

Miljøprojekt Nr. 653 2001

Forekomst af Legionella i varmvandssystem

Identifikation og risikovurdering

Poul Brydov
dk-TEKNIK & MILJØ

Søren Uldum, Nina Pringler og Ole Bent Jepsen
Statens Serum Institut

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

INDHOLDSFORTEGNELSE

<u>INDHOLDSFORTEGNELSE</u>	3
<u>FORORD</u>	5
<u>SAMMENFATNING OG KONKLUSIONER</u>	7
<u>SUMMARY AND CONCLUSIONS</u>	9
1 <u>INTRODUKTION</u>	11
1.1 <u>BAKTERIEN</u>	11
1.2 <u>SMITTEKILDER OG SYGDOM</u>	11
1.2.1 <u>Legionærsygdom</u>	11
1.2.2 <u>Pontiac feber</u>	12
1.3 <u>ANDRE DANSKE UNDERSØGELSER</u>	12
1.4 <u>FORMÅL MED UNDERSØGELSEN</u>	12
2 <u>METODER</u>	13
2.1 <u>UDVÆLGELSE AF EJENDOMME</u>	13
2.2 <u>PRØVETAGNING</u>	13
2.3 <u>LABORATORIEMETODER</u>	14
2.3.1 <u>Påvisning af Legionella ved dyrkning</u>	14
2.3.2 <u>Serogruppebestemmelse af Legionella isolater</u>	14
2.3.3 <u>Påvisning af Legionella DNA i vandprøver ved PCR</u>	15
3 <u>KARAKTERISTIK AF ANLÆG</u>	16
3.1 <u>KATEGORIER AF EJENDOMME</u>	16
3.2 <u>ALDER AF BYGNINGER OG ANLÆG</u>	16
3.3 <u>ANLÆGGENES STØRRELSE, ANTAL BRUGERE</u>	17
3.4 <u>TYPER AF ANLÆG, STØRRELSE AF BEHOLDER OG VANDETS OPHOLDSTID</u>	17
3.5 <u>DIVERSE, ELEKTROLYSE OG LEDNINGER</u>	17
3.6 <u>VANDETS TEMPERATURER</u>	18
4 <u>FOREKOMST AF LEGIONELLA</u>	20
4.1 <u>RESULTATER AF DYRKNING</u>	20
4.1.1 <u>Resultater af gentagne prøver og dobbeltprøver</u>	21
4.2 <u>RESULTATER AF PCR</u>	21
4.3 <u>KONKLUSION</u>	22
5 <u>FOREKOMST I RELATION TIL DRIFTS- OG ANLÆGSFORHOLD</u>	23
5.1 <u>RELATIONER TIL TEMPERATUR</u>	23
5.2 <u>ANDRE RELATIONER OG IAGTTAGELSER</u>	25
5.3 <u>VANDETS TEMPERATUR VED TAPSTEDET</u>	26
5.4 <u>KONKLUSION</u>	27
6 <u>RISIKOVURDERING</u>	28
6.1 <u>LEGIONELLAKIMTAL</u>	28
6.2 <u>SEROGRUPPER</u>	28
6.3 <u>DISKUSSION</u>	29
6.4 <u>KONKLUSION</u>	30
7 <u>PCR/DYRKNING</u>	32
7.1 <u>LEGIONELLA PNEUMOPHILA</u>	32
7.2 <u>LEGIONELLA SPECIES</u>	33
7.3 <u>KONKLUSION</u>	33
8 <u>LITTERATURLISTE</u>	35

BILAG:

Bilag A Anlægs karakteristik og analyse - 22 anlæg

Bilag B Gentagne prøver i anlæg og dobbeltprøver - 8 anlæg

Bilag C1, C2 & C3

Legionella i forhold til vandtemperatur – boilerrum, cirkulationsretur, tapsted

Bilag D *Legionella* i forhold til temperatur – tapsted – Regression beboelse

Forord

Hvad angår den bakteriologiske kvalitet af det kolde brugsvand som leveres fra vandværkerne er danske forbrugere godt stillet. Ser man på det varme brugsvand som leveres fra varmtvandsinstallationer i den enkelte bygning – det være sig boliger, skoler, sportsanlæg, plejehjem, etc. - er vi i Danmark ikke meget anderledes stillet end i andre civilisationer, hvor varmt vand i hanen er en selvfølge. Forskellige mikroorganismer - herunder bakterier f.eks. *Legionella* - finder gode vækstvilkår i nogle af disse anlæg og vil derfor kunne påvises i større eller mindre koncentrationer.

Denne rapport rummer netop resultaterne fra en stikprøveundersøgelse af forekomsten af *Legionella* i varmtvandsanlæg i bygningskomplekser herunder primært beboelsesejendomme men med eksempler fra institutioner og virksomheder. Undersøgelsen er tilrettelagt og gennemført af Statens Serum Institut og dk-TEKNIK ENERGI & MILJØ i samarbejde med Miljøstyrelsen og med økonomisk støtte fra styrelsen.

Statens Serum Institut undersøgte allerede i 1995 varmtvandsanlæg på en række danske sygehuse og påviste forekomst af *Legionella* i varierende koncentrationer i næsten samtlige anlæg. Den foreliggende undersøgelse er imidlertid den første danske undersøgelse, der fokuserer på beboelsesejendomme. Stikprøveundersøgelsen viser - ligesom den tidligere undersøgelse af sygehusene – forekomst i næsten alle de undersøgte varmtvandsanlæg. Trods dens begrænsede omfang giver stikprøveundersøgelsen et fingerpeg om hvilke anlægstyper og driftsforhold, der kan have indflydelse på forekomsten af *Legionella* i det varme brugsvand.

Undersøgelsen bliver skelsættende, fordi den foreligger samtidig med udgivelsen af Sundhedsstyrelsens og Statens Serum Instituts vejledning (34) til embedslægerne og kommunernes miljøansvarlige, om hvordan bl.a. forekomsten skal vurderes, og hvornår afhjælpende foranstaltninger bør iværksættes. Såvel undersøgelsen som vejledningen har givet anledning til flere stikprøveundersøgelser og har ikke mindst sat gang i udvikling og afprøvning af metoder og midler til begrænsning af forekomsten i varmtvandsinstallationer.

Rapporten er udarbejdet af:

Poul Brydov, dk-TEKNIK ENERGI & MILJØ
Søren Uldum, Statens Serum Institut
Nina Pringler, Statens Serum Institut
Ole B. Jepsen, Statens Serum Institut

Styregruppen for projektet udgøres af:

Poul Brydov (dk-TEKNIK ENERGI & MILJØ), Carsten Raad Pedersen (Hvidovre Kommune), Hans-Jørgen Albrechtsen (DTU), Linda Bagge (Miljøstyrelsen), Anne-Marie Plesner (Sundhedsstyrelsen), Søren Uldum (SSI), Arne Scheel-Thomsen (Sundhedsstyrelsen), Ole B. Jepsen, formand (SSI).

Sammenfatning og konklusioner

Fra hver af 22 ejendomme blev der udtaget mindst en prøve fra det varme vand, i alt 35 prøver. Prøverne blev udtaget fra tapsteder som vandhaner eller brusere. Ved dyrkning blev der påvist *Legionella pneumophila* i 29 prøver fra 19 af de 22 undersøgte anlæg. Kimtal for *Legionella* i de positive prøver varierede fra værdier tæt ved analysemetodens grænse for følsomhed 10^1 cfu/liter til $\geq 4,9 \times 10^6$ cfu/liter. I 10 af 22 anlæg fandtes *Legionella*-koncentrationer mindre eller lig med 10^3 cfu/liter. I tre anlæg kunne *Legionella* ikke påvises ved dyrkning, og gentagne prøver fra to af disse anlæg forblev uden vækst. I otte anlæg var koncentrationen over eller lig 1×10^4 cfu/liter.

Ved PCR blev der påvist *Legionella pneumophila* i vandprøver fra 21 af de 22 undersøgte anlæg. I de PCR positive prøver blev der påvist fra $\leq 10^3$ til $\geq 10^6$ genomer/l. Fra det ene anlæg, hvor der ikke blev påvist *Legionella pneumophila*, blev der heller ikke påvist *Legionella pneumophila* ved dyrkning. I to anlæg hvor der ikke blev påvist *Legionella* ved dyrkning, fandtes ved PCR *Legionella pneumophila* på et forholdsvist højt niveau (hhv. $\geq 10^4$ og $10^3 - 10^4$ genomer/l). Ved PCR påvises både døde, levende og ikke-dyrkbare men levende *Legionella*-bakterier. Alene af den grund kan man ikke forvente at resultaterne for dyrkning og PCR vil være overensstemmende. Dyrkning er standardmetoden (referencemetoden) til påvisning af *Legionella*. En direkte kvantitativ sammenligning af fundene ved de to metoder er dog ikke mulig, da PCR i denne udformning højst er semikvantitativ.

Inden for temperaturintervallet (39° - 51°C) påvist for varmtvandssystemerne i 13 beboelsesejendomme en signifikant korrelation mellem koncentrationen af *Legionella*-kim i vandprøve udtaget af det første vand og vandtemperaturen målt ved tapstedet efter opnåelse af stabil temperatur. Der kunne ikke påvises signifikant korrelation mellem koncentration af *Legionella*-kim ved tapstedet og vandtemperatur i boilerum ved afgang fra varmtvandsbeholder eller tilgang af returvand. Dette viser, at forholdene i ledningssystemet har betydning for væksten, og at temperaturen i vandet i varmtvandsbeholderen således ikke er den eneste faktor.

Undersøgelsen bekræfter, at *Legionella pneumophila* kan trives i almindelige varmtvandsanlæg og hyppigt forekommer i moderate til høje koncentrationer ($\geq 5 \times 10^3$ cfu/l i 11 anlæg). Der er aldrig påvist en direkte sammenhæng mellem niveauet af *Legionella* koncentration og risiko for at blive smittet. Det er således velkendt, at *Legionella* nogle steder kan forekomme i høje koncentrationer, uden at der er kendte tilfælde af smitte, mens man i andre tilfælde ser smitte fra kilder med tilsyneladende moderate koncentrationer ved efterfølgende vandanalyser. Dette beror sandsynligvis på smittemåden og på det forhold, at raske mennesker ikke er særligt udsatte for at blive smittet, ligesom ikke alle serotyper er lige virulente og sygdomsfremkaldende. På den anden side er der næppe påvist smitte fra varmtvandssystemer med mindre end 10^3 cfu/liter. Et kimtal på $\leq 10^3$ cfu/l indikerer dog at *Legionella* kan trives i anlægget, og selv små ændringer i driftsforholdene (eller lokale forhold ved tapstederne) kan formentlig få kimtallet til at stige kraftigt.

Ved sammenligning af de serogrupper, der er fundet i vandprøverne, og de serogrupper, der er isoleret som årsag til legionærsygdom erhvervet uden for hospitaler i Danmark, kan man se, at de hyppigst sygdomsfremkaldende serogrupper: 1, 3, 4, og 6 alle også er isoleret fra vandprøver i denne undersøgelse.

