



Det här verket har digitaliserats vid Göteborgs universitetsbibliotek och är fritt att använda. Alla tryckta texter är OCR-tolkade till maskinläsbar text. Det betyder att du kan söka och kopiera texten från dokumentet. Vissa äldre dokument med dåligt tryck kan vara svåra att OCR-tolka korrekt vilket medför att den OCR-tolkade texten kan innehålla fel och därför bör man visuellt jämföra med verkets bilder för att avgöra vad som är riktigt.

This work has been digitized at Gothenburg University Library and is free to use. All printed texts have been OCR-processed and converted to machine readable text. This means that you can search and copy text from the document. Some early printed books are hard to OCR-process correctly and the text may contain errors, so one should always visually compare it with the images to determine what is correct.



REGINE SZEWZYK
THOR AXEL STENSTRÖM

Kartläggning av förekomsten av *legionella* i svenska vattensystem

R9: 1993

LUNDS TEKNISKA HÖGSKOLA
VÄG- OCH VATTENBYGGNAD
BIBLIOTEKET

R9:1993

**KARTLÄGGNING AV FÖREKOMSTEN AV
LEGIONELLA I SVENSKA
VATTENSYSTEM**

**Regine Szewzyk
Thor Axel Stenström**

Denna rapport hänför sig till forskningsanslag 910781-2 från Byggforskningsrådet till Statens Bakteriologiska Laboratorium, Stockholm.

REFERAT

Projektets målsättning är att kartera förekomsten av *Legionella* i vattensystem och inomhusinstallationer i utvalda svenska kommuner, samt relatera förekomsten till typ av råvatten, vattenbehandling, vattnets kemiska sammansättning, material i ledningar och armatur, temperatur och typ och utförande av varmvattenberedare. Kliniska uppföljningar omfattas inte av projektramen. Undersökningen avser bilda ett underlag för Boverkets ställningstagande gällande varmvattentemperaturer i fastigheter, samt bilda bas för provtagnings- och metodanvisningar, och allmänt öka kunskapen om *Legionellas* förekomst i svenska vattensystem.

Under 1992 har provtagning skett i 13 kommuner, med totalt knappt 1000 analyserade prover. *Legionella pneumophila* återfanns i 15% av proven. Andra *Legionella* arter återfanns inte. I kallvattnet var frekvens positiva prover lägre (4%) än i varmvatten (25%), liksom halterna *Legionella*. Vattensystem försörjda från konstgjord infiltration gav den lägsta fyndfrekvensen; yt- och blandvatten gav en något högre. En tillväxt i det allmänna vattenledningsnätet kunde inte konstateras, inte heller någon direkt korrelation till vattnets sammansättning eller vattenbehandlingen på vattenverken.

Inom fastigheter ökade frekvensen *Legionella*-positiva prover med varmvattensystemets komplexitet, där en- och flerfamiljsfastigheter hade lägst antal positiva prover (7 resp 8%). *Legionella* påvisades i alla varmvattenberedare med utgående temperatur under 50 °C; i alla stora varmvattenberedare (≥1000 l) utan cirkulation, oberoende av utgående temperatur, och i efterföljande ledningsnät om temperaturen låg under 50 °C, även om temperaturen i beredaren var 60 °C. Dessutom utgör blandtankar efter beredaren en risk om inte lägst 60 °C och en cirkulation kan garanteras. Vissa material i inomhusinstallationer gynnar tillväxten av *Legionella*. Detta gäller bl a vissa duschslangmaterial och packningsmaterial.

Legionella påvisas bäst med konventionell odling. Snabba screeningundersökningar kan göras med monoklonala antiroppar eller PCR-metodik. Totalhalt heterotrofa bakterier kan inte användas som substitutionsparameter.

I Bygghälsningsrådets rapportserie redovisar forskaren sitt anslagsprojekt. Publiceringen innebär inte att rådet tagit ställning till åsikter, slutsatser och resultat.

Denna skrift är tryckt på miljövänligt, oblekt papper.

R9:1993

ISBN 91-540-5518-0
Bygghälsningsrådet, Stockholm

Innehållsförteckning

1. Förord	1
2. Sammanfattning	3
3. Bakgrund	7
3.1. Taxonomi	7
3.2. Epidemiologisk bakgrund	7
3.2.1. Sjukdomsbilder	8
3.2.2. Smittkällor och fall	8
3.3. Ekologisk bakgrund	9
3.3.1. Naturliga vattentäkter	9
3.3.2. Tekniska system	9
3.3.2.1. Temperatur	10
3.3.2.2. Material	10
3.3.2.3. Andra parametrar	10
3.4. Desinfektion och saneringsåtgärder	12
3.4.1. Klor	12
3.4.2. Jod	12
3.4.3. UV	12
3.4.4. Ozon	13
3.4.5. Silver/Koppar	13
3.4.6. Kyltornsdesinfektionsmedel	13
3.4.7. Temperaturhöjning	13
4. Detektion av Legionella från miljöprov	14
4.1. Odling	14
4.2. Immunofluorescens	15
4.3. Molekylärbioologiska metoder	15
4.3.1. PCR	15
4.3.2. RNA-sonder	16
5. Projektuppläggning	18
5.1. Målsättning	18
5.2. Utförda undersökningar	18
5.2.1. Projektets uppläggning och planering	18
5.2.2. Urval av vattenverk	19
5.2.3. Kemiska och mikrobiologiska provtagningsparametrar	19
5.2.3.1. Legionella	19
5.2.3.2. Andra bakterier	20
5.2.3.3. Näringsämnen i vattnet	20
5.2.3.4. Kemiska parametrar	20
5.2.4. Tekniska parametrar i fastigheter	21
5.2.5. Tekniska parametrar i sjukhus	21
6. Resultat av projektet	21
6.1. Totalantal bakterier	21
6.1.1. Utgående från vattenverk	21
6.1.2. Kallvatten i ledningsnätet	22
6.1.3. Varmvatten i varmvattenberedare och duschar	22
6.1.4. Epifluorescens	24

6.2.	Legionella.....	24
6.2.1.	Serogrunder.....	26
6.2.2.	Kallvattenprov.....	28
6.2.2.1.	Samband med odlings-positiva varmvattenprov.....	28
6.2.2.2.	Korrelation med vattenprovets temperatur.....	28
6.2.2.3.	Korrelation med årstiden.....	28
6.2.2.4.	Korrelation med typ av råvatten.....	29
6.2.2.5.	Korrelation med avstånd till vattenverk.....	30
6.2.2.6.	Korrelation med klorbehandling i vattenverk.....	30
6.2.3.	Varmvattenprov.....	30
6.2.3.1.	Korrelation med typ av byggnad.....	30
6.2.3.2.	Korrelation med typ av råvatten.....	31
6.2.3.3.	Korrelation med fastighetens byggår.....	32
6.2.3.4.	Korrelation med avstånd till vattenverk.....	33
6.2.3.5.	Korrelation med vattenomsättning.....	33
6.2.3.6.	Korrelation med material i systemet.....	33
6.2.3.7.	Korrelation med kemiska parametrar.....	34
6.2.3.8.	Korrelation med AOC.....	39
6.2.3.9.	Korrelation med andra bakterier.....	39
6.2.3.10.	Samband med fjärrvärme.....	41
6.2.3.11.	Samband med typ av varmvattensystem.....	42
6.2.3.12.	Samband med typ av varmvattensystem-sjukhus och hotell.....	42
6.2.3.12.1.	Enkla förrådsberedare.....	46
6.2.3.12.2.	Enkla genomströmningssystem.....	46
6.2.3.12.3.	Tvåstegiga system.....	46
6.2.3.12.4.	Förrådssystem med blandning.....	47
6.2.3.12.5.	Genomströmningssystem med blandning.....	47
6.2.4.	Pinnprov.....	47
6.2.5.	Omprov.....	47
6.3.	Metodjämförelse.....	48
6.3.1.	Pinnprov.....	48
6.3.2.	Vattenprov.....	48
6.4.	Mykobakterier.....	50
7.	Förslag till provtagning för Legionella från vatten och installationer.....	50
7.1.	Provtagningskärl, Transport.....	50
7.2.	Provtagningsplatser.....	50
7.2.1.	Allmänt.....	50
7.2.2.	Kallvatten.....	51
7.2.3.	Varmvatten.....	51
7.2.4.	Kyltorn.....	51
7.2.5.	Andra system.....	51
8.	Analysmetodik för materialprovningar gällande tillväxt av Legionella.....	52
9.	Diskussion.....	53
9.1.	Förekomst av Legionella i miljön.....	53
9.2.	Legionella i vattenverk och vattenbehandling.....	53
9.3.	Effekt av desinfektion vid vattenverk.....	54
9.4.	Legionella i det allmänna ledningssystemet.....	55
9.5.	Legionella i fastigheter.....	55
9.6.	Arter och serotyper av Legionella.....	57
10.	Litteratur.....	59
	Bilaga 1: Provtagningsanvisning-Vattenundersökning.....	68
	Bilaga 2: Frågeformulär varmvattenundersökning.....	69
	Bilaga 3: Provtagningsanvisning- Vattenundersökning, uppföljning.....	70
	Bilaga 4: Provtagningsanvisning- sjukhus.....	71
	Bilaga 5: Frågeformulär, varmvatten - sjukhus.....	73
	Bilaga 6: Mykobakterier- Preliminära resultat.....	74

1. Förord

I Sverige har tidigare inga systematiska studier gjorts för att kartlägga förekomsten av *Legionella* spp. i olika svenska vattensystem. Denna grupp av bakterier har uppmärksammats internationellt i samband med aerosolsmitta från luftkonditioneringsanläggningar och vattensystem. Sjukdomsfall har förekommit främst hos nedsatta individer på sjukhus, men också bland andra exponerade personer t.ex. på större hotellanläggningar, vid användning av luftfuktare och i bubbelpooler. I Sverige har ett antal sjukdomsfall främst på sjukhus, satts i samband med förekomst av *Legionella* i vattensystem.

Underlag om förekomst och tillväxt av *Legionella* i svenska vattensystem och byggnader har efterfrågats av centrala myndigheter som t.ex. Boverket, som inom sitt ansvarsområde har att tillse att de tekniska installationer som finns i byggnader inte skall gynna tillväxt av potentiellt skadliga mikroorganismer. Detta efterfrågas också av installatörer och VA-branschen. Speciellt har energibesparingskrav lett till olika tekniska lösningar med syfte att sänka varmvattentemperaturen i fastigheter, men som samtidigt gynnar tillväxten av mikroorganismer. Dessutom introduceras olika material, som kan leda till tillväxt av mikroorganismer.

Föreliggande ettåriga intensivstudie har därför initierats av Boverket i samarbete med Vattensektionen vid Statens bakteriologiska laboratorium (SBL), där också studien utförts. Finansiellt stöd för studiens genomförande har erhållits främst av Byggforskningsrådet (BFR), men även från VA-FORSK (Vatten och Avloppsverksföreningen).

Till projektet har en referensgrupp varit knuten, bestående av Bertil Nyström (Huddinge sjukhus), Nina Dawidovitz (BFR), Svend Frederiksen (LTH), Nils Lindblad (VAV), Anders Lindberg (SOS), Ewa Rydén (Boverket) och Håkan Wahren (Livsmedelsverket).

Det praktiska arbetet har letts av PhD Regine Szewzyk (SBL), med laborativ hjälp av laboratorieassistenterna Annette Abrahamsson och Britt-Marie Jörgensen-Burman. Värdefull hjälp med serologisk typning har också erhållits från Birgit Larsson (SBL). I metodutvärdering med PCR har också medverkat Fil Dr Sven Löfdahl och lab. kand. Ingela Blomén. I arbetet gällande förekomst av atypiska mykobakterier har deltagit laborator Gunilla Källenius, Dr Med Sci Sven Hoffner och laboratorieassistent Erik Hoffman.

Vi vill också speciellt tacka alla berörda kommuner och sjukhus för all hjälp och beredvillighet att delta i projektet.

Stockholm, februari 1993

Thor Axel Stenström
Fil Dr, Chefsmikrobiolog
Vatten- och sterilkontrollsektionen
Statens bakteriologisk laboratorium (SBL)

Regine Szewzyk
PhD, Mikrobiolog

2. Sammanfattning

År 1976 insjuknade ca 200 personer i en svår lunginflammation efter att ha deltagit i ett möte på ett hotell i Philadelphia. Efter mer än ett halvår kunde den tidigare okända bakterie som orsakat sjukdomen isoleras. Bakterien kallades *Legionella pneumophila* och hade troligen spritts via hotellets ventilationsanläggning. Härefter har ett stort antal typer av *Legionella pneumophila* isolerats och dessutom ett flertal närbesläktade arter (se vidare 3.1.). Legionellabakterier kan ge upphov till två typer av sjukdomar, Legionärssjukan och Pontiacfeber. Den förra är en kraftig lunginflammation, den senare ger mer influensaliknande symptom. Smittan sker genom inandning av *Legionella*-haltigt vatten (aerosolsmitta), men inte från person till person och inte heller via dricksvatten. Efter 1976 har ett stort antal utbrott ägt rum i flera länder. Många har haft vattenkylda luftkonditioneringssystem som källa men spridning har också i många fall skett via bubbelpooler och via tapp- och duschvatten. I Sverige registreras årligen ca 40 sporadiska fall av konfirmerad Legionärssjuka. Det verkliga antalet tros vara minst 10 gånger högre. Tre större utbrott har inträffat i Sverige och dessutom flera mindre ansamlingar av fall, främst på sjukhus. I flera fall av dessa misstänks vattensystemet vara orsaken (se vidare 3.2.). *Legionella* kan förekomma naturligt i vatten, där den växer i association med andra mikroorganismer. Tillväxten sker huvudsakligen i temperaturintervallet 20-45 °C. Material i installationer kan gynna tillväxten. Kemiska faktorer inverkan på tillväxten har diskuterats (se vidare 3.3). Olika desinfektions- och saneringsåtgärder har tillämpats i varmvattensystem, varav temperaturhöjning är den mest effektiva (se vidare 3.4.). *Legionella* kan detekteras från miljön på olika sätt, dels med odling, dels med mikroskopi och dels med genetiska metoder (se vidare 4.)

Då vi i Sverige inte haft bakgrundsinformation angående den naturliga förekomsten av *Legionella* i svenska vattensystem har man bl a från Boverkets och VAVs sida ansett det angeläget med en karterande undersökning. Målsättningen med projektet är därför att undersöka förekomsten av *Legionella* i utvalda svenska vattensystem och inomhusinstallationer och relatera förekomsten till vattentyp, vattenbehandling, vattentemperatur samt typ av varmvattenberedare och i förekommande fall till material i fastigheter och armatur. Undersökningen syftar därför till att öka kunskapen om *Legionellas* naturliga förekomst i vattensystem. Kliniska uppföljningar ingår inte i projektet. Dessutom syftar undersökningen till att bilda underlag för ställningstaganden gällande varmvattentemperaturer, och i förekommande fall material i fastigheter, samt bilda bas för provtagningar, metoder och eventuella saneringsåtgärder. Provtagningen har under 1992 skett i 13 städer representerande 17 vattenverk. Dessa är valda så att både ytvatten- och grundvattenverk är representerade, samt också skilda vattenrenings- och desinfektionsmetoder. Provtagning har skett vid vattenverken, i ledningsnät och i varmvattensystem av utvalda fastigheter. Fastigheter har valts så att de skall representera både enfamiljshus och större byggnader, speciellt sjukhus. Information har insamlats med avseende på vattenverkens tekniska funktion och teknisk information från fastigheterna, speciellt varmvattensystem och beredare. Utvalda kompletterande mikrobiologiska och kemiska analyser är också utförda (vidare se 5.).

Legionella fanns i totalt 15% av analyserande prover (totalt 940), där förekomsten i varmvatten dominerade (vidare se 6.2.). Inga positiva odlingsfynd fanns i utgående vatten från vattenverken, men *Legionella* fanns i 11 av de 13 analyserade tillhörande ledningssystemen. Halterna varierade från ett fåtal bakterier till över 30.000/100 ml analyserat prov. Av de flertal arter av *Legionella* som förekommer kunde endast *L.pneumophila* påvisas. Fynden av dessa representerade ett flertal olika serogrupper eller serogruppskombinationer, med 3,6 som det vanligaste fyndet. I de fåtal kallvattenprover som var positiva (4%) erhöles en korrelation med stigande kallvattentemperatur. Då *Legionella* fanns i kallvattnet förekom den också vanligen i anslutande varmvatteninstallationer, men i högre halter. En tendens till fler fynd fanns under vår och höst, och fler fynd gjordes i system försörjda med ytvatten och blandvatten än i grundvattensystem. System med konstgjord infiltration gav den lägsta fyndfrekvensen. Klorerade vatten, främst ytvatten, gav en något högre fyndfrekvens (förekomsten diskuteras vidare 9.1.-9.4.).

Legionella påvisades i 25 % av undersökta varmvattenprov (vidare se 6.2.3.). I varmvattnet var fyndfrekvensen högre i stora byggnader som t.ex. sjukhus (57%). Bara ett fåtal positiva prov fanns i en- och flerfamiljshus (7 respektive 8%). En något högre procentandel fanns i äldre fastigheter (byggår före 1900) och fastigheter byggda efter 1969. Ingen korrelation kunde ses med vattenomsättningen i nätet, däremot var halterna högre i installationer inom fastigheterna, som duschar, som användes sällan. Ingen korrelation kunde återfinnas med avstånd till vattenverk eller till material in till fastigheterna. Vattnets pH-värde (inom undersökt intervall 7-9), eller hårdhet 1-10 tyska grader, eller järnhalter mellan 0.01-0.8 mg/l tycktes inte inverka på förekomsten av *Legionella*. Ett något högre antal positiva prov fanns i system försörjda med fjärrvärme. Typen av varmvattenberedare inverkade på förekomsten av *Legionella*. Speciellt i större beredare, där värmeskiktning förekom och i system med låga varmvattentemperaturer (under 50°C) var både fyndfrekvensen och halterna högre. Varmvattentemperaturerna bör därför inte vara lägre än 50°C vid tappställena kombinerat med lägst 60 °C ut från varmvattenberedare. Gällande material i installationer skedde ibland en tillväxt i duscharna. Detta gällde dock inte generellt. Speciellt kan nämnas att tillväxt i många fall skedde på packningar i tappvatteninstallationer, och ibland på de plastslangmaterial som användes i duschar. Förekomsten av *Legionella* i fastigheter diskuteras under 9.5.

I många fall skedde också en generell tillväxt av bakterier i varmvattnet (se vidare 6.1.). Halterna var här högre än i motsvarande kallvattenprov. Medianhalterna i varmvattnet låg på över 1.000 heterotrofa bakterier per ml. Generellt utgör dock detta värde bara en liten del, under 1% av de verkliga halterna bakterier i vattnet (mätt genom avräkning i mikroskop). Ökade totalhalter bakterier korrelerar dock inte med förekomsten av *Legionella*. I undersökningen kunde också visas att atypiska mykobakterier, där den hygieniska signifikansen inte är känd, förekom i över 40% av kallvattenproven och 60% av undersökta varmvattenprov (se 6.4).

Inom projektet har också en utvärdering gjorts av odling med avseende på *Legionella* i förhållande till direktpåvisande med mono- och polyklonala antikroppar, samt med PCR-metodik (se vidare 6.3.). Polyklonala antikroppar lämpar sig inte för detektion av *Legionella* i vattenprover, medan däremot både användning av snabbmetodik som

monoklonala antikroppar och PCR metodik på nuvarande stadium kan komplettera, men inte ersätta odling av *Legionella* från vattenprover.

Konklusioner:

- 1) *Legionella* var allmänt förekommande i undersökta svenska vattensystem
- 2) Bara en art, *Legionella pneumophila*, påvisades.
- 3) I kallvatten: låg andel positiva prov (4%), låga halter av *Legionella* (26 ± 49 cfu/100 ml, högsta värde 200 cfu/100 ml).
- 4) I varmvatten: högre andel positiva prov (25%), högre halter av *Legionella* (1104 ± 3233 cfu/100 ml, högsta värde 30.000 cfu/100 ml).
- 5) Ingen korrelation påvisades mellan antal heterotrofa bakterier (2d eller 7d) och antal *Legionella*. Antalet heterotrofa bakterier kan alltså inte användas som substitutionsparameter för *Legionella*.
- 6) *Legionella* påvisades i både fastigheter som försörjdes med fjärrvärme och fastigheter som hade el- eller oljepanna i ungefär lika utsträckning. En systematiskt undersökning av olika typer av förrådsberedare resp. värmeväxlare och förekomsten av *Legionella* vore önskevärt.
- 7) Förekomsten av *Legionella* var inte korrelerat med:
 - pH
 - hårdhet (tyska grader)
 - järnkonzentration
 - koncentration fritt eller totalt klor
 - avstånd av fastigheten från vattenverk
 - material i servisledningen till fastigheter
 - vattenomsättning i kallvattenledningsnätet
 - val av desinfektionsmedel på vattenverk
- 8) Parameter som påverkade förekomsten av *Legionella* på vattenverkssida:
 - a) typ av råvatten, konstgjord infiltrationDen lägsta procentandelen *Legionella*-positiva prov påvisades i grundvattenverk med konstgjord infiltration.
- 9) Parametrar som påverkade förekomsten av *Legionella* på fastighetssida
 - a) Komplexitet av varmvattensystemDe flesta *Legionella*-positiva varmvattenprov fanns i stora varmvattenkomplex, som på sjukhus (57% positiva prov) och på hotell (3 av 2 positiva), i mindre utsträckning i större kommunala byggnader (13-23%) och bara få positiva prov påvisades i en- och flerfamiljshus (7 resp. 8%).

b) Temperatur i varmvattenberedare

Legionella påvisades i alla varmvattenberedare med utgående temperatur under 50°C.

c) Volym av förrådsberedare

Legionella påvisades i alla stora varmvattenberedare (≥ 1000 l) utan vattencirkulation oberoende av utgående varmvattentemperatur. Detta berodde troligen på termisk skiktning i beredaren med låg temperatur vid botten. Ansamling av utfällningar på botten av de flesta undersökta beredare förstärkte säkert denna effekt.

d) Lågtemperatur i varmvattenledningssystem

Även om temperaturen i beredaren var 60 °C påvisades *Legionella* i duscharna om temperaturen låg under 50 °C.

e) Tvåstegiga uppvärmningssystem eller kallvatteninblandning efter uppvärmning

I alla system som innehöll ett steg där vattnet med temperaturer under 60 °C förvarades i en tank påvisades *Legionella*, även om vattnet värmdes till över 60 °C i sista uppvärmningssteg. Blandtankar efter beredare bör inte användas om inte total omblandning kan garanteras till temperaturer av minst 60°C.

f) Material i inomhusinstallationer

Tillväxt observerades särskild på vissa packningar och några duschslangar. Systematiska undersökningar av materialkomponenter rekommenderas.

Punkter b)-e) undersöktes systematiskt bara på sjukhus och ett hotell.

9) Snabba screeningundersökningar kan göras med monoklonala antikroppar och PCR-metodik. Dessa kan dock inte ersätta en odling av *Legionella* för närvarande.

10) Generell odling av *Legionella* ifrån vatten rekommenderas inte beroende av bakteriens lokala förekomst i fastigheter och vid tappställen. Provtagningen är dock motiverad vid utvärdering av olika tekniska system och i utbrottsammanhang.

3. Bakgrund

3.1. Taxonomi

Legionellabakterier är Gram-negativa stavar, 0,3-0,9 μm i diameter och 2-3 μm långa. De förekommer under vissa miljöbetingelser som långa filament med en längd av upp till 20 μm . Hittills har över 30 arter med ca. 50 serotyper beskrivits (se t. ex. Brenner et al., 1985, Bercovier et al., 1986, Benson et al., 1991, Thacker et al., 1992, Verma et al., 1992). Den mest vanliga arten är *Legionella pneumophila*. Alla Legionellaarter är släkt med varandra på gennivå och hör till γ -gruppen av proteobakterierna (bestämt med RNA-sekvensering, Fry et al., 1991). Alla Legionellaarter är potentiellt patogena i djurexperiment, men man har hittills bara satt 16 arter i samband med sjukdom hos människa. De mest kända är *Legionella pneumophila* serogrupp 1, *L. micdadei*, *L. bozemanii* och *L. longbeachae*.

För att undergruppera *Legionella pneumophila* serogrupp 1 har man sammanställt en internationell panel av 8 olika monoklonala antikroppar (Joly et al., 1986). Med hjälp av dessa får man olika serosubtyper som heter Olga, Pontiac, Bellingham etc. Subtypen Pontiac hittar man oftare i sjukdomssammanhang, än Olga och Bellingham (Watkins et al., 1980, Struelens et al., 1992).

