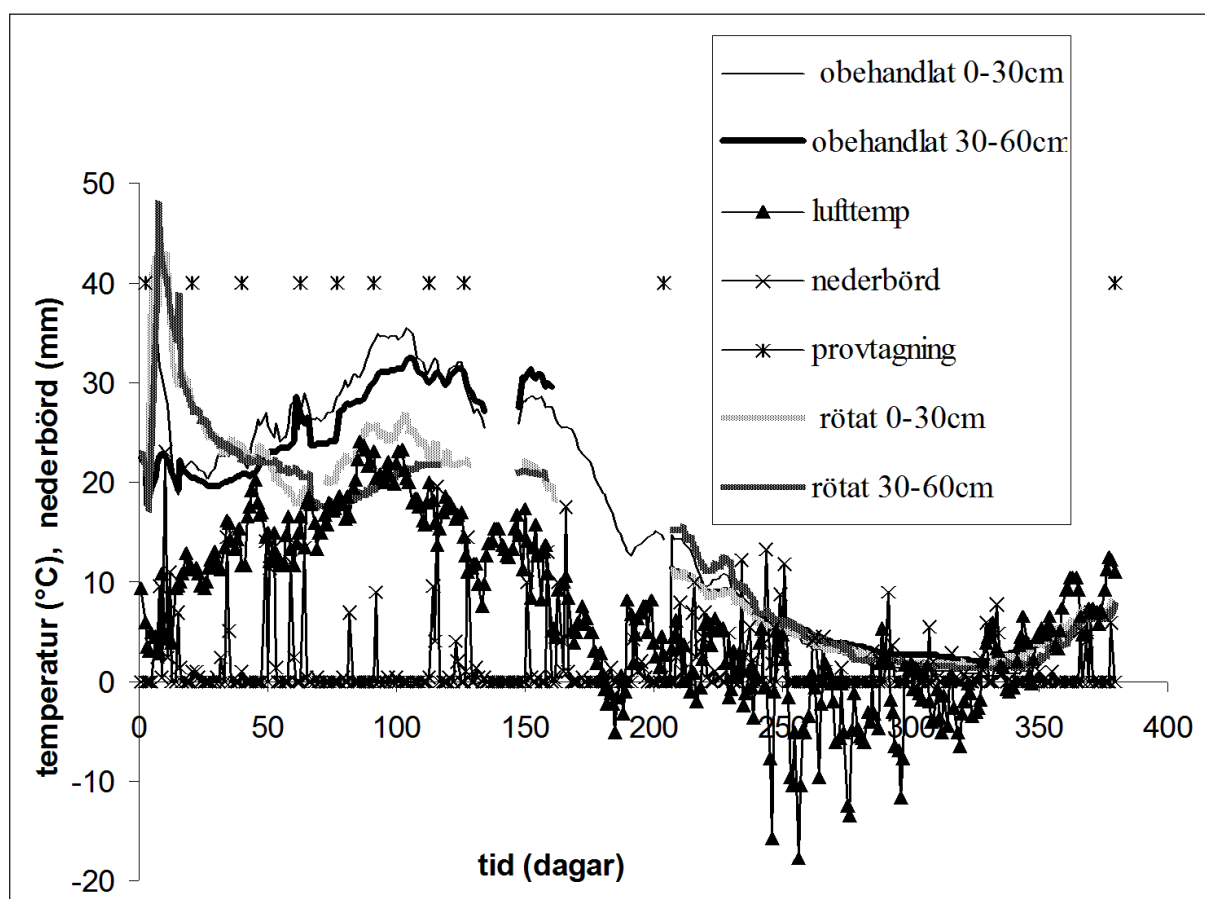
lagringens första sex månader för att sedan öka under de påföljande sommarmånaderna. Lagringsstudien visar att såväl en bakteriell reduktion som en tillväxt skedde under sommarmånaderna samt att avdödning av antalet indikatorbakterier under sommarperioden inte var tillräcklig. I stället fanns en livskraftig population som kunde öka i antal när klimatförhållandena förändrades.

Vilken typ av slambehandling som föregår lagring påverkar bl.a. de biologiska förutsättningarna så som näringstillgång och mikrobiell konkurrens i slamm. Detta leder i sin tur till att den mikrobiella sammansättningen kommer att skilja sig mellan olika slam.

I lagringsstudien var den initiala koncentrationen av såväl enterokocker som koliforma bakterier högre i det obehandlade slamm jämfört med det rötade (figur 3-1, tabell 3-1). Vid det sista provtagnings-tillfället, dag 377, fanns enterokocker kvar i en koncentration på log 3,25 CFU/g TS slam i lagret med det obehandlade slamm medan de koliforma bakterier samt enterokocker i det rötade slamm låg under detektionsgränsen (< log 2,5 resp. < log 1,5 CFU/g TS slam). Studien visar att de två behandlingsmetoderna som föregått lagringen gav mikrobiella skillnader av betydelse för det hygieniska slutresultatet vid lagringen. Jepsen *et al.* (1997) erhöi liknande resultat

Tabell 3-1. Reduktionsförloppet av indikatorbakterier under lagring av rötat och obehandlat slam. Medelvärde (log cfu/g slam TS) av två provtagningsdjup (10–30 och 30–60cm) med fem provpunkter per djup.

