

Fagdyrlægeopgave

Version 1, 31 marts 2014

Evaluering af effektiviteten af UVC-lys og High-Efficiency Particulate Absorption filtre til luftdesinfektion på lastbiler



Udarbejdet af:

Signe Hvidt-Nielsen

Jordrupvej 8

6600 Vejen

Projekt team

Projektleder:	Bent Nielsen, Afdelingschef for VSP afdeling for SPF, Sundhed og Diagnostik, Landbrug og Fødevarer
Projektmedarbejdere:	Peter A. Nielsen Distriktsdyrlæge for Syd/Øst, Landbrug og Fødevarer Signe Hvidt-Nielsen, Teamleder for SPF-Sundhedsstyringen, Landbrug og Fødevarer Susanne Dahl, Dyrlæge Sundhedskontrollen Midt/Nord, Landbrug og Fødevarer Carmen Espinosa-Gongora, Postdoc, Institut for Veterinær Sygdomsbiologi, KU-LIFE Luca Guardabassi, Professor, Institut for Veterinær Sygdomsbiologi, KU-LIFE
Laboratorieanalyse:	Birgitta Svensmark Laboratorieleder, Landbrug og Fødevarer Jette Gundersen, Laborant, Landbrug og Fødevarer
Statistisk analyse:	Jan Dahl, Chefforsker, Landbrug & Fødevarer
Chauffører/tekniker:	Søren Sørensen, Chauffør, SPF-Selskabet Leif Olsen, Kørselsdisponent, NV-Randers A/S
Desinfektion:	Alfred Kirk Mogensen, Jysk Desinfektion og Algebekæmpelse
Sikkerhedsudstyr:	Fødevarestyrelsen

1 Forord

Protokollen er udarbejdet af Luca Guardabassi og Carmen Espinosa-Gongora i samarbejde med SPF-Sundhedsstyringen. Afprøvningen er finansieret af SPF-Sundhedsstyringen. Lastbiler er dog venligst udlånt af SPF-Selskabet og NV-Randers A/S.

Pilotforsøg med det formål at afklare hvor høj bakteriekoncentration, som var nødvendig i testopløsningen, er udført af Carmen Espinosa-Gongora på KU LIFE. Pilotforsøg til at definere hvor meget luft, som skal samples er udført af Peter A. Nielsen og Susanne Dahl. De endelige afprøvninger blev udført af Bent Nielsen, Peter A. Nielsen, Susanne Dahl, Carmen Espinosa-Gongora, Jette Gundersen, Søren Sørensen og Leif Olsen og undertegnede. De endelige afprøvninger blev gentaget tre gange. Resultaterne som bliver præsenteret her er resultaterne fra den sidste forsøgsrunde. Dette skyldes at forsøgsopstillingen blevet tilpasset efter de to første forsøg. I de to første forsøgsrunder blev der kun taget luftprøver på McConkey agar. I den sidste forsøgsrunde blev der taget luftmålinger på både blodagar og McConkey agar og lavet nedfaldsprøver på blodagar.

En stor tak til alle medvirkende i projektet og en særlig tak skal lyde til:

SPF-Selskabet og NV-Randers A/S for venligt udlån af lastbiler

Tak til NV-Randers A/S for lån af garageanlæg

Tak til FVST for lån af sikkerhedsudstyr

Tak til laboratoriet i Kjellerup for lån af personale, faciliteter til dyrkning og faglig sparring.

Indhold

1	Forord.....	3
2	Sammendrag.....	5
3	Litteraturgennemgang.....	7
3.1	Introduktion.....	7
3.2	Litteratursøgning.....	7
3.3	Virkning af HEPA filtre.....	8
3.4	Virkningen af ultraviolet bestråling.....	9
3.5	Faktorer som influerer på effekten af UVC-lys.....	9
3.5.1	Styrke og afstanden fra lyskilden.....	9
3.5.2	Miljømæssige faktorer.....	9
3.5.3	Temperatur.....	9
3.5.4	Luftfugtighed.....	10
3.5.5	Luftbevægelse.....	10
3.5.6	Mikroorganismer.....	11
3.5.7	SPF-sygdomme.....	13
3.6	Diskussion og opsummering af litteratur.....	15
3.7	UVC-lys - Relevans og muligheder.....	17
4	Eksperimentel undersøgelse.....	18
4.1	Beskrivelse af lastbiler.....	18
4.2	Formål.....	19
4.3	Materialer og metode.....	19
4.4	Databehandling og analytisk metode.....	21
4.5	Resultater.....	21
5	Diskussion.....	25
6	Konklusion.....	27
7	Perspektivering.....	28
8	Litteratur.....	29
9	Bilag.....	31

2 Sammendrag

Transport mellem SPF-besætninger skal foretages af SPF-godkendte biler. Foruden en lang række krav til indretningen af bilen med hensyn til rengøringsvenlighed, stiller SPF-Sundhedsstyringen krav om at den indtagende luft skal filtreres gennem et forfilter og et absolutfilter. Overfor denne type lastbil afprøves effektiviteten af en lastbil, hvor luftdesinfektionen af den indgående luft sker ved passage af et forfilter og UVC-lys kasse.

Afprøvningen udføres på to lastbiler: En lastbil er en nybygget bil, som har et nyinstalleret UVC-lys luftdesinfektionssystem. Den anden lastbil er en fire år gammel lastbil med HEPA-filtre, som har samme alder som bilen.

Den eksperimentelle undersøgelse foretages ved en parallel forsøgsopstilling. Effekten af systemerne vurderes ved, at forstøve en opløsning med rifampicin-resistente non-patogen *E. Coli* bakterier med en nebulizer. I hver bil udtages samtidig luftprøver, som har til formål at afsløre hvor mange bakterier, som har passeret luftdesinfektionssystemet.

Der laves luftprøver i bilerne af fire prøverunder: med komplet luftdesinfektionssystem på begge biler; hvor forfiltrene er fjernet fra begge luftdesinfektionssystemer; hvor HEPA-filtrene er fjernet hhv. UVC-lyset er slukket, men med forfiltrene installeret i begge; hvor både forfiltre er fjernet og HEPA-filtre hhv. UVC-lyset er slukket. Der opsamles 200 L luft i hver opsamling på hhv. blod- og McConkey agar. Herudover opsamles nedfaldsprøver på blodagar. Nedfaldsprøverne henstår i hhv. 5 og 10 min. eksponeret for luften i transportkassen. Før forsøgets start og undervejs i forsøget udtages prøver til kvantificering af bakterieindholdet efter aerosoldannelse. Alle prøver inkuberes en dag før aflæsning. Kvantificeringsprøver 10-foldsfortyndes og inkuberes ved 37°C og aflæses ligeledes efter 1 dag.

Baselinemålinger bruges som udtryk for resultatet af målinger i transportkassen på bilerne, når forfilteret var afmonteret og hhv. HEPA-filteret var afmonteret og UVC-lys slukket. Ud fra baselinemålinger beregnes relativ reduktion i forhold til målinger fra de tre andre prøverunder.

Resultaterne viser, at antallet af CFU på luftprøver opsamlet på blodagar er forskellige for de to lastbiler og baseline niveauet er højere i HEPA-filter bilen end i bilen med UVC-bilen. Reduktionen i antallet af CFU i luftprøver fra UVC-bilen er større end på bilen med HEPA-filter. På UVC-bilen viste målingerne af 200 L luft på blodagar en relativ reduktion på 0,004 ved sammenligning af baseline og komplet bil med forfilter og UVC-lys tændt. Ved sammenligning af de tilsvarende målinger, baseline og komplet bil med forfilter og UVC-lys tændt, viste nedfaldsprøverne sås en relativ reduktion på 0,048 og 0,050 efter hhv. 5 min og 10 min. På HEPA-bilen sås en relativ reduktion i antallet af CFU målt på 200 L luft på blodagar på 0,523 ved sammenligning af baseline og komplet bil med forfilter og HEPA-filter. Sammenlignes baseline-niveauet med målingerne på den komplette bil på nedfaldsprøverne var den relative reduktion 0,003 og 0,006 efter hhv. 5 min og 10 min.

Ud fra antallet af CFU på McConkey agar og på nedfaldsprøverne var det ikke muligt at konkludere, om UVC-lastbilen og HEPA-lastbilen havde en forskellig reduktion i forhold til baseline-niveauet. Dette skyldes at baseline-niveauet i de tre målinger var meget lavt for UVC-lastbilen. Den relative reduktion for HEPA-bilen er beregnet til 0,044. På UVC-bilen er det beregnet til 0,161.

Det er vigtigt her igen at pointere, at denne afprøvning kun kan udtale sig om den kombinerede effekt af bil og filter-type. Det kan ikke konkluderes, at dette udsagn gælder generelt for HEPA-filter og UVC luftdesinfektion.

Baggrund

Rensning af indsugningsluft i lastbiler, der er godkendt til transport af svin mellem SPF-besætninger filtreres gennem absolutfiltre. Årsagen til det er at det indgår som et minimumskrav jf. SPF-Transportreglerne for SPF-Transportører. I dette regelsæt er der i regel 2.2.3 angivet at "Transportkassen skal være udstyret med mekanisk overtryksventilation i transportrummet, hvor luftindtaget sker gennem et "forfilter" og et "absolutfilter", mens udblæsningen sker gennem åbninger forsynet med "sidefiltre". Disse filtre skal være godkendt af SPF-SuS. De absolutfiltre, som de SPF-godkendte lastbiler har installeret er af typen H13/H14.

SPF-bilerne har udviklet sig i gennem tiden siden 1971, hvor de første biler blev godkendt. Bilerne er blevet større med flere dæk og dermed er der større krav til ventilationen på bilerne. De nuværende lovmæssige ventilationskrav er " Det mekaniske ventilationssystem skal sikre tilstrækkelig og jævnt fordelt ventilation med en nominel ventilationskapacitet på mindst 61 m³/t pr. 100 kg svin" (Anonym, 2006). Med flere etager i bilerne, hvorved der skabes plads til flere svin, følger derfor behovet mere luft, som skal passere igennem bilen.

Både driften og udskiftningen af disse filtre er en omkostningstung affære. Men der er fornyligt kommet en ny type af lastbiler til Danmark. Disse lastbiler anvender UVC-lys luftdesinfektionssystem, der burde sikre smittefri indsugningsluft. Biler af denne type er endnu ikke godkendt til transport af svin mellem SPF-besætninger.

For at SPF-Sundhedsstyringen kan vurdere om denne type af lastbiler med UVC-lys luftdesinfektion kan godkendes, skal effekten af denne type luftdesinfektionssystem valideres. Undersøgelsen her vil indgå, som en del af, SPF-Sundhedsstyringens samlede vurdering af UVC-lys som luftdesinfektion på lastbiler. På baggrund af denne vurdering, skal det beslattes om SPF-Sundhedsstyringen kan godkende vogne med UVC-lys luftdesinfektion til SPF-Vogne.

Denne afprøvning laves derfor på foranledning af SPF-Sundhedsstyringen, for at teste UVC-lys luftdesinfektionssystemet. Afprøvningen er lavet i samarbejde med KU-LIFE.

3 Litteraturgennemgang

3.1 Introduktion

Før et svin kan blive smittet med en mikroorganisme, som er båret i en aerosol skal følgende tre kriterier opfyldes: aerosolen med smitstoffet skal dannes, aerosolen skal transporteres til et modtageligt svin og det modtagelige svin skal inhalere smitstoffet.

Hvorvidt smitstoffer kan spredes i aerosoler og i hvilket omfang dette sker, afhænger af smitstoffet. Det kræver at smitstoffet kan bevare den infektiøse evne i luften, hvor det påvirkes af blandt andet luftfugtigheden, temperaturer og andre fysiske barrierer.

Ved transport af svin i SPF-vogne skal et luftrensningssystem sikre, at svinene ikke inficeres af SPF-sygdomme under transporten. I de seneste år er SPF-Sundhedsstyringen blevet kontaktet af flere SPF-Transportører og vognbyggere omkring UVC-lys som luftdesinfektionssystem (personlig meddelelse, 2014). Interessen for alternative luftdesinfektionssystemer skyldes et ønske om økonomiske besparelser. SPF-vogne er i dag opbygget med High-Efficiency Particulate Absorption filtre (herefter kaldet HEPA). Disse lastbiler bruger store mængde energi på, at trække luften igennem HEPA-filtrene, da filtrene skaber stor luftmodstand. Luftdesinfektionssystemer, som er baseret på UVC teknologi, giver ikke de samme udfordringer. Derimod har UVC-lys systemerne udfordringer, da de blandt andet er følsomme overfor fugt og temperaturer sammenlignet med HEPA-filtrene. Litteraturstudiet nedenfor vil give en gennemgang af tilgængeligt litteratur, som er relevant i forhold til at vurdere de to luftdesinfektionsmetoder.