Undersøgelsen, støtter den fremsatte hypotese, at almindelige varmtvandsforsyninger kan være en mulig smittekilde til legionærsygdom herhjemme.

Summary and conclusions

A total of 35 samples from hot water outlets (taps and showers) were collected from 22 buildings. Analysis for viable counts of *Legionella* showed *Legionella pneumophila* in 29 samples from 19 buildings. The concentration of *Legionella* in the positive samples ranged from 10^1 cfu/litre (the detection limit) to $\geq 4.9 \times 10^6$ cfu/litre. In 10 of 22 hot water systems concentrations of *Legionella* were 10^3 cfu/litre or less. In three buildings *Legionella* was not detected in samples from the hot water systems and for two of these buildings the negative result was confirmed by repeated sampling. For 8 of the hot water systems the concentrations of *Legionella* were 1×10^4 cfu/litre or more.

PCR analysis showed *Legionella pneumophila* in 21 of 22 systems. The results of the positive samples ranged from $\leq 10^3$ genomes/litre to $\geq 10^6$ genomes/litre. The system with the negative PCR result was also negative by culture (viable counts). Samples from the two other installations that were found negative when cultured were found positive by the PCR analysis ($\geq 10^4$ genome/litre and $10^3 - 10^4$ genomes/litre respectively). The PCR analysis also detects dead and viable non-culturable organisms. Consequently, the two methods – culture and PCR – cannot be expected to give completely similar results, nor is it possible to make a quantitative comparison as PCR is to be regarded as a semi-quantitative method. The culture method is currently recognised as the standard method for detection of *Legionella*.

Within the interval 39°C - 51°C this study demonstrated a significant correlation for hot water systems in 13 blocks of flats between the concentration of *Legionella* in water samples collected from outlets (immediately after being switched on) and the temperature measured at the same outlet when a stable temperature had been reached. No significant correlations were found between the concentration of *Legionella* at outlets and temperatures measured in hot water leaving the hot water tank or measured in circulation hot water returning to the tank. These observations indicate that conditions for growth exist in the pipework and that the temperature in the hot water tank is not the only factor of importance.

The study confirms the presence of moderate to high concentrations of *Legionella pneumophila* in hot water systems ($\geq 5 \times 10^3$ cfu/litre in 11 systems). A simple correlation between the level of the concentration of *Legionella* in hot water and the risk of infection has never been demonstrated. High concentrations may not necessarily cause disease whereas in other situations infections have occurred from sources from which water samples contained apparently low concentrations of *Legionella*. This is probably due to the mode of transmission and to the facts that healthy people are less prone to infection and different strains of *Legionella* have different virulence. To our knowledge infections have not occurred in relation to hot water systems with concentrations below 10^3 cfu/litre. On the other hand, concentrations in this range demonstrate that conditions for growth are present, and minor changes in the management of the installation may lead to high concentrations.

The serogroups most frequently isolated from community acquired cases of Legionnaires' disease in Denmark are groups 1, 3, 4, and 6 (serogroups 1 and 3 accounting for 80% of all cases). These serogroups were all represented in the water samples from the hot water systems sampled in this study.

The findings of this study support the hypothesis, that ordinary hot water systems may be a source of community acquired Legionnaires' disease in the Danish population.

1 Introduktion

1.1 Bakterien

Bakterier af slægten *Legionella* er små Gram-negative stave. De er almindelige i alle våde og fugtige ferskvands-miljøer, naturlige såvel som menneskeskabte, hvor de etablerer sig i den komplekse biofilm, som findes på alle overflader med vandkontakt. De opformerer primært intracellulært i amøber og andre protozoer, hvor de til dels er beskyttede mod det ydre miljø, hvilket betyder at de eksempelvis kan overleve klorering (1). Bakterien opformerer bedst ved temperaturer mellem 30° og 40° C, og trives derfor ofte godt i varmtvandsystemer, hvor temperaturen ikke holdes på et tilstrækkeligt højt niveau. Hvis temperaturen overstiger 50° C, kan bakterierne ikke opformerer, og der ses en reduktion i bakterieantallet i vandkulturer (2).

Der findes mere end 40 *Legionella*-arter, men kun 18 af dem har været årsag til sygdom hos mennesker (3). I Danmark er arten *Legionella pneumophila* alene årsag til over 95 % af alle tilfælde af dyrkningspåvist legionærsygdom (4). De øvrige sygdomsfremkaldende arter er således yderst sjældne årsager til human infektion i Danmark. *Legionella pneumophila* kan opdeles i 15 serogrupper. Bedømt på baggrund af dyrkningspåviste sygdomstilfælde er serogruppe 1 årsag til 50 - 60 % af alle infektioner i Danmark (4, 5). En undergruppe af serogruppe 1, som kaldes subgruppe Pontiac er tilsyneladende specielt virulent (6, 7). Denne subgruppe er årsag til de fleste serogruppe 1 infektioner, selvom den ifølge udenlandske undersøgelser ikke er særlig almindelig i miljøet (8, 9).

1.2 Smittekilder og sygdom

Selvom *Legionella* er almindeligt forekommende og sandsynligvis findes i mange vandinstallationer, ses der kun forholdsvis få tilfælde af legionærsygdom. Dette skyldes at smitsomheden generelt er lav. Ved udbrud af legionærsygdom har man beregnet, at mindre end 5 % af de personer, der udsættes for smitte, bliver syge. Det antages, at smitten i de fleste tilfælde transmitteres i forstøvet vand (aerosoler), der indåndes. Smittekilder til udbrud beskrevet i litteraturen er således vandsystemer med kraftig dannelse af aerosoler f.eks. køletårne (10, 11) eller spabade (12, 13). Varmt brugsvand i boliger (14, 15), hospitaler (16, 17) og hoteller (18, 19) er også beskrevet som smittekilder. Sandsynligvis spiller brusebadning en rolle for disse sidste tilfælde, mens aspiration (fejlsynkning) har vist sig at kunne spille en rolle ved de hospitalserhvervede tilfælde (20).

1.2.1 Legionærsygdom

Legionærsygdom er en alvorlig form for lungebetændelse, ofte med samtidig påvirkning af andre organer som lever, nyre og centralnervesystem. Inkubationstiden for legionærsygdom er 2 til 10 dage. Dødeligheden varierer fra under 10 % til 50 % afhængig af patientkategorien. Prognosen er meget afhængig af, hvor hurtigt diagnosen stilles og hvor tidligt relevant behandling iværksættes samt af patienternes generelle sundhedstilstand.

I Danmark påvises og anmeldes knapt 100 tilfælde af legionærsygdom om året. Der er dog nogen variation i antallet fra år til år (21). Godt 20 % af tilfældene er associerede til rejse, især til det sydlige Europa (22), knapt 20 % er nosokomielle (hospitalserhvervede) tilfælde, mens 50 – 60 % af alle tilfældene menes smittet i Danmark udenfor hospital. Disse tilfælde forekommer sporadisk over hele landet, dog med en betydelig variation i antallet af anmeldte tilfælde fra de forskellige amter (21). Det er en hypotese, at en del af disse patienter smittes fra deres hjemms vandforsyning. I de seneste år er det i nogle få tilfælde lykkedes at sandsynliggøre varmtvandsforsyninger i patienternes boliger som smittekilder (21, 23, 24).

1.2.2 Pontiac feber

Pontiac feber er en influenzalignende sygdom. Transmissionen sker alene ved indånding af en aerosol forurenet med *Legionella*. Inkubationstiden er 1 til 2 dage. Ved Pontiac feber ses der ikke lungebetændelse, men ofte brystsmerte og kortåndethed. Symptomerne er som ved influenza: høj feber, hovedpine og muskelsmerter. Sygdommen går normalt over i løbet af få dage uden behandling. I modsætning til legionærsygdom, er alle tilsyneladende lige modtagelige for Pontiac feber, idet stort set alle, der udsættes for smitten, får sygdommen. Antallet af tilfælde med Pontiac feber er helt ukendt, da sygdommen normalt kun diagnosticeres ved egentlige udbrud, men antallet overstiger sandsynligvis antallet af tilfælde med legionærsygdom. I Danmark er der påvist tre udbrud af Pontiac feber i forbindelse med spabade i udlejningsommerhuse (21, 25) samt et udbrud blandt arbejdere på et industrielt rensningsanlæg (26).

1.3 Andre danske undersøgelser

Forekomsten af *Legionella* i danske varmtvandsinstallationer udenfor hospitalsmiljøet har ikke tidligere været genstand for systematiske undersøgelser som denne. I 1995 undersøgte Statens Serum Institut forekomsten af *Legionella* i varmtvandsanlæg på et udsnit af danske hospitaler og institutioner (27). Ved undersøgelsen påvistes *Legionella* i 34 af 35 varmtvandsanlæg på 12 sygehuse med de højeste kimtal for hvert enkelt anlæg/hospital i intervallet 2×10^4 cfu/liter til 3×10^6 cfu/liter. Størstedelen af anlæggene levede ikke op til anbefalingerne for driftstemperaturer med henblik på forebyggelse af legionærsygdom. Der blev påvist følgende serogrupper (faldende hyppighed): 3, 1, 2, 5 og 6.

Parallelt med den foreliggende undersøgelse gennemførte Hvidovre Kommune en undersøgelse af forekomsten af *Legionella* i større offentlige varmtvandsanlæg i kommunen og påviste *Legionella pneumophila* i 22 af 24 undersøgte anlæg. I 13 anlæg var kimtallet så højt ($\geq 10^4$ cfu/l), at man efter råd fra embedslægen straks besluttede at forsøge at bringe kimtallet ned på et acceptabelt niveau ved varmebehandling. For nyligt er der publiceret en undersøgelse af forekomsten af *Legionella pneumophila* i bassinvand (28). Der blev ikke påvist *Legionella* i almindelige koldtvasdbassiner ($< 28^\circ \text{C}$), men i varmtvandsbassiner ($> 32^\circ \text{C}$) blev der påvist *Legionella pneumophila* i 10 % af bassinprøverne (10 – 100 cfu/l) og i 80 % af afgangsvandet fra kulfiltrene (180 – 35.000 cfu/l) (28). Det blev konkluderet, at et højt desinfektionstryk i disse varmtvandsbassiner er nødvendigt for at holde kimtallet lavt.

1.4 Formål med undersøgelsen

Formålet med denne pilotundersøgelse har været at undersøge forekomsten af *Legionella* i almindelige varmtvandsanlæg, primært i større beboelsesejendomme, samt at forsøge at identificere eventuelle sammenhænge mellem forekomst og udformning og drift af anlæggene, for derigennem at forsøge at udpege kritiske styringspunkter. Formålet har desuden været at foretage en risikovurdering baseret på legionellakimtallet i prøverne og identifikation af de isolerede kolonier på arts, serogruppe og subgruppe niveau.