Andra metoder för att differentiera och identifiera olika Legionellaarter inkluderar analys av fettsyremönster, ubiquinoner och proteiner (Ehret et al., 1987, Nalik et al., 1992). Serogrupperingen, och de andra ovan nämnda metoderna, baseras på ytstrukturer hos *Legionella*. Man kan också göra en uppdelning på gennivå med nyare molekylärbiologiska metoder (Bender et al., 1990, Saunders et al., 1990, Harrison et al., 1990, Ott et al., 1991). Metoderna baseras på en systematisk uppdelning av hela *Legionella*-DNA. DNA-bitarna separeras på en gel med olika metoder och jämförs antingen direkt eller efter hybridisering med kända DNA- eller RNA-bitar som är markerade med färg eller radioaktivt. Resultaten av dessa metoder visar att Legionellabakterier som tillhör olika serogrupper kan vara lika på gennivå (Harrison et al., 1990, Harrison et al., 1992, Saunders et al., 1992) och motsatsen, att olika mönster hittas på gennivå inom en och samma serogrupp (Lück et al., 1991).

3.2. Epidemiologisk bakgrund

År 1976 uppträdde ovanligt många lunginflammationer i Philadelphia. Det visade sig att alla som insjuknat hade bott på ett hotell och deltagit i ett möte med äldre amerikanska krigsveteraner (legionärer). Sammanlagt insjuknade ca. 200 personer och 30 av dessa dog (Fraser et al., 1977). Sjukdomen kallades för "Legionärssjukan". Ingen av de vanliga bakterier som orsakar lunginflammation kunde isoleras från patienterna. Detta ledde till många spekulationer, inklusive sabotage och förgiftning. Det tog ett halvår innan den bakterie som orsakat infektionerna isolerades. Bakterien kallades *Legionella pneumophila*.

Det visade sig att *Legionella* hade mycket speciella näringskrav och därför inte vuxit fram på dittills kända agarmedier.

3.2.1. Sjukdomsbilder

De två mest vanliga sjukdomar som orsakas av Legionellabakterier är Legionärssjukan och Pontiacfeber. Smittan sker genom inandning av *Legionella*-haltigt vatten (aerosolsmitta). Dessa sjukdomar sprids inte mellan människor. Spridning via dricksvatten sker inte heller.

Legionärssjukan är en typ av lunginflammation, med hög feber, frossa, huvudvärk och muskelsmärter, åtföljda av torrhosta, andningssvårigheter och lungsymptom. Inkubationstiden är i regel 3-6, ibland upp till 10 dagar. Dödligheten ligger mellan 5 % och 80 % beroende på känsligheten hos de personer som drabbas och om rätt antibiotikabehandling används direkt. **Legionärssjukan är en anmälningspliktig sjukdom** (se EPID aktuell, Nr. 4 1991 för kriterier som leder till anmälan).

Pontiacfeber liknar en influensa med hög feber. Inkubationstiden är mellan fyra timmar och tre dagar. Inga dödsfall har rapporterats. Symptomen som observerades vid ett utbrott i Lochgoilhead, Scotland var lika men inte identiska med symptomen vid Pontiacfeber. Smittagens var *L. micdadei*. Sjukdomen kallades också Lochgoilheadfeber (Goldberg et al., 1989).

Förutom Legionärssjukan och Pontiacfeber har det i sällsynta fall rapporterats sårinfektioner hos nyopererade patienter som tvättats med kranvatten samt infektioner hos patienter med magsond som fick "dricka" kranvatten (Kilborn et al., 1992, Arnouts et al., 1991).

3.2.2. Smittkällor och fall

Källan för *Legionella* i det första utbrottet av Legionärssjukan 1976 i Philadelphia antas vara luftkonditioneringssystemet på hotellet. Sedan dess har många stora utbrott dels med Legionärssjukan och dels med Pontiacfeber ägt rum i många länder och flera hade kyltorn/luftkonditionering som källa. Ett av de mest uppmärksammade nyare utbrotten ägde rum 1985 på Staffords sjukhuset, England där 101 personer insjuknade och 28 av dem dog. Internationellt sett står bubbelpooler på andra platsen som källa för *Legionella* i utbrottsammanhang. Ett av de största utbrotten ägde rum 1988 i Lochgoilhead, Scotland, där 170 personer insjuknade i Pontiacfeber på grund av en otillräckligt desinficerad bubbelpool. Det första utbrottet där kranvatten misstänktes som smittkälla hände på ett sjukhus in Oxford, England (Tobin et al., 1980). Sedan dess har många, särskilt nosokomiala (på sjukhus), utbrott inträffat med kranvatten som bevisad smittkälla (Wadowsky et al., 1982, Kallings och Kallings, 1983, Halablab et al., 1990, Breiman et al., 1990, Stout et al., 1992). I de flesta sporadiska fall av Legionärssjukan misstänks också duschar som källan (Stout et al., 1991). Andra smittkällor som har beskrivits inkluderar planteringsjord i Australien (Steele et al., 1990 a,b) och varma källor i Portugal (Verissimo et al., 1991).

Systematisk diagnostik av *Legionella* började i Sverige år 1978. Sedan dess har 20-40 sporadiska fall av konfirmerad Legionärssjuka anmälts till SBL varje år (Kallings och Kallings, 1983). Det verkliga antalet fall tros vara minst 10 gånger högre. I en

intensivstudie hade 5 % av alla samhällsförvävade pneumonier *Legionella* som orsak och 10 % av dem som krävde intensivvård (Örtqvist et al., 1990). Liknande procentandel har angivits från andra länder (Aubertin et al., 1987, Lode et al., 1987, Torres et al., 1991) I andra studier var procentandelen även högre (Reboull et al., 1992, Bates et al., 1992). Tre större utbrott hände i Sverige under 1978-1992, två samhällsförvävade och ett nosokomialt. De två samhällsförvävade utbrotten skedde 1979 i Västerås med 68 fall (Bernander et al., 1990) och 1981 i Malmö med 10 fall (Kallings och Kallings, 1983). Det nosokomiala utbrottet skedde 1990/91 i Värnamo med minst 65 fall. Mindre nosokomiala utbrott har också förekommit (Wilczek et al., 1987). Under 1992 skedde ett misstänkt utbrott med Pontiacfeber med en bubbelpool som smittkälla. Följande arter och serotyper av *Legionella* har påvisats från patienter med diagnosticerad legionellos i Sverige: *L. pneumophila* serogrupp 1, eller 3, eller 5, eller 6, eller 8, *L. micdadei*, *L. bozemanii* serogrupp 1 eller 2, *L. longbeachae* serogrupp 2 (Kallings och Larsson, 1990).

I Sverige hade bara det första utbrottet 1979 i Västerås ett kyltorn som misstänkt smittkälla (Bernander et al., 1990). I alla andra utbrott och i de flesta sporadiska fallen var det bevisligen eller misstänkt tappvattensystemet som var smittkällan.

3.3. Ekologisk bakgrund

3.3.1. Naturliga vattentäkter

Legionellabakterier är vanliga sötvattenbakterier. De har påvisats med olika metoder i många undersökta naturliga sötvattendrag (Fliermans et al., 1979, Colbourne et al., 1988) fast i mycket låga koncentrationer. Särskild i uppvärmda naturliga vatten hittar man odlingsbara Legionellabakterier (Tison et al., 1983, Campbell et al., 1984, Bornstein et al., 1989). Inga odlingsbara Legionellabakterier har hittills hittats i marina miljöer, dock har man påvisat dem med immunofluorescens (Ortiz-Roque et al., 1987). Legionellabakterier har en bra förmåga att överleva i kallvatten i många månader (Paszko-Kolva et al., 1992). Legionellabakterier har däremot inte förmågan att tillväxa i vatten i renkultur (Lee et al., 1991). Det har dock visat sig att *Legionella* växer i vatten i blandkultur med andra vattenbakterier (Stout et al., 1985, Yee och Wadowsky, 1982), cyanobakterier (Tison et al., 1980, Pope et al., 1982) och alger (Pope et al., 1982).

Legionella kan även föroka sig inuti amöbor och andra protozoer som tar upp bakterier i näringsvakuoler (Anand et al., 1983, Rowbotham, 1986, Harf och Monteil, 1988, Fields et al., 1989, Smith-Sommerville et al., 1991). Legionellabakterier som sitter inom amöbor, och särskild inom cystor av amöbor, är skyddade mot dåliga miljöförhållanden. Ingen smitta har rapporterats från naturliga vattentäkter, förutom från varma källor i Portugal.

3.3.2. Tekniska system

I tekniska vattensystem kan *Legionella* växa till höga antal och kan utgöra en hälsorisk om aerosolbildning kan ske och känsliga personer utsätts för aerosoler.

Det är särskild två orsaker som leder till att *Legionella* tillväxer i vattensystemen: temperatur och material. Många andra parametrars inverkan på tillväxten av *Legionella* har undersökts med varierande resultat (3.2.3.)

3.3.2.1. Temperatur

Legionellabakteriers optimala tillväxttemperatur är 37 °C. De förökar sig bra mellan 20 °C och 42-45 °C (Wadowsky et al., 1985, Schulze-Röbbecke et al., 1987, Yee och Wadowsky, 1982). Även vid lägre temperaturer kan en mycket långsamt tillväxt ske om näringsförhållandena är goda. Över 50 °C dör Legionellabakterier inom några timmar, över 60°C inom några minuter, och över 70 °C inom några sekunder (Sanden et al., 1989, Schulze-Röbbecke et al., 1987). I många varmvattensystem har hela vattenvolymen eller delar av vattensystemet en temperatur som underskrider 45 °C och kan därmed gynna en tillväxt av *Legionella*.

I en stor studie om förekomsten av *Legionella* i sjukhus och hotell i Tyskland och i en studie av enfamiljshus i USA påvisades temperaturen som enda faktor med signifikant inflytande på förekomsten av *Legionella* (Habicht och Müller, 1988, Lee et al., 1988, Stout et al., 1992).

3.3.2.2. Material

Vissa material i vattenledningssystem eller armaturer har visat sig stimulera tillväxten av *Legionella*, t. ex. vissa gummimaterial samt vissa plastmaterial baserade på PVC och PE samt naturgummi (West et al., 1989, Schoenen et al., 1988, Bezanson et al., 1992). Mjukgörare från plastmaterial kan användas som kolkälla av många bakterier och kan därmed också bidra till tillväxten av *Legionella*. *Legionella* är för sin tillväxt i vatten beroende av andra mikroorganismer (3.1.) och hittas därför ofta i biofilmer på material, där många olika mikroorganismer samlas i nära kontakt (Colbourne och Dennis, 1988, Wright et al., 1989). Systematiska undersökningar av olika materials påverkan på tillväxten av *Legionella* är dock bristfälliga. I vår undersökning hade vi flera fall där *Legionella* växte på en typ av packning och kontaminerade hela duschsystemet därifrån (6.2.5.).

Nya kopparledningar däremot hämmar tillväxten av *Legionella*. Effekten försvinner dock om ledningar är äldre än 5 år (Habicht och Müller, 1988).

3.3.2.3. Andra parametrar

järn

Legionellabakterier är beroende av järn i ganska höga koncentrationer när man odlar dem (Jones och Herbert, 1979, Reeves et al., 1981). Det har visat sig i tillväxtexperiment med *Legionella* i kranvatten att järn i koncentrationer mellan 1-5 mg/l gav en stimulerande effekt, högre järnkoncentrationer, 10-100 mg/l, hade en hämmande effekt på *Legionellas* tillväxt (States et al., 1985). I en annan studie med *Legionella* i vatten från

varmvattenberedare gav 5-50 mg/l en stimulering och koncentrationer över 50 mg/l en hämning (States et al., 1987). Dessa höga järnkoncentrationer förekommer dock sällan i dricksvatten. I systematiska undersökningar av förekomsten av *Legionella* på sjukhus och hotell i Tyskland undersöktes också korrelation mellan järnhalten och frekvensen av *Legionella*-positiva prov (Habicht och Müller, 1988). Det kunde inte påvisas ett statistisk signifikant samband mellan järnkoncentrationen och Legionellaförekomsten. En högre procentandel positiva prov hittades dock vid järnkoncentrationer överstigande 0.1 mg/l. Varmvattenberedare med högre järnkoncentration hade högre antal Legionellabakterier (Botzenhart et al., 1986).

andra metaller

Många metaller (kalcium, magnesium, vanadin, zink) hade en positiv effekt på *Legionellas* tillväxt i ett definierat medium (Reeves et al., 1981). I tillväxtstudier med *Legionella* i tappvatten har det visats att många andra metaller (aluminium, kadmium, koppar, bly, och mangan) inte hade någon stor effekt på *Legionella* i låga koncentrationer och hämmade *Legionella* i koncentrationer överstigande 10 mg/l (States et al., 1985). Zink hade en positiv effekt på *Legionellas* tillväxt i låga koncentrationer och hämmade i koncentrationer över 10 mg/l. Kalium stimulerade tillväxten av *Legionella* i koncentrationer över 1 mg/l (States et al., 1985).

pH

Legionella växer i tappvatten inom ett brett pH-område (5.5-9.2). Ingen tillväxt har observerats under 5 och över 10.5 (Wadowsky et al., 1985). *Legionella* växer bäst i vatten med pH-värden omkring och strax under 7. I kyltornvatten fanns den högsta tillväxten vid pH-värden mellan 6.9 och 7.3 (States et al., 1987). Mycket mindre tillväxt observerades över pH 7.3. Fler *Legionella*-positiva prov vid låga pH-värde (6.0-7.0) påvisades i en stor korrelationsstudie i Tyskland jämfört med pH-värden över 7.0 (Habicht och Müller, 1988). Skillnaderna var dock inte signifikanta.

hårdhet

Hög tillväxt av *Legionella* påvisades i kyltornvatten med en koncentration av kalciumkarbonat under 100 mg/l. Över 200 mg/l uppträdde nästan ingen växt alls (States et al., 1987).

syre

Legionella växer inte under anaeroba förhållanden (Wadowsky et al., 1985). Låga syrehalter gynnar dock tillväxten (Mauchline et al., 1992), men *Legionella* kan även växa under syremättad (Wadowsky et al., 1985).

organiskt material

Lågre antal *Legionella*-positiva prov i vatten med låg COD-halt (chemical oxygen demand, under 5 mg KMnO₄/l) påvisades i en screeningundersökning i Tyskland (Habicht och Müller, 1988). Motsatsen hittades i en undersökning av kyltorn i Finland. I prov med låg halt av näringsämnen påvisades mer *Legionella* (Kusnetsov et al., 1993).

totalantal bakterier

I prov med höga totalantalsvärden påvisades lägre procentandel *Legionella*-positiva prov än i prov med låga totalantalsvärden. Denna korrelation har påvisats i varmvatten på sjukhus och hotell (Habicht och Müller, 1988) och i kyltornvatten (Kusnetsov et al., 1993).

3.4. Desinfektion och saneringsåtgärder

3.4.1. Klor

Legionella är mindre känslig mot fritt klor än *Escherichia coli* (Kuchta et al., 1983). Under standardförhållanden med pH 7,6, 21 °C och 0,1 mg/l fritt klor behövdes 30-60 minuter för en 99,9 % avdödning av resuspenderade *Legionella* från odlingsmedium vid laboratorieförsök (Kuchta et al., 1983). Legionellabakterier som är adapterade till vatten är även mindre känsliga än de som odlats på laboratoriet (Kuchta et al., 1985). Kloramin är effektivare i avdödning av Legionellabakterier jämfört med *Escherichia coli* (Cuncliffe et al., 1990). I tekniska system finns *Legionella* ofta i biofilmer på ytor av olika material. Biofilmer skyddar bakterier från många desinfektionsmedel, däribland klor (LeChevallier et al., 1988). När Legionellabakterier är inneslutna i amöbor är de också mer skyddade (Kilvington och Price, 1990) och man har experimentellt visat att halter på över 50 mg/l fritt klor behövs för avdödning av *Legionella* i amöbor (Kilvington och Price, 1990). Detta innebär att chockklorering av vattensystem (vanligvis med 2-6 mg/l) vanligen bara kan användas som en akut åtgärd mot *Legionella*, i de flesta fall utan långtidsverkan, då *Legionella* i biofilmer och amöbor inte avdödas (Pankhurst et al., 1990, Makin och Hart, 1990). Antalet Legionellabakterier i ett konstgjort vattenledningssystem reducerades med 5 logenheter inom 5 timmar med 4-6 mg/fritt klor (Muraca et al., 1987)

3.4.2. Jod

Det finns få studier där effekten av jod som desinfektionsmedel mot *Legionella* undersökts. Jodid var mycket effektivare mot *Legionella* än klor i vatten och 2 gånger så effektivt mot *Legionella* i biofilmer (Cargill et al., 1992). Filter med jod som aktiv substans har visat sig vara effektivt mot *Legionella* i laboratorieexperiment (Sanden et al., 1992, egna studier). Problemet i våra studier var dock att jodid släpptes ut till vattnet från filtret, tidvis i höga koncentrationer. Inga studier i tekniska system är gjorda.

3.4.3. UV

Legionella är ganska känslig mot UV-ljus jämfört med andra bakterier. En reduktion av antal levande Legionellabakterier med 4 log observerades inom 10 min. (Knudson, 1985). *Legionella* har dock ett mycket effektivt fotoreaktiveringssystem (Knudson, 1985). Därför skall inga transparenta slangar användas efter UV-behandling av vatten. I många tekniska system har UV-utrustningar använts för desinfektion av vattensystem mot *Legionella*, med varierande resultat (Muraca et al., 1987, Farr et al., 1988, Muraca et al., 1990, Schulze-

Röbbecke et al., 1990, Yamamoto et al., 1991, egna undersökningar) delvis i kombination med höjd vattentemperatur (Struelens et al., 1992). Fördelen med UV är att det inte tillförs något ämne till vattnet. Det har visat sig att själva placeringen av UV-utrustningen i systemet är mycket viktigt för att undvika tillväxt av *Legionella*. UV-utrustningen ska sitta så nära tappstället som möjligt och stillastående vatten skall undvikas efter UV-utrustningen då faran för återväxt har visat sig vara stor.

3.4.4. Ozon

Ozon är effektivt för att reducera antalet *Legionella in vitro*. Antalet Legionellabakterier i ett konstgjort vattenledningssystem reducerades däremot bara med 5 logenheter inom 5 timmar med 1-2 mg/l ozon (Muraca et al., 1987). Resultat av ozonering i tekniska system är bristfälliga. I en studie visades en reduktion av *Legionella* i ozonerat vatten (Edelstein et al., 1982). Här kan dock inte effekten av ozonering värderas, då liknande reduktion hittades i kontrollen!

3.4.5. Silver/Koppar

Silver plus koppar ensamt har ingen signifikant effekt på *Legionella*. Effekten ökar dock i samverkan med klorering (Landeen et al., 1989). Bara vid höga klorkoncentrationer (0.4 mg/l fritt klor) påvisades en statistisk signifikant hämning av *Legionella* med silver och koppar. I tekniska system har silver/koppar elektroder mest använts i industrivatten och fritidsanläggningar och i mindre utsträckning även prövats på dricksvatten utomlands.

3.4.6. Kyltornsdesinfektionsmedel

Många desinfektionsmedel som används i kyltornsammanhang har testats mot *Legionella in vitro* (Skaliy et al., 1980, Soracco et al., 1983). Vissa hade ingen effekt, andra var mycket effektiva. *In vivo* i kyltornen uppträder dock samma problem som med klorering i vattensystem, nämligen amöbor och biofilmbildning som skyddar *Legionella* mot desinfektionsmedel (Wright et al., 1991, Barker et al., 1992). Många ämnen som varit mycket effektiva mot suspenderade Legionellabakterier hade därför ingen effekt *in vivo*, andra var även vid *in vivo* försök aktiva (Yamamoto et al., 1991).

3.4.7. Temperaturhöjning

Vid 50 °C behöver man ca 80 minuter för en avdödning av 5 log Legionellabakterier. Vid 60 °C ca 5 minuter och vid 70°C bara ca 1 minut för en avdödning av 5 log (Sanden et al., 1989, Schulze-Röbbecke et al., 1987). Temperaturhöjning kan användas som akutåtgärd för att sanera ett *Legionella*-haltigt vattensystem men också som långsiktig preventivåtgärd (Muraca et al., 1990, Muraca et al., 1987). Fördelen är att *Legionella* avdödas även i biofilmer och amöbor. Som akutåtgärd rekommenderas en temperaturhöjning i varmvattenberedare till 70 °C med en spolning av alla tappställen i

minst 10 minuter med minst 60°C varmt vatten. Som preventivåtgärder rekommenderas 60 °C i beredaren och en temperatur av lägst 50 °C på alla tappställen. I mycket stora vattensystem kan cirkulationsystem i varmvattenberedare eller vattensystemet vara nödvändiga för att hålla temperaturen hög i hela systemet och undvika tillväxt av *Legionella* (Schulze-Röbbecke et al., 1990, Hart och Martin, 1991).

4. Detektion av *Legionella* från miljöprov

4.1. Odling

Som agarmedium för odling av *Legionella* används BCYE α -agar (buffered charcoal yeast extract agar med α -ketoglutarat, Edelstein, 1981). Mediet är inte särskilt selektivt och många andra bakterier kan växa på det. Det finns tre olika metoder som används för att reducera antalet andra bakterier: (i) antibiotika i agarplattorna (Calderon och Dufour, 1984, Bopp et al., 1981), (ii) behandling av provet med en speciell syralösning (pH 2.2) i 5 minuter (Bopp et al., 1981) och (iii) värmebehandling av provet vid 50 °C i 30 minuter (Roberts et al., 1987). *Legionella* är mindre syra- och värmekänslig än de flesta andra vattenbakterier. Man kan även kombinera förbehandlingsmetoderna om provet innehåller mycket högt antal andra bakterier. Problemet är dock att antalet Legionellabakterier också reduceras i viss utsträckning (Roberts et al., 1987) och att vissa Legionellaarter och serotyper reduceras mer än andra av behandlingarna till bara några få procent av det ursprungliga antalet (Müller, 1988, Roberts et al., 1987). Därför rekommenderas alltid att olika behandlingsmetoder och agarmedier används parallellt.

Om antalet Legionellabakterier förväntas vara högt i provet kan man ta ett direktprov och sprida det, med och utan förbehandlingar, direkt på plattorna. I de flesta vattenprov däremot föreligger *Legionella* i relativt låga halter och provet måste koncentreras. Koncentrering av bakterier från vattenprov har utförts med centrifugering, filtrering och fällning med Fe(OH)₃ (Müller, 1988) och jämförande studier har utförts (Müller, 1988, Brindle et al., 1987). De flesta författare har rekommenderat filtrering som den enklaste och effektivaste metoden. Detta anges också i standardförslag från England, Danmark och ISO. Filtreringsmetodiken utgår ifrån att vattenprovet filtreras genom ett filter som sedan skakas i buffert för att resuspendera bakterierna. Supernatanten sprids sedan på plattor. Problemet är att inte alla Legionellabakterier som sitter på filtret efter filtreringen skakas loss från filtret och därmed går förlorade i den efterföljande analysen. Många filtertyper har därför testats för bästa utbyte av *Legionella* (Smith et al., 1993).

En ny metodik har utvecklats på SBLs vattensektion (Szewzyk et al., 1991). Istället för att försöka skaka loss bakterier från filtret efter filtreringen läggs hela filtret direkt på en agarplatta. Normalt läser man de ofta vitaktiga, opalescenta Legionellakolonierna mot det svarta agarmediet. Vanemässigt och beroende på god kontrastverkan underlättas därför om svarta filter används. Jämförande undersökningar visade ett högre utbyte av *Legionella* från vattenprov med denna nya metod (Szewzyk et al., 1991).

Detektionsgränsen är beroende av den undersökta provvolymen. Praktiskt brukar dock oftast inte mer än 500 ml analyseras, dvs detektionsgränsen blir 2 cfu/1000 ml.

4.2. Immunofluorescens

Olika monoklonala och polyklonala antikroppar har använts för att detektera olika Legionellaarter i vattenprov och biofilmer (Fliermans et al., 1981, Bérubé et al., 1989, Rogers et al., 1992, Lim et al., 1989). *Legionella* från kallvattenprov kunde påvisas med fluorescensmärkta antikroppar men inte odlas (Fliermans et al., 1981, Lee et al., 1991, Colbourne et al., 1988). Detta har lett till att man antagit att det finns levande men icke-kultiverbara Legionellabakterier. En värmechockbehandling har beskrivits som överför dessa vattenanpassade icke-kultiverbara Legionellabakterier till odlingsbara bakterier (Colbourne et al., 1988). Dessa resultat hade dock inte kunnat upprepas av andra laboratorier. Därmed återstår frågan om Legionellabakterier som påvisas med immunofluorescens är levande. Ett annat problem med immunofluorescens är möjliga korsreaktioner med andra bakterier. Antikropparna som använts är testade mot många olika bakteriearter, vilket räcker för bedömning av kliniska preparat, där bara få bakterietyper kan förväntas. I detta material är problem med korsreaktioner minimalt. I vattenprov däremot finns hundratals olika, ofta icke-odlingsbara bakteriearter som inte är testade. Särskilt med polyklonala antikroppar är faran för korsreaktioner stor. Monoklonala antikroppar som bara påvisar en speciell ytstruktur är mycket mer specifika och färre korsreaktioner observeras. Denna höga specificitet kan däremot också leda till problem vid detektion av vattenanpassade Legionellabakterier. Det har visat sig att i många vattenprov där man kunde odla Legionellabakterier kunde de inte påvisas med monoklonala antikroppar, men däremot med polyklonala antikroppar (Vickers et al., 1990). Vattenanpassade Legionellabakterier uttrycker tydligen andra ytstrukturer än de som växer på laboratoriemedier.