3.2 Litteratursøgning

Formålet med litteraturstudiet er at afdække og beskrive styrker, udfordringer og problemer ved at anvende HEPA-filtre hhv. UVC-lys som luftdesinfektionsmetode. SPF-sygdommens evne til aerosolbåren smitte gennemgås ligeledes i hovedtræk.

Formålet med litteraturstudiet søges afklaret ved litteraturstudie af artikler fra peer reviewed artikler. Litteratursøgning blev foretaget i CAB abstracts, som er tilgængelig via Det Biovidenskabelige Fakultetsbibliotek. Til søgningerne blev der brugt følgende søgeord:

Artikler omkring UVC-lys som luftdesinfektions metode.

1. UVC eller UV-C
2. Air
3. Disinfection eller desinfection

Artikler omkring luftbåren smitte med SPF-sygdomme

4. Aerosol* eller bioaerosol*
5. Swine eller pig* eller hog* eller piglet* eller sow eller gilt eller weaner eller
6. *Mycoplasma hyopneumoniae/Actinobacillus /Pasteurella multocida/Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome*

Artiklernes videnskabelige indhold blev vurderet i forhold til problemstillingen og relevant materiale blev udvalgt. Der er efterfølgende søgt litteratur mere specifikt. Dette gælder eksempelvis ved kilder anvendt i andre artikler eller for at kunne afklare andre emner, inden for problemstillingen, som ikke blev dækket i tilstrækkelig omfang af materiale, som den indledende søgning gav. Dette var

eksempelvis søgninger på SPF-sygdomme og aresoler. Herudover skal der lyde en tak til dyrlæge Poul Moesgård Jensen. Han har tidligere udarbejdet en litteraturopgave, og har stillet den litteratur til rådighed, som han har anvendt. Herudover har det været nødvendigt, at finde baggrundslitteratur i forskellige bøger. Dette drejer sig primært om faktisk viden omkring de mikroorganismer, der er inkluderet i SPF-Systemet.

3.3 Virkning af HEPA filtre

Filtrene renses den gennemstrømmende luft igennem ved fem processer: impaktion, interception, diffusion, elektrostatiske tiltrækning og deposition som følge af tyngdekraften. En oversigt som viser afsætningsprocesserne i filtre i forhold til partiklers størrelse kan ses i tabel 1 herunder.

Impaction er den måde hvorpå filteret fjerner flest partikler > 200 nm. At partiklerne afsættes i filterets fibre skyldes, at den bevæger sig mod en fiber. Partiklen er på grund af dens størrelse ikke i stand til at følge luftstrømmen igennem pga. inerti, og rammer derfor fiberen, hvorpå den afsættes.

Tabel 1. Afsætningsprocesser. Sådan afsættes partikler af forskellige størrelser i filtre.

Metode	Partikelstørrelse	Partiklen afsættes på filterets overflade pga.
Impaktion	> 200 nm	Rammer filterfibre pga. inerti.
Interception	100-300 nm	Rammer filterfibre. Påvirkes ikke væsentligt af andre kræfter.
Diffusion	< 100 nm	Partiklerne bevæger sig fra høje koncentrationer mod lavere koncentrationer.
Elektrostatiske tiltrækning		Partikel med ladning tiltrækkes af fiber med modsat ladning.
Deposition	50-100 µm	Tunge partikler vil ved lav lufthastighed fælde ud og lande på filterfibre

Interception er en afsætningsproces, som kan forløbe hvor der er mindst effekt på filteret. Hvis partiklen bevæger sig i en bane, hvor den kommer i kontakt med filterfibre. Hvis ikke andre kræfter påvirker partiklen i væsentligt omfang, vil den blive siddende på fiberen.

Små partikler med en diameter på < 100 nm vil, som store "molekyler", påvirkes af Brownske bevægelser. De vil søge at bevæge sig fra områder med høj koncentration til områder, hvor koncentrationen er lavere. Af denne grund vil de små partikler afsættes på filterfibre.

Elektrostatiske tiltrækning sker når to partikler har modsat ladning. Denne form for tiltrækning anvendes i elektrostatiske filtre.

Deposition virker på store tunge partikler, som typisk har en diameter på 50-100 µm. Når effekten af tyngdekraften, der vil tvinge partiklen nedad, overstiger effekten af andre kræfter vil partiklen adskille sig og fælde ud i filteret (Fuglsang, 2013). Hvor effektivt filtrene er til at fjerne partikler afhænger derfor bl.a. hvor tæt fibre er pakket i filteret og om de er elektrostatiske ladet.

De filtre der anvendes i SPF-godkendte lastbiler er af typen H13/H14 (Personlig medd., 2013). Denne klassifikation får filtrene, alt efter hvor mange partikler, de kan fjerne i den gennemstrømmende luft. Filtrene klassificeres efter en Europæisk standard EN 1822:1998. En nærmere beskrivelse af klassifikation kan findes i bilag 1.

3.4 Virkningen af ultraviolet bestråling

Igennem en årrække har ultraviolet bestråling (herefter UVC) været anvendt til luftdesinfektion. UVC har en bølgelængde, som ligger imellem 200 nm og 280 nm. Dette spektrum kaldes "germicidal" eller "bakteriedræbende". UVC-lys virker ved at gøre kulstof dobbeltbindinger ustabile. Det gælder især når lyset har en bølgelængde på 254 nm. Kemiske forbindelser, som er opbygget omkring konjugerede ringstrukturer er især følsomme over for denne bølgelængde. De essentielle kemiske forbindelser, som påvirkes er eksempelvis pyrimidiner, puriner, flavin og aromatiske aminosyrer. Disse forbindelser indgår i blandt andet cytosin, thymin, adenin, guanin - komponenter i DNA og RNA (Cutler, 2011; Kowalski, 2009). Skaderne er ikke irreversible, da en del mikroorganismer er i stand til at reparere sådanne skader. Hvorvidt disse skaderne opstået efter UVC-lys er letale afhænger af organismen, som bestråles og hvor meget UVC-lys, som organismen påvirkes med (dosis). I litteraturgennemgangen herunder, vil detaljer omkring effekten af UVC-lys bliver gennemgået.

3.5 Faktorer som influerer på effekten af UVC-lys

3.5.1 Styrke og afstanden fra lyskilden

Sammenhængen mellem UVC-lys dosis, intensitet og eksponeringstid udtrykkes i "Bunsen-Roscoe Reciprocity" lov. Denne lov angiver sammenhængen mellem dosis, således at:

$$D = I \times T$$

Hvor **D** = dosis af UVC-lys, **I** = bestrålingens intensitet målt i mW pr. cm² og **T** = eksponeringstiden målt i sekunder.

Denne lov viser, at dosis falder lineær med afstanden fra lyskilden. Samtidig kan man udlede af loven at ved stor afstand mellem organismen og UVC-lys kilden, kan dosis dog sikres, hvis eksponeringstiden øges. Denne lovmæssighed tager dog ikke højde for refleksion af UVC-lys, hvis det rammer en flade. Men for at optimere effekten i en UVC-lys kasse eller tunnel, kan denne indrettes med reflekterende sider. Dette kan eksempelvis være poleret aluminium. Galvaniseret materiale kan reflektere op mod 55 % af lyset (Martin Jr. *et al*, 2008).

3.5.2 Miljømæssige faktorer

Anvendelsen af UVC-lys til rutinemæssig inaktivering af luftbårne mikroorganismer giver en række tekniske udfordringer. De kinetiske forhold omkring inaktivering under miljømæssige forhold kendes endnu ikke. Med miljømæssige faktorer menes for eksempel varierende temperaturforhold og relativ luftfugtighed (Cutler, 2011). Denne viden er meget vigtig, da det er almindeligt anerkendt, at når eksempelvis den relative luftfugtighed stiger, så reduceres effekten af UVC-lys (Cutler, 2011; McDevitt *et al*, 2012). Denne effekt er dog afhængig af mikroorganismen. I afsnittet 3.4.5 omkring luftfugtighed beskrives dette nærmere.

3.5.3 Temperatur

UVC lysstofrørens aktuelle output er afhængig af det koldeste sted på lysstofrøret. Temperaturen på røret er en funktion af energibalancen, som kan relateres til den energi som tilledes lampen, UVC output fra lampen, varmestråling og luftbevægelse over lampen. Det maksimale output opnås typisk, når det koldeste sted på røret er mellem 39 og 50°C, men kan variere afhængig af lampen.

Temperaturens effekt reduceres ved brug af Høj Output lamper eller ved overflade belægning af lampen også kaldet coating (Lee & Bahnfleth, 2013).

Samtidig med at temperaturen influere direkte på lampernes effekt, vil temperaturen også influere på mikroorganismernes overlevelse uden for et eventuelt værtsdyr. Hvordan mikroorganismernes overlevelse påvirkes vil blive gennemgået nærmere i afsnit 3.5.6 omkring mikroorganismer.

3.5.4 Luftfugtighed

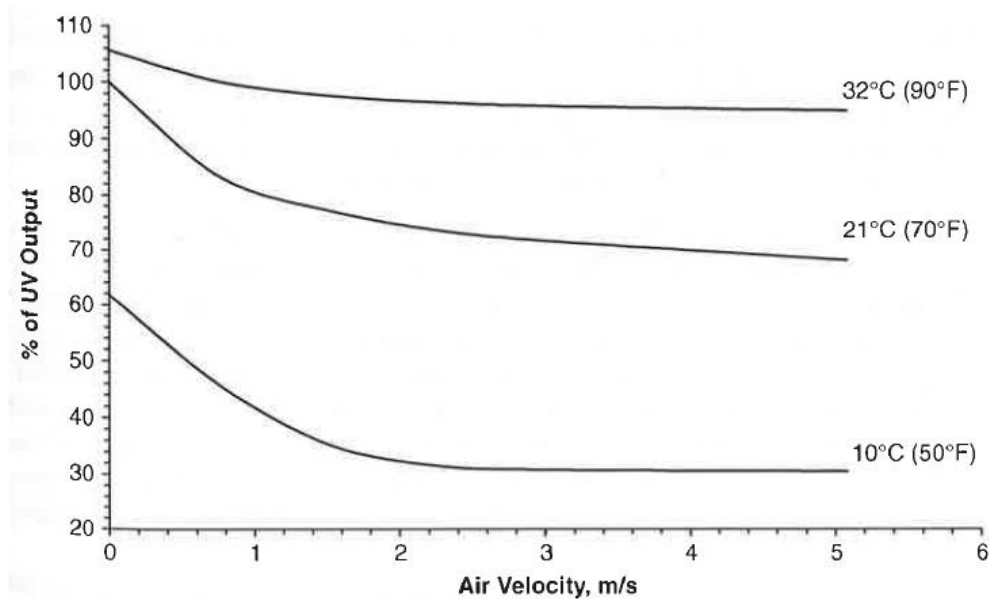
Luftfugtigheden har ingen direkte effekt på effekten af UVC-lys. Mikroorganismernes aktiveringskonstanter har tendens til at stige, når den relative luftfugtighed stiger over 70%. Derfor anbefales det, at den relative luftfugtighed bør ligge under 60% i systemer, hvor der er muligt at kontrollere fugtigheden (Martin Jr. *et al*, 2008).

For at aerosoler kan smitte, skal den mikroorganisme som bæres i aerosolen kunne overleve. Overlevelsen er blandt andet afhængig af relativ luftfugtighed og temperatur. Ideal-temperatur og luftfugtighed varierer med mikroorganismen. Vira med kappe, som influenzavirus, er ofte hydrofobe og generelt mere stabile i forhold til vira uden kappe. Vira med strukturelle lipider overlever bedst i tør luft (relativ luftfugtighed <50-70%), hvorimod vira uden lipider, som Mund- og Klovsyge virus overlever bedre under fugtige forhold (Stärk, 1999).

Bakterier er mere følsomme overfor luftfugtighed i forhold til vira. Gram negative bakterier er mere stabile ved lav luftfugtighed, da deres phosphorlipidkapper denaturere ved middel og høj relativ luftfugtighed. Ved høj luftfugtighed <85% bliver bioaerosoler ustabile og sedimentere (Stärk, 1999). Forsøg lavet af Cutler (2011) med UVC-lys har vist, at drabseffekten på både vira og bakterier er afhængig af fugtigheden. Inaktiveringsforsøg med PRRS forstøvet i aerosoler viste, at virus var sværest at inaktivere med UVC når luftfugtigheden var $\geq 80\%$. I forsøg hvor UVC-lys blev brugt til desinfektion af luft i lokaler, hvor luften recirkuleres gennem UVC kasse viste, at samme faktum gør sig gældende med Influenza virus (McDevitt *et al*, 2012). Forsøg med fire bakteriofager viser, at drabseffekten af UVC254 falder ved stigende relativ luftfugtighed. Det er dog ikke generelt, idet forsøg med Adenovirus type 2 og musehepatitis virus viste, at UVC-lys inaktiverer disse vira mere effektivt jo højere relativ luftfugtighed (Cutler *et al*, 2012). Trods den faldende drabseffekt ved stigende fugtighed viser undersøgelser dog, at UVC-lys har effekt i vand (Martin Jr. *et al*, 2008).