Virulensen af isolaterne er, nok noget forenklet, betragtet som stigende i følgende retning: *Legionella* spp. (non-pneumophila), *Legionella pneumophila* serogruppe 2 til 15, *Legionella pneumophila* serogruppe 1 non-Pontiac og endelig *Legionella pneumophila* serogruppe 1 Pontiac som den mest virulente. Ved sammenligning af serogrupperne fundet i vandprøverne og viden om, hvilke serogrupper, der forårsager sygdom i Danmark (4), er det desuden søgt vurderet, om varmtvandsanlæggene kan være en væsentlig smittekilde til legionærsygdom i Danmark. Endvidere har undersøgelsen givet mulighed for at vurdere anvendeligheden af polymerase kæde reaktion (PCR) - en hurtigmetode til påvisning af *Legionella* i vandprøver.

2 Metoder

2.1 Udvalgelse af ejendomme

Udvalgelsen af ejendomme, herunder anvendelseskategori og type af varmtvandsanlæg, er primært sket ud fra følgende 3 kriterier: Beliggenhed i Hovedstadsregionen, hovedvægt på større beboelsesejendomme og et ønsket forhåndskendskab til ejendom og anlæg.

Med et forhåndskendskab har det været muligt at inddrage forskellige typer af varmtvandsanlæg i undersøgelsen. Dette omfatter anlæg med 1 varmtvandsbeholder (VVB), anlæg med flere varmtvandsbeholdere (2-3 VVB i serie, hvor kun den sidste før ledningssystemet opvarmer til den endelige temperatur), og anlæg med varmeveksler (VX) med eller uden supplerende varmtvandsbeholder.

Endelig er det forsøgt at fokusere på forskellige rørmaterialer i anlæggene, hvilket har været vanskeligt, da næsten alle har såkaldt galvaniserede stålrør (varmforzinkede). Der er dog to anlæg med kobberør og et med rustfrit stålrør. På enkelte anlæg må man regne med, at der på grund af ombygning kan forekomme korte afgreninger af plastør (PEX) til tapsteder.

I de fleste tilfælde er udvalgelsen foregået på den måde, at en kreds af energikonsulenter er blevet spurgt om forslag til emner. Derefter er der taget kontakt til de anlægsansvarlige og truffet aftale om besøg og prøvetagning.

Under besøget blev anlægget gennemgået og alder på ejendom/anlæg, karakteristika om udformning, driftsforhold og forbrug blev noteret.

Der blev i alt udvalgt 22 ejendomme til undersøgelsen. Der er 10 ejendomme i Københavns og Frederiksberg kommuner (alle beboelse), 4 ejendomme i Københavns amt, 6 i Frederiksborg amt og endelig 2 i Roskilde amt. Geografisk omfatter området således hele Storkøbenhavn med opland (3 amter).

2.2 Prøvetagning

Prøvetagningen er foretaget i henhold til "*Råd og anvisninger om Legionella*", CAS Statens Serum Institut (29), der angiver en prøvetagningsinstruks A eller B. I begge tilfælde tages 1 liter vand fra tapstedet i en steril prøveflaske indeholdende 85 mg kaliumthiosulfat. Efter instruks A tages den første liter uden at vandet har løbet først. Efter instruks B fjernes først eventuelle slanger, spredere, filtre o.l. Hanen steriliseres ved flambering, hvorefter vandet skal løbe i en jævn stråle i mindst 5 minutter før flasken fyldes. Vandets temperatur efter prøvetagningen noteres.

I undersøgelsen er der i de fleste tilfælde benyttet instruks A. Efterfølgende har man ladet vandet løbe og målt og registreret temperaturen ved opnåelse af stabil temperatur - normalt efter 2 min.

Nitten ejendomme/anlæg blev besøgt i perioden oktober til december 1999, fra hvert anlæg blev der udtaget én vandprøve efter instruks A. I perioden ultimo februar til primo maj 2000 blev yderligere tre anlæg besøgt, og prøveudtagningen fra fem af de første anlæg blev gentaget for at sammenligne med de første prøver. På de otte anlæg i denne periode blev der hvert sted taget to vandprøver, henholdsvis efter instruks A og B. Det bemærkes, at i tilfælde af prøveudtagning efter instruks B har praksis været, at vandet løb kraftigt indtil en stabil temperatur var opnået typisk efter 3-5 min. I alt blev der således udtaget og analyseret 35 varmtvandsprøver.

Det er valgt at tage samtlige prøver fra tapsteder beliggende et stykke fra boilerum, og altså ikke direkte fra VVB. Prøvetagningsstedet har i flere tilfælde været tilfældigt valgt, f.eks. en lejlighed hvortil man kunne få adgang (nogen hjemme), og i andre tilfælde bevidst et bruserum (ofte fra en taphane i

bruserummet), eller et fjernt beliggende tapsted. I lejligheder har det været i badeværelse fra håndvask eller bruser eller fra køkkenhaner.

Når prøven er taget fra en bruser, er (hånd)bruserhovedet fjernet, og prøven er altid taget gennem bruserslangen, der normalt er af plast eller gummi.

Temperaturer i boilerrum (VVB, VX, ledninger) blev normalt registreret fra fastsiddende termometre eller ved visning på overvågningsudstyr, alternativt ved hjælp af håndbåret instrument.

2.3 Laboratoriemetoder

2.3.1 Påvisning af *Legionella* ved dyrkning

Vandprøverne blev leveret til Kontrollaboratoriet, CAS på Statens Serum Institut samme dag eller dagen efter prøvetagningen, og analysen blev påbegyndt inden for to døgn fra prøveudtagning.

Den anvendte analysemetode var en modifikation af ISO 11731(30). Denne modifikation danner grundlag for den kommende Danske Standard. Metoden bestod af direkte udsæd på selektiv agar, samt opkoncentrering (100 x) ved membranfiltrering (0,2 µ) og yderligere opkoncentrering (10 x) ved centrifugering 13.000 rpm i 10 minutter. For hvert trin udsås ved overfladeudsæd på selektiv agar. Der blev anvendt MWY-agar (Modificeret Wadowsky Yee Agar) (SSI Diagnostika) og GVPC (Glycin Vancomycin Polymyxin Cycloheximid Agar) (Oxoid GmbH). Pladerne blev inkuberet ved 36 °C og 42 °C og aflæst efter 3-5 dage og 7-8 dage.

Pladerne blev kontrolleret for vækst af andre bakterier eller svampe efter 1-3 dage. Ved generende vækst af disse udførtes syrebehandling (pH 2,2 i 5 min. ± 0,5 min. ved stuetemperatur) og varmebehandling (50 °C ± 2 °C i 30 min. ± 5 min.).

Ved aflæsningen undersøgte kolonierne i stereomikroskop (10 x) for karakteristisk udseende. Mulige legionellakolonier blev bekræftet ved sekundær udsæd på Blodagar 5 % (SSI Diagnostika) og selektiv agar (36 °C i 3 dage) eller med *Legionella* Latex Test Kit (Oxoid Ltd).

Den anvendte metode er kvalitetssikret bl.a. ved akkreditering og deltagelse i eksterne præstationsprøver, der har bekræftet tilfredsstillende kvantitativ påvisning af såvel *Legionella pneumophila* serogruppe 1 (diverse subtyper) og andre serogrupper, samt en række andre *Legionella*-arter.

2.3.2 Serogruppebestemmelse af *Legionella* isolater

Fra dyrkningspladerne fra hver vandprøve udvalgte mindst fem kolonier, der omfattede alle tilstedeværende kolonityper, til bestemmelse af serogruppe. Subkulturer fra disse blev undersøgt ved hjælp af en latex agglutination test, Oxoid *Legionella* latex test (Oxoid Limited). Testen kan skelne mellem *L. pneumophila* serogruppe 1, *L. pneumophila* serogruppe 2 - 14 og *Legionella* species (non-*L. pneumophila*; seks forskellige arter). To til fem kolonier fra hver vandprøve blev videre undersøgt med paneler af monoklonale antistoffer (MAb) til serogruppe og subgruppe bestemmelse af *L. pneumophila* ved et enzym immuno assay (EIA) (31). Ved serogruppebestemmelse med disse MAb's kan der skelnes mellem 15 serogrupper af *L. pneumophila*. Alle isolater, der blev bestemt til *L. pneumophila* serogruppe 1 med Oxoid latex testen, blev videre karakteriseret ved EIA med et panel af MAb's, der (som minimum) skelner mellem to subgrupper af *L. pneumophila* serogruppe 1: MAb 3/1 reaktive isolater (Pontiac = virulente) og MAb 3/1 negative isolater (non-Pontiac = mindre virulente).

2.3.3 Påvisning af *Legionella* DNA i vandprøver ved PCR

2.3.3.1 Forbehandling af prøver

Fra alle vandprøver blev der efter opkoncentrering ved membran filtrering (100 x) fra dyrknings-proceduren sterilt udtaget 0,5 ml, 100 µl blev blandet i 300 µl af en 20 % w/v Chelex 100 resin (Bio-Rad). De resterende 400 µl blev centrifugeret 30.000 x g i 15 min., supernatanten blev kasseret, til bundfaldet blev der sat 300 µl Chelex 100 resin. Alle prøverne blev Vortex behandlet i 60 sek. og suspensionen blev inkuberet i en varmeblok ved 95° C i 10 min. Chelex resinen blev bundfældet ved centrifugering i 5 min. ved 20.000 x g. Der blev udtaget 10 og 5µl fra supernatanterne til PCR for påvisning af *Legionella* DNA. Fra en del vandprøver blev der også udtaget ca. 1 ml fra "råvandet" og 0,1 ml fra det 1000 x koncentrerede vand (membran filtrering og centrifugering). Disse prøver blev forbehandlet på samme måde som de 100 µl fra membran filtreringen.

2.3.3.2 PCR procedure

Til specifik opformering af *Legionella* DNA ved PCR blev der anvendt to sæt primere i hver reaktion (Multiplex PCR). Det ene sæt primere var rettet mod *Legionella* species 16S rRNA (rDNA) (31) og amplificerer et 430 basepar (bp) fragment af alle *Legionella* species 16S rDNA. Det andet primersæt var rettet mod en sekvens af *mip* genet for *L. pneumophila* (*mip* primer sekvenser fra EnviroAmp *Legionella* kit; Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA) og amplificerer et 168 bp fragment. Til hvert reaktionsrør var der tilsat en DNA amplifikationskontrol (et stykke γ -DNA med endesekvenser så det amplificeres af primerne mod 16S rDNA), for at kunne identificere prøver, der er hæmmende for PCR reaktionen og derfor eventuelt falsk negative. Efter PCR blev amplifikatet analyseret ved gelelektroforese.

Legionella PCR er i denne udformning højst en semikvantitativ analyse, idet koncentrationen bedømmes ved en kombination af båndintensiteterne og ved hvilken fortynding, prøven er positiv hhv. negativ. Desuden analyseres på meget små prøvevolumina, der i kombination med at vand ofte indeholder komponenter som er mere eller mindre hæmmende for enzymreaktionen (polymerasen) giver en forholdsvis høj usikkerhed. Ved *Legionella* PCR påvises både døde og levende bakterier, alene af den grund er resultaterne ikke direkte sammenlignelige med dyrkning. Detektionsgrænsen for PCR er beregnet ud fra analysens evne til at påvise 1 – 10 genomkopier, og er ca. 10³ genomer (bakterier)/l med de anvendte opkonstrerede vandprøver (1000 x) og den anvendte prøveforbehandling.