En klar fördel med immunofluorescens är dock att resultatet föreligger efter några timmar, jämfört med 2-10 dagar för odlingen. Den är därför särskilt lämplig för en snabb översiktlig undersökning av smittkällor i utbrottsammanhang. På grund av de ovan nämnda problemen med immunofluorescens skall dock alltid en odling av *Legionella* utföras parallellt.

Monoklonala antikroppar kan också användas till verifiering av isolerade misstänkta *Legionella* kolonier efter odling.

4.3. Molekylärbiologiska metoder

4.3.1. PCR

Med PCR (polymerase chain reaction) metodik är det teoretiskt möjligt att påvisa en enda cell av *Legionella* i vatten även om många andra bakterier är närvarande och Legionellabakterierna inte är odlingsbara. Metodiken baseras på att man "fångar upp" en DNAbit som är typisk för *Legionella* ur en blandning av andra DNAbitar. Denna bit mångfaldigas med enzymatiska reaktioner till så hög koncentration att den kan påvisas. I praktiken har alla hittills utvecklade metoder dock en lägre påvisningsgräns än 100 celler per ml. Ändå har PCR metodiken använts med framgång för detektion av *Legionella* i vatten (Bauern et al., 1990, Bej et al., 1991). I många vattenprov som var odlingsnegativa

på grund av överväxt med andra bakterier kunde *Legionella* påvisas med PCR (Bauern et al., 1990). I flera fall misslyckades dock PCR metodiken att påvisa även odlingsbara Legionellabakterier i vattenprov. Detta tros beror på att vissa ämne i vattnet hämmar den enzymatiska PCR reaktionen, som t. ex. järn och humussyror.

På SBL har en PCR metod utvecklats som är mycket känsligare än alla andra hittills använda metoder och kan detektera 1 cell i 100 ml vatten även om många andra bakterier är närvarande. Utvärdering av denna metod pågår.

4.3.2. RNA-sonder

Med hjälp av fluorescensmärkta RNA-sonder kan enstaka bakterier påvisas *in situ*, även i tjocka biofilmer av andra bakterier (Manz et al., subm., Szewzyk et al., subm.). Sonder för *Legionella* är under arbete. Med hjälp av dessa kommer man att kunna påvisa enstaka Legionellabakterier och kolonier på ytor av material och följa utvecklingen till biofilmer samt studera faktorer som bidrar till kolonisering.



Bild 1: *Legionella pneumophila* detekterad med immunofluorescens i mikroskopet (fotograferat av Birgit Larsson, SBL).

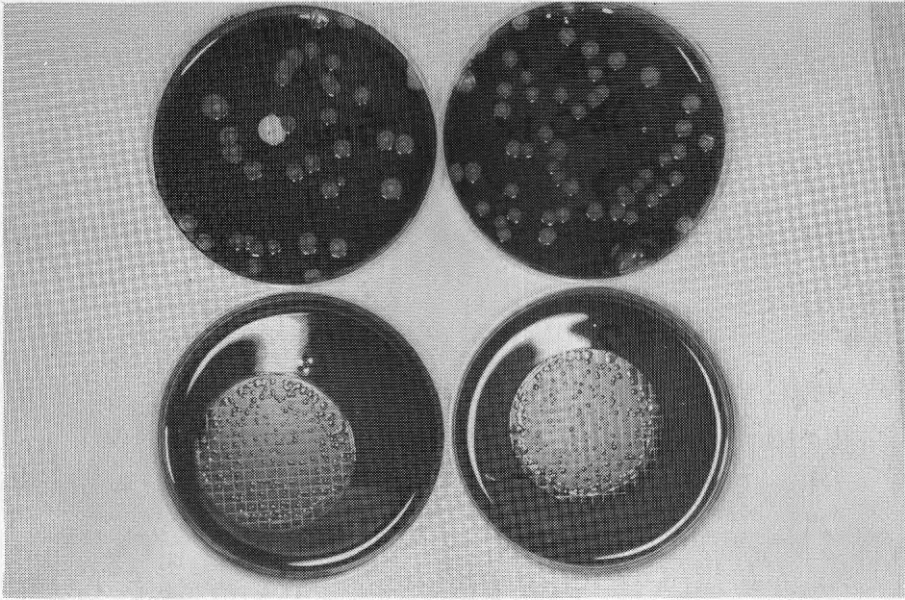


Bild 2. Växt av *Legionella pneumophila* på agarplattor respektive svarta filter efter 6 dygns inkubation

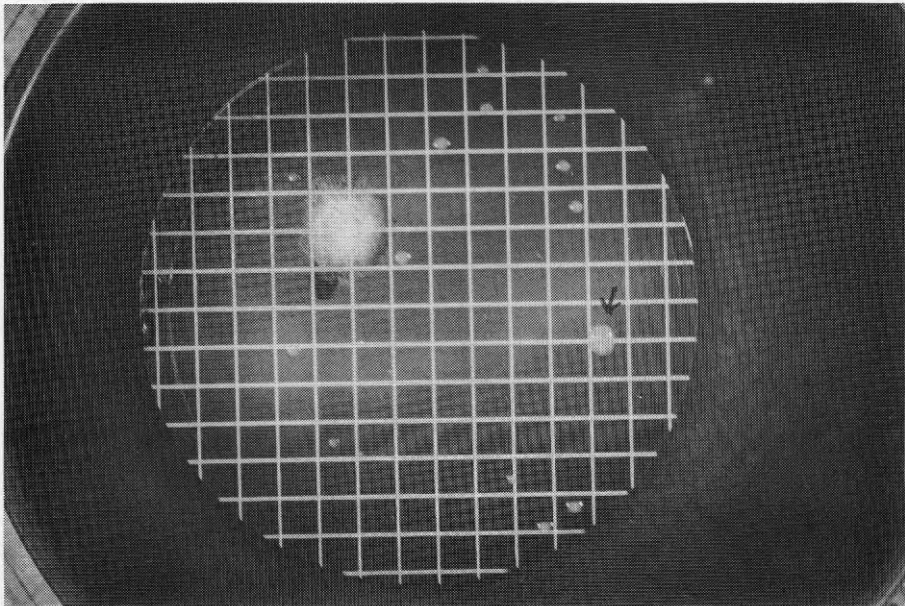


Bild 3. Kolonier av *Legionella pneumophila* på en svart membranfilter efter 4 dygns inkubation (pil = ej *Legionella*)

5. Projektupplägning

5.1. Målsättning

Målsättningen med de utförda undersökningarna är att systematiskt kartera Legionellaförekomsten i vattensystem och inomhusinstallationer, samt att relatera denna förekomst till (a) vattentyp, vattenbehandling och vattnets kemiska sammansättning (b) material i ledningar och armaturer, (c) vattentemperatur och (d) typ och utförande av varmvattenberedare.

Undersökningen avses:

- bilda ett underlag till Boverkets ställningstagande gällande varmvattentemperatur i fastigheter
- identifiera eventuella material som kan ha en tillväxtbefrämjande effekt för *Legionella*
- bilda bas för enhetliga provtagningsanvisningar och metodanvisningar
- bilda bas för eventuella saneringsanvisningar
- öka kunskapen om risk för Legionellainfektion kontra naturlig förekomst i vattensystem

Eventuella kliniska uppföljningsundersökningar omfattas inte av projektramen.

5.2. Utförda undersökningar

5.2.1. Projektets upplägning och planering

Förekomsten av *Legionella* undersöktes i ledningsnät anslutna till vattenverk som tillämpar olika behandlings- och desinfektionsrutiner (5.2.2.). Följande kategorier av vattenverk ingick i undersökningen:

- Ytvattenverk
- Grundvattenverk utan konstgjord infiltration
- Grundvattenverk med konstgjord infiltration
- Vattenverk med blandat råvatten (blandning av grundvatten med och utan konstgjord infiltration).

Proven togs vid det inkommande vattnet till vattenverken, mellan olika behandlingssteg och på utgående vatten från vattenverken, i kallvatten på det tillhörande ledningsnätet, och i varmvatten på det tillhörande ledningsnätet i små och stora byggnader. I många städer har sjukhuset det mest komplexa vattensystemet. Därför togs särskild hänsyn till provtagningar på sjukhus.

Två till tio prov togs på vattenverk och ca. 40 prov i tillhörande nät och byggnader. Parallellt med Legionellaanalysen bestämdes andra mikrobiologiska och kemiska vattenparametrar (5.2.3.).

Till alla berörda vattenverk skickades information om projektet samt en provtagningsanvisning inklusive ett frågeformulär för en kort beskrivning av vattensystemet (5.2.4.). Sjukhusen kontaktades separat. Såväl hygienavdelningen som tekniska avdelningen fick information om projektet samt en speciell provtagningsanvisning inklusive ett frågeformulär om varmvattensystemet (5.2.5.).

5.2.2. Urval av vattenverk

Vattenverk valdes med hänsyn till råvattenkälla, olika behandlingssteg, desinfektionsmetoder, och geografiskt läge. Målsättningen var att undersöka flera vattenverk av varje typ i olika delar av landet. Vattenverk i 20 städer valdes ut och kontaktades. Följande 17 vattenverk i 13 städer var beredda att delta i undersökningen:

Stockholm	Lovön
	Görvåln
Göteborg	Lackarebäck
	Alelyckan
Falun	Falun
Gävle	Sätra
	Åbyvallen
Halmstad	Sennan, Söndrum, Dettan osv.
Malmö	Vomb
	Bulltofta
Östersund	Östersund
Sundsvall	Vivstanäs, Grönsta
Norrköping	Borg
Jönköping	Häggeberg (2 prov Ryd)
Umeå	Forslunda
Karlstad	Sörmöverket
Nyköping	Oxelösund

5.2.3. Kemiska och mikrobiologiska provtagningsparametrar

5.2.3.1. Legionella

Halten av Legionellabakterier bestämdes med odling, mikroskopiskt med monoklonala och polyklonala antikroppar samt, på utvalda prov, med PCR-teknik. En känslig odlingsmetod har utvecklats på SBL som baseras på filtrering av vattenprov genom svarta membranfilter som läggs direkt på agarplattor efter filtreringen (Szewzyk et al., 1991). Denna metod användes i kombination med en syrabehandling av proven för att reducera antalet andra bakterier. Till alla prov användes BCYE-agar plattor utan eller med (MWY) antibiotika (se 4.1). Detektionsgränsen vid odling låg på 1 koloni-bildande enhet (cfu) per 500 ml. De

monoklonala antikropparna (MONOS) är framställda av Genetic Systems. Som polyklonala antikroppar användes antikroppar framställda på SBL (Birgit Larsson) till serotypning av *Legionella* med agglutinationstest. De polyklonala antikropparna var riktade emot *L. pneumophila* serogrupp 1, *L. pneumophila* andra serogrupper och andra arter av *Legionella*. Två olika PCR-tekniker jämfördes i projektet. Den ena är Perkin Elmers nya testkit och den andra är en mycket känsligare PCR-test som utvecklats på SBL (bakteriologiska avdelningen, Sven Löfdahl). På grund av tidsbrist kunde PCR-undersökning bara göras på några utvalda prov.

5.2.3.2. Andra bakterier

Totalantal bakterier

Antalet andra bakterier i vattnet bestämdes med den vanliga odlingsmetodiken på jästpeptonagar med avläsning efter 2dygn (2d) och 7dygn (7d) (ingjutningsmetoden, SS 02 81 79). Plattorna från kallvattenprov inkuberades vid 20 °C och från varmvattenprov vid 35 °C. Parallellt bestämdes i många prov den totala halten av bakterier med acridinorange-färgning och epifluorescens.

Mykobakterier

I samarbete med Tuberkulosektionen på SBL gjordes filtreringar av vattenprov för mykobakterieanalys. Odling, avläsning och typbestämning av isolerade mykobakterier utfördes vid Tuberkulosektionen.

Enterobacteriaceae (särskild Enterobacter)

I samarbete med sjukhushygieniska avdelningen på SBL (Lars Burman) undersöktes förekomsten av Enterobacteriaceae i vatten på neonatalavdelningarna på sjukhus för ev. samband med fynd hos barnen.

5.2.3.3. Näringsämnen i vattnet

Koncentrationen av lätt assimilerbara kolföreningar i vattnet (AOC) bestämdes på några utvalda prov.

5.2.3.4. Kemiska parametrar

Följande kemiska parametrar bestämdes på vattenverk:

- pH
- järnhalt
- hårdhet
- klor (fri, total)

5.2.4. Tekniska parametrar i fastigheter

Till alla fastigheter där provtagning var planerad skickades en provtagningsanvisning (Bilaga 1) samt ett frågeformulär om utformningen av varmvattenssystemet med särskild hänsyn till temperaturen, typ av varmvattenberedare, och material i systemet (Bilaga 2). Tyvärr var svaren på många frågeformulär ofullständiga.

Till fastigheter med *Legionella*-positiva prov skickades en ny provanvisning vid förnyat provtagningen (omprov) (Bilaga 3).

5.2.5. Tekniska parametrar i sjukhus

Till hygienavdelningen och tekniska avdelningen på alla berörda sjukhus skickades en provtagningsanvisning (Bilaga 4) samt ett frågeformulär om utformning av varmvattenssystemet med särskild hänsyn till temperaturen, typ av varmvattenberedare, och material i systemet (Bilaga 5).

6. Resultat av projektet

6.1. Totalantal bakterier

6.1.1. Utgående från vattenverk

Utgående vatten från vattenverken hade låga halter heterotrofa bakterier (fig. 4). Endast i ett prov låg värdena för 2d resp. 7d bakterier över gränsvärden (10 cfu/ml vid desinficerat utgående vatten, 100 cfu/ml 2d, 5000 cfu/ml 7d, SLV FS 1989:30). I detta prov påvisades 100.000 cfu/ml 2d resp. 7d bakterier. Detta prov kan ha kontaminerats vid provtagningen. Medelvärde för 2d heterotrofa bakterier av alla övriga prov var 2 ± 3 cfu/ml med minimivärde 0 och maximalvärdet 10. Medelvärde för 7d heterotrofa bakterier var 50 ± 110 cfu/ml med minimivärde 1 och maximalvärdet 500.

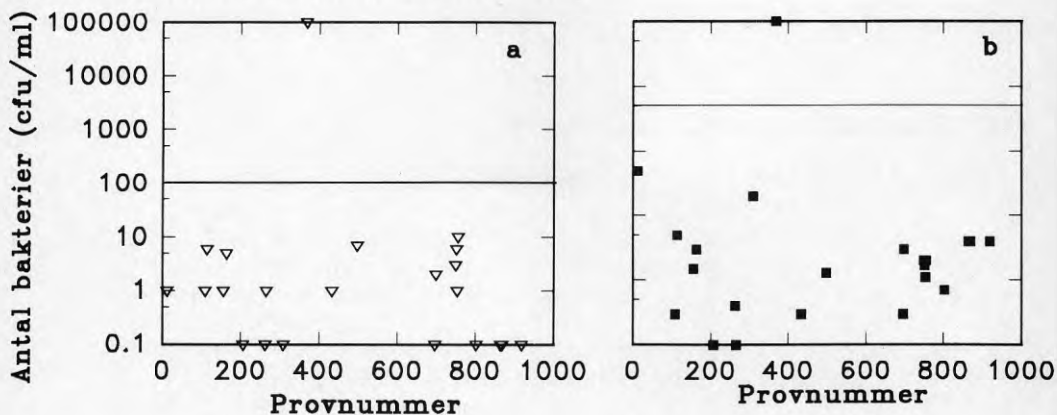
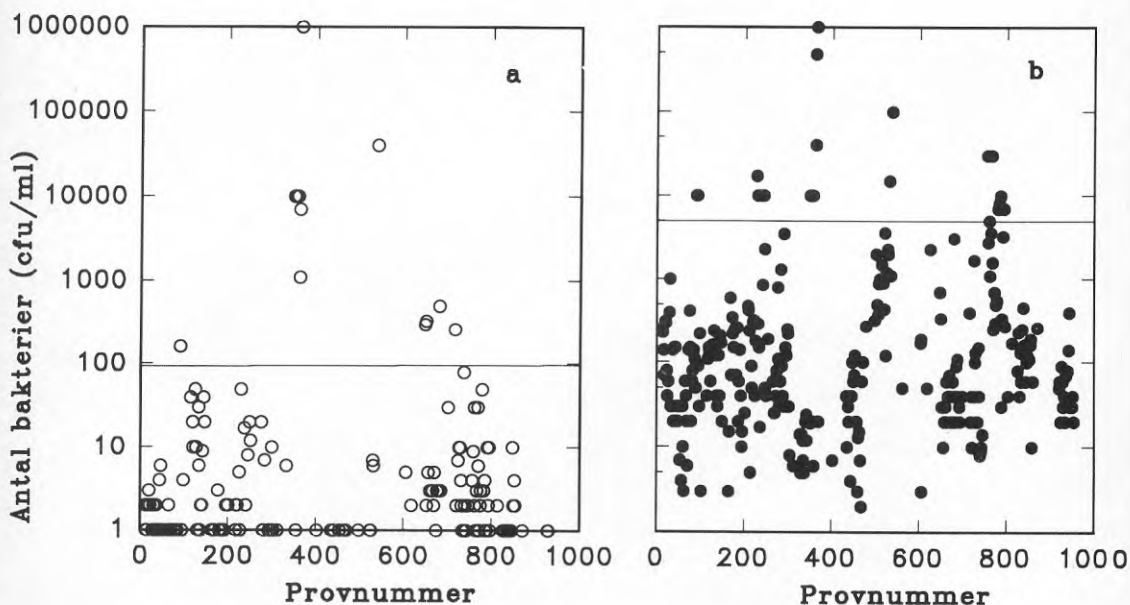


Figure 4: Totalantal heterotrofa bakterier i vattenprov utgående från vattenverk (n=22) efter 2(a) och 7 dygns (b) inkubation. Streck representerar gränsvärde (100 resp. 5000 cfu/ml). Gränsvärdet för desinfikerat vatten är 20 cfu/ml.

6.1.2. Kallvatten i ledningsnätet

Antalet heterotrofa bakterier var i många fall högre än i det utgående vattnet från vattenverken. Detta tyder på tillväxt av bakterier under distributionen i ledningssystemen. I 96% resp. 93% av proven låg antalet 2d resp. 7d bakterier under gränsvärdet (fig. 5). Minimivärden och maximalvärden för både 2d och 7d bakterier var 0 och 1.000.000 cfu/ml. Medianvärden för halten 2d resp. 7d heterotrofa bakterier var 1 resp. 80 cfu/ml (fig. 7). De flesta kallvattenbakterier var alltså långsamväxande. Höga totalantalvärden påvisades i två av tre prov från kallvattenfontäner (11.000 och 1.000.000 resp. 480.000 och 1.000.000 cfu/ml för 2d och 7d bakterier).



Figur 5: Totalantal heterotrofa bakterier i kallvattenprov (n=375) efter 2 (a) och 7 (b) dygns inkubation. Streck representerar gränsvärdet (100 resp. 5000 cfu/ml).

6.1.3. Varmvatten i varmvattenberedare och duschar

Antalet heterotrofa bakterier i varmvattenproven var i de flesta fall högre än i de tillhörande kallvattenproven (fig. 6). Medianvärden för antal 2d resp. 7d heterotrofa bakterier var 1200 resp. 2600 cfu/ml (fig. 7). De flesta varmvattenbakterier var alltså snabbväxande. I vattenprov från varmvattenberedarna var antalet lägre (medianvärde 2 resp. 20 cfu/ml för 2d resp. 7d) än i tillhörande duschar (medianvärde 1000 resp. 2500 cfu/ml för 2d resp. 7d). Temperaturer i varmvattenberedarna var dock ofta höga och många speciella högttemperaturanpassade bakterier växer inte vid 35 °C. Ofta påvisades bara en eller få olika typer av bakterier i varmvatten, medan kallvattnet innehöll en

blandning av många olika bakterietyper. I varmvatten skedde tydligen en tillväxt av speciellt adapterade bakterier ofta till höga halter. Bakterietyperna varierade mellan varmvattensystemen. Vidare undersökning av dessa pågår.

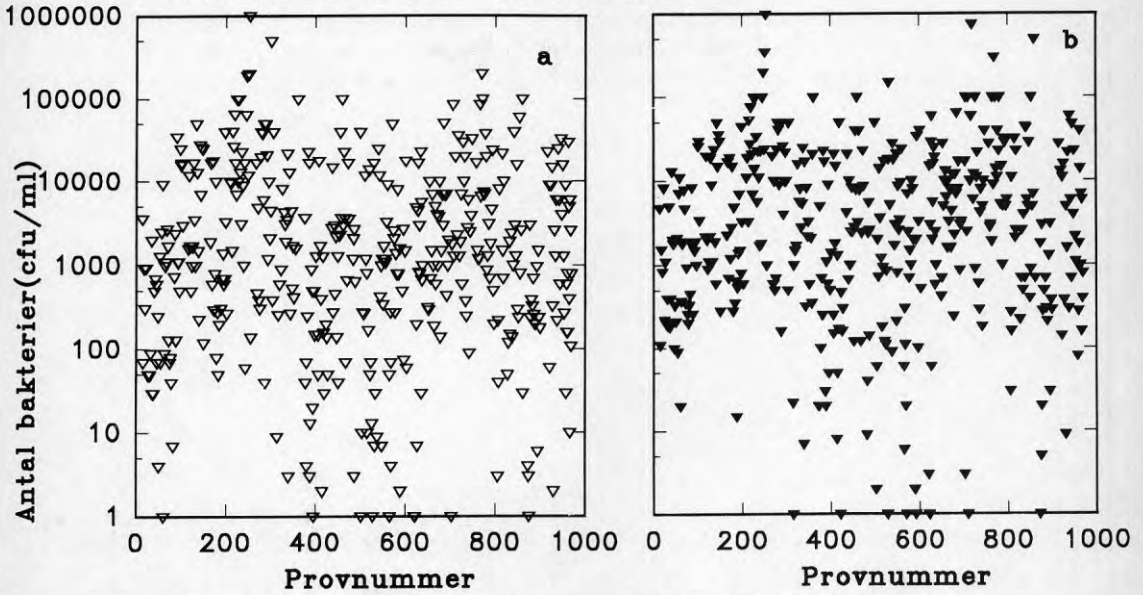


Figure 6: Totalantal heterotrofa bakterier i varmvattenprov (n=437) efter 2 (a) och 7 (b) dygns inkubation.