3.5.5 Luftbevægelse

Hvis UVC lampen afkøles mister den effekt, som nævnt tidligere. Rapporter viser, at effekten kan reduceres med op mod 60% hvis lampen nedkøles og derfor ikke fungerer på optimaltemperatur (Martin Jr. *et al*, 2008). Jo hurtigere luften bevæger sig hen over lampen, desto mere vil lampens temperatur nærme sig luftens temperatur (Lee & Bahnfleth, 2013). Nedenfor på figur 1 ses hvorledes output fra en UVC lampe af typen TUV36W-PLL kan fra variere alt efter temperatur og luftbevægelsehastigheden (Kowaski, 2009).



Figur 1. UVC lampens output ved tre forskellige temperaturer og varierende lufthastighed (Kowalski, 2009).

3.5.6 Mikroorganismer

For at smitte kan overføres via luften og smitte et modtageligt dyr, kræves det at patogenet kan forstøves i aerosol, samt at patogenet når frem til en modtagelig vært uden at blive fortyndet eller inaktiveret. I værtsdyret skal patogenet herefter kunne inficere og replicere sig (Stärk, 1999). Idet SPF-sygdommene *Brachyspira hyodysenteria*, *Sarcoptes Scabie* og *Haematopinus suis* ikke har disse egenskaber, vil risiko for at disse sygdomme overføres via luften være minimale til grænsen til ikke eksisterende. Derimod kan patogener som *Mycoplasma hyopneumonia*, *Actinobacillus pleuropneumonia*, PRRS samt toksindannende *Pasteurella Multocida* bæres i aerosoler. Det vil derfor primært, men ikke udelukkende, være disse patogener, som har interessen i denne litteraturopgave. I den følgende tekst anvendes udtrykket bioaerosol. En bioaerosol defineres, som en fast eller flydende partikel af biologisk oprindelse, som er opløst i luft. Den kan desuden være i stand til at påvirke en anden levende organisme ved infektion. Partiklens størrelse ligger mellem 0,5-100 µm.

”Bunsen-Roscoe Reciprocity” lov viser en ligefrem sammenhæng mellem dosis, eksponeringstid og bestrålingsstyrke. Biologien komplicerer dette billede i nogen grad. Fotonerne skal absorberes i mikroorganismen, for at have effekt på organismene. Organismens inaktivering beskrives i Chick’s lov. Denne beskriver, at når desinfektionsmidlets kontakttid (t) øges vil forholdet mellem antallet af levedygtige mikroorganismer (N_t) i forhold til totalantal mikroorganismer (N_0), ved tiden 0 blive mindre. Sammenhængen er efterfølgende blevet modificeret af Tseng & Li (2005) således, at den også kan bruges til beregning af inaktiveringskonstanter ved ultraviolet inaktivering:

$$K = [\log_{10}(N_t/N_0)] / D$$

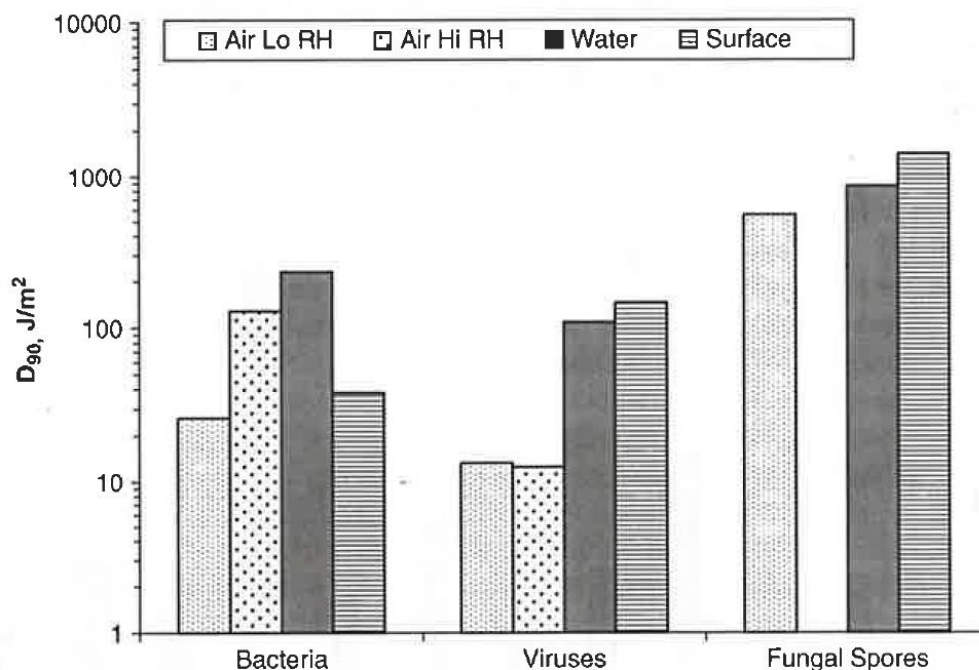
K = inaktiveringskonstant, N_0 = antallet af levedygtige mikroorganismer ved tiden 0, N_t = antallet af levedygtige mikroorganismer ved UVC eksponeringstiden ”t” og er D = UVC-lys dosis.

Arbejdet med at klarlægge inaktiveringskonstanter på mikroorganismer, har afsløret endnu to biologiske fænomener: "shouldering" og "tailing". Førstnævnte dækker over et fænomen, hvor man ikke ser en øget drabsrate på en gruppe mikroorganismer trods en øget UVC dosis. Sidstnævnte begreb "tailing" dækker over det modsatte fænomen, hvor man trods reduceret UVC bestråling ikke ser en reduktion i drabsrate på mikroorganismen. Fænomenerne forklares biologisk ved, at mikroorganismer, så som subspecies af vira og bakterier, ikke er en helt homogen gruppe. En del af subpopulation (*f*) kan være mere følsom, mens en anden subpopulation (1-*f*) er mere resistent (Kowalski *et al*, 2001; Hiatt, 1964). Denne forskel kan udtrykkes på følgende måde:

$$\text{Log}_{10}N_t = \text{Log}_{10}N_0 + \text{Log}_{10}[(1-f) \times 10^{-k_1 \text{Dose}T} + f \times 10^{-k_2 \text{Dose}T}]$$

Hvor N_t = antallet af levedygtige mikroorganismer ved UVC dosis "DoseT". N_0 = antallet af levedygtige mikroorganismer i en ikke eksponeret kontrolprøve. *f* = mængden af resistente mikroorganismer af totalmængden med inaktiveringskonstanten *k*2. (1-*f*) = mængden af mikroorganismer der er følsomme med inaktiveringskonstanten *k*1. *k*1 er inaktiveringskonstanten for den "følsomme subpopulation af mikroorganismer" og *k*2 er inaktiveringskonstanten for den "resistente subpopulation af mikroorganismer". Det er ikke muligt at forudsige hvilke mikroorganismer, hvor fænomenet "shouldering" og "tailing" ses. Dette skal afprøves ved forsøg (Kowalski *et al*, 2001).

Der findes en del tabelværdier med halveringskonstanter for mikroorganismer i væske. Dette skyldes formentligt, at teknologien har været udbredt i en årrække til desinfektion af blandt andet væsker til fødevarerfremstilling, drikkevand og i fødevarerindustriens desinfektion af flydende færdigprodukter. Antallet af tabelværdier falder væsentligt for bioaerosoler. Generelt er UVC drabseffekten højere i luft end i vand. På figur 2 ses en sammenligning for UVC D₉₀ værdier for bakterier, virus og svampesporer i luft ved høj hhv. lav luftfugtighed, i væske og på overflader.



Figur 2. På figuren er angivet hvilken dosis af UVC, som er nødvendig hvis man ønsker at reducere forekomsten af bakterier, virus og svampesporer i luft ved høj hhv. lav luftfugtighed, i væske og på overflader med 90%. Der mangler værdi for svampesporer ved høj luftfugtighed (Kowalski, 2009).

Ved lave temperaturer er der generelt flere bioaerosoler. Dette kan dog hænge sammen med, at der er lavere luftfugtighed, hvorved overlevelsesmulighederne for bioaerosoler fremmes (Stärk, 1999).

3.5.7 SPF-sygdomme

I SPF-Systemet deklarerer svinebesætninger for i alt 18 sygdomme. Disse er angivet i tabel 2 herunder. Besætningerne overvåges i forbindelse med den sundhedskontrol som gennemføres i besætningerne. Herudover udtages relevant prøvemateriale dels til overvågning og dels hvis sundhedskontrollen har mistanke om at der er en uønsket sygdom i besætningen.

Tabel 2. SPF-sygdomme og deres udbredelse blandt SPF-besætninger 2013 (personlig meddelelse).

SPF-sygdom	Frideklarede besætninger/Pct		Størrelse	Aerosolsmitte
	Blå SPF	Rød SPF		
Lus <i>Haematopinus suis</i>	100	100	6 mm	Nej
Skab <i>Sarcoptes Scabie</i>	100	100	0,5 mm	Nej
Svine dysenteri <i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	99,8	100	0.3-0.4 x 6-11 µm	Nej
Nysesygge <i>Toxigenic Pasteurella multocida</i>	98,2	100	0.3-1.0 x 1.0-2.0 µm	Ja
Ondartet lungesyge Serotype 1-10 og 12 <i>Actinobacillus pleuropneumonia</i>	83	93	0.3-0.5 x 0.6-1.4 µm	Ja
Alm. Lungesyge <i>Mycoplasma hyopneumonia</i>	30	63	400 - 1200 nm	Ja
PRRS - (DK & Vac)	63	87	50-65 nm	Ja

Kun de lidelser der spredes med aerosoler, har betydning i vurderingen af luftdesinfektion HEPA-filtre og UVC-lys. Risikoen for at blive inficeret med SPF-sygdomme, som ikke spredes med aerosoler vurderes at være den samme, uanset om en SPF-godkendt bil måtte have HEPA-filter eller UVC-lys luftdesinfektion. De SPF-sygdomme som derfor vil være i fokus er: *Actinobacillus pleuropneumonia*, *Mycoplasma hyopneumonia*, *Porcine Respiratory and Reproductive virus* og i mindre grad toxinproducerede *Pasteurella multocida*.

Ondartet lungesyge

Ondartet lungesyge forårsages af *Actinobacillus pleuropneumonia*. Denne bakterie opdeles i serotyperne 1-15. I Danmark er serotyperne 1, 2, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14 og 15 isoleret. Derimod er serotyperne 3, 4, 9, 11 og 13 ikke påvist i Danmark (Brugerhåndbogen 2009). I SPF-Systemet deklarerer besætningerne serotype 1-10 og 12.

De Blå SPF-besætninger overvåges klinisk for ondartet lungesyge, og samtidig ved at udtage årlige statusblodprøver. Disse undersøges for antistoffer for serotype 2 og 6, som er de mest udbredte serotyper i Danmark (Brugerhåndbogen 2009). Blodprøverne testes også for Ap12. I de Røde SPF besætninger overvåges serotyperne 2 og 6 på månedsbasis, serotype 12 hvert kvartal, serotype 5 overvåges halvårligt, mens serotype 1, 7 og 10 undersøges årligt. Da serotype 1 krydsreagerer med

serotype 9 og 11, ligesom serotyperne 4 og 7 krydsreagerer undersøges disse indirekte samtidig (Brugerhåndbogen 2009).

Når bakterien er dækket af beskyttende mucus eller organisk materiale, kan den overleve i et par dage, mens den kan overleve i rent vand i op mod 30 dage ved 4°C (Taylor, 1999a). Undersøgelser viser, at ondartet lungesyge kan smitte ved hjælp af bioaerosoler (Kristensen *et al*, 2004; Stärk, 1999). Bioaerosoler dannet af en opløsning med 10⁴ CFU/mL af biotype 1, serotype 2, 5b og 6 kan fremkalde klassiske symptomer. For mindre virulent biotype 2 kræves 10⁶ CFU/mL for at inducere kliniske symptomer (Jacobsen *et al*, 1996). Det må dog forventes, at bakteriernes overlevelse i aerosoler er kortvarig (Taylor, 1999a).