Dag	Rötat slam (A)		Obehandlat slam (B)	
	Enterokocker Medelv. (s.d)	Koliforma bakt. Medelv. (s.d)	Enterokocker Medelv. (s.d)	Koliforma bakt. Medelv. (s.d)
1	5,1 (0,2)	5,6 (0,3)	6,2 (0,2)	6,0 (0,1)
19	4,5 (1,3)	1,5 (0)	5,6 (0,1)	1,5 (0)
37	3,1 (0,8)	3,6 (3,0)	5,2 (0,2)	2,2 (1,1)
61	2,5 (0)	5,8 1,(0)	5,0 (0,1)	5,4 (0,6)
75	3,8 (0,4)	3,4 (2,7)	4,3 (0,1)	4,6 (0,6)
89	4,1 –	3,4 (2,8)	3,7 (1,3)	3,3 (0,6)
111	3,2 (1,1)	3,7 (1,7)	2,5 (0)	2,0 (0,7)
124	2,9 (0,6)	3,7 (1,3)	3,6 (1,6)	2,2 (0,9)
202	2,5 (0)	5,6 (0,1)	4,6 (1,1)	6,4 (0,5)
377	2,5 (0)	1,5 (0)	3,2 (0,9)	1,5 (0)



Figur 3-2. Dagnstemperatur i två slamlager vid två djup under lagring samt omgivande dygnsmedeltemperatur, dygnsnederbörd, och tid för provtagning.

i en lagringsstudie med anaerobt mesofilt rötat samt icke behandlat slam. Efter 4 månaders lagring under sommarperioden var koncentrationen av enterokocker log 1,5 CFU/g slam i det rötade slammets men log 4 CFU/g slam i det icke behandlade slammets. De mikrobiella provtagningsrutiner som tillämpats

i studien visar på skillnader i koncentrationen av enterokocker och koliforma bakterier mellan de två provtagningsdjupen vid ett flertal provtillfällen (tabell 3-1). Detta gäller främst enterokockerna i lagret med det obehandlade slammets samt de koliforma bakterierna i lagret med det rötade slammets.

Tabell 3-2. Klimatdata vid plats för lagring under perioden 030423–040504.

Månad	Nederbörd		Lufttemperatur
	Total (mm)	Medelv. per dygn (s.d)	Medelv. per dygn (s.d)
April (9 dygn)	17	1,9 (3,2)	5,3 (2,9)
Maj	71	2,3 (5,1)	11,0 (3,1)
Juni	69	2,3 (4,8)	15,1 (2,5)
Juli	17,5	0,6 (2,0)	19,8 (2,5)
Aug	57,5	1,8 (4,5)	18,5 (3,2)
Sep	25	0,8 (2,9)	12,6 (3,2)
Okt	40	1,3 (3,7)	3,6 (4,2)
Nov	61	2,0 (2,9)	3,2 (2,8)
Dec	78	2,5 (3,9)	0,4 (4,8)
Jan	18,5	0,6 (1,4)	-4,7 (4,6)
Feb	26,6	1,0 (2,1)	-1,7 (3,8)
Mars	28,7	0,9 (1,9)	0,02 (3,2)
April	18	0,6 (1,6)	6,1 (2,7)
Maj (4 dygn)	6	1,5 (3,0)	11,8 (0,7)

Till övervägande del var koncentrationen av enterokocker och koliforma bakterier högre vid ytan, men med en viss variation över året och mellan de två slamlagren. Dock var koncentrationen av enterokocker mestadels högre på djupet i det rötade slamlagret. Skillnaderna i koncentration av enterokocker och koliforma bakterier mellan provtagningsdjupen beror troligen på så väl biologiska som kemiska och fysikaliska skillnader mellan ytskikt och djup i slamlagren. Något som sannolikt skulle kunna utjämnas genom en omblandning. En omblandning skulle ge en ökad tillgång på syre, frigöra näring och eventuellt också ge en tillfällig temperaturökning. Studien visar att det i provtagningsrutinerna ska ingå provtagning på minst två djup i ett slamlager för ett säkrare svar på den hygieniska kvalitén. Den eventuella variationen mellan stickproven på respektive djup har inte gått att utvärdera eftersom indikatorbakterierna analyserades som samlingsprov av fem delprov. Vid en framtagning av enhetliga provtagningsrutiner för mikrobiella analyser av slamlager bör emellertid variationen utvärderas. Enligt vår vetenskap finns det inga tidigare publicerade lagringsstudier där en mikrobiell provtagning på olika djup i lagret konsekvent har utförts under en hel lagringsstudie.

3.1.2 Återisolering av *Salmonella* spp.