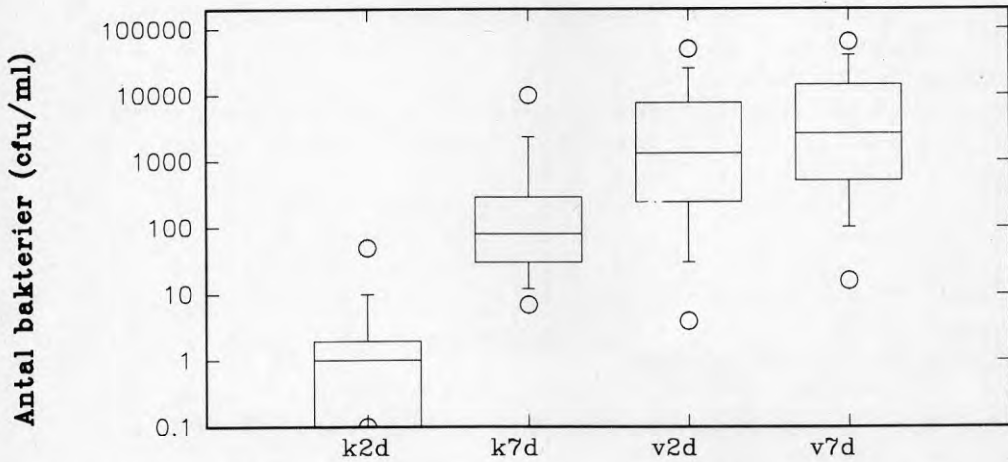
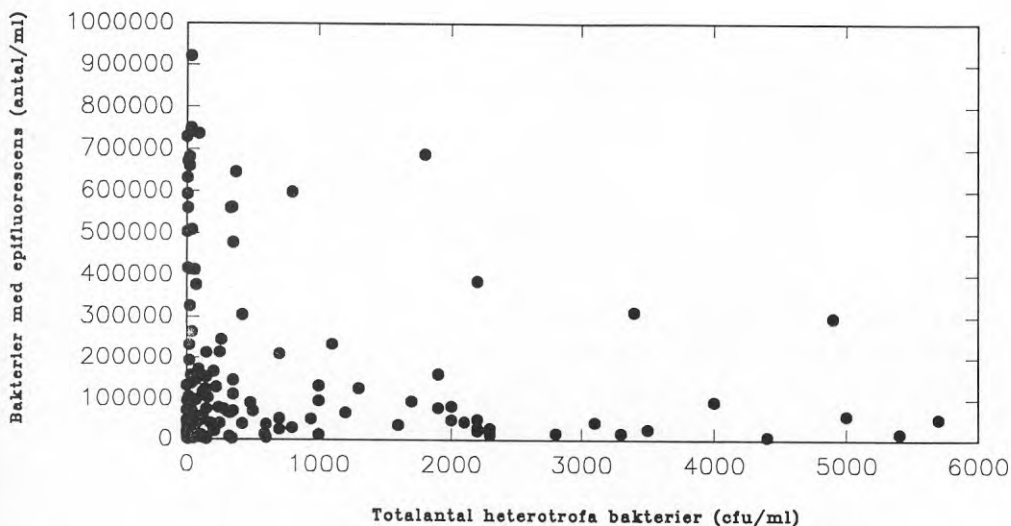


Figure 7: Sammanfattande jämförelse mellan totalantal heterotrofa bakterier i kallvatten (k2d, k7d) och varmvattenprov (v2d, v7d). Streck representerar medianvärdet. Angivna intervaller är 25-75%, 10-90% och 5-95% av halterna

6.1.4. Epifluorescens

Antalet bakterier räknat med epifluorescens var högre än antalet heterotrofa bakterier på odlingsplattor. Endast 0.0006-12% i kallvattenprov och 0.015%-58 % i varmvattenprov av alla bakterier räknade under mikroskop växte ut på plattorna efter 7 dygns inkubation (fig. 8, n=207, analysen pågår). Ingen korrelation påvisades mellan antalet heterotrofa bakterier och antalet bakterier räknat med epifluorescens (korrelations-koefficient $r = 0.08$).



Figur 8: Jämförelse mellan totalantal bakterier räknat under mikroskopet med epifluorescens och totalantal heterotrofa bakterier som växte på jästpeptonagar.

6.2. Legionella

Prov togs i 13 städer. *Legionella* odlings-positiva prov påvisades i 11 städer = 85%. Andelen *Legionella*-positiva prov varierade mellan städerna (0-27 %, Tabell 1a) och mellan sjukhus (0-100 %, Tabell 1b).

Totalt analyserades 940 prov i första provtagningsomgången och 78 så kallade omprover på *Legionella*-positiva provtagningsplatser för verifiering och närmare undersökning (6.2.5.).

Av de totalt 940 proven var 397 kallvattenprov, 437 varmvattenprov och 106 "pinnprov". Dessa togs på ytor i t. ex. duschslangar med bomullspinne.

Tabell 1a: Antal *Legionella*-negativa och *Legionella*-positiva prov med odling och MONOS i varmvatten och (kallvatten) i olika städer

Stad	Leg -	Leg +	MONOS -	MONOS +
A	38 (60)	8 (3)	31 (63)	15 (4)
B	22 (34)	2 (3)	18 (39)	6 (10)
C	19 (23)	2 (2)	14 (19)	7 (7)
D	13 (23)	5 (4)	7 (25)	11 (3)
E	14 (23)	2 (1)	15 (25)	1 (11)
F	17 (26)	1 (0)	15 (26)	3 (2)
G	14 (21)	4 (1)	13 (23)	5 (1)
H	22 (27)	2 (0)	23 (29)	1 (0)
I	19 (26)	1 (0)	18 (28)	2 (0)
J	20 (27)	1 (0)	16 (22)	4 (6)
K	16 (24)	1 (0)	16 (23)	1 (0)
L	19 (21)	0 (0)	16 (24)	3 (0)
M	20 (24)	0 (0)	17 (22)	3 (2)

Tabell 1b: Antal *Legionella*-negativa och *Legionella*-positiva prov med odling och MONOS i varmvatten och (kallvatten) i sjukhus i olika städer

Stad	Leg -	Leg +	MONOS -	MONOS +
A	14 (2)	20 (1)	23 (2)	10 (1)
B	-	-	-	-
C	0 (1)	7 (0)	3 (0)	4 (1)
D	2 (80)	13 (1)	7 (1)	8 (0)
E	7 (2)	10 (0)	17 (3)	0 (0)
F	11 (2)	6 (11)	15 (1)	3 (0)
G	0 (1)	13 (1)	2 (2)	11 (0)
H	5 (2)	1 (0)	6 (1)	0 (0)
I	12 (11)	0 (0)	10 (1)	1 (0)
J	11 (1)	4 (0)	15 (11)	1 (0)
K	2 (0)	5 (0)	7 (0)	0 (0)
L	10 (3)	0 (0)	10 (2)	0 (0)
M	-	-	-	-

Antal Legionella odlings-positiva prov: (n=940)

vattenprov, total	123 av 834 =	15 %
pinnprov	9 av 106 =	8.5 %
kallvattenprov	15 av 397 =	4 %
varmvattenprov	108 av 437 =	25 %
utgående vatten från vattenverk	0 av 22 =	0 %

Inte bara antalet positiva prov var högre i varmvatten än i kallvatten, men också antalet *Legionella* bakterier (cfu/100ml) som påvisades i varmvattenproven (Tabell 2).

Medelvärde av antalet Legionellabakterier var 26 ± 49 resp. 1104 ± 3233 cfu/100ml i positiva kall- resp. varmvattenprov. Högsta värdet i kallvatten var 200 cfu/100 ml och i varmvatten 30.000 cfu/100 ml.

Tabell 2: Antal *Legionella*-positiva kall- och varmvattenprov med olika halter av Legionellabakterier

Antal Legionella (cfu/100ml)	1-9	10-99	100-999	1000-9999	>10000
kallvatten, positiva prov	8	6	1	0	0
varmvatten, positiva prov	26	24	33	23	2

Antal Legionella MONOS-positiva prov (n=907):

vattenprov, total	127 av 696 =	18 %
pinnprov	24 av 75 =	32 %
kallvattenprov	27 av 389 =	7 %
varmvattenprov	100 av 434 =	23 %
utgående vatten från vattenverk	1 av 22 =	5 %

Fördelningen av positiva prov var likartad i vattenprov med odling och MONOS. I detalj fanns däremot många skillnader (6.3.). I korrelationsstudier ingår bara odlings-positiva prov.

6.2.1. Serogrupper

Med odling påvisades bara en art, *Legionella pneumophila*. Serotypningen visade att vattenisolaten av *Legionella pneumophila* ofta reagerade med mer än en antiserum. Detta tyder på att de samtidigt uttrycker flera olika ytstrukturer som är typiska för olika serotyper. Dessa reaktionskombinationer anges med snedstreck.

Följande serogrupper resp. serogrupperkombinationer påvisades:

1, 1/9, 1/10, 3/6, 3/6/12, 4, 4/5, 4/8/10/12/14, 4/8/10/13/14, 5, 5/8, 5/8/10, 8/10/13/14, 8/14, 9, 12, 12/13. Den vanligaste serogruppen var 3/6.

De olika serogrupperna var inte jämt fördelade från olika städer. I många städer påvisades bara en eller två olika serogrupper (Tabell 3) i kallvatten och varmvatten från sjukhus och andra byggnader.

Tabell 3: Serogruffördelning i olika städer

A	kv vv sjukhus vv nät	3/6, 8/10/13/14 3/6, 3/6/12, 8/10/13/14, 5, (1) 3/6, 3/6/9, 4, 4/5, 4/8/10/13/14, 4/8/10/12/14
B	kallvatten vv sjukhus vv nät	3/6, 1/9 (3/6, 1/9) 3/6, 3/6/12, 1/9
C	kallvatten vv sjukhus vv nät	1/10 1 1, 1/10, 1/9
D	kallvatten vv sjukhus vv nät	3/6, 8 3/6, 5/8/10 5, 1, 3/6, 9
E	kallvatten vv sjukhus vv nät	3/6 1/9, 1/9/12 3/6
F	kallvatten vv sjukhus vv nät	----- 3/6, 3/6/12, 12, 12/13 8/14
G	kallvatten vv sjukhus vv nät	----- 3/6 3/6
H	kallvatten vv sjukhus vv nät	----- 3/6, 12 3/6
I	kallvatten vv sjukhus vv nät	----- ----- 3/6
J	kallvatten vv sjukhus vv nät	----- 5 1
K	kallvatten vv sjukhus vv nät	----- 3/6 isolat dött
L	negativ	
M	negativ	

Serotyper inom parentes: inte påvisad i denna studie men kända serotyper från tidigare undersökningar

Serogrupp 3/6 påvisades i många städer, men stammarna från olika städer skilde sig på gennivå. Däremot kunde stammar med serogrupp 3/6 eller 3/6/12 och 12 som ibland påvisades i ett och samma prov ofta var identiska på gennivå (undersökningar pågår med olika molekylärbiologiska metoder inom bakteriologiska avdelning, Sven Löfdahl). I vissa fall hittades inte helt identiska men mycket lika serogrupscluster i varm- och kallvatten vilket tyder på expression av olika ytstrukturer under olika miljöförhållanden.

6.2.2. Kallvattenprov

Legionella påvisades med odling i endast 15 kallvattenprov.

Materialet är för begränsat för statistikbearbetning, därför tas i följande bara några grovre sammanfattningar upp.

6.2.2.1. Samband med odlings-positiva varmvattenprov

På 12 av de 15 provtagningsplatserna med positiva kallvattenprov påvisades *Legionella* också i varmvattensystemet. Bara i en fastighet påvisades *Legionella* i kallvatten men inte i varmvatten.

Två positiva prov påvisades från råvattnet till vattenverk (intag samt luktapparat för råvatten). Inga odlingsbara Legionellabakterier påvisades i vattenverk mellan olika behandlingssteg eller i utgående vatten.

6.2.2.2. Korrelation med vattenprovets temperatur

Fler *Legionella*-positiva prov hittades med stigande kallvattentemperatur (Tabell 4).

Tabell 4: Antal *Legionella*-positiva kallvattenprov i olika temperaturområde

Temp. (°C)	2-5	6-9	10-14	15-19	>20
Antal prov Leg -	5	88	126	60	15
Antal prov Leg +	0	2	6	3	3
% positiva prov	0	2.3	4.5	5	17

6.2.2.3. Korrelation med årstiden

En tendens till fler positiva kallvattenprov visade sig på våren och hösten. Inga positiva prov fanns juli/augusti och november/december (Tabell 5). Skillnaderna kan vara slumpmässiga, men en möjlig förklaring är dock en högre näringshalt i vattnet på våren och hösten på grund av algblooming och därmed bättre tillväxtpöjligheter för *Legionella*. Ett samband med AOC (lätt assimilerbart kol) i vattnet kunde dock inte visas (se varmvatten 6.2.3.). En annan möjlighet är ett ekologiskt samband med algpopulationen i

råvattnet. Här borde undersökningar av halten göras under en årscykel för att bekräfta dessa tendenser vid några vattenverk.

Tabell 5: Antal *Legionella*-positiva kallvattenprov, tagna under olika månader

Månad	Legionella -	Legionella +	% positiva prov
April	18	0	0
Maj	44	1	2
Juni	90	3	3
Juli	50	0	0
Augusti	29	0	0
September	55	3	5
Oktober	71	8	10
November	22	0	0
December	1	0	0

6.2.2.4. Korrelation med typ av råvatten

De flesta positiva kallvattenprov fanns i de ledningsnät där vattenverket använde ytvatten eller blandat vatten som råvatten (Tabell 6). Blandat vatten är här ett samlingsbegrepp för en blandning av grundvatten med och utan konstgjord infiltration samt när vatten blandades i nätet från vattenverk med olika råvattenkällor. Vattenverk som fått vatten från olika brunnar som blandas i början av nätet inkluderas under grundvattenverk. Bara ett positivt prov påvisades i nätprov från grundvattenverk utan konstgjord infiltration och inget positivt prov i vattenverk med konstgjord infiltration. Olika temperaturer i kallvatten kan uteslutas som förklaring till skillnaderna mellan råvattentyperna då medeltemperaturerna i kallvattenprov från vattenverk med olika råvattenkällor var mycket lika (11 ± 2 , 12 ± 4 , 12 ± 5 och 12 ± 4 °C för grundvatten utan , med konstgjord infiltration, ytvatten och blandvatten).

Tabell 6: Procentandel *Legionella-positiva* kallvattenprov från vattenverk som använder olika råvatten.

Råvatten	Legionella -	Legionella +	% positiva prov
Grund utan	77	1	1
Grund med	39	0	0
Ytvatten	196	8	4
Blandning	68 [#]	6 [*]	8

[#] 8 blandat i nätet, ^{*} 1 blandat i nätet

6.2.2.5. Korrelation med avstånd till vattenverk

Ingen korrelation påvisades mellan andel positiva prov i kallvatten och avstånd till vattenverk (Tabell 7).

Tabell 7: Andel *Legionella*-positiva kallvattenprov på provtagningsplatser med olika avstånd till vattenverk

Avstånd (km)	Legionella -	Legionella +	% positiva prov
0-9	217	7	3
10-19	82	4	5
20-45	41	2	5

6.2.2.6. Korrelation med klorbehandling i vattenverk

Fler positiva kallvattenprov hittades i ledningsnät från vattenverk som klorerade (Tabell 8). Dessa var främst ytvattenverk. De vattenverk som inte klorerade inkluderade två grundvattenverk utan och ett grundvattenverk med konstgjord infiltration och bara ett vattenverk med blandat vatten.

Tabell 8: Andel *Legionella*-positiva kallvattenprov i ledningsnät där vattenverken tillämpade klorbehandling respektive ej.

Klorering	Legionella -	Legionella +	% positiva prov
Nej	104	1	1
Ja	276	14	5

6.2.3. Varmvattenprov

Legionella påvisades i 25 % av alla undersökta varmvattenprov d.v.s. i 108 prov.

6.2.3.1. Korrelation med typ av byggnad

De flesta *Legionella*-positiva varmvattenproven fanns i stora varmvattenkomplex, som sjukhus (57 % positiva prov) och hotell (2 av 3 undersökta). I andra kommunala byggnader som förvaltningshus, servicehem, skolor och daghem var 23 % av varmvattenproven positiva (Tabell 9). Få positiva prover, 7 resp. 8 %, fanns i en- och flerfamiljshus.

Tabell 9: Andel Legionella-positiva prov från duschar i olika byggnader

Provplats	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
Vattenverk	4	0	-
Enfamiljshus	120	11	8
Flerfamiljshus	82	6	7
Sjukhus	77	79	51
Kommunala byggnader*	34	10	23
Hotell	1	2	-
Annat **	13	0	0

* förvaltningshus, servicehem, daghem, skolor, simhallar

** bensinstation, reningsverk, fabrik

På sjukhusen togs flera varmvattenprov från olika varmvattenberedare och duschar på avdelningarna. Därför särbehandlas sjukhus i många av de följande korrelationsstudierna. I 12 av 14 sjukhus hittades åtminstone ett positivt prov (86 % positiva sjukhus). Förutom vattenprov togs även pinnprov från inre ytor av duschslangar och dyl. (6.2.4.).

6.2.3.2. Korrelation med typ av råvatten

Legionella-positiva varmvattenprov fanns i vattensystem i byggnader som försörjdes med grund-, yt- eller blandvatten. Den lägsta andelen (11 %) positiva prov fanns i vattensystem som fick grundvatten med konstgjord infiltration, den högsta (31 %) i vattensystem med blandvatten (Tabell 10). Utanför sjukhuset hittades inga *Legionella*-positiva prov i byggnader försörjda med grundvatten med konstgjord infiltration (Tabell 11). I ett vattenverk (G) tillämpades ett ozoneringssteg i början av vattenbehandlingen. *Legionella* påvisades i 4 av 18 prov i ledningsnätet samt på sjukhuset.

Tabell 10: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (inklusive sjukhus) korrelerat med typ av råvatten

Råvatten	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
Grund utan	61	17	22
Grund med	51	6	11
Ytvatten	165	61	27
Blandning	54 [#]	24 [*]	31

[#] 8 blandat i nätet, ^{*} 1 blandat i nätet

Tabell 11: Andel Legionella-positiva prov från duschvatten i fastigheter (exklusive sjukhus) korrelerat med typ av råvatten

Råvatten	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
Grund utan	48	6	11
Grund med	29	0	0
Ytvatten	127	17	12
Blandning	50 [#]	6 [*]	11

[#]8 blandat i nätet, ^{*} 1 blandat i nätet

6.2.3.3. Korrelation med fastighetens byggår

Sjukhus undantogs från korrelationsanalysen eftersom ombyggnader pågår hela tiden. I enfamiljshus fanns *Legionella* -positiva prov bara bland hus byggda före år 1900 och efter 1969. Inga positiva prov påvisades i enfamiljshus byggda mellan 1900 och 1969 (Tabell 12). En möjlig förklaring till högre procentandel positiva prov i hus byggda efter 1969 är installation av värmepumpänläggningar, dvs. lågtemperatursystem, på 70-talet. Högre procentandel i mycket gamla hus kan beror på gamla ledningar med avlagringar som gynnar tillväxten av mikroorganismer.

Då det totala antalet varmvattenprov sammanfördes eller inom gruppen andra fastighetstyper som t ex. flerfamiljshus hittades ingen sådan korrelation (Tabell 12).

Tabell 12: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter med avseende på byggår. I Tabellen anges värden sammanlagt för alla byggnader utom sjukhus samt värden för bara enfamiljshus eller flerfamiljshus.

Byggår		1800-1899	1900-1929	1930-1949	1950-1969	1970-1979	1980-1992
alla	neg.	1	19	16	82	64	54
utan	pos.	2	0	4	5	10	6
sjukhus	% pos.	-	0	20	6	14	10

enfamilj	neg.	1	12	9	30	48	19
	pos.	2	0	0	0	6	3
	% pos.	-	0	0	0	11	14
flerfamilj	neg.	0	5	7	40	7	16
	pos.	0	0	2	2	2	0

6.2.3.4. Korrelation med avstånd till vattenverk

Ingen korrelation påvisades mellan avstånd till fastigheten eller sjukhus från vattenverket och procentandel positiva prov (Tabell 13,14, korrelationskoefficient mellan antal *Legionella* och avstånd till vattenverk $r = -0.02$).

Tabell 13 :Andel *Legionella*-positiva prov på provtagningsplatser med olika avstånd till vattenverk (exklusive sjukhus)

Avstånd (km)	Legionella -	Legionella +	% positiva prov
0-9	120	16	12
10-19	72	8	10
20-45	39	4	9

Tabell 14 :Andel *Legionella*-positiva prov på provtagningsplatser med olika avstånd till vattenverk (inklusive sjukhus)

Avstånd (km)	Legionella -	Legionella +	% positiva prov
0-9	135	48	26
10-19	110	29	21
20-45	39	4	9

6.2.3.5. Korrelation med vattenomsättning

Provtagningen utfördes då så var möjligt inom områden med både bra och dålig vattenomsättning i ledningsnätet från varje vattenverk. I de flesta vattensystem fanns inget samband mellan vattenomsättningen och antal *Legionella* positiva prov i området. I stad D t. ex. påvisades i ett vattenverksnät 3 (av 7) positiva prov i områden med bra vattenomsättning och 2 (av 7) positiva prov i områden med dålig vattenomsättning. Bara i stad C hittades 2 positiva prov från en och samma gata i ett område med dålig vattenomsättning. I stad A togs prov i fastigheter direkt på ändpunkterna i ledningsnätet. I 2 av 5 hittades *Legionella* i låga antal.

6.2.3.6. Korrelation med material i systemet

Ledningsmaterial till fastigheten

Ingen skillnad i antal positiva prov hittades mellan fastigheter som hade plast (PE, PVC, PEL, PEM, PEH), koppar eller järn (segjärn, gjutjärn, förzinkat stål) i servisledningen (Tabell 15).

Tabell 15: Andel *Legionella*-positiva prov i fastigheter (exklusive sjukhus) med olika ledningsmaterial i servisleddningen.

Material	Legionella -	Legionella +	% positiv
plast	86	10	10
järn	70	7	10
koppar	28	2	7

Material inom fastigheten

Inomhus hade 98 % av fastigheterna kopparledning. Duschhuvuden och duschslangarna var i 97 % av alla fall av plast. Omproven på duschslangar från fastigheter där *Legionella* hade påvisats i höga halter i duschvattnet visade en tillväxt av *Legionella* på insidan av slangarna och särskilt på vissa typer av packningar (6.2.5.). Fler undersökningar under väl definierade förhållanden behövs.

6.2.3.7. Korrelation med kemiska parametrar

pH:

Ingen korrelation mellan pH och andel positiva prov påvisades inom det normala pH-området (7-8.9) för vatten i sjukhus eller andra fastigheter (korrelationskoefficient mellan antal *Legionella* och pH: $r = -0.02$). Över pH 9 analyserades 35 prov, varav 1 positivt och i pH intervallet 6-6.9 fanns bara ett positivt prov (Tabell 16,17).

Tabell 16: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (exklusive sjukhus) relaterat till pH.

pH	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
6-6.9	0	1	
7-7.9	60	8	12
8-8.9	153	15	9
9-10	16	1	6

Tabell 17: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (inklusive sjukhus) relaterat till pH.

pH	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
6-6.9	0	1	
7-7.9	73	23	24
8-8.9	190	57	23
9-10	17	1	6

Hårdhet (°dH):

Ingen korrelation påvisades mellan hårdhet och andel *Legionella* positiva prov i vattenprov med 1-6.9 °dH (korrelationskoefficient mellan antal *Legionella* och hårdhet: $r = -0.05$). Bara 20% av proven hade hårdare vatten, varav 10 positiva prov av 70 analyserade (Tabell 18,19).

Tabell 18: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (exklusive sjukhus) relaterat till hårdhet.

°dH	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
1-3.9	73	9	11
4-6.9	48	7	13
7-9.9	10	3	23
> 10	17	1	6

Tabell 19: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (inklusive sjukhus) relaterat till hårdhet.

°dH	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiv
1-3.9	79	27	25
4-6.9	79	41	34
7-9.9	14	3	18
> 10	19	3	14

Järn (mg/ml):

Inga *Legionella* påvisades i vatten utanför sjukhus med järnhalter under 0.01 mg/l (Tabell 20). På sjukhus däremot fanns *Legionella* i 11 av 42 vattenprov med järnhalter under 0.01 mg/l (Tabell 21). I vattenprover med järnhalter över 0.01 och under 0.8 mg/l fanns ingen korrelation mellan järnhalten och antal *Legionella* positiva prov. Bara 3 vattenprov hade järnhalter över 0.8 mg/l, därav inget positivt. Korrelationskoefficient mellan antal *Legionella* och järnkonzentration: $r = -0.01$.

Tabell 20: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (exklusive sjukhus) relaterat till järnkonzentrationen.

Järn	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
< 0.01	24	0	0
0.01-0.029	101	15	13
0.03-0.049	32	5	14
0.05-0.099	51	4	7
0.1-0.8	28	3	11
> 0.8	2	0	-

Tabell 21: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (inklusive sjukhus) relaterat till järnkoncentrationen.

Järn	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
< 0.01	31	11	26
0.01-0.029	114	49	30
0.03-0.049	44	12	21
0.05-0.099	67	13	16
0.1-0.8	31	3	9
> 0.8	3	0	-

Klor:

a) Klorering på vattenverk

Flera positiva prov (13% resp. 27%) hittades i fastigheter och sjukhus försörjda med vatten från vattenverk som klorerade (Tabell 22,23) jämfört med fastigheter försörjda av vattenverk som inte klorerade (6% resp. 17.5 % pos.). Vattenverk som inte klorerade var 2 grundvattenverk med och 1 utan konstgjord infiltration som hade få *Legionella* positiva prov (se Tabell 5). Bara 1 vattenverk med blandat vatten hade ingen klorering och inget av ytvattenverken.

Den klorförening som användes till kloreringen hade inget samband med halten av positiva prov i fastigheter i de tillhörande näten (Tabell 24).

Tabell 22: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (exklusive sjukhus) där vattenverken tillämpade kloreringen respektive ej.

Klorering	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
- klor	74	5	6
+ klor	180	24	13

Tabell 23: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (inklusive sjukhus) där vattenverken tillämpade kloreringen respektive ej.

Klorering	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
- klor	99	21	17.5
+ klor	232	87	27

Tabell 24: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter där vattenverk tillämpade olika desinfektionsmedel.