Almindelig lungesyge

Almindelig lungesyge forårsaget af *Mycoplasma hyopneumoniae* forekommer hyppigt i danske besætninger. I 70% de Blå SPF besætninger og 37% af de Røde SPF-besætninger er deklareret positive for *M. hyopneumoniae*. *M. hyopneumoniae* inaktiveres på 48 timer ved udtørring på en overflade, men kan overleve i op mod 17 dage i rent vand ved en temperatur på 4-7°C (Taylor, 1999b). I SPF-besætninger sker overvågningen dels ved, at svinene tjekkes for kliniske symptomer af sundhedskontrollen og dels ved undersøgelse af antistoffer i blodprøver. I Røde SPF-besætninger udtages disse på månedsbasis, mens de udtages årligt i Blå SPF-besætninger.

Svin kan udskille bioaerosoler med *M. hyopneumoniae* allerede 8 dage efter de er smittet (Hermann *et al*, 2008). Overlevelsestiden på flere aviære mycoplasma typer båret i bioaerosoler er op mod 24 timer efter deres dannelse ved 25°C og relativ fugtighed på 40-50% (Stärk, 1999).

Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome

At Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, forårsaget af PRRS virus (herefter PRRSv), spredes som bioaerosoler er bredt anerkendt, og det er angivet, at virus kan spredes op til 3 km (Mortensen *et al*, 2002).

PRRSv er en stabil virus og ved temperaturer mellem -70-20°C kan virus forblive infektivt i måneder til år. Virusoverlevelsen falder dog ved stigende temperaturer. 90% af viruspartiklerne har mistet deres infektivitet efter 7 dage ved 40°C, 1-6 dage ved 20-21°C, 3-24 timer ved 37 °C og kun 6-20 min ved 56°C når virus opbevares i medier. Virus er stabilt ved en pH mellem 6,5 og 7,5, men mister hurtigt infektivitet uden for dette interval (Benfield *et al*, 1999).

Den infektive dosis af PRRSv afhænger af isolatet. Undersøgelser med isolaterne MN 184 viser at TCID₅₀ 1x10^{0,26} mens den tilsvarende dosis for VR 2332 ligger på 1x10^{3,1} (Mortensen *et al*, 2002; Benfield *et al*, 1999).

En undersøgelse lavet af Cho (2006) havde til formål at undersøge om alder, co-infektioner eller virusvirulensen influerede på udskillelsen af PRRSv. Undersøgelsen viste, at der var signifikant højere aerosoludskillelse ved højvirulens stammer sammenlignet med lavvirulente stammer. Alder og co-infektion med *M. hyopneumoniae* havde ingen signifikant effekt på udskillelsen.

En undersøgelse publiceret i 2006 havde bl. a. til formål, at sammenligne blandt andet UVC-lys og HEPA-filtre til at beskytte svin mod PRRSv. Undersøgelsen er lavet ved, at forstøve PRRSv og suge luften igennem et kammer, hvori luftdesinfektion fandt sted. I et af kamrene var dette luftdesinfektionsudstyr et forfilter (F8) og et HEPA-filter (EU13) mens der i et andet kammer var sat

et UVC rør ind. Idet der ikke på daværende tidspunkt var lavet beregninger af PRRSv inaktiveringskonstant, blev der anvendt et lodretstående UVC rør. Maksimalafstanden fra PRRSv inficeret luft til UVC rør er ikke angivet. Undersøgelsen viser, at HEPA filtre beskyttelser svinene signifikant bedre end UVC-lys. Årsagen til denne forskel kan i følge forskerholdet være, at eksponeringstiden har været for kort (Dee *et al*, 2006).

Undersøgelser viser, at der er signifikant sammenhæng mellem relativ fugtighed og temperatur og inaktivering af bioaerosoler ved brug af UVC. Inaktiveringskonstanten *k* stiger lineært ved faldende temperatur. I undersøgelsen inaktiveres hurtigst ved en luftfugtighed mellem 25-79%. Ud fra forsøget hvor inaktiveringskonstanten blev bestemt ved tre forskellige temperaturer og tre forskellige RF, forslår Cutler (2012), at man bruger den mest konservative inaktiveringskonstant på 2,49. Resultaterne kan ses i tabel 3 herunder.

Tabel 3. Inaktiveringkonstanter og TCID₅₀ ved forskellige temperatur og RF

Temperatur	Relativ fugtighed (RF)			
		≤ 24 %	25 %-79 %	≥ 80 %
	Primære effekter	4,25 (0,071)	5,87 (0,051)	3,41 (0,088)
≤ 15 °C	5,68 (0,053)	5,42 (0,055)	7,04 (0,043)	4,58 (0,070)
16-29 °C	4,25 (0,071)	3,99 (0,075)	5,61 (0,054)	3,15 (0,096)
≥ 30 °C	3,59 (0,084)	3,33 (0,090)	4,96 (0,061)	2,49 (0,210)

Nysesygge

Nysesygge forårsaget af toksinproducerende *Pasturella multocida* kan spredes i bioaerosoler (Taylor, 1999b). I et aerosolkammer er halveringstiden af *P. multocida* og *B. bronchiochiptica* ved 23°C og en relativ fugtighed på 75% på hhv. 10 og 57,7 min. Når bakterierne bæres på tørre overflader eksempelvis støv er halveringstiden 18-22 timer. Her har temperatur og relativ fugtighed ikke væsentlig betydning (Stärk, 1999).

Undersøgelser udført på *P. multocida* viser at 80% af aerosolerne indeholder levedygtige bakterier efter 1 min. ved 79% relativ fugtighed ved 37°C, men er nede på 5% efter 45 min. Når den relative fugtighed falder, vil antallet af levedygtige bakterier i aerosoler aftage hurtigere. (Thomson *et al*, 1992). Overlevelsen forbedres ved lavere temperaturer (Taylor, 1999b). Bakterierne kan overleve i rent vand i op mod 14 dage, når vandtemperaturen ligger på 4°C. Hvis vandet varmes op til 37°C overlever bakterien under 24 timer. Hvis bakterien findes opblandet i gylle vil den derimod være i stand til at overleve i op mod seks dage ved en temperatur på 37 °C, men vil forgå på under tre dage ved en temperatur på 4°C (Thomson *et al*, 1992).

3.6 Diskussion og opsummering af litteratur

HEPA filtre renses luften gennem fem processer: impaktion, interception, diffusion, elektrostatisk tiltrækning og desposition. Den proces som vil fjerne flest bakterier og vira i luften formodes at være impaktion grundet aerosolstørrelse. Elektrostatisk tiltrækning har den største betydning for partikler som er ladet og de sidste tre processer fjerner primært partikler som er mindre end bioaerosoler.

UVC virker ved at påvirke mikroorganismers DNA eller RNA hvor det giver anledning til skader. Hvorvidt mikroorganismene kan overleve disse skader, afhænger af omfang og om skaderne kan repareres (Cutler, 2011; Kowalski, 2009).

Det er umiddelbart ikke muligt ved hjælp af teoretiske estimater, at vurdere hvor meget UVC-lys, der kræves for at inaktivere den enkelte mikroorganisme. Dette skyldes, at niveauet er direkte afhængigt af mikroorganismen (Cutler, 2011). Herudover kompliceres regnestykket yderligere af, at vi i dette tilfælde primært interesserer os for luftbårne mikroorganismer, bioaerosoler.

Temperatur har, ligesom luftfugtigheden, indflydelse på UVC effekten på bioaerosoler. Men UVC-lampens output kan også være direkte afhængig af lufttemperaturen. Her kan temperaturens påvirkning dog reduceres ved at coate lampen. For bioaerosoler har temperaturen også direkte effekt på mikroorganismernes overlevelse (Lee & Bahnfleth, 2013).

Luftens fugtighed har ligesom temperaturen en effekt på UVC systemernes drabseffekt. En luftfugtighed på 60% angives som ideel for mange UVC systemer (Martin Jr. *et al*, 2008). Samtidig har den relative luftfugtighed også direkte effekt på overlevelsen af bioaerosoler, hvor overlevelsen for nogle mikroorganismer forlænges i fugtige miljøer, mens andres overlevelse forkortes (Benfield *et al*, 1999; Stärk, 1999; Taylor, 1999a; Taylor, 1999b).

Flere af sygdommene, som er inkluderet i SPF-Systemet kan spredes med bioaerosoler. Det gælder for almindelig lungesyge, ondartet lungesyge, PRRS og nysesygge (Benfield *et al*, 1999; Stärk, 1999; Taylor, 1999a; Taylor, 1999b). Af disse sygdomme regnes almindelig lungesyge, ondartet lungesyge, PRRS som luftbårne sygdomme, mens risikoen for aerosolsmitte med nysesygge regnes for minimal (Alban & Toft, 2007).

Der er påvist smitte med aerosoler for ondartet lungesyge. En forstøvet opløsning af biotype 1, serotype 2, 5b og 6 med en koncentration på 10^4 CFU pr. ml er sygdomsfremkaldende (Jacobsen *et al*, 1996). Det forventes, at overlevelsen i aerosoler er kortvarig (Taylor, 1999a).

Mycoplasma hyopneumoniae er følsom overfor udtørring (Taylor, 1999b). Undersøgelser viser dog, at overlevelsestiden på flere aviære mycoplasma typer båret i bioaerosoler er op mod 24 timer efter deres dannelse trods en temperatur på 25°C og relativ fugtighed på 40-50% (Stärk, 1999).

P. multocida er følsom overfor udtørring, men under en relativ fugtighed på 79% og en temperatur på ved 37°C vil 80% aerosolerne indeholde levedygtige bakterier efter 1 min., men er nede på 5% efter 45 min. (Thomson *et al*, 1992). Overlevelsen forbedres ved lavere temperaturer (Taylor, 1999b).

PRRSv har en lille infektiv dosis og er i stand til at bevæge sig i bioaerosoler over store geografiske afstande (Mortensen *et al*, 2002). Derfor er denne virus i særdeleshed interessant i forbindelse med denne problemstilling. Af denne grund er det derfor positivt, at der netop med denne virus er udarbejdet undersøgelser af halveringskonstanterne under varierende temperatur og fugtighed.

For de øvrige sygdomme må der laves en teoretisk vurdering af, om det vil kræve signifikant anderledes UVC-lys styrke før de vil kunne inaktiveres. Denne vurdering skal sammenholdes med en vurdering af dannelsen, spredning og overlevelsen af bioaerosoler for hver af disse sygdomme.

3.7 UVC-lys - Relevans og muligheder

UVC-lys har været brugt igennem en længere periode til luftdesinfektion, men er ikke udbredt inden for svineproduktion. Hvorvidt UVC-lys kan anvendes, som desinfektion til indsugningsluft i stalde eller lignende faciliteter, er tvivlsomt på nuværende tidspunkt. Dette skyldes dels de massive luftmængder, som skal renses især i sommerperioden. Ikke desto mindre er overvejelserne med luftdesinfektion med UVC-lys til stalde interessante, eksempelvis i de tilfælde, hvor man ønsker at beskytte særligt værdifulde svin.

Undersøgelser bekræfter, at antallet af infektioner kan reduceres hvis mængden af bioaerosoler reduceres (Stärk, 1999). Dette kan være interessant hvis man ønsker at sanere en besætning for en aerosolbåren smitte. I sådan tilfælde kan UVC-lyskasser, hvorigennem luften recirkuleres være en mulighed. Det kan ligeledes være interessant i det tilfælde hvor en sygdom volder store problemer i en besætning og hvor reduktion i antallet af bioaerosoler vil kunne afhjælpe problemet. Hvis man vælger at cirkulere staldluften igennem en UVC-lys kasse frem for at øge ventilationen desuden opnås følgende: indsugningsluft skal ikke opvarmes/nedkøles og mindre ammoniakemmission fra staldene. Man skal dog være opmærksom på at der kan forekomme ozondannelse, hvilket er et arbejdsmiljømæssigt problem. Desuden vil støv og partikler ikke blive fjernet fra luften, hvilket også kan udgøre et arbejdsmiljøproblem.

En effektiv overfladedesinfektion af materialer eller instrumenter som ikke kan tåle almindelige desinfektionsmidler i vandopløselig- eller gasform. Dette kan eksempelvis være elektronisk udstyr som skal flyttes fra en besætning til en anden besætning. En effektiv desinfektion for at undgå overslæb af bakterier er essentiel. Her kunne UVC-lys måske også være en løsning. Dette er dog helt afhængigt hvilket stykke udstyr som skal desinficeres. For at opnå effektiv desinfektion er et krav at fotonerne skal ramme alle områder, hvori der kan sidde uønsket smitte.

4 Eksperimentel undersøgelse

Lastbiler med et nyt luftdesinfektionssystem baseret på UVC teknologi ønsket afprøvet overfor den traditionelle SPF-godkendt lastbil. Rensning af indsugningsluft på SPF-godkendte lastbiler gøres med High Efficiency Particulate Absorption filtre (HEPA-filtre) af typen H13/H14. På lastbiler, hvor luftdesinfektionen er baseret på UVC teknik, er opbygget med UVC kasse, hvor luft ledes igennem inden det når transportkassen. Vi ønsker i denne undersøgelse at teste de to luftdesinfektionssystemer under eksperimentelle forhold, hvor vi belaster systemerne ved at forstøve en *E. coli* stamopløsning ud i luften med en nebulizer.