Salmonella spp. kunde påvisas i så väl det rötade som icke behandlade slammet vid första provtagningsstillfället i lagren, 1 100 resp. 300 MPN/100 g slam (tabell 2-1). Vid typningen av de verifierade *Salmonella*-kolonierna identifierades en serotyp i det obehandlade slammet och tre olika serotyper i det rötade (tabell 2-1). Vid andra provtagningsstillfälle, dag 19, och de efterföljande kunde ingen *Salmonella* spp. återisoleras i något av de två slamlagren. Tid från avvattningssteget i respektive reningsverk fram till tidpunkt för negativt prov var 43 dagar för det rötade slammet och 57 dagar för det obehandlade slammet, vilket betyder att *Salmonella* spp. inte var möjligt att återisolera efter totalt 2 månaders lagring. I likhet fann Gantzer *et al.* (2001) att det inte gick att påvisa *Salmonella* spp. efter 2 månader slamlagring. Däremot fann Jepsen *et al.* (1997) att det i slamlager med såväl rötat som obehandlat slam fanns detekterbara koncentrationer av *Salmonella* spp. efter 6 månader med vinterlagring medan det däremot inte gick att återisolera *Salmonella* spp. efter 1 månads sommarlagring. Gibbs *et al.* (1995) påvisade förekomst av *Salmonella* spp. efter 12 månaders lagring trots att en reduktion till under detektionsgräns konstaterats dessförinnan. Analysresultaten av indikatorbakterierna i vår studie tyder på en ofullständig hygienisering av det lagrade slammet. Det kan därför inte uteslutas att *Salmonella* spp. kan finnas kvar i icke detekterbara koncentrationer, och komma att tillväxa i slammet vid förändrade miljöbetingelser. Vidare är den analysmetod som tillämpas i dag, så väl nationellt som internationellt, för att påvisa förekomst av *Salmonella* spp. ursprungligen framtagen för analys av livsmedel. Slam är ett betydligt mer heterogent och komplext material. Det finns därför en risk att analysen kan ge falskt negativa resultat och behov av att ta fram en tillförlitlig analysmetod för kvalitativ och kvantitativ bestämning av *Salmonella* spp. i slam och andra typer av bioavfall är stort.

3.1.3 Klimat, lagertemperatur, pH och torrsustanshalt

Slambehandlingen som föregår lagring påverkar, förutom de biologiska, också de fysikaliska och kemiska egenskaperna på slammet. Lagret med obehandlat

slam hade en betydligt porösare struktur i jämförelse med det rötade slammet som var mer kompakt och mörkare till färgen. Detta kan t.ex. medföra att syretillgången skiljt sig åt mellan lagren, något som dock inte undersökts i studien.

En kontinuerlig analys av pH visade på en mycket liten variation 60 cm ner i de två slamlagren med ett pH runt 8 (tabell 3-3). Vid ytan däremot, var pH lägre och variationen större med de största avvikelserna i det rötade slammet (tabell 3-3). Huruvida ett lägre pH vid ytan i det rötade slammet kan ha haft betydelse för det bakteriella reduktionsförloppet

är ovisst. Dock har Watson (1980) visat att de flesta fekala bakterier överlever vid ett pH på mellan 5 till 8. Vidare tyder studier utförda av Ahmed och Sorensen (1995) samt Foster (1995) på att reduktionen av *S. Typhimurium* inte är direkt relaterad till pH.

Torrsubstanshalten skiljde sig inte åt mellan de två slamlagren och var mycket stabil under hela lagringsperioden med en variation mellan 26–31 % (tabell 3-3).

Temperaturen var den parameter som uppvisade störst variation mellan de båda slamlagren (figur 3-2). Under perioden juni t.o.m. september låg temperaturen

Tabell 3-3. Egenskaper på slam provtaget vid två djup, 10–30 cm och 30–60 cm, i slamlager med rötat respektive obehandlat slam, under 377 dagars lagring.

Dag	Rötat (A)				Obehandlat (B)			
	pH		TS (%)		pH		TS (%)	
	10–30	30–60	10–30	30–60	10–30	30–60	10–30	30–60
1	7,0	7,0	31	30	7,2	7,2	30	29
19	8,8	8,7	29	30	8,8	8,4	29	29
37	8,0	8,5	29	31	8,6	8,0	28	29
61	6,8	8,5	31	31	8,3	8,4	28	27
75	7,5	8,6	28	31	8,5	8,2	27	30
89	6,5	8,3	31	29	8,4	8,4	29	28
111	6,3	8,7	30	29	8,5	8,4	29	28
124	8,1	8,7	27	28	8,2	8,5	29	28
202	5,7	8,0	–	–	6,5	8,2	–	–
377	7,4	8,4	28	28	7,0	8,3	30	26
Medelv. (s.d)	7,2 (0,9)	8,3 (0,5)	29,3 (1,5)	29,7 (1,2)	8,0 (0,8)	8,2 (0,4)	28,8 (1,0)	28,2 (1,2)

Tabell 3-4. Dygnsmedeltemperaturer vid två djup, 10–30 cm och 30–60 cm, i två slamlager med rötat resp. obehandlat slam, samt omgivande dygnsmedeltemperatur, under tre perioder av den totala lagringstiden, 030423–040504.