3 Karakteristik af anlæg

En teknisk karakteristik af anlæg og ejendomme fremgår af de følgende afsnit samt af oversigtsskemaet i bilag A. Hvert anlæg er angivet med en bogstavskode.

3.1 Kategorier af ejendomme

Undersøgelsen har lagt størst vægt på beboelsesejendomme. De øvrige kategorier er udvalgt for at få et indtryk af andre anlæg. Her kan der typisk i weekends og ferieperioder være lukket eller et meget lavt forbrug. De to idrætsanlæg er specielle, fordi anlæggene via blandebeholdere direkte forsyner bruserum med vand ved badetemperatur.

Tabel 3.1.1 Anvendelseskategori af de 22 udvalgte ejendomme

Beboelse	13
Skole*	2
Idræt, bad.	2
Plejehjem	2
<i>Div. kategori:</i>	
Børneinstitution	1
Virksomhed	2

* De to separate skoleanlæg er fra samme skole - en idrætshal og en bygning med undervisningslokaler.

3.2 Alder af bygninger og anlæg

Den gennemsnitlige alder (og variation) for bygninger og alternativt for varmtvandsbeholdere (VVB) eller varmevekslere (VX) er:

Tabel 3.2.1. Gennemsnitlig alder (og variation)

	Bygning	VVB/VX
Beboelse	55 år (1 - 85)	15 år (1 - 40)
Øvrige ejend.	25 år (12 - 45)	

Særligt for de ældste ejendomme, kan alderen af de tekniske anlæg på grund af ombygninger være yngre end bygningerne.

I to beboelsesejendomme (HA, VI) er dele af ledningssystemet udskiftet inden for det sidste år, og i én er der totalrenoveret til kobberør for 4 - 8 år siden (BRU). Den enkelte ejendom (NAN) med rustfri stålrør er 1 år gammel.

3.3 Anlæggenes størrelse, antal brugere

Det gennemsnitlige antal lejligheder og beboere (og variation) i beboelsesejendommene er:

Tabel 3.3.1 Gennemsnitligt antal lejligheder og beboere og (variation) i beboelsesejendommene

	Lejligheder	Personer
Beboelse	130 (40-290)	270 (60-600)

I begge plejehjem er der ca. 50 lejligheder og 50 beboere ekskl. personale. På skolen er der ca. 500 elever. På de øvrige anlæg er antallet af brugere og badende ikke vurderet.

3.4 Typer af anlæg, størrelse af beholder og vandets opholdstid

I beboelsesejendommene er der seks anlæg med én varmtvandsbeholder (VVB), hvoraf de fire har en forvarmeveksler (tre som ladekreds). Her opretholdes temperaturen ved cirkulation, da der ikke er nogen varmeplade i selve beholderen. Et anlæg har tre små VVB i parallel og fire anlæg har 2 - 3 VVB i serie, hvor der typisk må regnes med, at der kun forvarmes i den ene beholder til 35-45°C. To anlæg er uden beholder, og her opvarmes der alene med to varmevekslere (VX) i serie (VI,UT).

I de øvrige ejendomme er der to idrætsanlæg med 2 - 3 beholdere, hvor den ene er en blandebeholder med vand ved badetemperatur, ca. 38°C. Et plejehjem har to VVB og 6 øvrige anlæg én VVB.

Tabel 3.4.1 Gennemsnit af VVB-volumen (og variation) samt den gennemsnitlige opholdstid af vandet i VVB, beregnet på basis af årsforbruge.

	VVB-volumen gennemsnit	Variation	Opholdstid gennemsnit	Variation
Beboelse	5 m ³	1 – 19 m ³	10 timer	5 – 30 timer
Øvrige ejend.	3 m ³	0,1 - 6 m ³	60 timer	5 – 240 timer

For kategorien ”øvrige ejendomme” er de to skoleanlæg, med opholdstider på 240 og 170 timer, med til at øge gennemsnittet væsentligt. Ellers er det for de øvrige omkring 20 timer. På andre anlæg end beboelse og plejehjem må man regne med, at opholdstiden i weekends og ferier kan være væsentligt højere. For skoleanlæggene kan opholdstiden i juli måned, hvor forbruget typisk er meget lavt, måske være flere uger.

3.5 Diverse, elektrolyse og ledninger

Femten af de 22 anlæg har installeret såkaldt elektrolyseanlæg for at modvirke korrosion af rør og VVB. Heraf er tolv traditionelle anlæg, dvs. hvor der kan dannes relativt meget slam i VVB, der normalt skal udslammes 1 - 2 gange om ugen. De sidste tre er af den nyere type katolyseanlæg, der udvikler meget lidt slam. Det bemærkes, at det ene katolyseanlæg er blevet installeret på et kobberøranslæg med det formål at danne belægninger på rørene og derved reducere kobberoptagelsen i vandet.

Driftsforholdene for elektrolyseanlæg skal være tilpasset vandforbruget i varmtvandssystemet, således at der opløses aluminium svarende til at neutralisere aggressiviteten i vandet. Samtidig hermed er kalkindholdet i vandet årsag til, at der dannes slam, og det vides at en overdosering fra elektrolysen medfører ekstra meget slam.

Næsten alle anlæg har galvaniserede stålør (varmførzinkede). Der er to anlæg med kobberør og et med rustfri stålør. På enkelte anlæg er der eller kan der på grund af ombygning forekomme korte afgreninger af plastrør (PEX) til tapsteder.

I alle anlæg, bortset fra et relativt lille system i en børneinstitution (HY), er der et cirkulationssystem af ledninger, således at vand fra de ydre ender af forsyningsstrengene hele tiden cirkulerer retur til boilerum for genopvarmning i VVB eller VX. Fra de sidste korte afgreninger til tapstederne er der normalt ikke cirkulation, og her kan vandet stå stille og blive afkølet. Der kan på anlæg være stor forskel på effektiviteten af cirkulationen. Derudover har omfanget og effektiviteten af rørsoleringen overalt i systemet stor betydning.

3.6 Vandets temperaturer

Vandtemperaturen målt i boilerum: VVB eller til net varierede fra 37°C til 60°C. I cirkulationsreturvandet var variationen fra 35°C til 56°C, og fra tapstederne var variationen fra 25°C til 55°C (se figur 3.6 A, B og C). I tabel 3.6.1 angives den gennemsnitlige vandtemperatur og variationen mellem anlæggene for beboelsesejendommene. For de øvrige kategorier med kun et eller to anlæg, angives ikke noget gennemsnit. De angivne temperaturer er målt i boilerum: VVB eller til net, i cirkulationsreturvandet og fra et tapsted efter opnåelse af stabil temperatur efter 1-4 min. tapning.

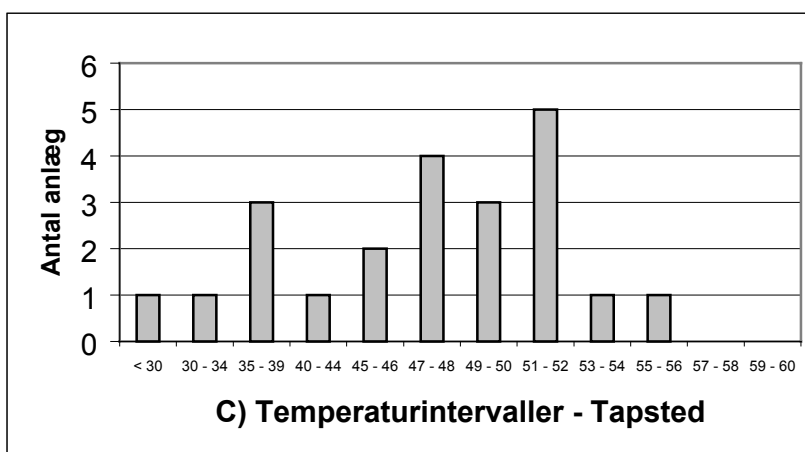
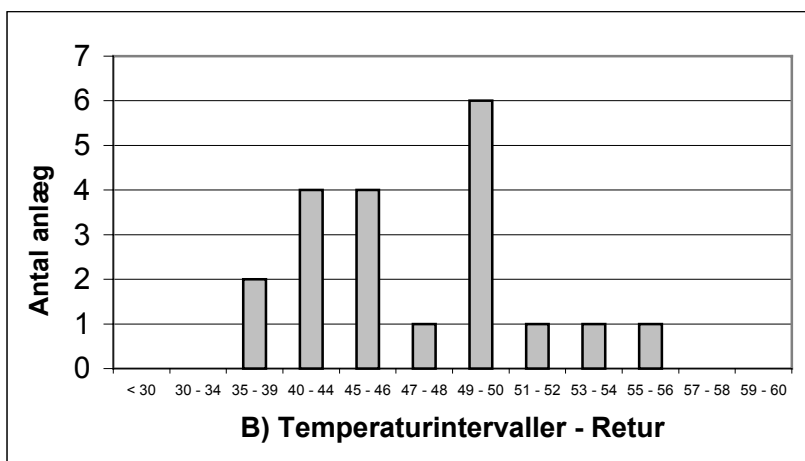
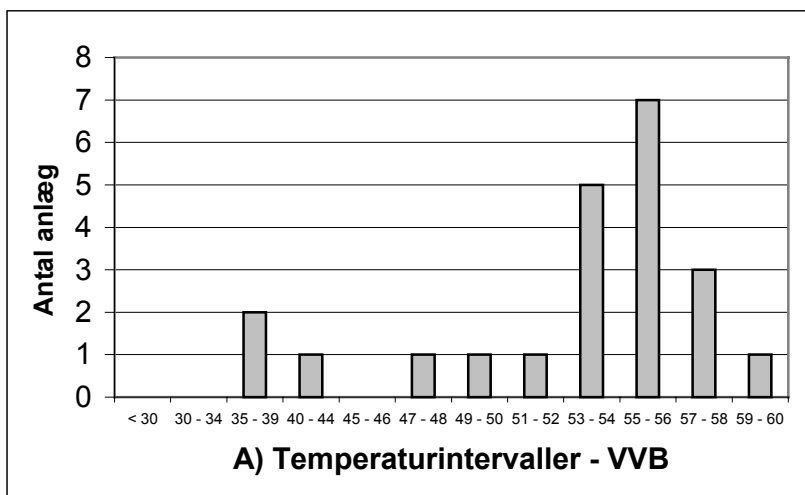
For beboelse varierede temperaturen i boilerum fra 50°C til 58°C, gennemsnittet var 54°C. Ved tapsteder lå temperaturen fra 39°C til 51°C, gennemsnittet var 48°C.