4.1 Beskrivelse af lastbiler

Lastbil hvor luftdesinfektionssystemet er baseret på High -Efficiency Particulate Absorption filtre

Lastbilen er en SPF-godkendte lastbil, som på tidspunktet hvor eksperimentet blev gennemført, var fire år gammel. Bilen har tre etager i transportkassen og plads til i alt 300 svin af 30 kg.

Lastbilen med HEPA-filtre er udstyret med et filtersystem, hvorigennem luften til transportkassen skal passere. Filtersystemet består af en ydre gælleplade, forfilter af filtertypen F9 og et HEPA filter af filtertypen H13/H14.

Gællepladerne har til formål at skærme og beskytte filtrene. Dette gør at større partikler, så som sten der slynges om under kørslen ikke beskadiger filtrene. Forfilteret skal fjerne de store partikler. HEPA-filtre af størrelsen H13/H14 fjerner 99,95 – 99,995 % af de partikler, som når frem til dette filter. Filtrene betegnes derfor også som absolutfiltre.

Filtre af denne type er velafprøvede, da de anvendes i vid udstrækning for eksempel i lægemiddelindustrien. Filtrene installeres her i ventilationskanalerne, hvorved man kan opnå sterile områder, som er nødvendig, hvor injektionslægemidler påfyldes flasker.

Lastbil hvor luftdesinfektionssystemet er baseret på UVC-lys

UVC bilen er et år gammel og har et indvendigt areal på 89m². Lastbilen er indrettet med 3 dæk og plads til i alt 445 svin af 30 kilo.

UVC-lys er den primære luftrensning og bilen har et tilsvarende forfiltersystem, som den SPF-godkendte lastbil. Dette system består ligeledes af gælleplader, som skærmer for filtrene. Efter gællepladerne ledes luften igennem forfilter af typen F9. Luften ledes derefter videre ind i UVC-lys kassen. I denne kasse sidder 9 kassetter med hver to UVC rør. Disse rør har en styrke på 60/95 watt. Et oliefyr sikrer, at indsugningsluften er opvarmet inden den passerer ind i UVC-kassen. Herudover sikrer en anordning i området hvor luften ledes ind til UVC-lys kassen sikre, at der skabes turbulens i luften i UVC-kassen.

4.2 Formål

Formålet med denne undersøgelse er, at undersøge effektiviteten af desinfektionssystemet til rensning af indsugningsluft på de to lastbiler. Den ene lastbil har et luftdesinfektionssystem baseret på HEPA-filtre, mens den anden lastbil har et system baseret på UVC- teknologi. Indsugningsluften kontamineres ved, at forstøve en rifampicin-resistent nonpatogen *E.coli* opløsning.

4.3 Materialer og metode

Eksperimentet er opbygget som en prospektiv undersøgelse med parallel design. Eksperimentet blev gennemført på en dag, hvor prøveopsamlingerne blev lavet i umiddelbar forlængelse af hinanden.

Biler

Til eksperimentet er udvalgt to lastbiler. Lastbilerne som skulle indgå i undersøgelsen er selekteret. Der er på nuværende tidspunkt kun to lastbiler i Danmark, som har et luftdesinfektionssystem, som er baseret på UVC teknologi. Kapacitet og indretning på disse to biler er identisk. Heraf indgår den ene i eksperimentet. Denne lastbil kaldes herefter UVC-bil.

Der findes derimod 96 SPF-godkendte lastbiler (personlig meddelelse, 2013). Opbygningen af disse lastbiler er meget forskellige både når det gælder størrelse, antal af dæk, ventilationskapacitet og opbygningen af luftkanaler. Lastbilen som har et luftdesinfektionssystem baseret på HEPA-filtre er valgt efter pilotundersøgelser. Den bil der blev brugt betegnes herefter HEPA-bil.

Bakterier

En opløsning af non-patogen rifampicin-resistente, laktose-negative *E.coli* bakterier forstøves ud i indsugningsluften ved hjælp af en nebulizer. *E. coli* opløsningen skal have en koncentration på 1×10^6 - 1×10^{10} CFU pr. ml.

Forsøg

Der bliver lavet fire forsøgsrunder med og uden hhv. forfilter, UVC-lys/HEPA filtre. Forsøgsrunderne og formålet med hver forsøgsrunde er beskrevet i tabel 4 nedenfor.

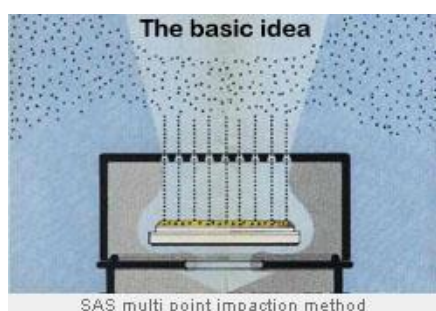
Tabel 4. Forsøgsrunder i det eksperimentelle forsøg.

Forsøgs- runde	HEPA-bil		UVC-bil		Formål med forsøgsopstillingen
	Forfilter	Carbonfilter	Forfilter	UVC- lys	
1	Ja	Ja	Ja	Ja	Tester effekten af filteringsystemet på hhv. SPF-bilen med carbon filtre og bilen med UVC-lys som luftdesinfektionssystem.
2	Nej	Ja	Nej	Ja	Tester effekten af forfiltrene på bakterierindholdet i indsugningsluften
3	Ja	Nej	Ja	Nej	Tester effekten af carbonfilteret hhv. effekten af UVC-lyset på bakterierindholdet i indsugningsluften
4	Nej	Nej	Nej	Nej	Positiv kontrol

Ved hver forsøgsrunde opsamles luftprøver fra transportkassen i de to biler. Indsugningsluften i bilerne testes også vha. nedfaldsprøver. En komplet beskrivelse af forsøgsproceduren kan findes i bilag 2.

Prøveudtagning

Luftprøverne udtages med BC 100 air sampler. Dette muliggør reproducerbar kvalitativ måling af luftkvaliteten. Instrumentet til udtagning af luftprøverne, BC 100, virker på følgende måde: luften som man ønsker at undersøge suges ind gennem en si, hvori der er 256 huller. En petriskål med medie, eksempelvis en blodagar er placeret få mm under sien. Luften suges ind i BC 100 med et konstant flow på 16,8 m/s, hvilket svarer til at det tager 30 sek. at udtage en luftprøve på 50 L. Luftprøven indstilles på forhånd til 50 L, 100 L, 200 L, 400 L, 800 L eller 1000 L. Nedenfor på figur 3 er princippet for luftopsamling vist.



Figur 3. Billedet illustrerer princippet for udtagning af luftprøverne med BC 100.

Nedfaldsprøverne laves på standard blodagarplader og på McConkey agar (Laboratorium for Svinesygdomme, Vinkelvej 13, 8620 Kjellerup, DK). Disse eksponeret 5 minutter eller 10 minutter for luften i transportkassen

Mængden af bakterier der opsamles inde i bilerne vil være afhængig af en lang række faktorer. For luftdesinfektionen i forfiltre og hhv. HEPA-filtre og UVC-lys vil effekten afhænge af partiklernes størrelse, sammensætning og partiklens egenskaber. I dette tilfælde arbejder vi med *E.coli* bakterier. Herudover vil bakterien inden den passerer ind i filteret blive påvirket af miljømæssige faktorer, hvilket ligeledes vil være tilfældet, hvis den skulle passere filtret og komme ind i transportkassen. Eksempler på hvilke faktorer, som kan påvirke bakterien er angivet i tabel 5 herunder.

Tabel 5. Oversigt over en række af de faktorer, som kan påvirke resultatet.

Miljømæssig uden for lastbilerne	Bilspecifikke faktorer		Opsamling
	Filterfunktion	Miljømæssige i transportkassen	
Konc. af <i>E.coli</i> i luften	Forfilter	Temperatur	Metode
Temperaturen	HEPA/UVC	Luftfugtighed	Mængde
Luftfugtigheden	Trykpåvirkning	Tryk	Dyrkningsmedie
Andre bakterier	Opvarmning af indsugningsluft	Luftstrømme	Tidspunkt
	Mængde af indsuget luft	Andre bakterier	Lab. undersøgelsesmetode

De variable som er klassificeret under miljømæssige faktorer og de der er klassificeret under opsamling, er kassen markeret med grønt. Under eksperimentet forsøger vi at holde disse faktorer ens for de to biler.

Laboratorieanalyse

Efter prøvetagningen er færdiggjort transporteres prøverne til Laboratorium for Svinesygdomme. Her inkuberes agarpladerne ved 37° C i en dag. Kolonidannende enheder (CFU) på agarpladerne aflæses. Data registreres i Microsoft Excel 2010®.

Bakterierne blev vurderet visuelt ved aflæsning. Kulturer der ikke var forenelige med *E.coli* stammen ved visuel vurdering blev noteret. *E.coli* bakterien blev typet.

4.4 Databehandling og analytisk metode

En lang række af variable, er knyttet til resultaterne af målingerne, udført inde i transportkasserne i de enkelte lastbiler jf. tabel 5. Effekten af luftdesinfektionsmetoden vil ikke kunne adskilles fra de øvrige variable i dette eksperiment. Lastbilen, hhv. HEPA-bilen og UVC-bilen betragtes samlet som en variabel. Eksperimentets effektparameter vil uanset hvilken af de tre opsamlingsmetoder der anvendes, være kolonier som vokser frem (CFU). Da effektparameteren er en diskret variabel vil den naturlige model være en Poisson-model, hvor effektparameteren logaritme-transformeres. Resultaterne opgives som reduktion i relativ risiko i forhold til base-line niveau. Hvis $p < 0,05$ vurderes reduktionen til at være statistisk signifikant.

Der er fem målinger pr. bil, som er udtaget lige efter hinanden på samme bil. Dermed kan de fem målinger ikke betragtes som uafhængige. Der er derfor indsat en tilfældig effekt for forsøgsrunde.

Data modtages fra laboratoriet i Microsoft Excel 2010®. Data overføres herefter til Statistical Analysis System®, hvor den statistiske beregning gennemføres. SAS proc glimmix er anvendt til de statistiske beregninger under antagelsen af, at data har en negativ binomial-fordeling.

Den statistiske analyse er udarbejdet af chefkonsulent Jan Dahl fra Landbrug & Fødevarers afdeling for Fødevarer- og Veterinære Forhold / Fødevarer-sikkerhed, veterinære forhold og risikoanalyse.

4.5 Resultater

Eksperimentet blev gennemført mandag den 20. januar 2014. Dagtemperaturen lå på 0°C og en relativ luftfugtighed på 90%. Temperaturen inde i hallen, hvor forsøget blev udført, blev ikke målt. Denne temperatur formodes dog, at ligge meget nær udetemperaturen, da hallen blev gennemluftet mellem hver forsøgsrunde.

Effekten af bil og filter hænger uløseligt sammen, så der kan ikke skelnes mellem bil-effekt og filter-effekt. Resultaterne gennemgås derfor for hver bil hver for sig, efterfulgt af en vurdering af resultaterne for begge biler.

For hver af de to lastbiler, er der opgjort en relativ reduktion i forhold til base-line niveauet. Baseline niveauet er der, hvor bakterierne frit kunne strømme ind i lastbilerne, idet forfilter var fjernet og hvor hhv. HEPA-filter var taget ud og UVC-lys slukket.

Der er ikke foretaget korrelation for multiple sammenligninger, da der først er testet for forskel mellem de fire kombinationer generelt. De individuelle sammenligninger er kun foretaget, hvis der var signifikant forskel generelt.

Resultaterne af prøverne fra de to biler er sammenfattet i tabellerne 6, 7, 8 og 9. Tabellerne 6 og 8 viser resultaterne af nedfaldsprøver. Resultaterne er opgivet, som gennemsnitligt antal CFU pr. plade, samt minimums og maksimumsværdi for prøverunden angivet i parentes. I kolonnen herefter ses den relative reduktion i forhold til baselineniveauet (1). Under den relative reduktion er konfidensintervallet (KI) angivet i parentes. De første to kolonner viser resultaterne for plader, som blev eksponeret i 5 min. De sidste to kolonner viser resultaterne af nedfaldsprøver eksponeret i 10 min.

I tabel 7 og 9 er resultaterne for luftprøverne udtaget med BC 100 i de fire forsøgsrunder samlet. For de fire forsøgsrunder vises først resultaterne for luftopsamling på blodagar. Her vises det gennemsnitlige antal CFU pr. plade og minimums- og maksimumsværdi i parentes. I kolonnen efter er den relative reduktion for forsøgsrunder vist sammenlignet med baseline. I parentes nedenunder viser konfidensintervallet.