Råvatten	Desinfektionsmedel											
	klorgas			kloramin			hypoklorit eller klordioxid			inget		
	Leg. -	Leg. +	% pos.	Leg. -	Leg. +	% pos.	Leg. -	Leg. +	% pos.	Leg. -	Leg. +	% pos.
Grund utan	0	0	-	4	1	-	6	1	-	38	4	10
Grund med	0	0	-	10	0	0	0	0	-	18	0	0
Yt	33	6	15	76	10	12	17	1	6	1	0	0#
Blandning	26	4	13	3	0	0*	5*	1*	-	16	1	6

industrivatten

* blandning i nätet

b) Klorkoncentration i vattenprovet

I vattenprover med koncentrationer av fritt klor överstigande 0.04 mg/l eller totalt klor överstigande 0.06 mg/l påvisades inga Legionellabakterier (Tabell 25-28). Bara ca. 5 % av varmvattenproven låg dock i detta intervall. Inga skillnader i procentandel positiva prov påvisades vid lägre klorhalter varken i sjukhus eller i andra fastigheter (Tabell 25-28). Korrelationskoefficient mellan antal Legionella och klorkoncentration: $r = -0.07$ och -0.04 för fritt resp. totalt klor.

Tabell 25: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (exklusive sjukhus) relaterat till koncentrationen fritt klor.

Klor (mg/l)	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
0	123	17	12
0.01-0.019	44	3	6
0.02-0.029	20	1	5
0.03-0.039	7	0	0
> 0.04	3	0	0

Tabell 26: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (inklusive sjukhus) relaterat till koncentrationen fritt klor.

Klor (mg/l)	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
0	158	68	30
0.01-0.019	44	5	10
0.02-0.029	22	8	26
0.03-0.039	7	3	-
> 0.04	11	0	0

Tabell 27: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (exklusive sjukhus) relaterat till koncentrationen totalt klor.

Klor (mg/l)	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
0	91	8	8
0.01-0.019	6	1	-
0.02-0.029	34	5	13
0.03-0.039	19	1	5
0.04-0.059	8	1	-
0.06-0.2	7	0	0

Tabell 28: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (inklusive sjukhus) relaterat till koncentrationen totalt klor.

Klor (mg/l)	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
0	124	37	23
0.01-0.019	6	6	50
0.02-0.029	34	9	21
0.03-0.039	22	13	36
0.04-0.059	28	14	33
0.06-0.2	7	0	0

6.2.3.8. Korrelation med AOC

Ingen skillnad konstaterades i AOC-halt mellan negativa och positiva Legionellaprov (50 - 80 µg acetat/l). (utvärdering pågår).

6.2.3.9. Korrelation med andra bakterier

Totalantal heterotrofa bakterier

Antalet *Legionella*-positiva prov avtog med stigande halter av 2d eller 7d heterotrofa bakterier i vattenproven (Tabell 29,30). Detta berodde inte på metodsvårigheter dvs mer överväxt med andra bakterier på odlingsplattor. Även från vattenprov med låga halter heterotrofa bakterier fanns svåravlåsta plattor med växt av många andra bakterier och tvärtom fanns det renkulturer av *Legionella* på plattor från vattenprov med höga totalantal, främst beroende på florans antibiotikakänslighet. Det fanns dock inget samband mellan antalet Legionellabakterier och totalantalet heterotrofa bakterier ($r = -0.02$ och 0.00 för 2d resp. 7d total antal).

Totalantal bakterier räknad med epifluorescens

Ingen korrelation påvisades mellan antalet *Legionella* och totalantalet bakterier ($r = -0.03$).

Tabell 29/30: Korrelation mellan antal Legionella och 2d eller 7d totalantal bakterier.

Legionella (cfu/100ml)	2 dygn totalantal (cfu/ml)			
	0-99	100-999	1000-9999	10000-99999
0	62	75	105	67
1-9	7	7	7	1
10-99	5	7	8	3
100-999	9	11	7	5
1000-9999	6	7	6	4
10000-100000	0	0	2	0
Antal pos. prov	27	32	30	13
% pos. prov	30	30	22	16
				≥ 100000

Legionella (cfu/100ml)	7 dygn totalantal (cfu/ml)			
	0-99	100-999	1000-9999	10000-99999
0	29	73	110	88
1-9	3	7	9	3
10-99	2	6	7	7
100-999	5	8	11	7
1000-9999	3	5	9	4
10000-100000	0	0	1	1
Antal pos. prov	13	26	37	22
% pos. prov	31	26	25	20
				≥ 100000

6.2.3.10. Samband med fjärrvärme

Legionella positiva prov hittades i 33 % av proven från fastigheter (inkl. sjukhus) med fjärrvärmesystem men bara i 14 % av proven från fastigheter (inkl. sjukhus) utan fjärrvärme (Tabell 31).

Tabell 31: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i fastigheter (inklusive sjukhus) som försörjdes med fjärrvärme respektive ej.

Värmesystem	Legionella neg.	Legionella pos.	% positiva prov
Fjärrvärme	167	81	33
Ej fjärrvärme	164	27	14

När man tittar närmare på fördelning i olika typer av byggnader (Tabell 32) så ser man att det var i kommunala byggnader (servicehem, simhallar, daghem, skolor) och hotell som man hittade flera positiva prov i fjärrvärmesystem än i varmvattensystem med oljepanna eller elvärme. Det fanns dock inte många undersökta byggnader av varje typ. I prover från flerfamiljshus och sjukhus, där många fler prov är tagna är andelen positiva prov lika med och utan fjärrvärme. I de 20 undersökta enfamiljshusen med fjärrvärme påvisades inga *Legionella*.

Tabell 32: Andel *Legionella*-positiva prov från varmvatten i olika fastigheter som försörjdes med fjärrvärme respektive ej.

Provplats	Fjärrvärme			Ej fjärrvärme		
	Leg -	Leg +	% positiv	Leg -	Leg +	% positiv
Vattenverk	2	0	0	2	0	0
Enfamiljshus	20	0	0	100	11	9
Flerfamiljshus	63	5	7	19	1	5
Sjukhus	63	66	52	14	13	48
Kommunala byggnader*	16	8	33	18	2	10
Hotell	0	2	-	1	0	-
Annat**	2	0	-	9	0	-

* förvaltningshus, servicehem, daghem, skolor, simhallar

** bensinstation, reningsverk, fabrik

6.2.3.11. Samband med typ av varmvattensystem

Få uppgifter kunde samlas in om varmvattensystem i flerfamiljshus, skolor, daghem och dyl. Några enfamiljshusägare däremot gav mycket mer uppgifter om vattensystemet (Tabell 33,34). Något samband mellan volym och temperatur hos varmvattenberedare och förekomsten av *Legionella* kunde i andra fastigheter än sjukhus inte påvisas. Även i två system där beredaretemperaturen angivits till 40-49 °C påvisades inga *Legionella* i systemet. Dessa fynd står i motsats till en studie som gjorts med fastigheter med värmepumpanläggningar (jordvärmehus) där förekomsten av *Legionella* var kopplade till lågtemperatur.

I en stad (F) undersöktes tre av de fyra fastigheterna som försörjdes med fjärrvärme och där *Legionella* påvisades i systemet. I alla system fanns det en typ av värmeväxlare med packningar. En jämförande uppföljningsundersökning med helsvetsade värmeväxlare och värmeväxlare med packningar vore önskevärld.

Tabell 33: Andel *Legionella*-positiva prov från duschvatten i enfamiljshus med olika vattentemperatur i varmvattenberedaren.

	Temperatur i varmvattenberedare (°C)					
	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-99
Leg. -	2	19	43	17	8	1
Leg. +	0	3	2	2	1	0

Tabell 34: Andel *Legionella*-positiva prov från duschvatten i enfamiljshus med olika volym av varmvattenberedaren

	Volym av varmvattenberedare (l)					
	10-99	100-199	200-299	300-399	400-499	500-599
Leg. -	10	23	30	17	3	4
Leg. +	1	2	3	2	0	0

6.2.3.12. Samband med typ av varmvattensystem-sjukhus och hotell

Legionella påvisades i 15 av 29 varmvattenberedare. Där *Legionella* fanns i varmvattenberedare påvisades de i de flesta fall också i tillhörande duschar. I varmvattensystem där inga *Legionella* påvisades i varmvattenberedare var risken för tillväxt i duscharna lägre.

Uppgifter om typ av, och temperatur i, varmvattenberedare samt temperatur i ledningsnätet och fynd av *Legionella* är sammanfattade i Tabell 35.

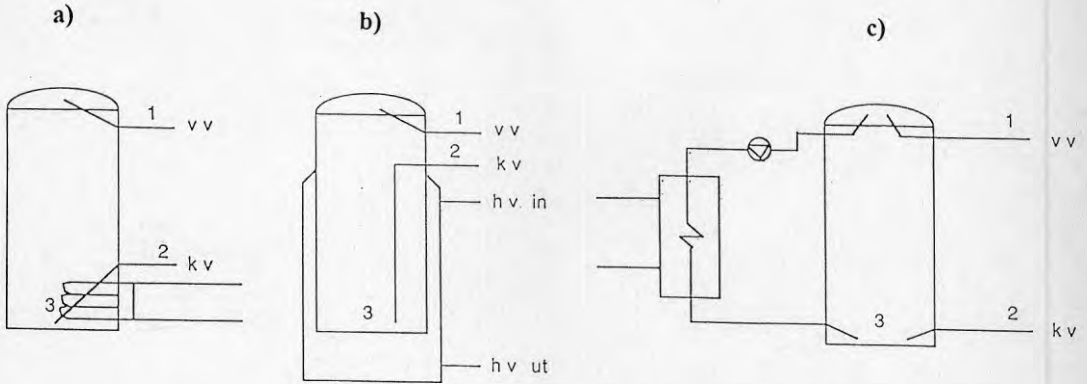
De olika typerna av varmvattenberedare kan sammanföras till följande 5 grupper:

Enkla förrådsberedare, enkla genomströmningssystem, flerstegiga system, förrådssystem med blandning, genomströmningssystem med blandning (fig. 9).

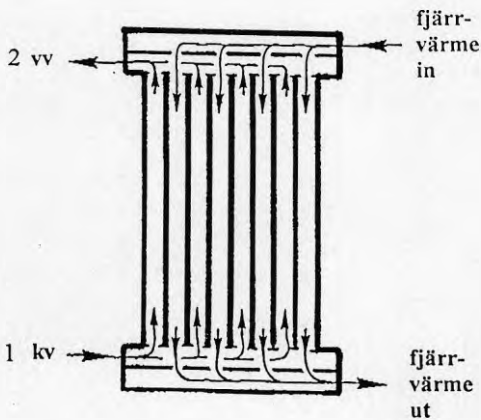
Figur 9: Principfigurer av de olika typer av varmvattenberedaresystem på sjukhus och hotell. vv = varmvatten, kv = kallvatten. Provtagningspunkter : 1 ingående kallvatten, 2 utgående varmvatten, 3 misstänkta kallaste ställe(n) i varmvattenberedaresystem.

I. Förrådsberedare (med olika uppvärmningsarter)

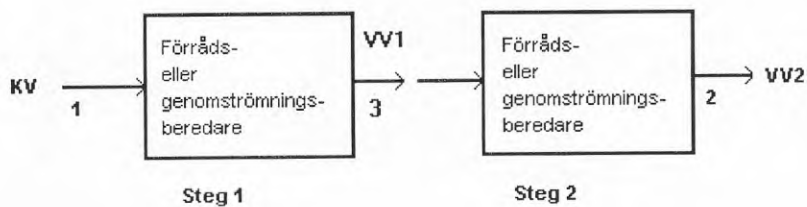
a) värmeslinga i beredare, b) dubbelmantlad beredare, c) beredare med extern uppvärmning (värmeväxlare)



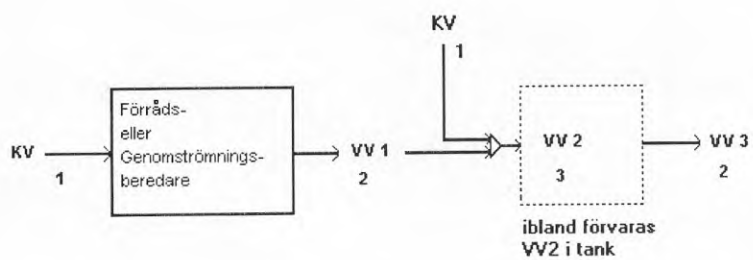
II. Genomströmningsberedare (här plattvärmväxlare)



III. Tvåstegiga system (temperatur: $VV1 < VV2$)



IV. System med blandning (temperatur: $VV1 > VV2$)



Tabell 35: Kort sammanfattning av varmvattenssystemens utformning och resultat från Legionellaanalysen på sjukhus och hotell.

Sjukhus Nr.	Nr.	Varmvattenberedare				Legionella (cfu/100 ml) vatten	Byggår	Fjv	Duschar Maximaltemp+/ Medelvärde (°C)	Legionella område / medelvärde (cfu/100 ml)
		Typ	Temp (°C) inställt / mätt	Volym (l)	Blandning (Bl-temp.)					
1	1	genomstr.	60	-	nej	9	1938	j	52-56 / 53	0-700 / 350
	2	förråd	55	200	nej	0	1951	j	45-50 / 48	30-5700 / 1500
	3	förråd	55	112	nej	1300	1935	j	50-52 / 51	1200-10000 / 3700
2	1	genomstr.	55	-	nej	100	1907	j	-	0-8 / 2
	1	förråd	55	3x5000	nej	0	1988	j	-	-
3	1	förråd	55	60#	nej	0	-	j	35-50 / 46	0 (Monos +)
	2	förråd	55	2x500	nej	0	-	n	43	0
4	1	förråd	70	-	ja (60)	1	-	j	47	1-600 / 120
	2	genomstr.	60	-	nej	0	-	j	till vvx 2	-
5	1	genomstr.	40	37	nej	0	-	j	56-61 / 58	0-3 / 1
	2	genomstr.	60	57	nej	0	-	j	47-55 / 51	0-30000 / 900
6	1	förråd	80	5000	ja (55)	0	1920	n	49-54 / 52	0
	2	genomstr.	80	-	ja (55)	0	1968	n	47-55 / 50	30-2600 / 630
7	1	förråd	60	5000	nej	1	16000	j	38-47 / 48	400-4000 / 1500
	2	genomstr.	55	-	nej	-	-	j	42-58 / 53	4-500 / 190
8	1	genomstr.	80	-	ja (55)	-	500*	j	62-71 / 67	0-900 / 200
	1	förråd	70	61	nej	60	1932	n	59-60 / 60	0
9	2	förråd-vvx	60	2000	nej	0	1973	j	47-61 / 54	0
	3	förråd-vvx	60	2x4000	nej	0	1987	j	50 / 50	6-20 / 9
10	1	förråd	55	100	nej	6	1970	j	56 / 56	0
	2	förråd	till	200	nej	0	1973	j	52 / 52	0
3	1	förråd	-	500	nej	0	1968	j	48 / 48	130-1900 / 980
	2	genomstr.	60	-	nej	140	1980	j	45 / 45	1800-8000 / 2200
11	1	förråd	48	2500	nej	30	1982	j	47-50 / 49	2-200 / 100
	2	förråd	50	500	ja (45)	15	1966	j	41-48 / 43	400-1300 / 970
3	1	förråd	50	2x4000	nej	700	1887	j	41-56 / 51	0 (Monos +)
	2	förråd	65	2x	nej	0	0	j	50 / 50	120, 400
12	1	förråd	40-45	6000	ja (62)	5000	-	j	51	0
	2	förråd	90-50	58b	nej	-	±	j	58	0
3	1	förråd	62	1000	nej	0	1000	j	72, 80	0
	2	förråd	80	1000	nej	0	0	j	62	30, 40
5	1	förråd	90	-	ja (62, 38b)	-	4000	j	60, 68	1, 50
	2	förråd	90	-	ja (62, 61b)	-	0	j	-	0
14	1	vvx	-	-	nej	25	-	-	-	-
	2	förråd	40	38	ja(52)	5600	-	j	(38)	10, 20

Fjv = fjärrvärme, ± = enstaka Legionellabakterier påvisades, inga hitades dock vid omprov, # = varmvattenberedare sitter externt vid varje dusch, * lägst belägna punkt av värmeväxlare

6.2.3.12.1. Enkla förrådsberedare

Förrådsberedare var den mest vanliga typen av varmvattenberedare på sjukhus. Ca. hälften av alla undersökta varmvattenberedare var av denna typ med volymer mellan 60-7000 l. I 7 av 13 vanliga förrådsberedaresystem påvisades *Legionella* bakterier redan i själva beredaren och i 6 fall var också tillhörande duschar positiva för *Legionella*. I ett system påvisades *Legionella* i beredaren, men inte i duschar och i bara ett system påvisades *Legionella* i duschar men inte i varmvattenberedare. Detta visar att tillväxten av *Legionella* i de flesta fallen skedde redan i själva varmvattenberedaren och som en följd av detta också i duscharna. Faktorer som var kopplade till tillväxten av *Legionella* var temperaturen i beredaren och/eller i varmvattensystem till duschar, och beredarens volym. I alla fall där temperaturen i utgående vatten från beredaren underskred 50 °C påvisades *Legionella*, oberoende av beredarens storlek. I vissa fall underskred den uppmätta temperaturen den inställda temperaturen med 10 °C. I alla beredare som hade en volym av 1000 l eller mer påvisades Legionellabakterier oberoende av temperaturen i utgående varmvatten. Detta var säkert på grund av skiktning i beredaren som ledde till låga temperaturer i botten och därmed goda tillväxtmöjligheter för *Legionella* (se t. ex. vvb 1 på sjukhus 7 eller vvb 3 på sjukhus 13). Ansamling av mycket utfällningar på botten av den flesta undersökta förrådsberedare förstärkte säkert denna effekt. I små förrådsberedare med volymer ≤ 500 l och temperaturer > 50 °C påvisades inga eller bara enstaka Legionellabakterier. Ändå kunde *Legionella* växa till i anslutna varmvattensystem om temperaturen i nätet sjönk under 50°C (se t. ex. vvb 2 på sjukhus 1). Två varmvattenberedare beskrevs som värmväxlare med förrådstank. Temperaturen var 60 °C och volymen 2000 resp. 4000 l. Inga *Legionella* påvisades i dessa system, varken i beredaren eller i anslutna duschar. En förrådsberedare (beredare 2 på sjukhus 13) fick 90 °C hett vatten från ett värmväxlarsystem på natten. Vattnet svalnade under dagen till ca. 50 °C (mätt 58 °C på morgonen). Inga Legionellabakterier påvisades i detta varmvattensystem. Sjukhus nr. 3 hade en stor förrådsberedare plus många små beredare med 60 l volym externt till duscharna (temperatur i varmvattenberedarna var 60 °C). Inga *Legionella* påvisades i detta system.

6.2.3.12.2. Enkla genomströmningssystem

I fyra varmvattensystem värmdes vattnet med enstegiga genomströmningssystem till ca. 55 °C. I alla dessa system påvisades *Legionella* i beredaren och i tillhörande duschar. Temperaturen i nätet var i många fall låg.

6.2.3.12.3. Tvåstegiga system

I tre system värmdes vattnet i två steg. Ett system bestod av två efter varandra installerade värmväxlare som värmdes vattnet till 40 resp. 60 °C. Inga Legionellabakterier påvisades i beredaren eller tillhörande system. Temperaturen i systemet var hög (56-61 °C). I de två andra systemen förvarades det uppvärmda vattnet från första uppvärmningssteget i förrådsberedare. Temperatur på vattnet i beredarna var 40-45 °C. Höga antal Legionellabakterier (5000-5.600 cfu/100ml) påvisades i dessa beredare. I steg två blandades det 40°iga vattnet med hetvatten till en temperatur av 52 resp. 62 °C. I båda varmvattensystem påvisades *Legionella* i duscharna.

6.2.3.12.4. Förrådssystem med blandning

I fem system värmdes vattnet till 50-90 °C och blandades därefter med kallare vatten till den önskade temperaturen (45-62 °C). I några system förvarades det varma vattnet, i andra det blandade vattnet i förrådsberedare. *Legionella* påvisades i 2 av 5 förrådsberedare som hade en temperatur av 50°C resp. 62 °C i utgående vatten. Temperaturen på botten av sist nämnda beredaren var dock bara 38 °C. I fyra av fem tillhörande varmvattensystem påvisades *Legionella*. I två system med blandtemperaturer på 45 resp. 55 °C var temperaturen i många duschar bara 47 °C.

6.2.3.12.5. Genomströmningssystem med blandning

Två genomströmningsberedare värmdes vattnet till 80 °C som sedan blandades till 55 °C. Temperaturen i tillhörande nät var 42-58 °C. *Legionella* påvisades i en av beredarna och dess tillhörande nät, men inte i det andra systemet. Inga skillnader mellan systemen har beskrivits.

I de flesta system var det ingen skillnad i antal *Legionella* om duschar låg nära eller långt ifrån varmvattenberedare. En faktor som hade större betydelse var vattenomsättningen dvs om duschar användes ofta eller sällan. I de flesta fall var antalet *Legionella* högre i sällan använda duschar.

6.2.4. Pinnprov

Påvisande av *Legionella* i pinnprov med odling var svårt på grund av att höga antal andra bakterier på odlingsplattor, även med antibiotika och syrabehandling, störde i avläsningen. Med odling påvisades *Legionella* därför bara i 9 av 106 (8 %) prov. När *Legionella* påvisades med odling i pinnproven fanns i de flesta fall mycket höga värden av *Legionella* i de tillhörande duschvattenproverna. Med MONOS påvisades *Legionella* i många fler pinnprov (24 av 106 = 23 %, se 6.3.).

6.2.5. Omprov

I fastigheter med höga antal Legionellabakterier i duschprov gjordes en andra provtagning somgång för att bedöma om tillväxten hade skett i hela varmvattensystemet, eller bara lokalt i duschen. Ett blandvattenprov togs från duschen före spolning och ett efter 10 min spolning (prov 1 resp. 2), samt ett varmvattenprov från tvättfatet efter spolning (prov 3). I 20 % av omproven var antalet Legionellabakterier lika i de tre provpunkterna, vilket tyder på att tillväxten skedde redan i varmvattenberedare och ingen ytterlig tillväxt skedde i duschen. I andra fall (30 %) hittade man *Legionella* i höga antal i prov 1, i lägre antal i prov 2 och inga *Legionella* i prov 3. Tillväxten hade bara skett i duschen. I de flesta fastigheter (50 %) hittade man en blandning av de två förra fallen, tillväxten skedde alltså både i varmvattenberedare och duschen.

Där hög tillväxt hade skett lokalt i duschen undersöktes själva duschslangen och duschhuvudet med avseende på förekomsten av *Legionella*. *Legionella* påvisades med odling och MONOS på insidan av slangarna och särskild på duschslangtätningar (röda fibertätningar) som redan vid en separat materialtest hade visat en hög tillväxt av *Legionella*.

6.3. Metodjämförelse

Parallellt med odlingen av *Legionella* gjordes också analysen med monoklonala och polyklonala antikroppar mot *Legionella pneumophila* i såväl vatten som pinnprov samt PCR på utvalda vattenprov (PCR pågår).

6.3.1. Pinnprov

Från insidan av duschslangar, duschhuvudet och tätningar på sjukhus togs totalt 106 pinnprov. Bara i 9 påvisades *Legionella* med **odling** (Tabell 36). Med **MONOS** påvisades *Legionella* däremot i 24 pinnprov. I 5 pinnprov där *Legionella* påvisades med odling hittades *Legionella* inte med MONOS.

Pinnprov är svåranalyserbara prov med båda metoderna, odling och MONOS. Många odlingsplattor var överväxta med andra bakterier och autofluorescerande flockar gjorde det svårt att avläsa epifluorescenspreparaten med MONOS.

Inga analyser med polyklonala antikroppar utfördes på pinnproven.

6.3.2. Vattenprov

De flesta kall- och varmvattenprov var negativa med såväl **odling** som **MONOS**. Med **MONOS** påvisades *Legionella* i flera prov än med odling (Tabell 37,38). Det fanns dock också prov där *Legionella* påvisades med odling men inte med MONOS. Denna skillnad mellan metoderna leder till att (om man tar odling som referensmetod) specificiteten av MONOS-testen bara var 27 och 45 % i kall- resp. varmvatten, medan sensitiviteten låg nära 90 %. När man tar hänsyn till att detektionsgränsen för MONOS-testen ligger på 20 celler per 100 ml medan man hittar 1 cfu/500ml med odling och exkluderar alla prov som hade < 20cfu/100ml ligger sensitiviteten av MONOS-testen på 50 och 63 % i kall- resp. varmvatten. I alla andra MONOS-negativa och odlings-positiva prov låg halten av Legionellabakterier över detektionsgränsen av MONOS-testen. För MONOS-testen utfördes dock två centrifugeringssteg där man säkert förlorade celler.

Vissa vattenprover innehöll höga antal odlingsbara *Legionella* och var ändå negativa i MONOS-testen. Uttryck av ytstrukturer som behövs för MONOS-testen kan vara annorlunda när Legionellabakterier anpassat sig till vattenmiljön.