Tabel 3.6.1 Målte temperaturer for de forskellige kategorier af ejendomme, for beboelse gennemsnit og (variation) for anlæggene, for de øvrige kategorier med et eller to anlæg vises kun (variation)

		Vandtemperatur °C		
		Gennemsnit	(variation)	
Beboelse	VVB	54	(50 – 58)	
	Cirkul. retur	48	(40 – 53)	
	Tapsted	48	(39 – 51)	(1-2 min. tapn)
Skole	VVB	-	(50/60 – 57)*	
	Cirkul. retur	-	(45 - 50)	
	Tapsted	-	(25/50 – 53)*	(1-4 min. tapn)
Idræt, badetemp.	VVB	-	(37 – 38)	
	Cirkul. retur	-	(35 – 37)	
	Tapsted	-	(36 – 38)	(2 min. tapn)
Plejhjem	VVB	-	(48 – 60)	
	Cirkul. retur	-	(43 – 56)	
	Tapsted	-	(45 – 55)	(2 min. tapn)
Div. kategori: Børneinstitution	VVB	-	(55 ca.)	
	Cirkul. retur	-	-	
	Tapsted	-	(47)	(2 min. tapn)
Virksomhed	VVB	-	(35/55 – 50/60)*	
	Cirkul. retur	-	(42)	
	Tapsted	-	(34 – 54)	(2 min. tapn)

* Målt på forskellige steder eller tidspunkter

Figur 3.6 A, B og C. Fordelingen af antal anlæg efter driftstemperaturer for hhv. A) varmtvandsbeholder (VVB), B) cirkulationsvand (retur) og C) tapsted

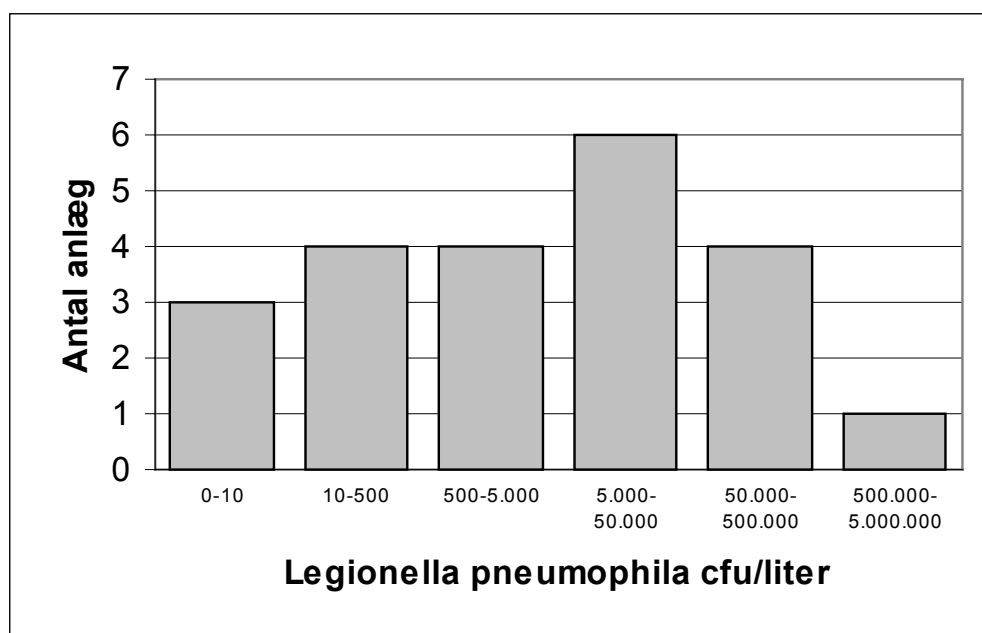


4 Forekomst af *Legionella*

4.1 Resultater af dyrkning

Fra hver af 22 ejendomme blev der udtaget mindst én prøve fra det varme vand, i alt 35 prøver. Prøverne blev udtaget fra tapsteder som vandhaner eller brusere. Ved dyrkning blev der påvist *Legionella pneumophila* i 29 prøver fra 19 af de 22 undersøgte anlæg. I seks prøver fra tre anlæg blev der ikke påvist *Legionella* ved dyrkning; fra de tre anlæg (HY, NANA og CH) var henholdsvis tre, to og én undersøgte prøver negative. Kimtal for *Legionella* i de positive prøver varierede fra værdier tæt ved analysemetodens grænse for følsomhed 10^1 cfu/liter til $\geq 4,9 \times 10^6$ cfu/liter. Medianværdien var 6×10^3 cfu/liter (8×10^3 for de 19 anlæg med påvist *Legionella*). I figur 4.1.1 er anlæggene fordelt efter den fundne koncentration af *Legionella pneumophila* efter prøveudtagningsinstruks A, og i tabel 4.1.1 er fundene opgjort efter ejendomskategori.

Figur 4.1.1 Antal anlæg fordelt efter fund af *Legionella pneumophila* kimtal (cfu/liter) i prøver udtaget fra tapstederne efter prøvetagningsinstruks A. For anlæg, hvor der er udtaget mere end en prøve, er det kun resultatet for den første prøveudtagning, der er medtaget. Anlæg, hvorfra der ikke er påvist *Legionella* i prøverne, er placeret i intervallet 0 – 10. Anlæg med $10^2 - 10^3$ cfu/l er placeret i intervallet 10 – 500



Tabel 4.1.1 *Legionella* cfu/liter i 22 anlæg, fordelt på ejendomskategori (instruks A)

Beboelse:	0	10/20	$10^2/10^3$	10^3	10^3	10^3	$1,4 \times 10^3$	6×10^3	10^4	$1,4 \times 10^4$	$4,6 \times 10^4$	$1,8 \times 10^5$	$\geq 4,9 \times 10^6$
Skole:			$10^2/10^3$									$3,7 \times 10^5$	
Børneinst.:	0												
Virksomh.:	0										$9,8 \times 10^4$		
Idræt bad:		$10^2/10^3$						8×10^3					
Plejehjem:								8×10^3			$7,8 \times 10^4$		

4.1.1 Resultater af gentagne prøver og dobbeltprøver

Der er på 5 anlæg udført gentagne analyser, og på disse og yderligere 3 anlæg er der foretaget dobbeltprøver efter instruks A og B. Resultaterne heraf er vist i bilag B.

Tabel 4.1.1.1 Sammenligning af gentagne prøver - Legionella i cfu/liter

	1. prøve cfu/l	2. prøve cfu/l	Anlægskode
Prøver samme sted	ikke påvist	ikke påvist	HY
	$10^2 - 10^3$	$1,2 \times 10^3$	OS
2. prøve andet sted	8×10^3	$10^1 - 10^2$	LI
	$1,8 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$	HA
	$\geq 4,9 \times 10^6$	7×10^4	JA

I de 3 anlæg, hvor 2. prøve blev taget et andet sted, er indholdet væsentligt mindre, en 10-faktor eller endnu mindre. Som eksempel blev der fundet $\geq 4,9 \times 10^6$ i et kælderrum, mens der blev fundet 7×10^4 i en lejlighed. Begge var tilknyttet samme anlæg.

Dobbeltprøverne blev taget fra samme tapsted. Prøve A var den først tappede liter, og prøve B var efter at vandet havde løbet kraftigt i 3-4 min., ved stabil temperatur. En undtagelse er dog, at på et idrætsanlæg med badetemperatur blev A taget om morgenen og en såkaldt "B" om eftermiddagen efter et stort forbrug. For to dobbeltprøver blev der ikke påvist *Legionella*. Samtlige 8 resultater ses nedenfor.

Tabel 4.1.1.2 Sammenligning af dobbeltprøve - Legionella i cfu/liter

A	B	Anlægskode
ikke påvist	ikke påvist	NAN
ikke påvist	ikke påvist	HY
$1,4 \times 10^4$	7×10^3	HA
7×10^4	4×10^4	JA
1×10^3	1×10^3	HK
1×10^3	1×10^2	BRU
$1,2 \times 10^3$	1×10^3	OS
$10^1 - 10^2$	$10^1 - 10^2$	LI

I gennemsnit er der tale om ca. en halvering af indholdet fra A til B, og dermed ikke en væsentlig reduktion.

4.2 Resultater af PCR

Ved PCR blev der påvist *Legionella pneumophila* i vandprøver fra 21 af de 22 undersøgte anlæg. I de PCR positive prøver blev der påvist fra $\leq 10^3$ til $\geq 10^6$ genomer/l. Det ene anlæg, hvor der ikke blev påvist *Legionella pneumophila*, var anlæg (CH), hvor der heller ikke blev påvist *Legionella pneumophila* ved dyrkning. I to anlæg (NAN og HY), hvor der ikke blev påvist *Legionella* ved dyrkning, blev der påvist *Legionella pneumophila* ved PCR på et forholdsvist højt niveau (hvh. $\geq 10^4$ og $10^3 - 10^4$ genomer/l). Fra (HY) blev der på et senere tidspunkt igen udtaget prøver (A og B). Disse var negative for *Legionella pneumophila* ved PCR. Af de i alt 35 analyserede vandprøver blev der med PCR påvist *Legionella pneumophila* i de 32 inklusive tre prøver, der var negative ved dyrkning. Se i øvrigt kapitel 8 PCR/Dyrkning.

4.3 Konklusion

Ved dyrkning for *Legionella* blev der påvist *Legionella pneumophila* i prøver fra 19 af 22 undersøgte anlæg. Ved PCR blev der påvist *Legionella pneumophila* i vand fra 21 anlæg. Denne forskel vil blive omtalt nærmere i kapitel 7.

Ved dyrkning var der ret stor variation i kimtallet: fra under detektionsgrænsen til ganske få kim i vand fra syv anlæg og til høje koncentrationer ($> 5 \times 10^4$ cfu/l) i fem anlæg. I 11 af de 19 vandprøver blev der fundet mere end 5×10^3 cfu/l. Af de 22 ejendomme var de 13 beboelsesejendomme, i prøver fra 12 af de 13 beboelsesejendomme blev der fundet *Legionella pneumophila*, i 10 var kimtallet $\geq 10^3$ cfu/l. Udover egentlige beboelsesejendomme blev der undersøgt vandprøver fra to plejehjem. Her var kimtallene omtrent 10^4 cfu/l i prøver fra begge anlæg. Undersøgelse har således vist, at *Legionella pneumophila* er almindeligt forekommende i de her undersøgte varmtvandsanlæg.

5 Forekomst i relation til drifts- og anlægsforhold

5.1 Relationer til temperatur

Brugsvandets temperatur er blevet målt og registreret tre karakteristiske steder i anlæggene. De tre steder er fremløb fra boilerrum – ved afgang beholder/veksler – cirkulationsretur fra ledningsnettet og ved tapsted, hvor vandprøven blev taget.