Statistisk signifikans er markeret i alle tabellerne med stjerner.

Resultater fra HEPA-bil

Der blev lavet ti målinger af nedfaldsprøver i hver af de fire forsøgsrunder, fem målinger af 5 min. og fem målinger af 10 min. Resultaterne er præsenteret i tabel 6 nedenfor.

Antallet af CFU, der blev fundet som baselineniveau, lå gennemsnitligt på hhv. 414 CFU på 5 min. og 641 CFU på 10 min. Der er signifikant forskel på forekomsten af CFU på alle fire målinger. Den største relative reduktion findes når både forfilter og HEPA-filter er installeret. Den er beregnet på nedfaldsprøver efter 5 min. og efter 10 min. til at være hhv. 0,003 og 0,006. HEPA-filtret alene giver en større relativ reduktion på hhv. 0,037 efter 5. min og 0,053 efter 10 min. end forfiltret alene. Forfilter alene gav en relativ reduktion på hhv. 0,205 efter 5 min. og 0,168 efter 10 min. Der er signifikant forskel på den relative reduktion i alle forsøgsrunderne.

Ud fra konfidensintervallerne ses ikke forskel på den relative reduktion efter hhv. 5 og 10 min. på de fire forsøgsrunder.

Tabel 6. Resultater af nedfaldsprøver fra HEPA-bilen. Prøverne er alle lavet på blodagar der har været eksponeret for indsugningsluften i hhv. 5 og 10 min.

Forfilter	5 min			10 min	
	HEPA Filter	Gennemsnit CFU (min-max)	Relativ reduktion (KI)	Gennemsnit CFU (min-max)	Relativ reduktion (KI)
Ja	Ja	1 (0-2)	0,003 (0,001-0,007)***	4 (1-6)	0,006 (0,003-0,010)***
Nej	Ja	15 (3-22)	0,037 (0,024-0,055)***	34 (24-50)	0,053 (0,041-0,069)***
Ja	Nej	85 (68-100)	0,205 (0,145-0,288)***	108 (85-143)	0,168 (0,133-0,212)***
Nej	Nej	414 (256-500)	1	641 (600-684)	1

Signifikans-niveau på forskel mellem baseline og kombinationen: ***<0,001, **<0,01, *0,05

På luftprøverne udtaget med BC 100 var antallet af CFU på blodagar højere end antallet af CFU på McConkey agar. Det samme gjorde sig gældende for de luftmålinger der er lavet i UVC-bilen.

Den relative reduktion beregnet ud fra resultaterne på blodagar var 0,523 når HEPA-bilen var komplet med både forfilter og HEPA-filter. Den relative reduktion, beregnet ud fra antallet af CFU på McConkey agar var til sammenligning på 0,044. Der var signifikant forskel på reduktion i forhold til baseline i alle prøverunder både blodagar og McConkey agar.

Antallet af CFU på luftprøverne på blodagar var højt i forhold til antallet af CFU på McConkey agar. Ligeledes var tallet højt i forhold til de samme prøver udtaget i UVC-bilen.

Tabel 7. Resultater af luftprøver udtaget med BC 100 i HEPA-bilen. I hver af de fire forsøgsrunder blev lavet fem målinger på blodagar og fem målinger på McConkey agar. Der blev samlet 200 L luft på hver plade.

Luftdesinfektion		Blodagar		McConkey	
Forfilter	HEPA Filter	Gennemsnit/CFU (min-max)	Relativ reduktion (KI)	Gennemsnit /CFU (min-max)	Relativ reduktion (KI).
Ja	Ja	185 (103-218)	0,523 (0,437-0,626)***	1 (0-1)	0,044 (0,013-0,152)***
Nej	Ja	254 (238-274)	0,719 (0,603-0,858)***	2 (1-3)	0,080 (0,027-0,231)***
Ja	Nej	332 (294-356)	0,939 (0,789-1,117)*	8 (2-12)	0,372 (0,157-0,878)*
Nej	Nej	354 (306-390)	1	23 (11-57)	1

Signifikans-niveau på forskel mellem baseline og kombinationen: ***<0,001, **<0,01, *0,05

Den relative reduktion er større for HEPA-filter alene end for forfilter alene. Dette gælder for både målinger lavet på blodagar og på McConkey agar. Der er signifikant forskel på den relative reduktion i forsøgsrunderne sammenlignet med baseline.

Resultater for UVC-lastbilen

Baseline niveauet på UVC-bilen var væsentligt lavere end for HEPA-filter bilen, både på luftprøverne og på nedfaldsprøverne. Det bekræfter antagelsen om, at bilerne skal betragtes som to separate enheder. Som en følge af det lavere baseline niveau, vil niveauet af relative reduktion være lavere.

Der er mange både blod- og McConkey agar hvorpå der ikke var vækst. Der gav problemer med konvergens for den statistiske model for UVC-bilen. Dette problem blev løst ved, at erstatte alle målinger med værdien 0 med et 1-tal. Dette betyder at den relative reduktion ser endnu mindre ud end den egentlig burde være.

Resultater af nedfaldsprøver i UVC-bilen er sammenfattet i tabel 8 og luftprøver kan findes i tabel 9.

Den relative reduktion på den komplette bil med både forfilter og fungerende UVC-lys er på 0,048, og 0,050 beregnet ud fra nedfaldsprøverne eksponeret i hhv. 5 min. og 10 min. Den relative reduktion ved UVC-lys alene er på 0,086 efter 5 min. og 0,050 efter 10 min. Dette er en større reduktion end med forfilter alene. Her sås en relativ reduktion på 0,105 efter 5 min. og 0,178 efter 10 min. Der var signifikant forskel på den relative reduktion for alle forsøgsrunder sammenlignet med baseline.

Tabel 8. Resultater af nedfaldsprøver fra UVC-bilen. Prøverne er alle lavet på blodagar der har været eksponeret for ind sugningsluften i hhv. 5 og 10 min.

		5 min		10 min	
Forfilter	UVC	Gennemsnit CFU (min-max)	Relativ reduktion (KI)	Gennemsnit (min-max)	Relativ reduktion (KI)
Ja	Ja	0	0,048 (0,016-0,143)***	0	0,050 (0,017-0,145)***
Nej	Ja	1 (0-4)	0,086 (0,035-0,211)***	0	0,050 (0,017-0,145)***
Ja	Nej	2 (1-4)	0,105 (0,045-0,245)***	4 (1-6)	0,178 (0,087-0,363)***
Nej	Nej	21 (8-32)	1	20 (10-34)	1

Signifikans-niveau på forskel mellem baseline og kombinationen: ***<0,001, **<0,01, *0,05

I tabel 9 fremgår det, at den relative reduktion er større ved påvirkning af UVC-lys alene end ved forfilter alene både for prøver udtaget på blod- og McConkey agar. Den største reduktion fås dog når UVC-bilen er komplet med både forfilter og UVC-lys. Resultaterne fra alle forsøgsrunder viste sig, at være signifikant forskellig fra baseline med $P < 0,001$.

Tabel 9. Resultater af luftprøver udtaget med BC 100 fra UVC-bilen. I hver af de fire forsøgsrunder blev lavet fem målinger på blodagar og fem målinger på McConkey agar. Der blev samlet 200 L luft på hver plade.

		Blodagar		McConkey	
Forfilter	UVC	Gennemsnit CFU (min-max)	Relativ reduktion (KI)	Gennemsnit CFU (min-max)	Relativ reduktion (KI)
Ja	Ja	0	0,004*** (0,001-0,009)	0	0,161 (0,053-0,489)**
Nej	Ja	6 (2-9)	0,020*** (0,013-0,030)	0	0,161 (0,053-0,489)**
Ja	Nej	254 (242-270)	0,918*** (0,845-0,996)	0	0,161 (0,053-0,489)**
Nej	Nej	277 (266-294)	1	6 (3-12)	1

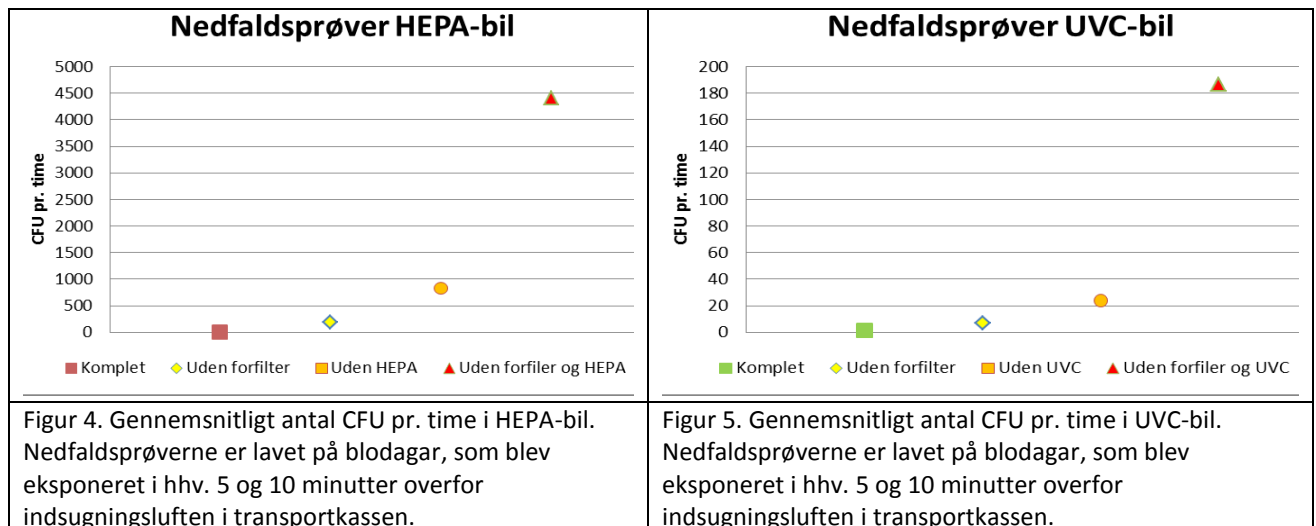
Signifikans-niveau på forskel mellem baseline og kombinationen: ***<0,001, **<0,01, *0,05

Sammenligning af resultater for HEPA-bilen og UVC-bilen

Effektparameteren er som udgangspunkt forskellig for de to biler, hvilket afspejler sig i forskel i baseline. Der er derfor ikke foretaget en direkte statistisk sammenligning mellem de to biler. Nedenfor på figur 4 og 5 viser til sammenligning en beregning af gennemsnitlige antal CFU pr. plade pr. time for HEPA-bilen og UVC-bilen.

Der ikke er formelt testet for signifikant forskel mellem effekten i UVC-bilen og i HEPA-bilen på nedfaldsprøverne. Alligevel kan det udledes, at reduktionen i UVC-bilen er signifikant højere, da konfidens-intervallerne ikke overlapper målingerne, hvor der både er forfilter og HEPA-filter/UVC-lys på.

For at vise forskellen på niveauet af bakterier i luften inde i transportkassen i de to biler er figur 4 og fem lavet. Disse viser nedfaldsprøverne opgjort som CFU pr. time for de fire forsøgsrunder. Figur 4 viser resultaterne for nedfaldsprøverne på HEPA-bilen, mens figur 5 viser resultaterne for UVC-bilen.



Umiddelbart ser det ud til, at reduktionen er størst på HEPA-bilen, men det er sandsynligvis et artefakt. Det skyldes, at udgangsniveauet var højere på HEPA-bilen, og at det var nødvendigt at ændre 0-værdierne til 1-taller på UVC-bilen. Disse prøver kan derfor ikke vise, at der er forskel på de to biler.

5 Diskussion

Forsøgssetup i denne eksperimentelle undersøgelse giver ikke mulighed for at lave en direkte sammenligning af effekten, af luftdesinfektionssystemet på de to lastbiler, som indgår i undersøgelsen. Der er for mange forskelle på bilerne, som ikke kan kontrolleres, estimeres eller måles. Hvis man ønsker at lave en sammenligning af de to luftdesinfektionssystemer, bør dette udføres i et miljø, hvor man kan kontrollere de faktorer, som påvirker luftdesinfektionssystemernes effekt, heriblandt luftgennemstrømningen, luftfugtighed og temperatur. I den forsøgsopstilling som vi har arbejdet med, kan vi derimod beregne den relative reduktion i hhv. lastbilen med HEPA-filter og lastbilen med UVC-lys.