Bara några få av de odlings-negativa och MONOS-positiva proven var svårästa på odlingsplattorna. Man måste alltså utgå ifrån att det var icke-odlingsbara Legionellabakterier som man påvisade med MONOS eller att korsreaktioner förekommer med andra vattenbakterier.

I de flesta varmvattensystem stod MONOS-positiva och odlings-negativa prov i samband med andra odlings-positiva varmvattenprov från samma område. I städer med många odlings-positiva prov hittade man också många MONOS-positiva prov även om inte alla prov var positiva med båda metoderna (Tabell 1a, 1b). I städer som hade inga eller bara få odlings-positiva prov hittade man också få MONOS-positiva varmvattenprov. Detta tyder på att de MONOS-positiva celler var icke-odlingsbara Legionellabakterier.

I kallvattenprov däremot påvisades *Legionella* i många områden och städer som inte hade ett enda odlings-positivt prov, varken i varm- eller i kallvatten. Detta kan tyda på korsreaktioner med normalt förekommande vattenbakterier.

I prov som var positiva med odling och MONOS översteg i 20 prov antalet *Legionella* med MONOS antalet odlingsbara *Legionella* och i 34 prov var det tvärtom.

Med **polyklonala antikroppar** hittades *Legionella* i 35-90 % av proven, beroende på art resp. serotyp. Preparaten var mycket svåra att avläsa. Många korsreaktioner observerades med bakterier som morfologiskt kunde identifieras som icke-*Legionellabakterier* (t. ex. *Caulobacter*). Vi antar därför att många positiva fynd av *Legionella* med polyklonala antikroppar beror på korsreaktioner med andra vattenbakterier.

Tabell 36: Metodjämförelse mellan odling (Leg) och direktdetektion av *Legionella* med monoklonala antikroppar (MONOS) i pinnprov. Värdena anger antal positiva prov.

	Leg. +	Leg. -	
MONOS +	4	20	24
MONOS -	5	77	82
	9	97	106

Tabell 37: Metodjämförelse mellan odling (Leg) och direktdetektion av *Legionella* med monoklonala antikroppar (MONOS) i kallvattenprov. Värdena anger antal positiva prov.

	Leg. +	Leg. -	
MONOS +	4	23	27
MONOS -	11	350	361
	(7prov<20cfu/100ml)		
	15	373	388

Tabell 38: Metodjämförelse mellan odling (Leg) och direktdetektion av *Legionella* med monoklonala antikroppar (MONOS) i varmvattenprov. Värdena anger antal positiva prov.

	Leg. +	Leg. -	
MONOS +	44	28	72
MONOS -	53	187	240
	(27prov<20cfu/100ml)		
	97	215	312

6.4. Mykobakterier

I 44 % av kallvattenprov och i 61 % av varmvattenprov påvisades mykobakterier. Även utgående vatten från de flesta vattenverk innehöll mykobakterier (se bilaga 6, Mykobakterier). I vatten med klorhalter > 0.04 mg/l påvisades inga mykobakterier. Antalet positiva prov steg med totalantalet heterotrofa bakterier i vatten. Flera arter av mykobakterier påvisades, i vissa fall t.o.m. i samma prov. Karakterisering och typning av dessa liksom bedömning av fyndens relevans pågår och kommer att rapporteras separat.

7. Förslag till provtagning för *Legionella* från vatten och installationer

7.1. Provtagningskärl, Transport

Vattenprov tas i sterila polyetylen eller glasflaskor. Flaskornas volym ska vara 500-1000 ml för att möjliggöra olika analyser på laboratoriet. Mindre flaskor eller rör med skruvlock används till provtagning av pinnprov, sedimentprov o dyl.

Om vattnet är klorerat används flaskor som innehåller kaliumtiosulfat för att neutralisera klorret. Användning av natriumtiosulfat rekommenderas ej, då *Legionella* är natriumkänslig. Proven transporteras till laboratoriet så snabbt som möjligt utan nedkylning under 10 °C, skyddade mot värme och solljus.

7.2. Provtagningsplatser

7.2.1. Allmänt

Om man misstänker att *Legionella* finns i ett system är det bra att före provtagningen gå igenom vattensystemets uppbyggnad med en tekniker som känner till systemet. Särskilt följande punkter skall iakttas:

- varifrån kommer kallvattnet till fastigheten, finns det kallvattentankar
- hur är varmvattenberedare, varmvattentankar, pumpar o. dyl. placerade
- vilka material ingår i ledningar, armaturer, duschar osv.
- finns det kyltorn i närheten, varifrån kommer vattnet till kyltorn, hur är det uppbyggt
- kan det finnas en förbindelse mellan kyltornsvatten och vattensystemet i byggnaden
- finns det luftkonditioneringsystem eller luftbefuktare
- finns det avhärtningsfilter i systemet

7.2.2. Kallvatten

Prov tas på följande ställen:

- **inkommande vatten** till byggnaden
- **i vattentankar**
- i ett eller flera **tappställen** som ligger långt ifrån inkommande vatten, direkt före spolning (mät temperaturen) och efter 5-10 min. spolning (mät tills temperaturen är konstant). För att verkligen få bara kallvatten utan inblandning av varmvatten kan det vara nödvändigt att ta bort armaturer, särskilt om man har ettgreppsblandare.

7.2.3. Varmvatten

Prov tas på följande ställen:

- **varmvattenberedare**: ingående kallvatten (1), utgående varmvatten (2), bottensediment resp. stället med den misstänkt lägsta temperaturen (3) (se fig. 9, mät temperatur på alla ställen). Om utgående vatten inte är tillgängligt, tas vatten från närmaste tappställe efter 10 min. spolning eller ett prov i anslutning till bottensedimentprovet efter spolning till konstant temperatur. Om vattnet värms upp i flera steg tas prov även från första uppvärmningssteget.
- **tappställen**: varmvatten före och efter spolning till konstant temperatur (notera temperaturen). Välj tappställen som ligger nära resp. långt ifrån varmvattenberedare. Ta särskild hänsyn till tappställen som ligger efter avhärtningsfilter.
- **duschar**: blandvatten (ca. 40 °C, öppna både varm- och kallvattenkran resp. ställ ettgreppsblandare på mitten) direkt före spolning och efter 10 min. spolning (mät temperaturen). Välj duschar som ligger nära resp. långt ifrån varmvattenberedaren, samt duschar som används ofta resp. sällan. Ta särskild hänsyn till duschar som ligger efter avhärtningsfilter.

7.2.4. Kyltorn

Obs! Risk för aerosolinandning under provtagningen. Vidta säkerhetsåtgärder! (Anläggningen får ej generera aerosoler under tiden för provtagning. Om detta ej går att undvika bör heltäckande ansiktsmask bäras, eller automatisk provtagningsutrustning användas.)

Prov tas på följande ställen:

- i huvudtanken
- i ventilen för det inkommande vattnet i kyltornets bassäng
- provtagningskran på inkommande vatten
- i bassängen längst bort från inkommande vatten med särskild hänsyn till ev. bottenslam och vattenytan.
- vatten som återkommer från cirkulationssystem

7.2.5. Andra system

I provtagningen inkluderas också andra aerosolbildande system som fontäner, luftfuktare och luftkonditioneringsystem.

8. Analysmetodik för materialprovningar gällande tillväxt av *Legionella*

Legionella överlever men växer inte till i renkultur i vatten. I blandkultur med andra vattenbakterier kan *Legionella* däremot växa till om näringsförhållandena är goda. Därför måste en materialprovningstest med *Legionella* också inkludera andra bakterier.

Förslag till materialtestning:

1. Materialen rengörs genom att tvätta dem i kokande vatten i maximalt 1 minut. Ingen sterilisering av materialen skall utföras för att inte ändra ytegenskaper av och ev. näringsämne i materialen. Sterilisering ska bara ske med material som används i steril form och då enligt tillverkarens anvisning.
2. Materialen läggs i sterila kärl som förslutes med material som inte signifikant påverkar tillväxten av bakterier (t. ex. silikonproppar). Som kontrollmaterial används sterila glaspärlor eller teflon som inte gynnar tillväxten av bakterier. Som positiv kontroll används paraffinvax som är känt att stimulerar tillväxten av många bakterier.
3. Till alla kulturer tillsätter man så mycket avklorerat, sterilfiltrerat, autoklaverat kranvatten att förhållandet mellan material och vatten är ca. 1:10 och i samma proportion för alla material.
4. *Legionella* ympas till alla paralleller i en slutkoncentration av ca. 10^4 bakterier/ml. Hittills användes bara *Legionella pneumophila* som teststam.
5. Andra vattenbakterier ympas i kulturerna genom att tillsätta vatten från ytvatten där det misstänks finnas många olika bakterier.
6. Två gånger i veckan byts 99% av vattnet mot färskt avklorerat, sterilfiltrerat, autoklaverat kranvatten och antalet Legionellabakterier och totalantalsbakterier bestäms.
7. I kulturer där *Legionella* inte växer till avtar antalet Legionellabakterier på grund av utspädningen. Om Legionellabakterier växer är antalet konstant eller ökar.
8. Testen utförs i 12 veckor.
9. Därefter analyseras även ytorna av materialen på förekomsten av *Legionella* och andra vattenbakterier både med odling och mikroskopering.
Slangar med stor diameter med olika materialsammansättning på ut- och insidan testas i bitar som försluts med silikonproppar i ena änden och användes därefter som flaskorna ovan. Som kontroll användes en flaska som försluts med en silikonpropp och inkuberades upp och ned för att efterlikna försöket med slangbitarna.

Begränsningar med den nuvarande materieltesten:

1. Kranvatten som används varierar mellan undersökningarna
2. Blandfloran från ytvatten varierar mellan undersökningarna
3. Det har observerats hämning av *Legionella* på grund av tillväxt av vissa vattenbakterier (t. ex. *Xanthomonas maltophilia*) och testen kan därför ge ett negativt resultat.

Det vore önskvärt att utveckla ett testsystem med:

1. Syntetisk medium istället för kranvatten
2. En definierad blandflora i en parallell till naturligt vatten
3. Inkludera en kontroll vid varje provtagning för att upptäcka utvecklingen av *Legionella*-hämmande bakterier

9. Diskussion

9.1. Förekomst av *Legionella* i miljön

Legionella isolerades för första gången från miljöprover 1979. (Morris et al., 1979). I samband med ett utbrott i Bloomington, USA, isolerades bakterien från jord och från ett näraliggande vattendrag. Härefter har olika arter av *Legionella* återfunnits i låga antal från många naturliga miljöer, inkluderande vattendrag, jord och till och med i association med högre växter i tropiska klimat (Fliermans et al., 1979, Colbourne et al., 1988, Steele et al., 1990 a,b, Ortiz-Roque et al., 1987). Indirekt påvisande har också skett från grundvatten. I miljön lever *Legionella* i nära association med andra bakterier, alger och protozoer. I många av de undersökningar som utförts från miljöprover har inte Legionellabakterierna kunnat odlas direkt, men istället påvisats mikroskopiskt med hjälp av fluorescerande antikroppar. Eftersom de inte kunnat odlas fram har man antagit att *Legionella* kan övergå i en icke odlingsbar fas (Colbourne et al., 1988), vilket visats förekomma för många andra bakterier (McKay, 1992, Weichert et al., 1992). Det kan dock i vissa fall också röra sig om en falsk positiv identifiering, speciellt i de fall man använt sig av polyklonala antikroppar, vilket vi visat i denna studie.

I vår undersökning har vi bara återfunnit *Legionella* med direktodling i en av de råvattentäkter, ett ytvatten, som undersökts. Av praktiska skäl har volymer över 500 ml inte analyserats. Avsaknaden av positiva fynd kan naturligtvis bero på att dessa bakterier inte finns närvarande eller endast förekommer i mycket låga halter i råvattnet, och därför inte fångats upp med de analyserade volymerna. Det kan också sammanhånga med att bakterierna finns i en icke-odlingsbar form. Undersökningarna med monoklonala antikroppar visar att bakterierna kan vara närvarande i 4 av vattentäktena.

Ett fynd av *Legionella* som måste poängteras var förekomsten i en luktapparat för sensorisk vattenanalys av råvatten vid ett vattenverk.

9.2. *Legionella* i vattenverk och vattenbehandling

Inte heller efter de olika stegen i de undersökta vattenverken gjordes några fynd av odlingsbara *Legionella*. Potentiellt skulle man kunna misstänka en tillväxt i vattenverkens långsamfilter, där en ansamling och tillväxt av alger, andra bakterier och högre organismer som t.ex. protozoer sker som en del av den naturliga reningen av vattnet. Dessa andra naturligt förekommande organismer skulle kunna gynna tillväxten av *Legionella*. Inga fynd med odling gjordes dock efter långsamfilter. Med monoklonala antikroppar påvisades dock *Legionella* i ett vattenverk efter långsamfiltret. Vid den normala odlingen av *Legionella* på laboratoriemedier har en tillsats av aktivt kol gjorts, främst för att reducera inverkan av toxiska komponenter på utväxten av *Legionella*. Man skulle därför på motsvarande sätt kunna tänka sig att de aktiva kolfiltren i vattenverken, där också en ansamling av andra mikroorganismer sker, skulle kunna vara en gynnsam plats för tillväxt av *Legionella*. Inget i framtagna försöksresultat visar dock att så skulle vara fallet. *Legionella* påvisades med monoklonala antikroppar i bara ett utgående vattenprov från

vattenverk. Detta är mycket lägre än vad som rapporterats från en amerikansk studie (Tison och Seidler, 1983).

Vid en jämförelse mellan olika vattenverk och distributionssystem är det intressant att notera att en högre frekvens positiva prover erhållits i verk försörjda med ytvatten respektive verk med en blandning av olika råvatten, än i grundvattenverk och verk med konstgjord infiltration. Detta skulle dels kunna tyda på att *Legionella* inte är vanligt förekommande i grundvatten, som några utländska studier gör gällande, dels att marken fungerar som ett effektivt filter både vad gäller avlägsnandet av *Legionella* och vad gäller avlägsnandet av substanser som kan gynna *Legionellas* tillväxt i det efterföljande ledningssystemet.

Det finns en tendens till en tidsmässig variation gällande fynd av *Legionella* i kallvatten till vår och höst. Materialet är här dock för begränsat för att kunna dra säkra slutsatser av dessa fynd. En säsongsvariation skulle kunna sammanhånga med algbloomingar i ytvattentäkter. Vi har dock inte i detta material sett ett samband mellan förekomsten *Legionella* i ledningsnäten, och halterna av tillväxtbefrämjande ämnen, mätt som assimilerbart organisk kol (AOC). I utländska studier har man inte heller sett ett samband mellan förekomst av *Legionella* och vattnets halt av organiska ämnen (Kusnetsov et al., 1993). Däremot har en studie visat högre incidens av Legionärsjuka, speciellt under hösten för icke turist-associerade fall (Bhopal och Fallon, 1991).

9.3. Effekt av desinfektion vid vattenverk

Legionella är mindre känslig för klor än den vanligt använda indikatorbakterien, *Escherichia coli*, men avdödas trots allt med tiden vid de normala klorhalter som används på utgående vatten från vattenverk. Detta gäller de fria bakterierna i vattnet, men inte de som förekommer som en del av biofilmen på rörens eller installationernas insida, och inte heller om de förekommer inne i högre organismer som protozoer. I dessa fall krävs höga klorhalter för en avdödning. I denna undersökning är det intressant att notera att fler positiva fynd har gjorts i ledningsnät och i byggnader som är anslutna till system som tillämpar desinfektion, än i system utan desinfektion. Det finns mer *Legionella* i ytvatten än i grundvatten. Vattenverk som tar ytvatten klorerar oftare än grundvattenverk. I verk med desinfektion kan också vattenkvaliten tänkas variera mer från tidpunkt till annan. Dessutom kan man anta att låga halter av desinfektionsmedel ger en svag ytoxidation av biofilmen vilket kan gynna frisättning av mindre partikelaggregat. Om *Legionella* förekommer i dessa biofilmer kan dessa i mindre utsträckning förekomma i det fria vattnet. Det bör dock noteras att inga positiva vattenprov erhållits i vatten vid tappställena, med så låga klorhalter som >0.04 mg/l fritt, eller >0.06 mg/l totalt klor. I en utländsk undersökning (ej publicerad) har man angett att *Legionella* inte återfunnits i system som tillämpar ozonering. Anledningen är oklar. Ozonering tillämpas inte i någon större omfattning vid svenska vattenverk. Endast ett verk med ozonering, dock som ett förbehandlingssteg och inte för slutlig desinfektion, har ingått i denna studie. I det efterföljande ledningsnätet och i anslutna byggnader fanns *Legionella*.

9.4. *Legionella* i det allmänna ledningssystemet

Legionella skulle potentiellt kunna växa till i biofilmen i det allmänna ledningssystemet. Fyndfrekvensen i kallvattennätet har dock generellt varit låg (endast i 15 av 397 undersökta prover) och där fynd gjorts har detta varit i låga halter. Det är därför inte troligt att det allmänna ledningssystemet har någon betydelse för tillväxten av *Legionella*. Detta grundar sig också på förhållandet att ingen positiv korrelation har erhållits mellan fyndfrekvens, eller halt av *Legionella* och avståndet till vattenverket och inte heller till vattenomsättningen i nätet. Bara i två städer fanns områden med låg vattenomsättning som var korrelerade med en högre fyndfrekvens av *Legionella*. Inte heller tycks vattnets pH-värde, inom det intervall som vattnet i svenska ledningssystem vanligen har, inverka på förekomsten av *Legionella*.

Gällande vattnets hårdhet har huvudsakligen mjuka till medelhårda vatten ingått i denna undersökning. Ingen korrelation mellan vattnets hårdhet i intervallet 1-10 tyska grader har erhållits med fyndfrekvens, eller halt av *Legionella*. I två verk var hårdheten över 10, med en något lägre fyndfrekvens. På basis av detta kan dock inga generella slutsatser dras. Vid odling av *Legionella* har järnhalten en positiv inverkan. Detta tycks dock inte vara fallet gällande järnhalterna i vattnet i allmän ledning eller i fastigheter i Sverige. Järnhalterna som påvisats i svenska vattensystem och särskilt i fastigheter är låga jämfört med andra korrelationsstudier. Ingen ökning av fyndfrekvens, eller halt kunde noteras i intervallet mellan <0.01 - 0.8 mg/l. Gällande temperatur i kallvattnet kunde en ökning av frekvens positiva prov noteras, där "kallvattnet" hade en temperatur över 20°C. Detta kan förekomma, främst under sommar och höst, i ledningssystem försörjda från ytvatten. Sådana vatten är också generellt klassade som "tjänliga med anmärkning" beroende på en generellt ökad tillväxtpotential för mikroorganismer, som kan ge upphov till lukt- och smakproblem hos vattnet. I fastigheter där *Legionella* återfunnits i kallvatten har vid alla tillfällen utom ett *Legionella* också återfunnits i varmvattnet.

Ledningsmaterialet i det allmänna vattensystemet tycks inte heller ha någon inverkan, eftersom andra, för *Legionella* tillväxtbefrämjande faktorer inte föreligger. Inte heller kunde vi notera skillnader mellan olika material in till fastigheterna.

9.5. *Legionella* i fastigheter

Varmvattnet inom fastigheter innehåller *Legionella* i högre halter än kallvattnet. Isoleringsfrekvensen av *Legionella* i varmvatten var högst i sjukhus, hotell och större förvaltningsbyggnader i denna studie. Isoleringsfrekvensen är dock inte högre, utan på motsvarande nivå, jämfört med vad som rapporterats i utländska studier. I dessa har mellan 63-70 % av undersökta byggnader varit positiva gällande sjukhus (Habicht och Müller, 1988, Müller, 1989, Schneitler, 1991, Alary och Joly, 1992). För ålderdomshem finns två studier, där isoleringsfrekvensen varit 30 respektive 65% (Habicht och Müller, 1988, Schneitler, 1991) och på hotell har mellan 18-53% positiva prov återfunnits (Habicht och Müller, 1988, Müller, 1989). I dessa sammanhang bör påpekas att det inte är

typen av byggnad som är det avgörande, utan troligen främst vattensystemets komplexitet, långa uppehållstider och förekomsten av blindrör i systemet som möjliggör tillväxt av *Legionella*. Förekomsten i en- och flerfamiljshus var betydligt lägre i denna studie än i större byggnader, men motsvarar också här värden som man funnit i utländska undersökningar. Vid en undersökning i Pittsburgh, USA, återfann man *Legionella* i 6 av 55 undersökta fastigheter (Lee, et al., 1988). I dessa fastigheter återfann man *Legionella* i vattentankarna i två fastigheter och i duschhuvuden och kranar i ytterligare fyra. I en annan studie återfann man *Legionella* i 69 av 211 undersökta fastigheter (Alary och Joly, 1991). I samtliga dessa uppvärmdes vattnet med elektriska varmvattenberedare. Alla övriga varmvattenberedare (33 stycken) var negativa. I två andra studier fanns *Legionella* i 6 % respektive 11% av undersökta fastigheter (Stout et al., 1992, Tiefenbrunner och Dierich, 1991). I de utländska studierna återfinns man främst en korrelation till temperaturen i varmvattensystemen, och inte i motsvarande grad med andra faktorer. Detta är också en erfarenhet som kan dras från denna undersökning. I en separat undersökning som vi har utfört har temperatureffekten inom system med samma typer av varmvattenberedare, och enhetligt material i ledningar och installationer undersökts. Här kunde *Legionellas* förekomst och halt i olika prov och provpunkter direkt korreleras med temperaturen. I denna studie kunde vi återfinna *Legionella* i höga halter i temperaturintervallet 20-50°C. Positiva prov, men med låga halter av *Legionella*, fanns även vid högre temperaturer. Mer än 200 prov undersöktes. Gällande temperaturen sammanhänger alltså förekomsten av *Legionella* direkt med temperaturer under 50°C i det allmänna ledningssystemet. Den föreliggande undersökning visar att förekomsten också sammanhänger med typ av varmvattenberedare. I sju av 13 undersökta enkla förrådsberedare påvisades i denna studie, *Legionella* direkt i själva beredaren och i sex av de efterföljande systemen. I alla fall där temperaturen ut från beredaren var under 50°C påvisades *Legionella* oberoende av beredarens storlek. Det måste poängteras att detta är uppmätt och inte inställd temperatur. Många gånger underskred den uppmätta temperaturen den inställda, och ibland var temperaturdifferensen ända upp till 10 °C. I alla beredare med volymer ≥ 1000 l påvisades *Legionella* oberoende av temperaturen i utgående vatten. Större enkla förrådsberedare kan ge upphov till en temperaturskiktning med låga temperaturer på botten vilka kan gynna tillväxten av *Legionella* i bottensedimentet i beredaren. Förekomsten undersöktes också i tvåstegiga förrådssystem och förrådssystem med blandning. Generellt kan konkluderas att förekomsten av *Legionella* i dessa system i första hand var beroende av temperaturerna och inte av systemet *per se*. System som har förrådstankar eller blandning av vatten med lägre temperatur före eller efter själva beredaren är en riskfaktor. Även i en utländsk studie var de enda faktorer som korrelerade med *Legionella* förekomsten på sjukhus, varmvattenberedarens volym och ålder samt låg temperatur vid tappställena. I genomströmningssystem har vi återfunnit *Legionella* i 5 av 8 system. Såväl i enkla genomströmningssystem som i system med blandning har *Legionella* återfunnits. En tysk studie har visat tillväxt av *Legionella* i genomströmningssystem om temperaturen underskred 50 °C (Anonymous, 1989), i en annan studie har det dock påvisats att förekomsten i genomströmningssystem var lägre än i system med förrådsberedare. (Drumm och Schweißfurth, 1990).

Vi måste poängtera att enbart temperatur 50 °C vid tappstället inte är tillräckligt för att säkerställa att *Legionella* är frånvarande från systemet. Detta måste alltid kopplas med åtminstone 60 °C ut från beredaren, samt att man har en återkommande kontroll och

rengöring av varmvattenberedarna. I några av de undersökta systemen var dessa temperaturkriterier uppfyllda, men ändå fanns *Legionella* i duscharna. En vidare systematisk undersökning av olika typer av varmvattenberedare och värmeväxlare i samarbete med tekniker vore av värde.