Lagringsperiod		Rötat (A)		Obehandlat (B)	
		10–30 cm	30–60 cm	10–30 cm	30–60 cm
Anläggningsfasen (23/4–22/5) rötat (23/4–6/5) icke beh.	Medeltemp. °C (s.d)	28,1 (6,6)	27,7 (7,0)	26,1 (5,2)	20,9 (1,6)
	Avvikelse mot lufttemp. °C (s.d)	22,2 (9,3)	21,8 (9,4)	21,0 (6,6)	15,4 (3,0)
	Dagar > 40 °C	7	5	0	0
	Max. temp. °C	44,4 dag 7	47,7 dag 6	34,4 dag 6	22,8 dag 8
Sommar/Höst 030601–030930	Medeltemp. °C (s.d)	22 (2,2)	20,3 (1,6)	29,6 (3,2)	28,4 (3,2)
	Antal dagar	122	122	122	122
	Avvikelse mot lufttemp. °C (s.d)	5,4 (2,9)	3,3 (4,2)	12,9 (3,4)	11,4 (4,6)
Vinter/Vår 031114–040504	Medeltemp. °C (s.d)	4,6 (2,7)	5,1 (5,3)	4,26 (3,7)	5,01 (2,6)
	Antal dagar	173	173	173	173
	Avvikelse mot lufttemp. °C (s.d)	4,1 (5,0)	4,4 (5,8)	3,7 (5,6)	4,4 (5,2)

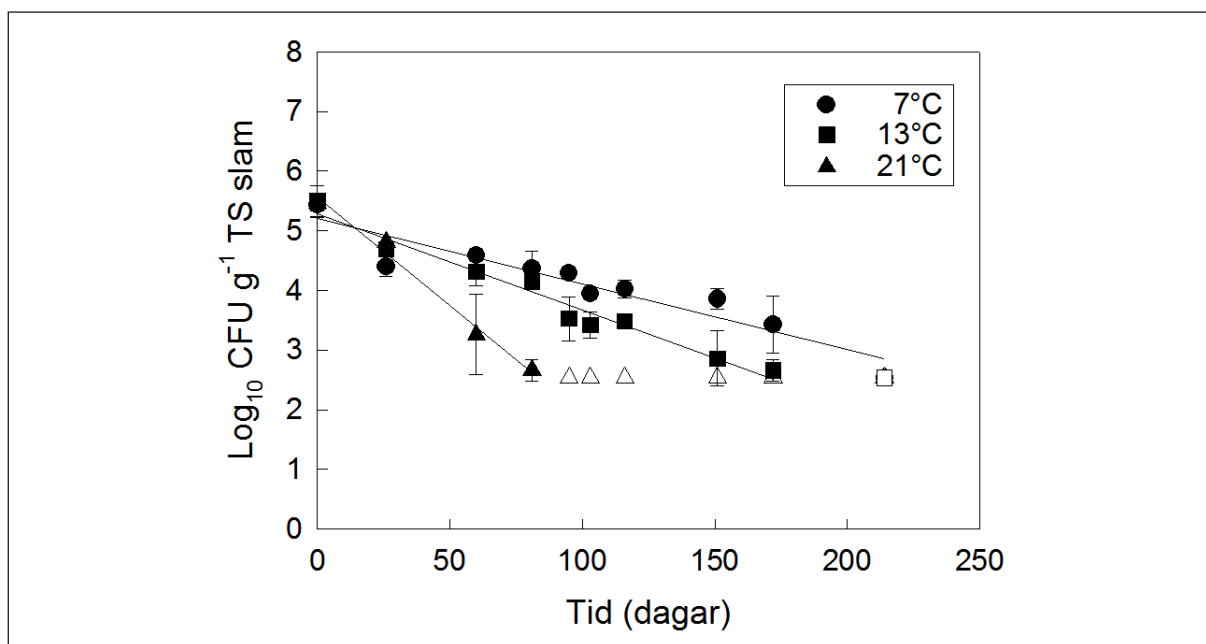
i det obehandlade slammet i genomsnitt 7,4 °C (s.d 2,87) högre än i det rötade slammet (tabell 3-4). Möjliga orsaker till skillnaden kan vara slammets olika struktur samt en högre mikrobiell aktivitet i det obehandlade slammet. Från november och framåt följdes dock temperaturkurvorna åt i de två slamlagren (figur 3-2). I likhet med Gibbs *et al.* (1997) följde temperaturen i lagren växlingarna i den omgivande lufttemperaturen efter anläggningsfasen (ca 14 dagar i det obehandlade slammet och efter ca 45 dagars lagring i det rötade slammet) (figur 3-2). Den stora avvikelserna mellan lufttemperatur och temperaturen i slamlagren uppkom under anläggningsfasen. I det rötade slammet skedde en markant värmeutveckling med en dygnstemperatur på > 30 °C under 11 dygn och nådde som högst 47,6 °C dag 6 på djupet och 44,4 °C dag 7 vid ytan (tabell 3-4). Temperaturökningen i det i obehandlade slammet blev inte lika hög men slamlagrets ytskikt, ner till 30 cm, nådde dock upp till en dygnstemperatur på > 30 °C under 4 dygn och med en maxtemperatur på 34,4 °C (tabell 3-4). På 60 cm djup skedde endast en liten temperaturökning på med en maxtemperatur på 22,8 °C dag 8 (tabell 3-4). Ahmed och Sorensen (1997) fann i deras lagringsstudier att det går att få upp temperaturen i slamlagren till över 50 °C under cirka en vecka förutsatt att lagret omblandas 2ggr/månad. Utöver omblandningsfrekvensen fann man också ett samband mellan kol/kväve förhållandet och temperaturhöjningen. Resultatet av den kontinuerliga registreringen av temperaturen på olika djup i de två

slamlagren visar att lagring utan omblandning inte kommer upp i ett temperatur- och tidsintervall som är tillräckligt för att erhålla en hygienisering.