Hvis man ved fremtidige eksperimenter ønsker at øge styrken i forsøgsdesignet, kan man lave et cross-over design i stedet for et parallelt design, som her. Et cross-over design kan laves ved at tage én prøve i hver af forsøgsrunderne, og gentage forsøgsrunderne i vilkårlig rækkefølge, indtil det ønskede antal prøver er opnået. Det fravalgte vi i vores eksperiment, da det ville kræve, at bilerne blev rengjort og desinficeret mellem hver prøveudtagning, for at undgå overslæb af bakterier fra den ene prøveopsamlingsrunde til den næste. Vi har taget højde for, at der ikke er lavet cross-over design, og har i opgørelsen indsat en effekt for forsøgsrunde, idet målingerne ikke kan betragtes som uafhængige.

Eksperimentets resultater har givet anledning til flere overvejelser omkring undersøgelsesmetoden. Disse kan med fordel klarlægges, hvis man ønsker at opstille lignende eksperimenter eller at gentage dette eksperiment.

Dyrkningsmetoden er en af de ting, som har givet anledning til overvejelser. Udgangspunktet for protokollen var, at udtage alle prøver fra transportkassen med luftopsamleren BC 100 på McConkey agar. Indledende undersøgelser viste dog, at antallet af CFU pr. plade på McConkey agar var

utilstrækkeligt til at konkludere, om der var en forskel på bilerne. Årsagen til hvorfor bakterierne ikke ville vokse er ikke afklaret. Men efterfølgende blev der ændret på forsøgsopstillingen således at:

- Vi undlod at tilsætte rifampicin i bouillon, hvori *E. coli* bakterier blev opformeret. Det var for at give bedre vækstforhold for bakterien.
- Vi skiftede til en anden type McConkey agar, som ikke indeholdt samme mængde inhibitoriske stoffer. Dermed bliver pladen mindre selektiv for *E. coli* med risiko for at der vokser andre bakterier frem. Bakterier fra pladerne er blevet tydet, for at sikre, at sikre at det var *E. coli* stammen, som er vokset frem.

Efterfølgende kan vi, trods disse ændringer, se at der er færre CFU på McConkey agar end der var på blodagar. Det er muligt, at den *E. coli* stamme stadig har svært ved at vokse på denne agar. Under forsøget blev der dog udtaget en prøve lige over nebulizeren på en McConkey agar. På denne plade blev der konstateret tæppevækst.

En alternativ mulighed er, at *E. coli* bakterierne svækkes når den skal bevæge sig gennem luften og ind i transportkasserne, måske sfa. udtørring, temperaturpåvirkning eller trykforskelle. Fysiske forhold omkring selve opsamlingen kan også være en medvirkende årsag. McConkey agar blev anvendt i BC 100 luftopsamleren. Her kan det være at McConkey agaren har en mere fast overflade eller anden højde, og at dette kan være en medvirkende årsag. Hvis agaren er meget fast, kan bakterier have svært ved at klæbe til overfladen. Hvis McConkey agaren har en anden højde end blodagaren, kan aerodynamiske forhold ændre bakteriernes bevægelse i luftsamleren. Derved kan man ikke regne med, at resultatet nødvendigvis er de samme på de to plader.

En tredje mulighed er, at bakterier ikke vokser frem med samme hastighed på typer agar. I andre forsøg har det vist sig at bakterier, som vokser langsomt ikke vil være tydelige. Derfor er der generelt en risiko for at bakterieantallet underestimeres, hvilket er en fejlkilde (Stärk, 1999).

At base-line niveauet på UVC-bilen er lavere end base-line niveauet på HEPA-bilen er tydeligt, og desværre ikke umiddelbart til at forklare. UVC-bilen er arealmæssigt større, og vil derfor suge mere luft ind i transportkassen. Vi forventer, at koncentrationen af bakterier i luften er stabil, og at forskellen i arealet alene betyder noget for indsugningsmængde. Trykket forventes dog, at være forskelligt i de to biler, da ventilationssystemerne er forskellige, og da HEPA-bilen er indrettet således, at overskydende luft presses ud af transportkassen. Derimod er UVC-bilen indrettet med mekaniske ventilatorer, som trækker luften ud af transportkassen. Der er stadig et overtryk inde i transportkassen, men dette er ikke af samme størrelse som i HEPA-bilen.

Et oliefyr sørger for opvarmning af indsugningsluften i UVC-bilen. HEPA-bilen er også udstyret med et oliefyr, men der kan dog være forskellige måder hvorpå de to virker. Derfor kan vi ikke afvise, at forskellen i bakterier i transportkassen kan afhænge af denne opvarmning.

Ved bestråling med UVC kan man ikke regne med at antallet af CFU svarer til antallet af levende bakterier. Der kan opstå celle skader, som resulterer i, at bakterien ikke kan dyrkes ved konventionelle metoder, men bakterien er dog stadig levende og metabolisk aktive med respiratoriske processer (Pigeot-Rémy *et al*, 2012). Derfor kan dette regnes med, som en potentiel fejlkilde i de forsøgsrunder, hvor UVC-lyset har været tændt.

Når HEPA-filteret fjernes vil der være en mindre luftmodstand for ventilatorerne i HEPA-bilen. Dette kan være en del af årsagen til, at baseline-niveauet er højere i denne bil.

Ligeledes kan vi ikke afvise, at der kan været bakterieoverslæb fra den ene forsøgsrunde til den næste. Denne potentielle fejlkilde vil være fælles for begge biler, men betyder mest i den bil, hvor flest bakterier passerer i luftdesinfektionssystemet.

6 Konklusion

Dette eksperiment blev opstillet for at undersøge effekten af to forskellige luftdesinfektionssystemer på to lastbiler. En lastbil med UVC-lys luftdesinfektionssystem (UVC-bil) og en anden lastbil med HEPA-filtre (HEPA-bil). Eksperimentet giver ikke mulighed for, at adskille effekten af bilen fra effekten af filteret.

Eksperimentet viste, at der var signifikant forskel på de fire prøverunder på begge biler uanset hvilken prøveopsamlingsmetode, der blev benyttet. De fire prøverunder var: en med komplet luftdesinfektionssystem på begge biler; en hvor forfiltrene er fjernet fra begge luftdesinfektionssystemer; en hvor HEPA-filtrene er fjernet hhv. UVC-lyset er slukket, men med forfiltrene installeret i begge; hvor både forfiltre er fjernet og HEPA-filtre hhv. UVC-lyset er slukket. Sidstnævnte prøverunde bruges som baseline-niveau.

På luftmålingerne var der en større relativ reduktion i antallet af CFU på blodagar i UVC-bilen sammenlignet med HEPA-bilen. Ved sammenligning af baseline med komplette biler med forfilter og hhv. HEPA-filter eller UVC-lys blev der beregnet en relativ reduktion på HEPA-bilen på 0,523 og en relativ reduktion på 0,004 på UVC-bilen.

Ved de tre andre luftmålingsmetoder sås det modsatte: en større relativ reduktion på HEPA-bilen sammenlignet med UVC-bilen. Dette er dog i alle tre tilfælde et artefakt. Artefaktet er opstået, fordi der var flere agarplader fra UVC-bilen hvorpå der ikke var vækst. Manglende vækst på pladerne indgår i modellen med værdien 1 og ikke 0. Grundet den lave baselineværdi og ændringen af 0 værdier til 1 vil den relative reduktion i UVC-bilen fremstå som lavere.

Den relative reduktion på HEPA-bilen beregnes til 0,044 ved sammenligning af baseline med komplette biler med forfilter og HEPA-filtre, når målingerne blev lavet på 200 L luft på McConkey agar. Sammenlignes de samme prøverunder, baseline med komplet bil, findes den relative reduktion til 0,003 og 0,006 på nedfaldsprøver eksponeret for luften i transportkassen i hhv. 5 min. og 10 min. Sammenlignes antallet af CFU ved baseline med antallet af CFU på komplet bil med forfilter og UVC-lys tændt blev den relative reduktion beregnet til 0,161 når målingen blev lavet på 200 L luft på McConkey agar. Reduktionen i antallet af CFU på nedfaldsprøverne ved sammenligning af baseline med komplet bil blev beregnet til 0,048 og 0,050 efter hhv. 5 min og 10 min.

Udtages luftprøver med BC 100 kan resultaterne lettere reproduceres, da en forudbestemt luftmængde kan opsamles. Vi må dog, på baggrund af resultaterne fra denne caseundersøgelse, fraråde at anvende McConkey agar til at lave målingerne på. Dette skyldes af antallet af CFU på McConkey agar ved mange målinger lå på 0. Årsagen til at bakterierne ikke voksede på denne type agar er uafklaret.

Målinger på blodagar som eksponeres for luften inde i transportkassen kan være svære at reproducere da aerodynamiske forhold i bilerne er afgørende for hvor meget luft pladerne eksponeres for.

7 Perspektivering

Eksperimenter af denne type som vi har lavet, hvor to biler udvælges til eksperimentet kan betragtes som cases. I vores tilfælde har vi opnået en stor mængde ny viden, både om HEPA-bilens funktion og effektivitet og tilsvarende for UVC-bilen.

Normalt vil man gentage casestudier for at kunne generaliserer og uddrage almen gyldig viden.

En undersøgelse af et repræsentativt udsnit af lastbiler besværliggøres af at HEPA-bilerne langt fra er indrettet ens. Alternativt kan man arbejde med eksemplariske, ekstreme eller kritiske casestudier. Det kunne eksempelvis være interessant at se på spredning i effekten af luftdesinfektionssystemerne på bilerne. Til det formål kunne man udvælge en eksemplarisk bil til at indgå i eksperimentet og gentage eksperimentet med en anden bil der ligger i den modsatte ende at spektret.

Formålet med dette eksperiment var at styrke SPF-Sundhedsstyringens i vurdering af anvendelsen af UVC-lys som desinfektion. Til grund for denne vurdering vil blandt andet ligge teoretisk viden, praktiske erfaring omkring luftrensningen på bilerne foruden resultaterne fra dette eksperiment. Vurderingen er relevant fordi UVC-lys måske er brugbart i situationer hvor kemiske desinfektionsmidler, filtre eller karantæneperiode ikke kan give en optimal løsning.

8 Litteratur

Alban, L., Toft, N., 2006. Vurdering af effekt af filtre på SPF-transportvogne. Risikoanalysegruppen. Danish Meat Association. November 2007

Anonym, 2006. Bekendtgørelse om beskyttelse af dyr under transport. Justitsministeriet. Bekendtgørelse nr. 1729 af 21/12/2006

Benfield, D.A., Collins, J.E., Dee, S.A., Halbur, P.G., Joo, H.S., Lager, K.M., Mengeling, W.L., Murtaugh, M.P., Rossow, K.D., Stevenson, G.W., Zimmerman, J.J., 1999. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome. I Diseases of Swine. Iowa State University Press, Ames, Iowa. ISBN 0-8138-0338-1, p. 201-232

Brugerhåndbogen 2009, DTU, Veterinærinstituttet

Cho, J.G., Dee, S.A., Trincado, C., Fano, E., Jiang, Y., Faaberg, K., Murtaugh, M.P., Guedes, A., Collins, J.E., Joo, H.S., 2006. The impact of animal age, bacterial coinfection, and isolate pathogenicity on the shedding of *Porcine reproductive and respiratory syndrome virus* in aerosols from experimentally infected pigs. The Canadian Journal of Veterinary Research, 70 p. 297-301

Dee, S.A., Batista, L., Deen, J., Pijoan, C., 2006. Evaluation of systems for reducing the transmission of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus by aerosol. The Canadian Journal of Veterinary Research, 70(1), p. 28-33

Cutler, T.D., 2011. Inaktivtion of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. Graduate These and Dissertations. Paper 11905. Online
<http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2923&context=edu>

Cutler, T.D., Wang, C., Hoff, S.J., Zimmerman, J.J., 2012. Effect of temperature and relative humidity on ultraviolet (UV254) inactivation of airborne porcine respiratory and reproductive syndrome virus. Veterinary Microbiology, 159 (1-2), p. 47-52

Fuglsang, K., 2013. Industrielle partikelfiltres effekt overfor ultrafine partikler. Projektrapport, Innovationsnetværk for miljøteknologi. Styrelsen for Forskning og Innovation. Online: <http://inno-mt.dk/media/41735/technology%20outlook%20-%20ultrafine%20partikler.pdf>

Hermann, J.R., Brockmeier, S.L., Yoon, K.J., Zimmerman, J.J., 2008. Detection of respiratory pathogens in air samples from acutely infected pigs. The Canadian Journal of Veterinary Research, 72, p. 367-370

Hiatt, C.W., 1964. Kinetics of the inactivation of viruses. Bacteriological Reviews 28, p. 150-163

Jacobsen, M.J., Nielsen, J.P., Nielsen, R., 1996. Comparison of virulens of different *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes and biotypes using an aerosol infection model. Veterinary Microbiology, 49, p. 159-168

Kowalski, W., 2009. Ultraviolet Germicidal Irradiation Handbook: UVGI for Air and Surface Disinfection. Springer Inc. New York, New York. ISBN 978-3-642-01998-2

Kristensen, C.S., Angen, Ø., Andreasen, M., Takai, H., Nielsen, J.P., Jorsal, S.E., 2004. Demonstration of airborne transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 between simulated pig units located at close range. *Veterinary Microbiology* 98 (3-4), p. 243-249

Lee, B., Bahnfleth, W.P., 2013. Effects of installation location on performance and economics of in-duct ultraviolet germicidal irradiation systems for air disinfection. *Building and Environment*, 67 (9-2013) p. 193-201

Martin Jr., Stephen, B., Dunn, C., Freihaut, J.D., Bahnfleth, W.P., Lau, J., Nedeljkovic-Davidovic, A., 2008. Ultraviolet Germicidal Irradiation, Current Best Practices. *ASHRAE Journal*, p. 28-36.