Material i fastigheter kan ge upphov till tillväxtbefrämjning av *Legionella*. Tidigare har man visat att mjukgjord PVC och PE samt naturgummi har befrämjat tillväxt av *Legionella* (West et al., 1989, Schoenen et al., 1988, Bezanson et al., 1992). Dessa typer av material kan ingå dels i det allmänna systemet i fastigheter samt även i olika typer av armatur och installationer. I denna studie förekom koppar till övervägande delen i det allmänna systemet. Detta innebär alltså att kopparledningarna inte har någon allmänt inhiberande verkan på förekomsten av *Legionella*. I en tysk studie har man visat att nya kopparledningar hämmar tillväxten av *Legionella* i vattnet, men att denna effekt försvinner efter 5 år (Habicht och Müller, 1988). Mindre än 5% av de i vår studie undersökta fastigheterna var yngre än 5 år. Dock finns heller inga indikationer på att koppar skulle vara tillväxtbefrämjande för *Legionella*. Som tidigare framhållits har vi i flera system haft en ökning av halterna av *Legionella* i duschproven jämfört med i varmvattenberedarna. Vi misstänker här en allmän tillväxtbefrämjning på plastmaterialet i armaturen. Här måste vi dock påpeka att undersökningsmaterialet inte genomgående uppvisar en enhetlig tillväxt i alla duschslangar. Därför är det av mycket stort värde att för framtiden systematiskt undersöka olika material med avseende på tillverkare, och materialkomponenter och på tillväxt av *Legionella* men också andra bakterier som kan stimulera tillväxten av *Legionella*. Vi vill särskilt påpeka att små delar i installationer kan vara tillräckliga för att ge en generellt hög halt av *Legionella* i tappvattnet. Detta exemplifieras av en röd fiberpackning och andra packningar som i flera fall gett upphov till kraftig tillväxt av *Legionella* och höga halter i efterföljande duschvatten.

9.6. Arter och serotyper av *Legionella*.

I denna studie har vi enbart isolerat *Legionella pneumophila* från proven. Detta är också den art av *Legionella* som dominerat i andra undersökningar. Bartlett et al, (1983), återfann *L. pneumophila* i 94 % av undersökta isolat, Habicht och Muller, (1988), i 98% och Tiefenbrunner och Dierich, (1991), i 100% av undersökta isolat.

Den dominerande serogruppen i denna studie var 3,6 (i 54% av isolaten). Serogrupp 1 förekom i 21 % och serogrupp 5 i 9% av isolaten. I andra studier har de dominerande serogrupperna varierat. I många undersökningar har *L. pneumophila* serogrupp 1 varit den enda serogruppen eller dominerat (Tiefenbrunner och Dierich, 1991, Bezanson et. al., 1992, Pelaz et al., 1992). I en sammanfattande artikel har olika serogrupper rapporterats, (Mugglestone och Scott, 1990) där *L. pneumophila* serogrupp 1 rapporterats i 25%, serogrupp 3 i 32% och serogrupp 5 i 17 % av undersökta isolat. Alery och Joly, (1992) återfann huvudsakligen serogrupperna 2 och 4.

I vår undersökning har olika serotyper dominerat i olika städer och på respektive sjukhus. Även om samma serotyper återfunnits i olika städer betyder detta inte att de är identiska. Med molekylärbiologiska metoder har vi kunnat visa att t ex serogrupp 3,6 skiljer sig på gennivå mellan olika städer. Motsatsen gäller också. I system där olika serogrupper påvisats har dessa ibland visat sig vara lika på gennivå. Detta tyder på att olika faktorer i

systemen tycks gynna tillväxten av visa typer av *Legionella pneumophila*. En selektion av vissa serotyper har också beskrivits ifrån andra länder (Marrie et al., 1991, Ott et al., 1992, Bezanson et al., 1992). Det vore därför synnerligen värdefullt att för framtiden undersöka om detta är beroende av det selektiva trycket eller beror på förekomst av olika stammar i råvattnet. Det vore också värdefullt att med genetiska metoder undersöka om en korrelation föreligger mellan kliniska isolat och miljöisolat.

10. Litteratur

- Alary, M., and Joly, J.R. (1991) Risk factors for the contamination of domestic hot water systems by Legionellae. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:2360-2367
- Alary, M., and Joly, J.R. (1992) Factors contributing to the contamination of hospital water distribution systems by Legionellae. *J. Infect. Dis.* 165:565-569
- Anand, C.M., Skinner, A.R., Malic, A., and Kurtz, J.B. (1983) Interaction of *L. pneumophila* and a free living amoeba (*Acanthamoeba palestinensis*). *J. Hyg. Camb.* 91:167-178
- Anonymous (1989) Legionellen II: Verkeimung selbst in Durchfluß-Erwärmern. Sanitär und Heizungstechnik 2:82-85
- Arnouts, P.J., Ramael, M.R., Ysebaert, D.K., Verpooten, G.A., de Broe, M.E., van Marck, E.A., Pattyn, S.R. (1991) *Legionella pneumophila* peritonitis in a kidney transplant patient. *Scand. J. Infect. Dis.* 23:119-122
- Aubertin, J. et al. (1987) Prevalence of legionellosis among adults: a study of community-acquired pneumonia in France. *Infection* 15:328-331
- Bérubé, A., Trudel, M., and Payment, P. (1989) Rapid detection and identification of *Legionella pneumophila* by a membrane immunoassay. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1640-1641
- Barker, J., Brown, M.R.W., Collier, P.J., Farrell, I., and Gilbert, P. (1992) Relationship between *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba polyphaga*: Physiological status and susceptibility to chemical inactivation. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:2420-2425
- Bartlett, C.L.R., Kurtz, J.B., Hutchison, J.G.P., and Turner, G.C. (1983) Legionella in hospital and hot water supplies. *Lancet*: 1315
- Bauer, R., Hahn, T., and Botzenhart, K. (1990) Der Nachweis von Legionellen im Wasserleitungsnetz mittels Gen-Sonden-Technik und Kulturverfahren. *Zbl. Hyg.* 190:78-83
- Bej, A.K., Mahbubani, M.H., and Atlas, R.M. (1991) Detection of viable *Legionella pneumophila* in water by polymerase chain reaction and gene probe methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:597-600
- Bender, L., Ott, M., Marre, R., and Hacker, J. (1990) Genome analysis of *Legionella* ssp. by orthogonal field alteration gel electrophoresis (OFAGE). *FEMS Microbiol. Lett.* 72:253-258
- Benson, R.F., Thacker, W.L., Lanser, J.A., Sangster, N., Mayberry, W.R., and Brenner, D.J. (1991) *Legionella adelaidensis*, a new species isolated from cooling tower water. *J. Clin. Microbiol.* 29:1004-1006
- Bercovier, H., Steigerwalt, A.G., Derhi-Cochin, M., Moss, C.W., Wilkinson, W., Benson, R.F., and Brenner, D.J. (1986) Isolation of legionellae from oxidation ponds and fishponds in Israel and description of *Legionella israelensis* sp. nov.. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36:368-371

- Bernander, S., Kallings, I., and Nordström, K. (1990) Legionellainfektioner diagnostiserade i sluten vård i Västmanland. *Läkartidningen* 87:4429-4432
- Bezanson, G., Burbridge, S., Haldane, D., and Marrie, T. (1992) In situ colonization of polyvinyl chloride, brass, and copper by *Legionella pneumophila*. *Can. J. Microbiol.* 38:328-330
- Bezanson, G., Burbridge, S., Haldane, D., Yoell, C., and Marrie, T. (1992) Diverse populations of *Legionella pneumophila* present in water of geographically clustered institutions served by the same water reservoir. *J. Clin. Microbiol.* 30:570-576
- Bhopal, R.S., and Fallon, R.J. (1991) Seasonal variation of Legionnaires' Disease in Scotland. *J. Infect.* 22:153-160
- Bopp, C.A., Sumner, J.W., Morris, G.K., and Wells, J.G. (1981) Isolation of *Legionella* spp. from environmental water samples by low-pH treatment and use of a selective medium. *J. Clin. Microbiol.* 13:714-719
- Bornstein, N., Marmet, D., Surgot, M., Nowicki, M., Meugnier, H., Fleurette, J., Ageron, E., Grimont, F., Grimont, P.A.D., Thacker, W.L., Benson, R.F. (1989) and Brenner, D.J. *Legionella gratiana* sp. nov. isolated from French spa water. *Res. Microbiol.* 140:541-552
- Botzenhart, K., Heizmann, W., Sedaghat, S., Heeg, P., and Hahn, T. (1986) *Zbl. Bakt. Hyg. B.* 183:79-85
- Breiman, R.F., Fields, B.S., Sanden, G.N., Volmer, L., Meier, A., and Spika, J.S. (1990) Association of shower use with Legionnaires' disease - Possible role of amoebae. *JAMA, J. Am. Med. Assoc.* 263:2924-2926
- Brenner, D.J., Steigerwalt, A.G., Gorman, G.W., Wilkinson, H.W., Bibb, W.F., Hackel, M., Tyndall, R.L., Campbell, J., Feeley, J.C., Thacker, W.L. et al (1985) Ten new species of *Legionella*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 35:50-59
- Brindle, R.J., Stannett, P.J., and Cuncliff, R.N. (1987) *Legionella pneumophila*: comparison of isolation from water specimens by centrifugation and filtration. *Epidem. Inf.* 99:241-247
- Calderon, R.L., and Dufour, A.P. (1984) Media for detection of *Legionella* spp. in environmental water samples. in: *Legionella* (Eds: C. Thornsberry et al.), Proc. 2nd Int. Symp. ASM, Washington DC 0:290-292
- Campbell, J., Bibb, W.F., Lambert, M.A., Eng, S., Steigerwalt, A.G., Alolard, J., Moss, C.W., and Brenner, D.J. (1984) *Legionella sainthelensi*: a new species of *Legionella* isolated from water near Mt. St. Helens. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:369-373
- Cargill, K.L., Pyle, B.H., Sauer, R.L., and McFeters, G.A. (1992) Effects of culture conditions and biofilm formation on the iodine susceptibility of *Legionella pneumophila*. *Can. J. Microbiol.* 38:423-429
- Cluncliffe, D.A. (1990) Inactivation of *Legionella pneumophila* by monochloramine. *J. Appl. Bacteriol.* 68:453-459
- Colbourne, J.S., and Dennis, P.J. (1988) *Legionella*, a biofilm organism in engineered water systems. in: *Biodeterioration* (Eds: D.R. Houghton et al.), Elsevier Appl. Sci. Publ., London pp. 36-42

- Colbourne, J.S., Dennis, P.J., Trew, R.M., Berry, C., Vesey, G. (1988) *Legionella* and public water supplies. *Water Sci. Technol.* 20:5-10
- Drumm, I., and Schweisfurth, R. (1990) Investigation of *Legionella* bacteria in water-heating systems. *Vom Wasser* 74:177-183
- Edelstein, P., Whittaker, R., Kreiling, R., and Howell, C. (1982) Efficacy of ozone in eradication of *Legionella pneumophila* from hospital plumbing fixtures. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:1330-1334
- Edelstein, P.H. (1981) Improved semiselective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. *J. Clin. Microbiol.* 14:298-303
- Ehret, W., Jacob, K., and Ruckdeschel, G. (1987) Identification of clinical and environmental isolates of *Legionella pneumophila* by analysis of outer-membrane proteins, ubiquinones and fatty acids. *Zbl. Bakt. Hyg. A* 266:261-275
- Farr, B.M., Gratz, J.C., Tartaglino, J.C., Getchell-White, S.I., and Gröschell, D.H.M. (1988) Evaluation of ultraviolet light for disinfection of hospital water contaminated with *Legionella*. *The Lancet* 0:669-672
- Fields, B.S., Sanden, G.N., Barbaree, J.M., Morrill, W.E., Wadowsky, R.M., White, E.H., and Feeley, J.C. (1989) Intracellular multiplication of *Legionella pneumophila* in amoebae isolated from hospital hot water tanks. *Curr. Microbiol.* 18:131-137
- Fliermans, C.B., Cherry, W.B., Orrison, L.H., and Thacker, L. (1979) Isolation of *Legionella pneumophila* from non-epidemic aquatic habitats. *Appl. Environ. Microbiol.* 37:1239-1242
- Fliermans, C.B., Chery, W.B., Orrison, C.H., Tison, D.H., and Smith, S.J. (1981) Ecological distribution of *Legionella pneumophila*. *Appl. Environ. Microbiol.* 41:9-16
- Fraser, D.W., Tsai, T.F., Orenstein, W., Parkin, W.E., Beecham, H.J., Sharrar, R.G., Harris, J., Mallison, G.F., Martin, S.M., McDade, J.E., Shepard, C.C., Brachman, P.S., and the Field Investigation Team (1977) Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 297:1189-1197
- Fry, N.K., Warwick, S., Saunders, N.A., and Embley, T.M. (1991) The use of 16S ribosomal RNA analyses to investigate the phylogeny of the family Legionellaceae. *J. Gen. Microbiol.* 137:1215-1222
- Goldberg, D.J., Collier, P.W., Fallon, R.J., McKay, T.M., Markwick, T.A., Wrench, J.G., Emslie, J.A., Forbes, G.I., MacPherson, A.C., and Reid, D. (1989) Lochgoilhead fever: outbreak of non-pneumonic legionellosis due to *Legionella micdadei*. *The Lancet* 0:316-318
- Habicht, W., and Müller, H.E. (1988) Occurrence and parameters of frequency of *Legionella* in warm water systems of hospitals and hotels in Lower Saxony. *Zbl. Bakt. Hyg. B* 186:79-88
- Halablab, M.A., Richards, L., and Bazin, M.J. (1990) Phagocytosis of *Legionella pneumophila*. *J. Med. Microbiol.* 33:75-83
- Harf, C., and Monteil, H. (1988) Interactions between free-living amoebae and *Legionella* in the environment. *Wat. Sci. Tech.* 20:235-239

- Harrison, T.G., Saunders, N.A., Hathothuwa, A., Hallas, G., Birtles, R.J., and Taylor, A.G. (1990) Phenotypic variation amongst genotypically homogeneous *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates: implications for the investigation of outbreaks of Legionnaires'disease. *Epidemiol. Infect.* 104:171-180
- Harrison, T.G., Saunders, N.A., Hathothuwa, A., Doshi, N., and Taylor, A.G. (1992) Further evidence that genotypically closely related strains of *Legionella pneumophila* can express different serogroup specific antigens. *J. Med. Microbiol.* 37:155-161
- Harrison, T.G., Saunders, N.A., Hathothuwa, A., Doshi, N., and Taylor, A.G. (1990) Typing of *Legionella pneumophila* serogroups 2-14 strains by analysis of restriction fragment length polymorphisms. *Lett. Appl. Microbiol.* 11:189-192
- Hart, C.A., and Makin, T. (1991) *Legionella* in hospitals: a review. *J. Hosp. Infect. (Suppl. A)* 18:481-489
- Joly, J.R., McKinney, R.M., Tobin, J.O., Bibb, W.F., Watkins, I.D., and Ramsay, D. (1986) Development of a standardized subgrouping scheme for *Legionella pneumophila* serogroup 1 using monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 23:768-771
- Jones, G.L., and Hebert, G.A. (Eds.) (1979) Legionnaires': the disease, the bacterium and methodology. Center for Disease Control, Atlanta
- Kallings, I., and Kallings, L.O. (1983) Epidemiological patterns in legionellosis in Sweden. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A* 255:71-75
- Kallings, I., and Larsson, B. (1990) Legionärssjuka, Legionellainfektion i Sverige under en 10-årsperiod. *Epid. Akt.* 7:1-3
- Kilborn, J.A., Manz, L.A., O'Brien, M., Douglass, M.C., Horst, H., Kupin, W., and Fisher, E.J. (1992) Necrotizing cellulitis caused by *Legionella micdadei*. *Am. J. Med.* 92:104-106
- Kilvington, S., and Price, J. (1990) Survival of *Legionella pneumophila* within cysts of *Acanthamoeba polyphaga* following chlorine exposure. *J. Appl. Bacteriol.* 68:519-525
- Knudson, G.B. (1985) Photoreactivation of UV-irradiated *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:975-980
- Kuchta, J.M., States, S.J., McLaughlin, J.E., Overmeyer, J.H., Wadowsky, R.M., McNamara, A.M., Wolford, R.S., and Yee, R.B. (1985) Enhanced chlorine resistance of tap water-adapted *Legionella pneumophila* as compared with agar medium-passaged strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:21-26
- Kuchta, J.M., States, S.J., McNamara, A.M., Wadowsky, R.M., and Yee, R.B. (1983) Susceptibility of *Legionella pneumophila* to chlorine in tap water. *Appl. Environ. Microbiol.* 46:1134-1139
- Kusnetsov, J.M., Martikainen, P.J., Jousimies-Somer, H.R., Väisänen, M.-L., Tulkki, A.I., Ahonen, H.E., and Nevalainen, A.I. (1993) Physical, chemical and microbiological water characteristics associated with the occurrence of *Legionella* in cooling tower systems. *Water Res.* 27:85-90
- Landeen, L.K., Yahya, M.T., and Gerba, L.P. (1989) Efficacy of copper and silver ions and reduced levels of free chlorine in irradiation of *Legionella pneumophila*. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:3045-3050

- LeChevallier, M.W., Cawthon, C.D., and Lee, R.G. (1988) Inactivation of biofilm bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:2492-2499
- Lee, J.V., and West, A.A. (1991) Survival and growth of *Legionella* species in the environment. *J. Appl. Bact. Symp. Suppl.* 70:121S-129S
- Lee, T.C., Stout, J.E., and Yu, V.L. (1988) Factors predisposing to *Legionella pneumophila* colonization in residential water systems. *Arch. Environ. Health* 43:59-62
- Lim, E.W., and Meers, P.D. (1989) The specificity of a rapid method of assay for the presence of *Legionella* species in water. *Annals Acad. Med.* 18:348-351
- Lode, H. et al. (1987) Significance of non-pneumophila *Legionella* species in adult community-acquired and nosocomial pneumonias. *Klin. Wochenschr.* 65:463-468
- Lück, P.C., Bender, L., Ott, M., Helbig, J.H., and Hacker, J. (1991) Analysis of *Legionella pneumophila* serogroup 6 strains isolated from a hospital warm water supply over a three-year period by using genomic long-range mapping techniques and monoclonal antibodies. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:3226-3231
- Makin, T., and Hart, C.A. (1990) The efficacy of control measures for eradicating *Legionella* in showers. *J. Hosp. Infect.* 16:1-17
- Manz, W., Szewzyk, U., Eriksson, P., Amann, R., Schleifer, K.-H., and Stenström, T.-A. In situ identification of bacteria in drinking water and adjoining biofilms by hybridization with 16S and 23S rRNA-directed fluorescent oligonucleotide probes (subm. to *Appl. Environ. Microbiol.*)
- Marrie, T.J., Haldane, D., Bezanson, G., and Peppard, R. (1992) Each water outlet is a unique ecological niche for *Legionella pneumophila*. *Epidemiol. Infect.* 108:261-270
- Mauchline, W.S., Araujo, R., Wait, R., Dowsett, A.B., Dennis, P.J., and Keevil, C.W. (1992) Physiology and morphology of *Legionella pneumophila* in continuous culture at low oxygen concentration. *J. Gen. Microbiol.* 138:2371-2380
- McKay, A.M. (1992) Viable but non-culturable forms of potentially pathogenic bacteria in water. *Lett. Appl. Microbiol.* 14:129-135
- Morris, G.K., et al. (1979) Isolation of the legionnaires' disease bacterium from environmental samples. *Ann. Int. Med.* 90:664-666
- Müller, H.E. (1988) Experimental studies of detection and processing of *Legionella* spp. in public drinking water supplies. *Zbl. Bakt. Hyg. B* 186:73-78
- Müller, H.E. (1989) Das Legionella-Infektionsrisiko und seine Verhinderung durch hygiene-technische Maßnahmen. *Dtsch. med. Wschr.* 114:1754-1759
- Mugglestone, I., and Scott, G. (1990) *Legionella* in non-industrial premises: experience of assessment. *Environmental Health*: 298-301
- Muraca, P., Stout, J.E., and Yu, V.L. (1987) Comparative assessment of chlorine, heat, ozone, and UV light for killing *Legionella pneumophila* within a model plumbing system. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:447-453

- Muraca, P.W., Yu, V.L., and Goetz, A. (1990) Disinfection of water distribution systems for *Legionella*: a review of application procedures and methodologies. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 11:79-88
- Nalik, H.P., Muller, K.D., and Ansorg, R. (1992) Rapid identification of *Legionella* species from a single colony by gas-liquid chromatography with trimethylsulphonium hydroxide for transesterification. *J. Med. Microbiol.* 36:371-376
- Ortiz-Roque, C.M., and Hazen, T.C. (1987) Abundance and distribution of Legionellaceae in Puerto Rican waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:2231-2236
- Örtqvist, Å., Hedlund, J., Grillner, L., Jalonon, E., Kallings, I., Leinonen, M., and Kalin, M. (1990) Aetiology, outcome and prognostic factors in community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *Eur. Resp. J.* 3:1105-1113
- Ott, M., Bender, L., Marre, R., and Hacker, J. (1991) Pulsed field electrophoresis of genomic restriction fragments for the detection of nosocomial *L. pneumophila* in hospital water supplies. *J. Clin. Microbiol.* 29:813-815
- Ott, M., Bender, L., Luck, P.C., Meyer, P., and Hacker, J. (1992) Distribution of legionellae in a hospital water system: prevalence of immunologically and genetically related *Legionella pneumophila* serogroup 6 isolates. *FEMS Microbiol. Lett.* 74:201-205
- Pankhurst, C.L., Philpott-Howard, J.N., Hewitt, J.H., and Casewell, M.W. (1990) The efficacy of chlorination and filtration in the control and eradication of *Legionella* from dental chair systems. *J. Hosp. Infect.* 16:9-18
- Paszko-Kolva, C., Shahamat, M., and Colwell, R.R. (1992) Long-term survival of *Legionella pneumophila* serogroup 1 under low-nutrient conditions and associated morphological changes. *FEMS Microbiol. Ecol.* 102:45-55
- Pelaz, C., Gaecia, L., and Martin-Bourgon, C. (1992) *Legionella* isolated from clinical and environmental samples in Spain (1983-92): monoclonal typing of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates. *Epidemiol. Infect.* 108:397-402
- Pope, D.H., Soracco, R.J., Gill, H.K., and Fliermans, C.B. (1982) Growth of *Legionella pneumophila* in two-membered cultures with green algae and cyanobacteria. *Curr. Microbiol.* 7:319-322
- Reboullet, V., Gauthier, C., and Ranfaing, J. (1992) Comparative epidemiological characteristics of a homogeneous series of acute common pneumopathies seen in a general hospital center (GHC). *Rev. Mal. Respir.* 9:449-453
- Reeves, M.W., Pine, L., Hutner, S.H., George, J.R., and Harrell, W.K. (1981) Metal requirements of *Legionella pneumophila*. *J. Clin. Microbiol.* 13:688-695
- Roberts, K.P., August, C.M., and Nelson, jr., J.D. (1987) Relative sensitivities of environmental Legionellae to selective isolation procedures. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:2704-2707
- Rogers, J., and Keevil, C.W. (1992) Immunogold and fluorescein immunolabelling of *Legionella pneumophila* within an aquatic biofilm visualized by using episcopic differential interference contrast microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:2326-2330

- Rowbotham, T.J. (1986) Current views on the relationships between amoebae, Legionellae and man. *Isr. J. Med. Sci.* 22:678-689
- Sanden, G.N., Fields, B.S., Barbaree, J.M., Morrill, W.E., and Feeley, J.C. (1992) Bactericidal activities of tri- and penta-iodinated resins against *Legionella pneumophila*. *Water Res.* 26:365-370
- Sanden, G.N., Fields, B.S., Barbaree, J.M., and Feeley, J.C. (1989) Viability of *Legionella pneumophila* in chlorine-free water at elevated temperatures. *Curr. Microbiol.* 18:61-65
- Saunders, N.A., Doshi, N., and Harrison, T.G. (1992) A second serogroup of *Legionella erythra* serologically indistinguishable from *Legionella rubrilucens*. *J. Appl. Bact.* 72:262-265
- Saunders, N.A., Harrison, T.G., Haththotuwa, A., Kachvalla, N., and Taylor, A.G. (1990) A method for typing strains of *Legionella pneumophila* serogroup 1 by analysis of restriction fragment length polymorphisms. *J. Med. Microbiol.* 31:45-55
- Schaffler-Dullnig, K., Reinthaler, F.F., and Marth, E. (1992) Nachweis von Legionellen im Thermalwasser. *Zbl. Hyg. Umweltmed.* 192:473-478
- Schneitler, H. (1991) Legionellen - Ein Problem der Technologie ?. *Off. Gesundheitswesen* 53:593-595
- Schoenen, D., Schulze-Röbbecke, R., and Schirdewahn, N. (1988) Microbial contamination of water by materials of pipes and hoses. 2nd communication: Growth of *Legionella pneumophila*. *Zbl. Bakt. Hyg.* 186:326-332
- Schulze-Röbbecke, R., Jung, K.D., Pullmann, H., and Hundgeburth, J. (1990) Sanierung eines mit *Legionella pneumophila* kontaminierten Krankenhaus-Warmwassersystems. *Zbl. Hyg.* 190:84-100
- Skaliy, P., Thompson, T.A., Gorman, G.W., Morris, G.K., McEachern, H.V., and Mackel, D.C. (1980) Laboratory studies of disinfectants against *Legionella pneumophila*. *Appl. Environ. Microbiol.* 40:697-700
- Smith, L., Carroll, K., and Mottice, S. (1993) Comparison of membrane filters for recovery of Legionellae from water samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:344-346
- Smith-Sommerville, H.E., Butz Hury, V., Walker, C., and Winters, A.L. (1991) Survival of *Legionella pneumophila* in the cold-water ciliate *Tetrahymena vorax*. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:2742-2749
- Soracco, R.J., Gill, H.K., Fliermans, C.B., and Pope, D.H. (1983) Susceptibility of algae and *Legionella pneumophila* to cooling tower biocides. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:1254-1260
- States, S.J., Conley, L.F., Ceraso, M., Stephenson, T.E., Wolford, R.S., Wadowsky, R.M., McNamara, A.M., and Yee, R.B. (1985) Effects of metals on *Legionella pneumophila* growth in drinking water plumbing systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:1149-1154
- States, S.J., Kuchta, J.M., Conley, L.F., Wolford, R.S., Wadowsky, R.M., and Yee, R.B. (1987) Factors affecting the occurrence of the Legionnaires' disease bacterium in public drinking water supplies. in: *Biohazards of drinking water* (ed: R.A. Larson), *Nat. Meet. Evir. Chem. Am. Chem. Soc. New Orleans* pp.:67-83