Resultaterne af *Legionella*-dyrkningen for de 22 anlæg – fra første prøve – er grafisk blevet sammenholdt med de målte temperaturer. Det vises i figur 5.1.1, figur 5.1.2 og figur 5.1.3, der således består af tre grafer, hver med 22 punkter, idet dog grafen for cirkulationsreturen kun har 20 punkter. Der er anvendt forskellige punktsymboler for hver af de fem undersøgte ejendoms kategorier, og hvor kategorien beboelse udgør 13 punkter. I graferne er anvendt en logaritmisk ordinatakse for legionellakim for at kunne tydeliggøre både store og små værdier. I graferne, fig. 5.1.1 - 5.1.3 er de tre anlæg uden påvist *Legionella* angivet med mindsteværdien 10^0 lig med 1. Bemærk, at graferne er gengivet i større format i bilag C1, C2 og C3.

Ved vurdering af graferne kan de to punkter for idrætsanlæggenes badetemperatur, hvortil der blandes ca. 38°C i boilerrummet, holdes adskilt, idet de øvrige 20 er fra anlæg, der i hovedprincippet er designet til sammenlignelige driftsforhold. For de 20 anlæg ses at temperaturen i boilerrummet varierer fra 48 til 60°C, medianen er 55°C. Der er tre anlæg uden *Legionella*, et med kun ca. 10 cfu/l, et anlæg med $\geq 4,9 \times 10^6$ cfu/l, mens de øvrige anlæg ligger tættere omkring medianen 10^4 cfu/l. Alt i alt kan der ikke ses nogen klar relation mellem temperatur og *Legionella*, som f.eks. at vand med lavere temperaturer end 50°C medfører højere koncentration af *Legionella*.

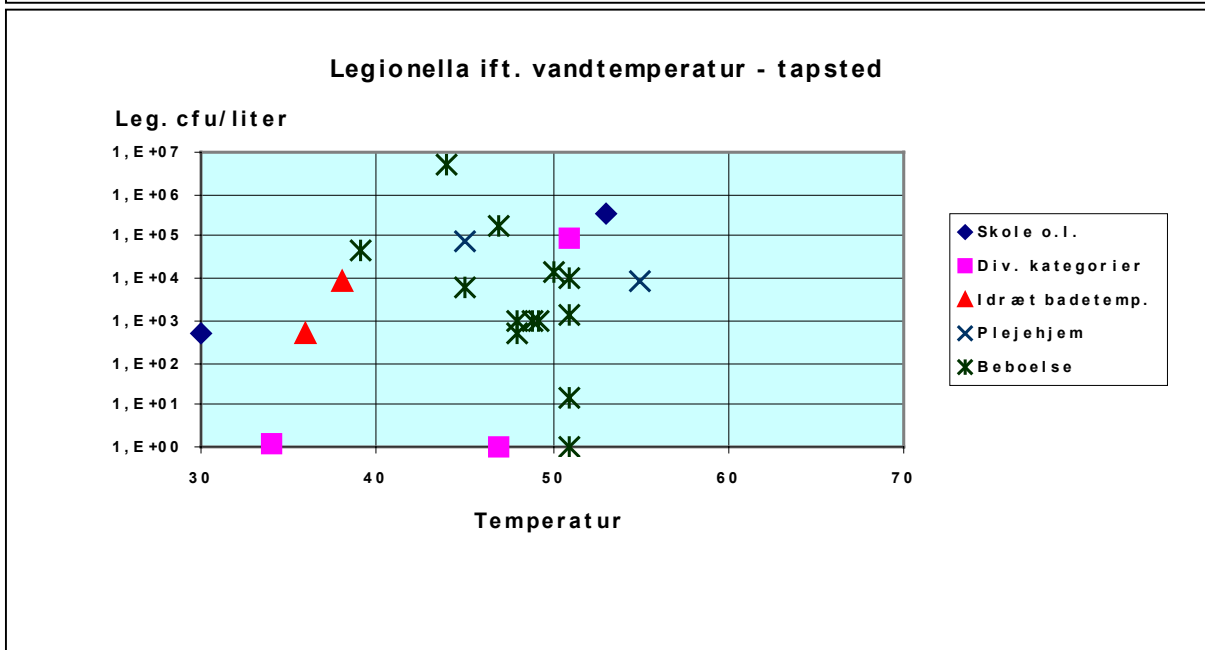
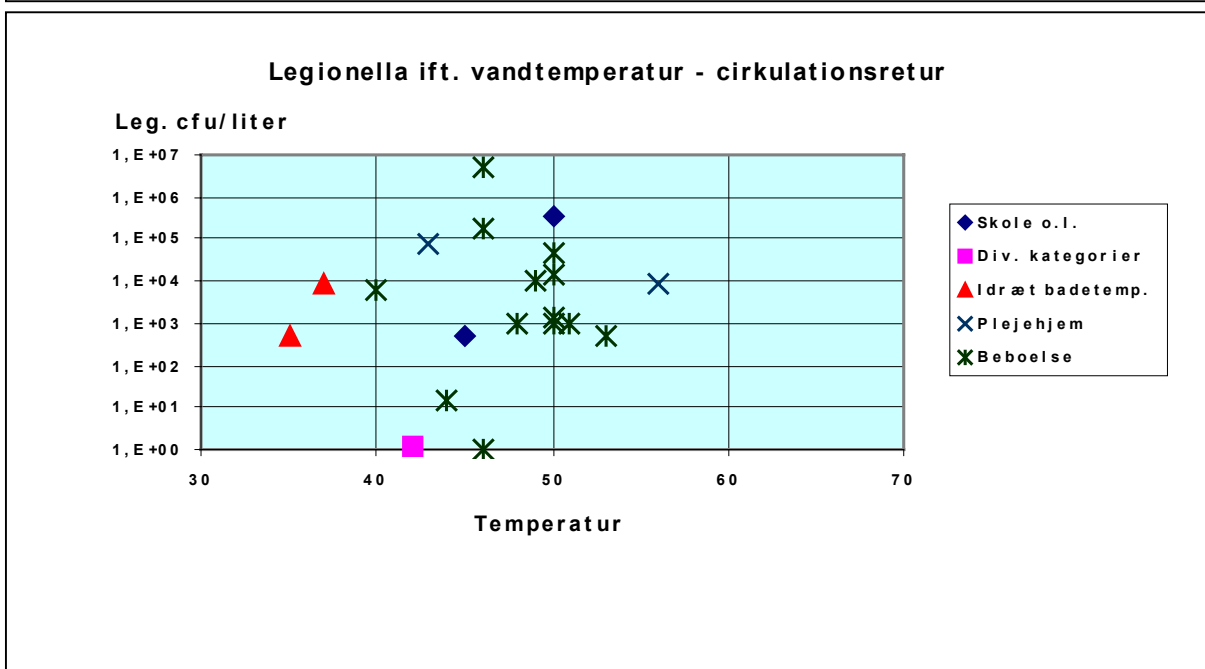
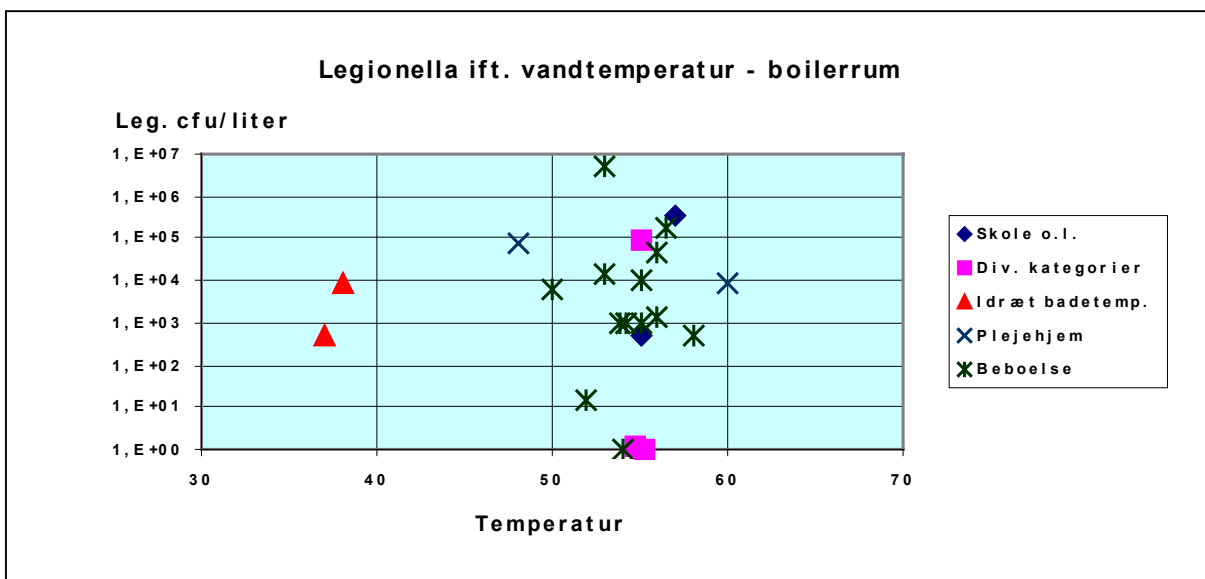
I grafen for cirkulationsreturen ses de tilsvarende punkter, dog kun 20 punkter, men nu placeret ved en lavere temperatur. For temperaturen i 18 anlæg – ekskl. idrætsanlæg – er der her en større spredning, fra 40 til 56°C, og medianen er ca. 49°C.

I grafen for tapstedets temperatur er der – ekskl. idrætsanlæg – en endnu større spredning på temperaturen i de 20 anlæg, fra 30 til 55°C, og medianen er også her ca. 49°C.

Ved lineær regressionsanalyse blev det undersøgt, om der var korrelation mellem logaritmen til de fundne legionellakimtal i vand fra tapstederne (udtaget efter instruks A) og den målte temperatur i vandet ved hhv. boilerrum, cirkulationsreturen og tapsted. For at data skulle være sammenlignelige, blev dette kun undersøgt for kategorien beboelsesejendomme (N=13). Der blev kun fundet en signifikant korrelation mellem kimtal og temperatur for tapstederne. Korrelationskoefficienten var -0,60, hvilket vil sige, at kimtallet falder med stigende temperatur, vel at mærke kun indenfor det undersøgte temperaturinterval, der for tapsted/beboelse var 39°C – 51°C (Bilag D). Signifikansniveauet var hhv. $\geq 95\%$ ved F-test og $\geq 97,5\%$ efter Students T-test. Der var således ingen signifikant sammenhæng mellem kimtal i vand fra tapsted og temperaturen i vand fra boilerrum eller cirkulationsreturen. (Forekomst af *Legionella* i vand fra boilerrum og cirkulationsreturen er ikke undersøgt.)

Ligeledes blev korrelationen ringere, hvis data fra andre kategorier blev inddraget i beregningerne.

Figur 5.1.1, Figur 5.1.2 og Figur 5.1.3
 Legionellaindhold i forhold til vandtemperatur i boilerum, i cirkulationsretur og ved tapsted



5.2 Andre relationer og iagttagelser

På basis af det relativt begrænsede antal anlæg, er det vanskeligt at angive sikre relationer, da der er forskelle på anlæggenes udformning mv. Man kan dog prøve at iagttage - jf. figurer og notatskemaer i bilag - om der har været andre forskelle ud over vandtemperaturen i nogle af de anlæg med lave koncentrationer af *Legionella* kim og anlæg med høje kimal.