McDevitt, J.J., Rudnick, S.N., Radonovich, L.J., 2012. Aerosol Susceptibility of Influenza Virus to UV-C Light. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(6), p. 1666-1669

Mortensen, S., Stryhn, H., Søgaard, R., Boklund, A., Stärk, K.D., Christensen, J., Willeberg, P., 2002. Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Prev. Vet. Med.* 53, p. 83-101

Stärk, K.D.C., 1999. The role of infectious aerosols in disease transmission in pigs. *Vet. J.* 158, p. 164-181

Pigeot-Rémy, S., Simonet, F., Atlan, D., Lazzaroni, J.C., Guillard, C., 2012. Bactericidal efficiency and mode of action: A comparative study of photochemistry and photocatalysis. *Water Research* 46, p. 3208-3218

Thomson, C.M.A, Chanter, N., Wathes, C.M., (1992) Survival of Toxigenic *Pasteurella multocida* in Aerosols and Aqueous Liquids. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (3) p. 932-936

Taylor, D.J., 1999a. *Actinobacillus pleuropneumoniae*. I *Diseases of Swine*. Iowa State University Press, Ames, Iowa. ISBN 0-8138-0338-1, p. 343-354

Taylor, D.J., 1999a. *Mycoplasma* infections. I *Pig diseases*. St Edmundsbury Pres Ltd, Suffolk, Great Britain. ISBN 0-9506932-6, p. 180-190

9 Bilag

Bilag 1. Klassifikation af filtre jf. EN 1822

This new European standard is based on particle counting methods that actually cover most needs for different applications. EN 1822:2009 differs from its previous edition (EN 1822:1998) by including the following:

- An alternative method for leakage testing of Group H filters with shapes other than panels
 - An alternative test method for using a solid, instead of a liquid, test aerosol
 - A method for testing and classifying of filters made out of membrane-type media
 - A method for testing and classifying filters made out of synthetic fibre media
- The main difference is related to the classification for the filter classes H10 - H12, which has now been changed to E10 - E12.

The following table shows the various classifications of high-efficiency filters per EN 1822:

Filter Class	Integral Value		Local Value	
	Collection Efficiency %	Penetration %	Collection Efficiency %	Penetration %
E10	85	15	-	-
E11	95	5	-	-
E12	99,5	0,5	-	-
H13	99,95	0,05	99,75	0,25
H14	99,995	0,005	99,975	0,025
U15	99,9995	0,0005	99,9975	0,0025
U16	99,99995	0,00005	99,99975	0,00025
U17	99,999995	0,000005	99,9999	0,0001

The filter class description are:

- EPA 10 - EPA 12: Efficiency Particulate Air Filters
- HEPA 13 - HEPA 14: High Efficiency Particulate Air Filters
- ULPA 15 - ULPA 17: Ultra Low Penetration Air Filters

Testing

Testing per EN 1822 is normally done with an aerosol probe which can be moved over the entire surface of the filter. This moving of the aerosol probe, or scanning, results in the measurement of many local collection efficiencies. These local efficiencies can be used to calculate the overall efficiency of the filter or the leak rate of a specific area of the filter. The overall efficiency calculation is often termed the integral value, while the leak rate is often termed the local value.

Tests are performed on new filters at specified nominal volumetric air flow. Filters of U15 or above must be scanned with a particle counter probe designed for this purpose. An oil thread test can be utilized on filters of H13 and H14 classification.

Filter testing includes the following measurement:

- Pressure drop at nominal air flow
- Overall collection efficiency at most penetrating particle size (MPPS)
- Local collection efficiencies at MPPS
- No leaks above H13 as specified in the table above

Camfil manufactures Megalam (HEPA/ULPA) filters to the most stringent industry and/or customer standards. We also test raw material components for outgassing e.g. organophosphates from PU sealants. Solid latex spheres or silica are normally chosen as test aerosols for the microelectronic industry due to their low outgassing properties. Camfil has a policy of continuous improvement as a

means of ensuring our leadership position in the high-efficiency filtration marketplace. We maintain extensive joint R&D programmes with our key suppliers to develop and test next-generation filtration media. Such efforts allow us to provide the highest performing filtration products to meet the demands of emerging technologies.

Camfil was the first to provide U17 grade ULPA filters utilizing low boron media. We also manufacture e-PTFE filters in grades U15 and higher.

<https://www.camfil.com/Filter-technology/Specifications-and-Regulations/EN-1822/>

Bilag 2 Beskrivelse af forsøgsprocedure

Undersøgelsen gennemføres på en dag, hvor alle fire senarier køres efter hinanden. På prøvedagen laves følgende:

Dagen før forsøget skal gennemføres skal *E. coli* opløsningen med den rifampicin-resistente *E.coli* stamme opformeres i kultur.

På forsøgsdagen skal *E. coli* opløsningen, som skal bruges til forsøget fortyndes, så den har en koncentration på 1×10^6 - 1×10^{10} CFU/ml. Der skal laves i alt 12 L coliopløsning til nebulizeren.

Forsøgsopstilling sættes op. Lastbilerne parkeres parallelt i garagen med en afstand på omkring 1,5 m. således at ventilationsindsugningerne på de to biler er placeret præcist overfor hinanden. På en truck placeres en plade, hvorpå forsøgsopstillingen samles. Pallen hæves således at den står lige ud for indsugningen på begge lastbiler.

Forsøgsopstilling samles som vist på figur 6. En slange fra stamopløsningen af *E.coli* bakterier leder opløsningen over i et filtercontainer, hvorfra filteret er fjernet. Herfra ledes opløsningen videre op til nebulizeren. Luft fra en mindre kompressor ledes ligeledes gennem slanger til nebulizeren. Denne luft driver forstøvningen.

Der er indsat to trykmålere i forsøgsopstillingen, en mellem filter med *E.coli* opløsning og nebulizer og en mellem kompressor og nebulizer. Dette muliggør en overvågning af trykudvikling under forsøgets gennemførelse.

Nebulizeren placeres midt mellem filtrene på de to biler. Den præcise placering udmåles, hvorefter den sættes fast med strips.

Der bliver kørt fire forsøgsrunder jf. tabel 4 side 19.

Beskrivelse af forsøgsrunde

Inden forsøgsrunden påbegyndes desinficeres luftsamleren BC 100 med sprit.

Personer med prøveudstyr og agar mv. sættes ind i b, som lukkes. Ventilationsanlæg startes på begge vogne.

E.coli stamopløsningen omrøres.

Nebulizer startes og kører i 4-5 min.

En sms sendes til personer inde i begge vogne om at påbegynde prøvetagning. Denne bekræftes af modetager.

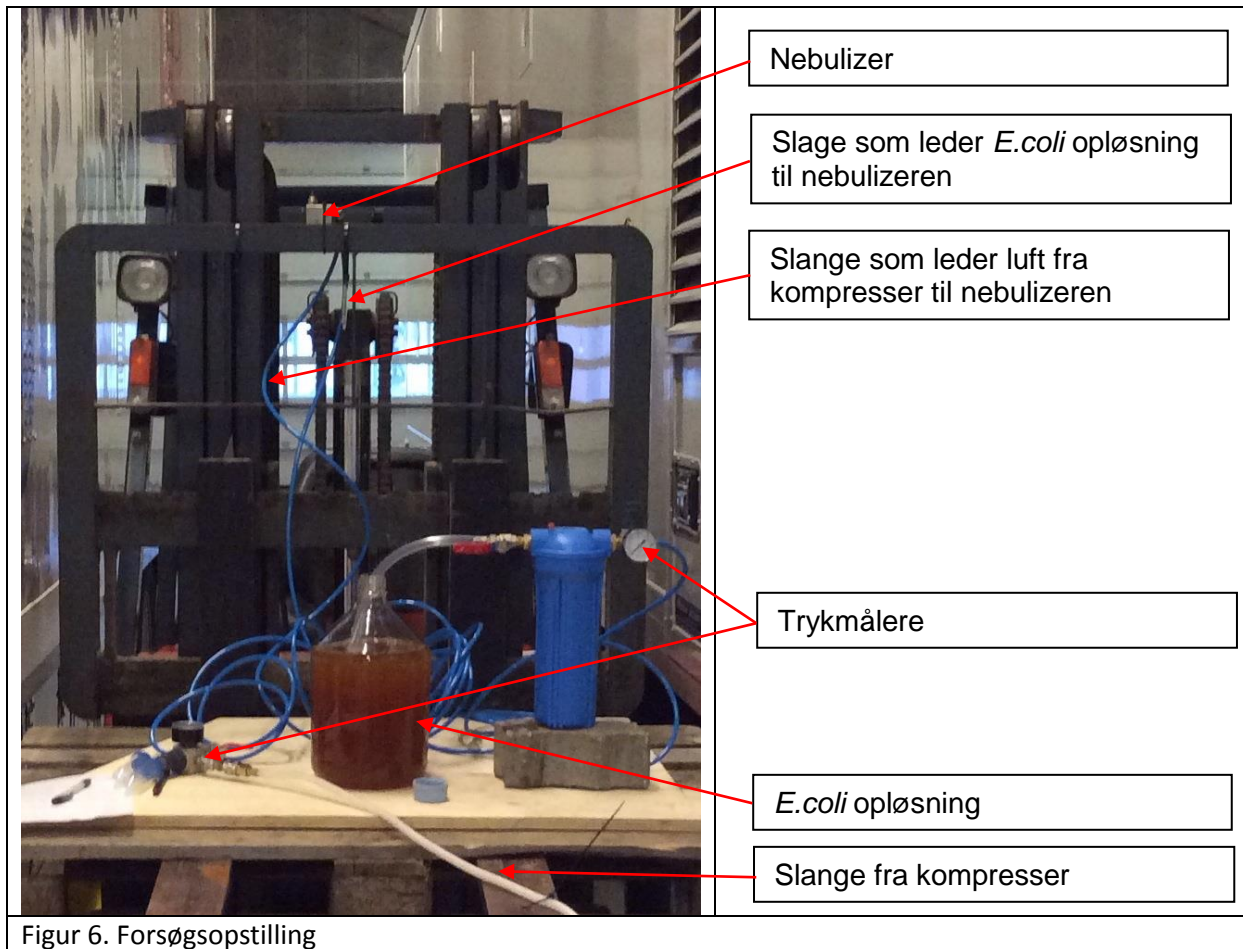
Prøveopsamling. Der opsamles 200 L luft på fem blodagar og fem McConkey agar. 10 blodagar plader sættes på gulvet hvoraf fem plader eksponeres for indsugningsluft i 5 minutter og eksponeres i 10 min. En blodagar anvendes ved hvert forsøg som negativ kontrol, idet denne håndteres på samme måde som øvrige plader. Den negative kontrol anvendes dog ikke til sampling.

Når prøvetagningen gennemført sender personerne i vognene en sms retur, som angiver at prøvetagningen er færdiggjort.

Nebulizer stoppes. Garagen gennemluftes.

Ventilationen stoppes. Vogne åbnes. Personer inkl. opsamlede prøver tages ud af bilerne.

Herefter fjernes eller installeres filtre, så der er klar til næste testrunde.



Figur 6. Forsøgsopstilling

Forsøgsopstillingen samles som vist på billedet på figur 6 ovenfor.

Forsøgsrunderne i følgende rækkefølge:

1. Komplete lastbiler med forfiltre og hhv. HEPA filter eller UVC-lys.
2. Ingen forfiltre, hhv. HEPA filter installeret og UVC –lys tændt
3. Forfiltre sættes i begge lastbiler, HEPA filter afinstalleres og UVC –lys slukkes
4. Ingen forfiltre hhv. HEPA filter fjernet og UVC-lys slukkes

Efter alle forsøgsrunder er gennemført

Filtre geninstalleres i lastbilerne

Alle agarplader og andre prøver opsamlet I løbet af dagen køres til Svinelaboratoriet I Kjellerup.

Vogne og garage desinficeres med glutaraldehyd