- Steele, T.W., Lanser, J., and Sangster, N. (1990) Isolation of *Legionella longbeachae* serogroup 1 from potting mixes. Appl. Environ. Microbiol. 56:49-53
- Steele, T.W., Moore, C.V., and Sangster, N. (1990) Distribution of *Legionella longbeachae* serogroup 1 and other Legionellae in potting soils in Australia. Appl. Environ. Microbiol. 56:2984-2988
- Stout, J.E., Yu, V.L., and Best, M.G. (1985) Ecology of *Legionella pneumophila* within water distribution systems. Appl. Environ. Microbiol. 49:221-228
- Stout, J.E., Yu, V.L., Muraca, P., Joly, J., Troup, N., and Tompkins, L.S. (1991) Potable water as a cause of sporadic cases of community-acquired legionnaires' disease. N. Engl. J. Med. 326:151-155
- Stout, J.E., Yu, V.L., Yee, Y.C., Vaccarello, S., Diven, W., and Lee, T.C. (1992) *Legionella pneumophila* in residential water supplies: environmental surveillance with clinical assessment for Legionnaires' disease. Epidemiol. Infect. 109:49-57
- Struelens, M.J., Maes, N., Rost, F., Deplano, A., Jacobs, F., Liesnard, C., Bornstein, N., Grimont, F., Lauwers, S., McIntyre, M.P., et al. (1992) Genotypic and phenotypic methods for the investigation of a nosocomial *Legionella pneumophila* outbreak and efficacy of control measures. J. Infect. Dis. 166:22-30
- Szewzyk, R., Allestam, G., and Stenström, T.-A. (1991) Improved recovery of *Legionella* from water samples by use of black membrane filters. Zbl. Hyg. 192:258-263
- Szewzyk, U., Manz, W., Amann, R., Schleifer, K.-H., and Stenström, T.-A. Growth and in situ detection of a pathogenic *E. coli* in biofilms of a heterotrophic water-bacterium by use of 16S- and 23S-rRNA-directed fluorescent oligonucleotide probes (subm. to. Appl. Environ. Microbiol.)
- Thacker, W.L., Dyke, J.W., Benson, R.F., Havlichek, jr., D.H., Robinson-Dunn, B., Stiefel, H., Schneider, W., Moss, C.W., Mayberry, W.R., Brenner, D.J (1992) *Legionella lansingensis* sp. nov. isolated from a patient with pneumonia and underlying chronic lymphocytic leukemia. J. Clin. Microbiol. 30:2398-2401
- Tiefenbrunner, F. and Dietrich, M.P. (1991) Bewertung des Legionellen-Vorkommens in Trinkwasserinstallationen von Ein- und Zweifamilienhäusern. Sanitär und Heizungstechnik 1:10-16
- Tison, D.L., and Seidler, R.J. (1983) *Legionella* incidence and density in potable drinking water supplies. Appl. Environ. Microbiol. 45:337-339
- Tison, D.L., Baross, J.A., and Seidler, R.J. (1983) *Legionella* in aquatic habitats in the mount Saint Helens blast zone. Curr. Microbiol. 9:345-348
- Tison, D.L., Pope, D.H., Cherry, W.B., and Fliermans, C.B. (1980) Growth of *Legionella pneumophila* in association with blue-green algae (Cyanobacteria). Appl. Environ. Microbiol. 39:456-459
- Tobin, J.O'H., Dunhill, M.S., French, M., Morris, P.J., Beare, J. Fischer-Hoch, S., Mitchell, R.G., and Muers, M.F. (1980) Legionnaires' disease in a transplant unit: isolation of the causative agent from shower bath. Lancet 2:118-121

- Torres, A., Serra-Batlles, J., Ferrer, A., Jimenez, P., Celis, R., Cobo, E., and Rodriguez-Roisin, R. (1991) Severe community-acquired pneumonia. Epidemiology and prognostic factors. *Am. Rev. Respir. Dis.* 144:312-318
- Vandenbroek, P.J. (1991) Activity of antibiotics against microorganisms ingested by mononuclear phagocytes. *Europ. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 10:114-118
- Verissimo, A., Marrão, G., da Silva, F.G., da Costa, M.S. (1991) Distribution of *Legionella* spp. in hydrothermal areas in continental Portugal and the island of São Miguel, Azores. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:2921-2927
- Verma, U.K., Brenner, D.J., Thacker, W.L., Benson, R.F., Vesey, G., Kurtz, J.B., Dennis, P.J.L., Steigerwalt, A.G., Robinson, J.S., and Moss, C.W. (1992) *Legionella shakespearei* sp. nov., isolated from cooling tower water. *Int. J. System. Bacteriol.* 42:404-407
- Vickers, R.M., Stout, J.E., and Yu, V.L. (1990) Failure of a diagnostic monoclonal immunofluorescent reagent to detect *Legionella pneumophila* in environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:2912-2914
- Wadowsky, R.M., Wolford, R., McNamara, M., and Yee, R.B. (1985) Effect of temperature, pH, and oxygen level on the multiplication of naturally occurring *Legionella pneumophila* in potable water. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:1197-1205
- Wadowsky, R.M., Yee, R.B., Mezmar, L., Wing, E.J., and Dowling, J.N. (1982) Hot water systems as sources of *Legionella pneumophila* in hospital and nonhospital plumbing fixtures. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:1104-1110
- Watkins, I.D., Tobin, J.O'H., Dennis, P.J., Brown, W., Newnham, R., and Kurtz, J.B. (1985) *Legionella pneumophila* SG1 subgrouping by monoclonal antibodies - an epidemiological tool. *J. Hyg.* 95:211-216
- Weichert, D., Oliver, J.D., and Kjelleberg, S. (1992) Low temperature induced non-culturability and killing of *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 100:205-210
- West, A.A., Araujo, R., Dennis, P.J.L., Lee, J.V., and Keevil, C.W. (1989) Chemostat models of *Legionella pneumophila*. in: *Airborne Deteriogens and Pathogens* (Ed.: Flannigan, B.), Biodeterioration Society, London pp.:107-116
- Wilczek, H., Kallings, I., Nyström, B., and Hoffner, S. (1987) Nosocomial Legionnaire' disease following renal transplantation. *Transplantation* 43:847-851
- Wright, J.B., Ruseska, I., and Costerton, J.W. (1991) Decreased biocide susceptibility of adherent *Legionella pneumophila*. *J. Appl. Bacteriol.* 71:531-538
- Wright, J.B., Ruseska, I., Athar, M.A., Corbett, S., and Costerton, J.W. (1989) *Legionella pneumophila* grows adherent to surfaces in vitro and in situ. *Infect. Control Hosp. Epidemiol* 10:408-415
- Yamamoto, H., Ezaki, T., Ikedo, M., and Yabuuchi, E. (1991) Effects of biocidal treatments to inhibit the growth of legionellae and other microorganisms in cooling towers. *Microbiol. Immunol.* 35:795-802
- Yee, R.B., and Wadowsky, R.M. (1982) Multiplication of *Legionella pneumophila* in unsterilized tap water. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:1330-1334

Vattenundersökning - planerad till tisdag 17/11-92

Tack för att Du ställer upp och deltar i vattenundersökningen. Det underlättar väsentligt för oss att belysa olika aspekter av vattenkvaliteten.

Om något kommer emellan som gör att Du inte kan ta ut dina vattenprov är vi tacksamma om Du meddelar oss detta.

Du tar ett varmvattenprov och ett kallvattenprov. Proven tas ut på morgonen och tas med till arbetsplatsen. Proven hämtas där av Inger eller Kjell.

Gör så här:**1) Förberedelser på kvällen- måndag 16/11 (gäller bara dusch)**

Ställ in normal duscht temperatur och spola ca 10 min i duschslangen.

Mät temperaturen och notera denna på en lapp som bifogas proven.

Stäng av och låt vattnet stå kvar i slangen över natten.

Om Du har enhandsblandare låt temperaturinställningen vara kvar till nästa morgon.

2) Vatten från duschslangen - uttas på morgonen tisdag 17/11

Flaskor: 1 x 1 l glas, steril, för bakterieanalys, fylls till markering 1 liter

1 x 500 ml plast för kemiska undersökningar, fylls 100%.

Öppna kranen på samma temperaturinställning som på kvällen (enhandsblandare) eller öppna både, kall- och varmvattenkranen (separata kranar).

Fyll genast glasflaskan (först) och plastflaskan(därefter) med de första litrarna som kommer ur duschslangen. Berör ej insidan av glasflaskors skruvlock!

Detta prov består därmed av uppvärmt vatten som stått i duschslangen över natt.

Mät sedan maximal temperatur på följande sätt:

a) Separata kranar i duschen:

Öppna bara varmvattenkranen i duschen, spola i 5 minuter, mät temperaturen.

Skriv värdet som maximal duscht temperatur på frågepappret.

b) Enhandsblandare i duschen

Ställ in enhandsblandare på maximal temperatur, spola i 5 minuter, mät temperaturen.

Skriv värdet som maximal duscht temperatur på frågepappret.

Mät även maximal temperatur vid ett tvättfat i närheten av duschen på samma sätt.

Skriv detta värdet som maximal tvättfattemperatur på frågepappret.

Märk flaskorna med dusch samt adress och datum.

3) Vatten från kökets kallvattenkran - uttas på morgonen tisdag 13/10

Flaskor: 1 x 1 l glas, steril, för bakterieanalys, fylls till markering 1 liter

1 x 500 ml plast för kemiska undersökningar, fylls till 100%.

Tag bort eventuella silar, slangar och dyl. från kökets tappkran för kallvatten.

Flambra tappkranens ände med en tändsticka eller cigarettändare.

Öppna enbart kallvattenkranen och spola 10 min med måttlig stråle.

Fyll sedan utan att röra inställningarna glasflaskan (först) och plastflaskan (därefter).

Berör ej insidan av glasflaskors skruvlock!

Mät sedan temperaturen och skriv värdet på glasflaskan.

Märk flaskorna med kök samt adress och datum.

Flaskor förvaras i kyl till avfärd till laboratoriet.

Detta prov skall representera vatten in i din fastighet.

4) Förfrågan om fastigheters data

Vi är tacksamma om Du fyller in så många uppgifter som möjligt på det separata frågepappret till varmvattenundersökningen som utdelas.

Är något oklart går det bra att ringa -även mycket sent på kvällen eller mycket tidigt på morgonen- till Regine Szewzyk (08-735 1290 eller 08-756 90 67).

Frågor till varmvattenundersökning:

ifylles i samband med provtagningen och besök

Namn: _____
 Adress: _____
 Telefon: _____

Enfamiljshus Flerfamiljshus

Antal personer i huset: _____ i lägenheten: _____

Byggår av huset: _____

Senaste reparation av ledningsmaterial i lägenheten år: _____

Fjärrvärme? ja nej vet ej

Egen varmvattenberedare? ja nej vet ej
 om ja:

-vilken typ av beredare: _____ vet ej

-volymen av varmvattenberedaren: _____ liter vet ej

-inställd temperatur i beredarens _____ °C vet ej

-varmvattenförråd _____ °C vet ej

Temperatur i duschen kväll _____ °C
 Maximaltemperatur dusch: _____ °C tvättfat _____

Material i duscharmaturen: plast koppar annat: _____

Filter inbyggt i vattensystemet? ja nej vet ej

om ja vilket: avhärtningsfilter
 kolfilter
 annat

Vattenledningsmaterial inom huset: _____
 till huset: _____

Avstånd till vattenverk _____ km

PROVTAGNINGSANVISNING

Vattenundersökning - Uppföljning

Vi har hittat förhöjda värde av bakterier i ditt duschvatten.

Följande provtagning ska visa om förökningen har skett i hela varmsystemet eller lokalt i din dusch.

Du tar ett varmvattenprov från duschen samt ett kall- och ett varmvattenprov från ett tvättfat. Proven tas ut på morgonen och lämnas samma morgon till

Om något kommer emellan som gör att Du inte kan ta ut dina vattenprov är vi tacksamma om Du meddelar oss detta.

Gör så här:1) Förberedelser på kvällen- (gäller bara dusch)

Ställ in normal duscht temperatur och spola ca 10 min i duschslangen.

Mät temperaturen och notera denna på en lapp som bifogas proven.

Stäng av och låt vattnet stå kvar i slangen över natten.

Om Du har enhandsblandare låt temperaturinställningen vara kvar till nästa morgon.

2) Vatten från duschslangen - uttas på morgonen

Flaskor: 2 x 1 l glas, steril, för bakterieanalys, fylls till markering 1 liter

a) Öppna kranen på samma temperaturinställning som på kvällen (enhandsblandare) eller öppna både, kall- och varmvattenkranen (separata kranar).

Fyll genast en glasflaska med det första vattnet som kommer ur duschslangen.

Detta prov består därmed av uppvärmt vatten som stått i duschslangen över natt.

Märk flaskan med dusch a) samt namn och adress.

b) Låt temperaturinställningen vara kvar på vanlig duscht temperatur (35-45 °C) och spola i 5 minuter.

Fyll sedan utan att röra inställningar den andra glasflaskan.

Märk flaskan med dusch b) samt namn och adress.

Detta prov består därmed av vanligt duschvatten.

3) Kall- och varmvatten från tvättfatet i köket

Flaskor: 2 x 1 l glas, steril, för bakterieanalys, fylls till markering 1 liter

Tag bort eventuella silar, slangar eller dyl. från kökets kall- och varmvattenkran.

a) Kallvattenprov

Ställ in enhandsblandare på kallvatten eller öppna enbart kallvattenkranen (separata kranar) och spola i 10 min .

Fyll sedan utan att röra inställningar en av glasflaskorna.

Mät sedan temperaturen och skriv värdet på glasflaskan.

Märk flaskan med kallvatten/tvättfat samt adress och datum.

b) Varmvattenprov

Ställ in enhandsblandare på maximal temperatur, eller öppna bara varmvattenkranen (separata kranar).

Spola i 5 minuter.

Fyll sedan den andra glasflaskan utan att röra inställningarna.

Mät sedan temperaturen och skriv värdet på glasflaskan.

Märk flaskan med varmvatten/tvättfat samt adress och datum.

Detta prov skall representera varmvatten från varmvattenberedare.

Är något oklart går det bra att ringa -även mycket sent på kvällen eller mycket tidigt på morgonen - till Regine Szewzyk (08-735 1290 eller 08-756 90 67).

1) Neonatalavdelningen

På neonatalavdelningen tas två olika kallvattenprover och ett blandat varm- och kallvattenprov. (Parallellt med vattenundersökningen skall det också tas prover från barnen på neonatalavdelningen. Ansvariga för denna provtagningen kommer att kontaktas separat)

a) Vatten från kökets kallvattenkran

Flaskor: 2 x 1 l glas, steril, för bakterieanalys, fylls till markering 1000 ml.
1 x 0.5 l glas eller plast för kemiska undersökningar, fylls till 100 %.

Öppna enbart kallvattenkranen och fyll genast 1 x 1 l glasflaskan med det första vattnet som kommer ur kranen.

Detta prov (prov 1) skall representera kallvatten som det används.

Tag därefter bort eventuella silar, slangar och dyl. från kranen.

Flambera tappkranens ände med en tändsticka eller cigarettändare.

Öppna enbart kallvattenkranen och spola 10 min. med måttlig stråle.

Fyll sedan utan att röra inställningar 1 x 1 l flaskan (först) och 1 x 0.5 l flaskan (därefter).

Detta prov (prov 2) skall representera vatten in till fastigheten.

Mät sedan temperaturen och skriv värdet på 1 l glasflaskan.

b) Blandvatten från tvättstället i intensivvårds- eller övervakningsrum (prov 3)

Flaska: 1 x 1 l glas, steril, för bakterieanalys, fylls till markering 1000 ml.

Ställ in normal duscht temperatur (30-40 °C).

Fyll genast 1 l flaskan utan att röra inställningar.

Mät sedan temperaturen och skriv värdet på flaskan.

2) Varmvattenberedare

Om det finns flera olika varmvattenberedare i systemet provtas en av varje typ.

Från varje beredare tas två olika prover och det behövs:

Flaskor: 2 x 1 l glas, steril, för bakterieanalys, fylls till markering 1000 ml.

a) Varmvatten

Om möjligt tas ett prov direkt ur beredarens varmvattenförråd (1 x 1 l = prov 4 a-x). Alternativt tas ett prov från varmvattenkranen i tappstället som ligger närmast varmvattenberedare på följande sätt:

Öppna bara varmvattenkranen.

Spola i 5 min.

Fyll 1 x 1 l flaskan utan att röra inställningar.

Mät sedan temperaturen och skriv värdet på flaskan (prov 4 a-x)

b) Bottenslamm

I de flesta varmvattenberedarna samlas avlagringar på botten som måste tömmas ur med jämna mellanrum.

Till detta ändamål finns oftast en avtappningskran på beredaren.

Öppna avtappningskranen och fyll genast 1 x 1 l flaskan med det första "vattnet" som kommer ut (prov 5 a-x).

3) Duschar

Bilaga 4 (2)

Till provtagningen väljer man duschar som ligger olika långt ifrån varmvattenberedaren samt duschar med bra och dålig vattenomsättning dvs som används ofta resp. sällan.

Från varje dusch tas två olika prover. Ett prov med blandat varm- och kallvatten och ett pinnprov från inre ytor av duschhuvudet och/eller duschslangen (prov 6-x).

Proverna tas ut på morgonen innan duscharna har används.

Till varje dusch behövs:

Flaskor: 2 x 1 l glas, steril, för bakterieanalys, fylls till markering 1000 ml.

1 x 0.5 l glas eller plast för kemiska undersökningar, fylls till 100 %.

Rör: 1 x 10 ml med skruvlock, sterilt, innehåller 1 ml sterilt vatten.

Bomullspinnar, sterila

a) Blandvatten

Öppna kranen (enhandsblandare) resp. kranarna (separata varm- och kallvattenkranar) för att få vanlig duschtemperatur.

Fyll genast 2 x 1 l glasflaskor (först) och 1 x 0.5 l flaskan (därefter) med de första litrarna som kommer ur duschslangen.

Detta prov består därmed av uppvärmt vatten som stått i duschslangen minst över natt.

Ställ enhandsblandare i duschen på maximal temperatur resp. öppna bara varmvattenkranen.

Spola i 5 min.

Mät temperaturen och skriv värdet på en av 1 l flaskorna.

Mät även maximal temperatur på ett tvättfat i närheten av duschen på samma sätt. Skriv värdet på flaskan inom parentes.

b) Pinnprov

Provet skall tas från insidan av duschslangen och duschhuvudet.

Skruva loss slangen från duschhuvudet om möjligt.

Skrapa av eventuell beläggning på insidan av slangen och inne i duschhuvudet med bomullspinnarna.

Stoppa pinnarna ner i det sterila röret med vatten och stäng skruvlocket hårt.

4) Andra provtagningsplatser kan bli aktuella i vissa system, t.ex. blandningstank.

5) OBS! Uppreppning av provtagningen inom en vecka

Provtagningen på neonatalavdelningen (gäller bara prov 1 och prov 3) skall upprepas efter 3-6 dagar.

Bilaga D: Frågor till varmvattenundersökning:

Bilaga 5

Sjukhus: _____

Byggår av huset: _____

Antal rum i huset: _____ antal patienter:: _____

Senaste reparation av ledningsmaterial i huset år: _____

Fjärrvärme? ja nej

Varmvattenberedare:

en, central
 - typ av beredare: _____
 - volymen av varmvattenberedaren: _____ liter
 - inställd temperatur i beredarens varmvattenförråd _____ °C
 - vattenblandning sker: central i början till °C decentral vid tappstället

flera, decentral
 - antal beredare: _____
 - placering av beredarna _____
 - typ av beredare: _____
 - volymen av varmvattenberedaren: _____ liter
 - inställd temperatur i beredarens varmvattenförråd _____ °C

Duschen:

Duschslangen och huvudet: rengörs byts med månaders mellanrum inte

Material i duschslangen: plast typ: _____ metall annat: _____

Material i duschhuvudet: plast typ: _____ metall annat: _____

Enhandsblandare: Separata kranar

Filter inbyggt i vattensystemet? ja nej

om ja vilket: avhärtningsfilter
 kolfilter
 annat

Vattenledningsmaterial inom huset: _____
 till huset: _____

Avstånd till vattenverk _____ km

*: Om det finns olika typer av varmvattenberedare, var snäll och specificera det separat.



Mykobakterier i Legionellaprojektet

Kort sammanfattning av preliminära resultat

Total antal analyserade prov: 140 (34 kallvattenprov och 106 varmvattenprov)

Positiva prov:

Mykobakterier påvisad
i totalt 80 prov= 57%
i 15 kallvattenprov = 44%
i 65 varmvattenprov 61%
i 6 av 7 renvattenprov på 86%
vattenverk

Mykobakterier i olika byggnader:

Byggnad	Mykobakt -	Mykobakt +	% positiva
Vattenverk	17	15	47
Enfamiljshus	20	25	56
Flerfamiljshus	11	18	62
sjukhus	9	19	68
servicehem	1	2	
annat	6	0	

Korrelation med andra parametrar:

1. pH

pH	Mykobakt -	Mykobakt +	% positiva
6-6.9	1	0	
7-7.9	11	15	58
8-8.9	32	45	58
9-10	4	4	

2. järn

järn (mg/l)	Mykobakt -	Mykobakt +	% positiva
< 0.01	8	3	27
0.01-0.029	14	27	66
0.03-0.049	4	12	75
0.05-0.099	14	14	50
0.1-1.0	5	9	62

3) hårdhet

° dH	Mykobakt -	Mykobakt +	% positiva
1-3.9	4	7	64
4-6.9	14	19	58
7-9.9	1	4	
10-	7	5	42

4) Klor (total)

Klor (mg/l)	Mykobakt -	Mykobakt +	% positiva
0	13	21	62
0.01-0.019	0	0	
0.02-0.029	5	17	77
0.03-0.039	9	2	18
> 0.04	13	0	0

5) Avstånd av provtagningsplats från vattenverket

Avstånd (km)	Mykobakt -	Mykobakt +	% positiva
0-9	36	50	58
10-19	10	18	64
20-45	15	12	44

6) Legionella positiva prov

Mykobakt	Antal Legionellabakterier				
	0	1-99	100-999	1000-9999	>10.000
-	53	3	2	2	2
+	63	7	4	2	0
% positiva	54	70			

7) Totalantal bakterier 2d

Mykobakt	Antal 2d bakterier (cfu/ml)				
	0-9	10-99	100-999	1000-9999	>10000
-	10	8	15	14	6
+	6	5	16	24	25
% positiva	37	38	52	63	81

8) Totalantal bakterier 7d

Mykobakt	Antal 7d bakterier (cfu/ml)				
	0-99	100-999	1000-9999	10000-99999	>100000
-	4	19	19	7	1
+	7	13	22	26	7
% positiva	64	41	54	79	

Det forskningsprojekt som redovisas i denna rapport har utförts vid Vattensektionen på Statens bakteriologiska laboratorium (SBL). Boverket är ansvarig myndighet inom ämnesområdet. Projektet har finansierats av Byggforskningsrådet och Svenska vatten- och avloppsverksföreningens FoU-program VA-FORSK.

VAV •  FORSK

 BOVERKET

 SBL
STATENS BAKTERIOLOGISKA
LABORATORIUM

R9:1993

ISBN 91-540-5518-0

Byggforskningsrådet, Stockholm

Art.nr: 6813009

Abonnemangsgrupp:

W. Installationer

Distribution:

Svensk Byggtjänst

171 88 Solna

 BYGGFORSKNINGSRÅDET

Cirkapris: 87 kr inkl moms