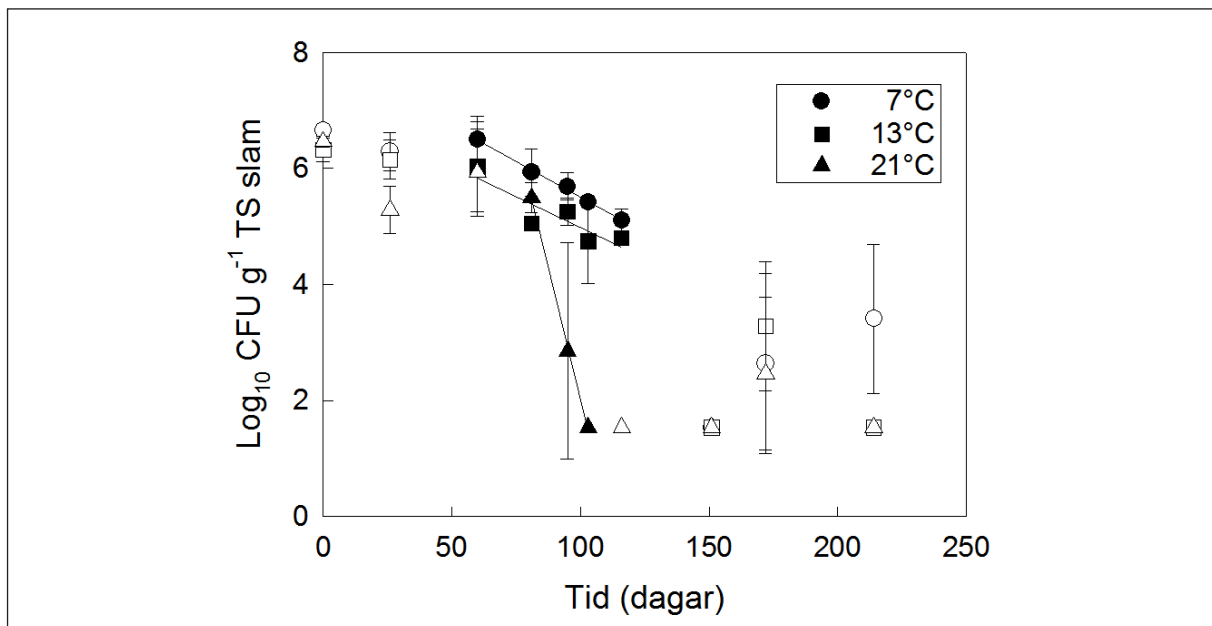
3.2 Inkubationsförsöket

3.2.1 Reduktion av indikatorbakterier

Försöket visade på ett tydligt samband mellan temperatur och reduktionshastighet hos *Enterococcus* spp. (figur 3-3). Reduktionshastigheten (k) vid respektive temperatur visade att 21 °C (0,0035 h⁻¹) var signifikant skilt från 7 °C (0,0010 h⁻¹), medan ingen signifikant skillnad fanns mellan 13 °C (0,0015 h⁻¹) och 7 respektive 21 °C. Lagringsförhållandena innebar en initial laggfase på 60 dagar för de koliforma bakterierna (figur 3-4). Avdödningshastigheten beräknades och k vid respektive temperatur visade att 21 °C (0,017 h⁻¹) var signifikant skilt från 7 °C (0,0024 h⁻¹) och 13 °C (0,0020 h⁻¹), men att k hos 13 och 21 °C inte skilde sig åt. Dock var reduktionen hos de koliforma bakterierna inte stabil under den senare delen av lagringsperioden (figur 3-4). Studien visar att de två indikatorbakterierna har skilda reduktionsförlopp vid inkubationen och att de koliforma bakterierna utifrån dessa resultat får anses som mindre lämpliga att använda som indikator av den sanitära kvaliteten vid slamlagring. Christensen



Figur 3-3. Effekt av tre temperaturer på överlevnad av enterokocker i slam.



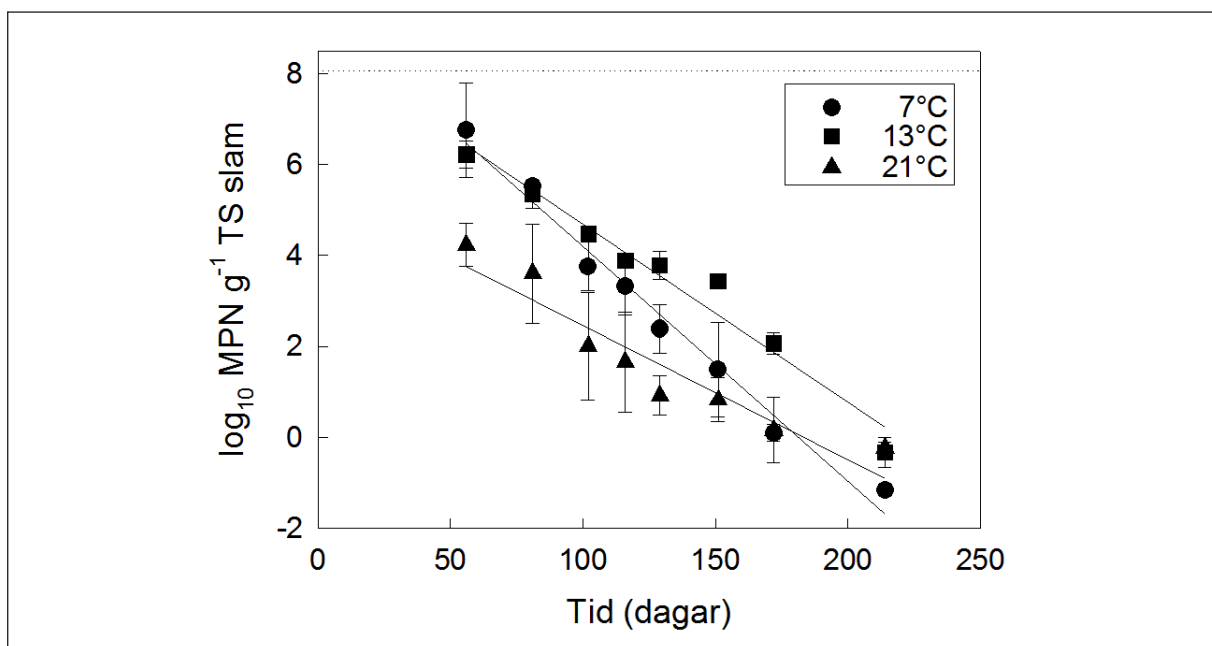
Figur 3-4. Effekt av tre temperaturer på överlevnad av koliforma bakterier i slam.