Tabel 5.2.1 Anlæg med lave koncentrationer af *Legionella* ved tapsted

Kode	Kategori	L. cfu/l	Tap. °C	Anlægs- og driftsbeskrivelse
NANA	Beboelse	Ikke påvist	51	Ny ejend./anlæg 1 år gl. kobberrør, plast (PEX) i lejl., Oph.tid 10 tim., 1VVB 54°C
VI3L	Beboelse	10-20	51	Veksler, "0" oph.tid. Veksler og cirk.ledn 1-2 år. gl., 2VX 52°C
HY4L	Institution	Ikke påvist	47	Lille anlæg, oph.tid 5 tim. Ikke elektrolyse, ikke cirk., kobberrør, 1VVB 55°C (umålt)
CH4P	Virksomhed	Ikke påvist	34	Meget kort oph.tid, lav VVB-kapacitet. Nat opv. VVB til >55°C
SM2U	Skole	10 ² -10 ³	25/30	Ikke cirk. prøvested, andre tapst. 50°C. VVB ofte på 60°C. Oph.tid 170 tim.
OS4P	Idræt, bade	10 ² -10 ³	36	Blandebeh. ved 37°C, oph.tid 7 tim. 1. VVB 56°C. Ikke elektr.
OP1T	Beboelse	10 ² -10 ³	48	Oph.tid 10 tim., 1 VVB 58°C
GU3P	Beboelse	1,4x10 ³	51	Oph. tid 6 tim., 2 VVB 56°C
AM4P	Beboelse	1x10 ³	51	3 VVB 54°C, Oph. tid 5 tim.
HK51	Beboelse	1x10 ³	50	1 VVB 55°C, Oph. tid 14 tim.
BRUA	Beboelse	1x10 ³	48	1 VVB 54°C, Oph. tid 5 tim.

En forklaring på det relativt lave indhold af *Legionella* ser ud til at være en høj tapstedstemperatur på 50-51°C for fem af anlæggene, og i tilfælde af en lavere temperatur en kort opholdstid for vandet (≤ 10 timer). Det må bemærkes, at når idrætsanlægget (OS4P) med blandet vand ved 37°C har et i forhold til temperaturen trods alt begrænset indhold af *Legionella*, er forklaringen her sandsynligvis den korte opholdstid i blandesystemet (7 timer). Tapstedets temperatur på skolen, anlægskode SM2U, er muligvis atypisk, da der blev målt en langt højere temperatur (50°C) ved andre tapsteder.

Tabel 5.2.2 Anlæg med høj koncentration af *Legionella* kim ved tapsted

Kode	Kategori	L. cfu/l	Tap °C	Anlægs- og driftsbeskrivelse
JA3P	Beboelse	$\geq 4,9 \times 10^6$	44	2 VVB 33° og 53°C i serie. Oph. tid 6 tim. Uklar 1. prøve, 2. prøve 7×10^4
SM2G	Skole, hal	$3,7 \times 10^5$	53	Oph.tid 240 tim., 1 VVB 57°C
DI2P	Virksomhed	$9,8 \times 10^4$	51	Oph.tid min. 24 tim., mere i weekend, hvor VVB er 50°C
BA1T	Beboelse	$1,5 \times 10^4$	50	Oph.tid 11 tim. 1 VVB 53°C
HA2P	Beboelse	$1,8 \times 10^5$	47	Oph.tid 18 tim., 1 VVB 55-58°C
TI2K	Beboelse	1×10^4	51	Oph.tid 9 tim., 2 VVB 55°C
UT3S	Beboelse	$4,6 \times 10^4$	39	Oph. tid 0 tim., 2 VX 56°C
AL2L	Plejhjem Plejecenter	$7,8 \times 10^4$	45	Oph. tid 6 tim., 2 VVB 48°C

Beboelsesanlægget JA3P har 2 VVB i serie. Den første vandprøve, der var uklar, blev udtaget fra et tapsted, der sjældent anvendes, hvilket forklarer det højere indhold af *Legionella* sammenlignet med den anden prøve, der blev udtaget fra et tapsted i en lejlighed med regelmæssigt forbrug. Opholdstiden på skolen SM2G er meget lang, og den er i weekends på virksomheden DI2P formodentlig 3 dage samtidig med, at temperaturen i VVB nedsættes fra 60°C til 50°C.

Øvrige iagttagelser:

Der er i alt fem anlæg med flere VVB. Det er i fire beboelser (TI2K, GU3P, AM4P og ovennævnte JA3P) og et plejhjem (AL2L). Disse anlæg har alle et *Legionella*-indhold på 10^3 cfu/liter eller derover. Der er to anlæg uden beholder og egentlig opholdstid for vandet, men med varmevekslere, hvor der i en beboelse (VI3L) kun var 10-20 cfu/l. I en anden beboelse (UT3S), hvor veksleren i øvrigt er helt ny, men tappetemperaturen kun 39°C, var indholdet så højt som $4,6 \times 10^4$ cfu/liter.

Relevante forhold, som ikke er belyst eller kan belyses af denne undersøgelse:

- Elektrolyse/katolyse eller ikke
- Slamdannelse og rensning af beholder
- Rørmaterialer: Galvaniseret/varmforsinket stål, kobber (2 anlæg, i BRUA 1,2 Cu⁺⁺mg/l) eller plast (PEX)
- Prøvested i anlæg (prøve udtoges altid ved tapsted/brugssted og aldrig i boilerum/beholder)
- Tidspunkt for prøveudtagning (tid på dagen, hverdag, weekend, i og omkring ferieperioder)
- Mikroflora/fauna (biofilm) og andre mikrobiologiske faktorer.

5.3 Vandets temperatur ved tapstedet

På det sidste rørstykke til et tapsted – koblingsledningen - vil der, når der ikke tappes, være en vis mængde stillestående vand, der afkøles i forhold til temperaturen i fordelingsystemet med konstant cirkulation. Det siger sig selv, at koblingsledningen eller tilsvarende en fordelingsledning uden cirkulation til nogle få tapsteder bør indeholde så lille en stillestående vandmængde som muligt. Ledningslængden bør være kort og rørdimensionen lille.

I undersøgelsen var temperaturen ved tapstederne først stabil efter i gennemsnit 2 minutters tapning (1–4 min.), og gennemsnittet for anlæggene var i øvrigt ca. 49°C. Regnes med en moderat tappeshastighed på 4 liter/min., er der således blevet tappet 8 liter vand. Dette antages at være størrelsesordenen af den stillestående vandmængde.

Er koblingsledningens dimension som eksempel et ½ tomme stålrør (rumfang 0,2 liter/meter) kan længden med ovennævnte tappemængde og –tid udregnes til 40 meter. I praksis er en separat koblingsledning sjældent så lang – det kan være en fordelingsledning af større dimension til flere tapsteder, men uden cirkulation – det afgørende er imidlertid, at det tager lang tid og er en lang vej i et rørsystem at skulle tappe 8 liter.

Hvis der kun er 1 liter stillestående vand før et tapsted, vil der med ovennævnte moderate tappehastighed kunne fås tilstrækkeligt varmt vand fra det cirkulerende system i løbet af ca. 15 sekunder. En koblingsledning af ½ tomme galvaniseret stålrør må da maksimalt være 5 meter lang. Anvendes kobberrør af lille dimension (ø10/8,4 mm og rumfang 0,05 liter/meter) – eller tilsvarende dimension af andet materiale – kan denne være op til 20 meter lang.

5.4 Konklusion

Ved at sammenholde koncentrationen af *Legionella* i vandprøverne fra tapsted på de 13 beboelsesanlæg med vandtemperaturer målt henholdsvis ved tapstedet, i boilerum og for cirkulationsreturen viser resultaterne, at der er størst sandsynlighed for en relation i forhold til temperaturen ved tapstedet. Her var en signifikant negativ korrelation. Det er således ikke alene afgørende hvilken temperatur, der er i varmtvandsbeholderen, da forholdene i ledningssystemet spiller en væsentlig rolle for, hvor mange legionellakim, der er i tapvandet. Udover temperaturen tyder det på, at lang opholdstid i vandet i selve anlægget og ringe flow fra tapstedet (jævnfør beboelsesanlæg JA3P) kan medføre høje kimtal.

Meget få anlæg overholder den anbefalede driftstemperatur (60°C i varmtvandsbeholder, min. 50°C ved tapstedet indfor 20-30 sekunder og min. 50°C for cirkulationsreturvandet (34)), og derfor kan denne undersøgelse hverken be- eller afkræfte, at driftstemperaturen alene er nok til at sikre en lav koncentration af *Legionella*.

Som følge af undersøgelsens begrænsede omfang hviler andre iagttagelser på et spinkelt grundlag, herunder at længere opholdstid for vandet i beholderen, f.eks. mere end 1 døgn, kan give høje koncentrationer af *Legionella* i vandet. Det samme gælder anlæg med flere beholdere i serie. Anlæg med badevandstemperaturer på ca. 37°C må anses for potentielt risikable, med mindre der er etableret særlige driftsmæssige procedurer.

De fleste af undersøgelsens prøver er taget fra tapsteder, der forsynes gennem relativt lange koblingsledninger eller fordelingsledninger uden cirkulation, hvilket har betydet en anslået stillestående vandmængde på ca. 8 liter som gennemsnit for anlæggene. Forudsættes der maksimalt 1 liter stillestående vand før et tapsted, vil der være mulighed for at tappe tilstrækkeligt varmt vand efter ca. 15 sekunder. Svarende til et indhold på 1 liter vand, kan en koblingsledning af ½ tomme galvaniseret stål maksimalt være 5 meter lang, og én af mindste dimension i kobber eller andet materiale maksimalt være 20 meter.

Andre forhold er blevet undersøgt såsom ejendomskategori, -størrelse og -alder, elektrolyse/vandbehandling samt rørmaterialer uden at det har været muligt at drage konklusioner. Slamdannelse, rensning og øvrig flora og fauna er ikke undersøgt.

6 Risikovurdering

For at foretage en risikovurdering for et anlæg/tapsted, hvorfra der er taget prøve, må man i første omgang vurdere legionellakimtallet, samt hvilken serogruppe (evt. subgruppe) isolaterne har. Desuden skal man vurdere hvor mange personer, der eksponeres, hvem eksponeres (ældre, syge, raske), og i hvilken grad vandet fra den givne kilde forstøves.

Ud fra erfaring om vandtemperaturens indflydelse på en mulig forekomst og opformering af *Legionella* bør et anlægs temperaturforhold også inddrages i en vurdering - uanset om der er foretaget analyse af vandprøven. Endvidere kan vandets opholdstid i anlægget - i gennemsnit og/eller i særlige perioder - inddrages i en overordnet risikovurdering.