et al. (2002) menar, utifrån deras komposteringsstudier, att det sker en populationsförändring inom gruppen av koliforma bakterier under lagring som gör koliforma bakterier olämpliga att använda som indikatorbakterier.

3.2.2 Salmonella

Den initiala reduktionshastigheten hos *S. Typhimurium* ökade med temperaturen vilket innebär att den ackumulerade reduktionen under de första 56 dagarnas lagring var $1,2 \pm 1,0$, $1,8 \pm 0,3$ och

$3,8 \pm 0,5$ log MPN/g TS slam, vid 7, 13 och 21 °C (figur 3-5). Resultaten stämmer väl överens med tidigare gjorda undersökningar (Ahmed & Sorensen 1995; Himathongkham *et al.* 1999; Bujoczek *et al.* 2001). Utöver den initiala reduktionshastigheten hos *S. Typhimurium* visade den specifika reduktionshastigheten (k) vid respektive temperatur att 7 °C ($0,0050 \text{ h}^{-1}$) var signifikant skilt från 13 °C ($0,0038 \text{ h}^{-1}$) och 21 °C ($0,0028 \text{ h}^{-1}$), men att det inte fanns någon signifikant skillnad mellan 13 och 21 °C. De lägre k -värdena vid 13 och 21 °C innebär att reduktionshastigheten hos *S. Typhimurium* avtog med tiden vid 13 och 21 °C men förblev konstant



Figur 3-5. Effekt av tre temperaturer på överlevnad av *Salmonella Typhimurium* i slam.

vid 7 °C (figur 3-2). Hussong *et al.* (1985) har visat på en liknande reduktionshastighetskonstant för *S. Typhimurium* och *S. Newport* i komposterat slam vid 36 °C. Deras resultat stödjer också vår observation av den avtagande reduktionshastigheten över tid. I likhet fann Wang *et al.* (1996) en första gradens reduktion av *E. coli* i lagrad nötgödsel vid 5 °C, men en avtagande reduktionshastighet över tid vid lagring i 22 och 37 °C. Resultaten ovan tyder på att reduktionen av *S. Typhimurium* initialt är temperaturberoende men att andra faktorer så som en förändring av den mikrobiella populationen (Sidhu *et al.* 2001) kan vara av större betydelse för överlevnad under slamlagringens senare del. Efter 214 dagar var koncentrationen av *S. Typhimurium* densamma oavsett lagringstemperatur (figur 3-5).

3.2.3 *Ascaris suum*

Resultat från inkubationsstudien visar att överlevnad (utvecklade och levande larver) hos *A. suum* ägg lagrade i 21 °C var mellan 81 och 99 % under hela lagringsperioden, 214 dagar (tabell 3-5). Lagring vid 7 respektive 13 °C hade däremot ingen effekt på äggens utveckling (ingen celledning) utan de förblev i vilstadium (tabell 3-5). Dock visade den efterföljande inkuberingen (i 0,1N- sulfatsyra) i 21 dagar vid 21 °C på en god embryonering hos dessa ägg vilket innebär att äggen höll en bra kvalitet och hade en bra förmåga att utvecklas till levande larver vid rätt betingelser (tabell 3-5). Den goda kvalitén på *Ascaris* äggen i studien bekräftades i kontrollen där överlevnaden var 86 resp. 99 % i början och i slutet av

inkubationsstudien (tabell 3-5). O'Donnell *et al.* (1984) lagrade slam under 16 månader vid 25 °C innan någon utveckling hos nematodäggen kunde konstateras. Gantzer *et al.* (2001) har visat att det krävs en temperatur över 45 °C eller ett pH över 11,5 för att erhalla ett slam fritt från infektiösa nematod-ägg. Resultaten från inkubationsstudien indikerar att en slamlagring under svenska klimatförhållanden inte ger ett hygieniskt slam med avseende på parasit-ägg. För detta krävs högre temperatur och/eller längre lagringstid. Inkubationsstudien bör följas upp med en lagringsstudie i fält för att ge ett säkrare underlag för att bedöma riskerna med parasiter vid lagring.

4 Sammanfattande resultat och slutsatser

Den genomförda studien är en pilotstudie, den första där hygieneffekten av slamlagring undersökts under svenska klimatförhållanden. Följande resultat har framkommit som delvis har bekräftat resultaten från liknande studier internationellt.

- Reduktionen av indikatorbakterier var inte stabil under lagringens 12 månader utan perioder av tillväxt förekom i så väl det obehandlade som rötade slammet. Delvis berodde detta på att de temperaturer-tidsintervall som uppnåddes i slamlagren

Tabell 3-5. Utveckling av *Ascaris suum* ägg i slam under lagring vid tre temperaturer, dag 1 vid provtagningstillfället samt efter inkubering under 21 dagar i 0,1N- sulfatsyra vid 21 °C, n=2.

Dag	Utvecklade larver, % (s.d)					
	21 °C		13 °C		7 °C	
	Dag 1	Dag 21	Dag 1	Dag 21	Dag 1	Dag 21
1 (kontroll)	86	(-)				
47	81	(18)	92	(2,8)	0	95 (1,4)
75	98	(0)	96	(2,8)	0	82 (11,3)
103	96	(6)	96	(5,6)	0	95 (0)
151	98	(1)	98	(0,7)	0	70 (9,2)
180	99	(0)	99	(0)	0	73 (4,2)
214	98	(0)	98	(0)	0	60 (2,1)
214 (kontroll)	99	(-)				

var otillräckliga för att ge en bra effekt på reduktion av antalet indikatorbakterier. Vidare visar resultaten att det krävs en betydligt längre lagringstid, vid den här typen av lagring, för att säkert kunna fastställa när en tillräcklig reduktion av indikatorbakterierna erhållits. Indikatorbakteriernas varierande koncentration under lagringsperioden indikerar en otillräcklig hygienisering vilket kan innebära att även eventuella smittämnen i slammet kan tillväxa i antal på likartat sätt. Detta gör att bedömning av slammets hygieniska kvalitet blir osäker.

- Lagret med det obehandlade slammet innehöll efter 12 månader fortfarande enterokocker. Den initiala koncentrationen av enterokocker skilde sig åt mellan det obehandlade och rötade slammet vilket kan vara en del av förklaringen. Vidare kan skillnaden mellan de två slamtypernas struktur ha bidragit till skilda tillväxtbetingelser. Vilken slags slambehandling som föregår lagring ser därmed ut att vara av betydelse för det hygieniska slutresultatet.
- Indikatorbakterier varierar i koncentration mellan de två provtagningsdjupen vid samma provtagningsstillfälle. Studien visar tydligt på vikten av väl utformade mikrobiella provtagningsrutiner där det ingår provtagning på minst två djup.
- *Salmonella* spp. var inte möjlig att återisolera i något av de två slamlagren efter 2 månaders lagring oavsett koncentrationen av *Salmonella* spp. vid försöksstart. Indikatorbakteriernas varierande koncentration under lagringsperioden innebär dock att det inte kan uteslutas att *Salmonella* spp. kan finnas kvar i icke detekterbara koncentrationer, som kan komma att tillväxa i slamlagren vid förändrade miljöbetingelser. Vidare tyder resultaten från inkubationsförsöket på att andra faktorer utöver temperaturen kan vara av betydelse för reduktionen av *Salmonella* spp. under lagring. För att kunna bedöma den hygieniska effekten av lagringen bör en uppföljande fältstudie genomföras där reduktionen av smittämnen så som *Salmonella* spp. studeras mer ingående.
- Resultaten från inkubationsförsöket tyder på att inälvparasiten *Ascaris suum* har en mycket god överlevnad i slam vid lagring under svenska klimatförhållanden. Inkubationsstudien bör därför följas upp med en lagringsstudie i fält för att ge ett säkrare underlag för att bedöma riskerna med parasiter vid lagring.

Med utgångspunkt av de resultat som framkommit i den aktuella studien samt tidigare gjorda internationella studier kan vi i dagsläget inte förorda lagring som en tillfredsställande metod för hygienisering av avloppsslam. Resultaten bör betraktas som ett underlag för en utökad fältstudie. En sådan uppföljande studie minskar risken för att felaktiga slutsatser dras och att felaktiga beslut fattas.

5 Fortsatt arbete

Mot bakgrund av aktuell studie bör följande aspekter beaktas i fortsatt arbete med bedömning av slamlagring som hygieniseringsmetod:

- Den aktuella lagringsstudien samt tidigare gjorda internationella studier har visat på klimatets inverkan på reduktionen av indikatorbakterier och *Salmonella* spp. Lagringsstudien har genomförts i endast en av Sveriges klimatzoner och kan följas upp med en fältstudie i fler klimatzoner. Vidare kan anläggning av slamlager under olika årstider tas i beaktande.
- Lagring är en passiv hygieniseringsmetod med begränsad effektivitet, men resultaten från lagringsstudien tyder på att en förändrad lagringsmetod kan ge en högre temperatur under en längre tidsperiod som resulterar i en förbättrad reduktion av indikatorbakterierna. Effekten av ett antal vändning och inblandning av strukturförbättrande material i syfte att erhålla en förbättrad hygienisering bör därför undersökas.
- Reduktionsförloppet av skilda smittämnen, så som *Salmonella* spp. och parasitära maskar under lagring måste undersökas vidare. I det arbetet ingår även att undersöka vilken betydelse olika typer av slambehandlingar som föregår lagring har på det hygieniska slutresultatet vid lagring.
- En utveckling och anpassning av nuvarande analysmetoder är angelägen för säkrare detektion av smittämnen så som *Salmonella* spp. i slam och andra typer av bioavfall.
- Inför ett utarbetande av enhetliga provtagningsrutiner för mikrobiella analyser av slamlager bör

variationen av antalet indikatorbakterier mellan stickproven på respektive djup utvärderas. I vår studie har inte detta gått att utvärdera eftersom indikatorbakterierna analyserades som samlingsprov.

- Riskerna med en eventuell återkontamination vid efterföljande hantering av det färdiglagrade slammet bör undersökas.

Referenser

Ahmed A.U. & Sorensen D.L. (1995). Kinetics of pathogen destruction during storage of dewatered biosolids. *Wat. Environ. Res.*, 67, s. 143–150.

Ahmed A.U. & Sorensen D.L. (1997). Autoheating and pathogen destruction during storage of dewatered biosolids with minimal mixing. *Wat. Environ. Res.*, 69(1), s. 81–94.

APHA, AWWA & WEF (1992). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18th (eds): American Public Health Association, Washington, DC.

APHA, AWWA & WPCF (1995). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th (eds): American Public Health Association, Washington, DC.

Bujoczek G., Reiners R.S. & Olaszkiwicz J.A. (2001). Abiotic factors affecting inactivation of pathogens in sludge. *Wat. Sci. Tech.*, 44, s. 79–84.

Carrington E.G. (2001). *Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction*. Final report. European Commission. Report No 5026/1: 2001.

Christensen K.K., Carlsbaek M. & Kron E. (2002). Strategies for evaluating the sanitary quality of composting. *J. Appl. Microbiol.*, 92, s. 1 143–1 158.

Dunmontet S, Dinel H. & Baloda S.B. (1999). Pathogen reduction in sewage sludge by composting and other biological treatments: A review. *Biol. Agri. Hort.*, 16, s. 409–430.

Europastandarden, Central Secretariat: rue de Strassart 36, B-1050 Brussels.

Foster J.W. (1995). Low pH adaption and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *Critical Rev. in Microbiol.*, 21, s. 215–237.

Gantzer C., Gaspard P., Galvez L., Huyard A., Dumouthier N. & Schwartzbrod J. (2001). Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge. *Wat. Res.*, 35, s. 3 763–3 770.

Gibbs R.A., Hu C.J., Phillips P.A. & Unkovich I. (1995). Pathogen die-off in stored waste-water sludge. *Wat. Sci. Tech.*, 31 (5–6), s. 91–95.

Gibbs R.A., Hu C.J., Ho G.E. & Unkovich I. (1997). Regrowth of faecal coliforms and salmonellae in stored biosolids and soil amended with biosolids. *Wat. Sci. Tech.*, 35 (11–12), s. 269–275.

- Himathongkham S., Bahari S., Reimann H. & Cliver D. (1999). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in cow manure and manure slurry. *FEMS Microbiol. Letters*, 178, s. 251–257.
- Hussong D., Burge W.D. & Enkiri N.K. (1985). Occurrence, growth, and suppression of Salmonellae in composted sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50, s. 887–893.
- Jepsen S.-E., Krause M. & Grüttner H. (1997). Reduction of fecal streptococcus and salmonella by selected treatment methods for sludge and organic waste. *Wat. Sci. Tech.*, 36 (11), s. 203–210.
- Johnson P.W., Dixon R. & Ross A.D. (1998). An in-vitro test for assessing the viability of *Ascaris suum* eggs exposed to various sewage treatment processes. *Int. J. Parasitology.*, 28, s. 627–633.
- Nordic Committee on Food Analysis, Veterinæreinaer institutet, Department of Food Hygiene, Postbox 8156, N-0033 Oslo, Norway.
- O'Donnell C.J., Meyer B., Jones V.J., Benton T., Kaneshiro E.S., Nichols J.S. & Schaefer F.W. (1984). Survival of parasite eggs upon storage in sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, s. 618–625.
- Popoff M.Y. & Le Minor Leon (2001). *Antigenic formulas of the Salmonella Serovars*. Institut Pasteur, Paris, France.
- Sahlström L., Aspan A., Bagge E., Danielsson-Tham M.-L. & Albihn A. (2004). Bacterial pathogen incidences in sludge from Swedish sewage treatment plants. *Wat. Res.*, 38, s. 1989–1994.
- Schönning C. (2003). *Risk för smittspridning via avloppsslam*. Statens naturvårdsverk, Rapport 5215, 65 sid.
- Sidhu J., Gibbs R.A., Ho G.E. & Unkovich I. (2001). The role of indigenous microorganisms in suppression of *Salmonella* regrowth in composted biosolids. *Wat. Res.*, 35, s. 913–920.
- Wang G., Zhao T. & Doyle M.P. (1996). Fate of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, s. 2567–2570.



Box 47607 117 94 Stockholm
Tfn 08 506 002 00
Fax 08 506 002 10
E-post svensktvatten@svensktvatten.se
www.svensktvatten.se