6.1 Legionellakimtal

Fra samtlige anlæg blev der udtaget vandprøver efter instruks A, hvor den første liter fra tapstedet udtages, uden at vandet har løbet først. Med henblik på risikovurdering er det væsentligt at konstatere koncentrationen ved den aktuelle hane/bruser, når den åbnes, frem for at vurdere koncentrationen længere inde i anlægget.

Som der er gjort rede for i Kapitel 4 blev der påvist dyrkbare *Legionella pneumophila* kim i prøver fra 19 af de 22 undersøgte anlæg. Som det ses af figur 4.1.1 i Kapitel 4 var kimtallet under detektionsgrænsen eller meget lavt til forholdsvis højt ($< 5 \times 10^4$) i prøver fra 17 af de 22 anlæg. For de resterende fem anlæg må kimtallet betragtes som højt til meget højt (34). To af disse (HA2P og JA3P) fem prøver kom fra beboelsesejendomme, én fra et baderum (SM2G) i en idrætshal på en skole og én fra et baderum (DI2P) i en virksomhed. Den femte prøve (AL2L) var fra et plejehjem. Fra de to ejendomme blev der på et senere tidspunkt igen udtaget prøver, men fra andre tapsteder. Kimtallene var her godt 10 (HA) til knapt 100 (JA) gange lavere i de nye A prøver, og endnu lavere i B prøverne. Men kimtallene var dog moderat høje til høje i alle nye prøver fra begge ejendomme (7×10^3 til 7×10^4 cfu/liter).

6.2 Serogrupper

Der er i alt serogruppebestemt 145 kolonier isoleret fra 29 vandprøver fra 19 anlæg (fra to anlæg døde kolonierne inden de kunne serogruppebestemmes). Ved serogruppebestemmelse er der ikke påvist andre legionellaarter end *Legionella pneumophila*. Det har ikke været muligt at bestemme alle de undersøgte isolater til en specifik serogruppe med de monoklonale antistoffer. Det er tidligere vist, at det kan være vanskeligt at serogruppebestemme miljøisolater. En del isolater har således alene vist reaktion i Oxoid kittet som *Legionella pneumophila* serogruppe 2 – 14. Serogruppe 4 er en uhomogen gruppe. Nogle af disse isolater viser variabel reaktion med monoklonalt antistof mod serogruppe 15. Isolaterne benævnes her under et - serogruppe 4 eller 15.

I tabel 6.2.1 er serogruppefordelingen for isolaterne fra de 19 anlæg med dyrkningspåvist *Legionella pneumophila* vist. I fire anlæg blev der påvist mere end én serogruppe (OS, JA, HK og JY).

Tabel 6.2.1 Serogruppefordelingen for isolater fra 19 anlæg med dyrkningspåvist *Legionella pneumophila*. Samme anlæg kan optræde flere gange, hvis der er påvist mere end én serogruppe fra anlægget

<i>L.pneumophila</i> Serogruppe	1 Pontiac	1 non- Pontiac	3	4 Portland	6	10	4 el. 15	2 – 14
Antal anlæg med fund	1	3	2	4	7	1	2	7
Anlægskoder	OS	OS, HA, JY	BA, TI	LI, OL, OP, OS	SM2G, SM2U, DI, HA, GU, HK, BRU	OS	JA, HK	VI, JA, UT, AM, HK, JY, AL

Kun én koloni (af alle undersøgte) af i alt 15 undersøgte kolonier fra et anlæg (OS) blev identificeret til *Legionella pneumophila* serogruppe 1 Pontiac. Fra samme anlæg blev der også påvist *Legionella pneumophila* serogruppe 1 non-Pontiac, serogruppe 4 Portland og serogruppe 10. Fra yderligere to anlæg (HA, JY) blev der påvist *Legionella pneumophila* serogruppe 1 non-Pontiac. I de øvrige 16 anlæg blev der påvist andre *Legionella pneumophila* serogrupper. Serogruppe 3, som efter serogruppe 1 er hyppigste årsag til legionærsygdom i Danmark, blev påvist i to anlæg (BA, TI). Der blev ikke påvist nogen sammenhæng mellem forekomst af specifik serogruppe på den ene side og kimtal eller temperatur eller anlægstype på den anden side.

6.3 Diskussion

Der er aldrig påvist en direkte sammenhæng mellem niveauet af legionellakim og risiko for at blive smittet. Det er således velkendt, at *Legionella* nogle steder kan forekomme i høje koncentrationer, uden at der er kendte tilfælde af smitte, mens man i andre tilfælde ser smitte fra kilder med tilsyneladende moderate koncentrationer ved efterfølgende vandanalyser. På den anden side er der næppe påvist smitte fra varmtvandssystemer med mindre end 10^3 cfu/l. Et kimtal på $\leq 10^3$ cfu/l indikerer dog, at *Legionella* kan trives i anlægget, og selv små ændringer i driftsforholdene (eller lokale forhold ved tapstederne) kan formentlig få kimtallet til at stige kraftigt.

Påvisning af høje koncentrationer af *Legionella pneumophila* fra et tapsted bør derfor føre til handling, men ved vurdering af risikoen må det tages i betragtning, hvor mange personer der eksponeres, hvem der eksponeres (ældre, syge, raske), og i hvilken grad vandet forstøves fra den givne kilde. Det kan dog være vanskeligt at identificere anlæg, hvor udelukkende raske personer eksponeres, idet disponerede personer (f.eks. kronisk syge) kan være hjemmeboende og/eller i arbejde og dermed kan komme i kontakt med varmtvandssystemer i beboelsesejendomme og på arbejdspladser.

Med udgangspunkt i de fem højeste kimtalsfund (HA2P, JA3P, SM2G, DI2P og AL2L) kan man sige, at så høje kimtal ikke bør forekomme i beboelsesejendomme (HA2P og JA3P) eller i badeanlæg for en skole (SM2G) eller en virksomhed (DI2P). Mest alvorligt ser det måske ud for anlægget (AL2L), der er på et plejehjem, hvor det er ældre og svækkede personer, der eksponeres.

Ved risikovurderingen kan man se på hvilke serogrupper og subgrupper, der forekommer. Samtlige kendte udbrud af ikke-nosokomial legionærsygdom har været forårsaget af *L.pneumophila* serogruppe 1 subgruppen Pontiac, så selv lave koncentrationer af denne subgruppe bør give anledning til agtpågivenhed. Ofte findes denne subgruppe dog i blandingskultur i så lille andel, at den ikke umiddelbart påvises ved dyrkning, medmindre der underundersøges mange kolonier ved serogruppebestemmelse. Desuden tyder undersøgelser på, at samme serogruppe 1 stamme kan eksistere både i en virulent (Pontiac) og mindre virulent form (non-Pontiac) samme sted (23). Så det er et spørgsmål om man reelt kan bedømme risikoen til at være mindre hvis man kun finder non-Pontiac. Selv høje koncentrationer af non-serogruppe 1 vil sandsynligvis ikke frembyde risiko for egentlige udbrud af legionærsygdom udenfor hospitalsmiljø. Disse kan imidlertid være årsag til enkeltstående (eller få) tilfælde, udbrud af nosokomial legionærsygdom samt udbrud af Pontiac feber.

6.4 Konklusion

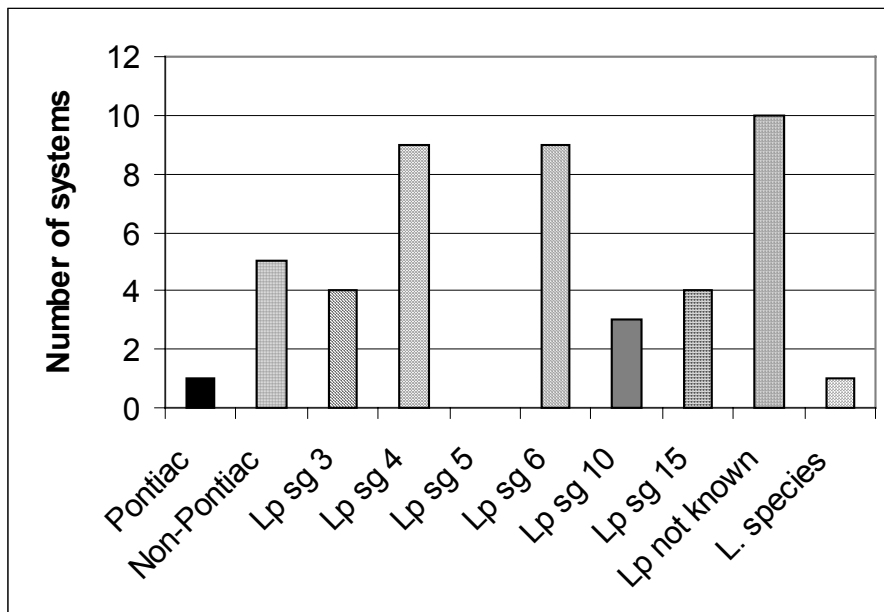
Undersøgelsen bekræfter, at *Legionella pneumophila* kan trives i almindelige varmtvandsanlæg og hyppigt forekommer i moderate til høje koncentrationer ($\geq 5 \times 10^3$ cfu/l i 11 anlæg). De her påviste kimtal, støtter den fremsatte hypotese, at almindelige varmtvandsforsyninger kan være en mulig smittekilde til legionærsygdom herhjemme.

I den foreliggende undersøgelse og i en tilsvarende undersøgelse fra Hvidovre Kommune har man fundet de samme serogrupper, som har været årsag til legionærsygdom i den danske befolkning. Af Figur 6.4.1 og Figur 6.4.2 fremgår, at de hyppigst sygdomsfremkaldende serogrupper: 1, 3, 4, og 6 alle også er isoleret fra vandprøver i disse to undersøgelser (35). Undersøgelsens resultater bekræfter dermed muligheden for, at varmtvandssystemer kan være en smittekilde for legionærsygdom i Danmark.

Ud over de rejse- og hospitalsrelaterede tilfælde diagnosticeres et antal tilfælde af legionærsygdom i befolkningen, hvor smitekilden i de fleste tilfælde er ukendt. Disse tilfælde udgør 50-60% af det årlige registrerede antal tilfælde af legionærsygdom, men det absolutte tal af kendte tilfælde er lille og andrager ca. et halvt hundrede personer. Årsagen til, at der er relativt få tilfælde i denne kategori, tiltrods for at mange mennesker dagligt ekponeres, kan bl.a. bero på, at de mest virulente eller smitsomme typer af bakterien ikke forekommer særligt hyppigt i miljøet. Denne undersøgelse støtter denne antagelse, idet serogrupperne 1 og 3, der er årsag til knapt 80% af alle dyrkningspåviste *Legionella* infektioner i Danmark (4) kun blev fundet i 5 af 19 anlæg, samt det forhold at *L.pneumophila* serogruppe 1 subgruppe Pontiac, der er årsag til ca. 50% af alle tilfældene, kun blev påvist i et af i alt 38 undersøgte anlæg i de to undersøgelser (35) – i denne undersøgelse var det i et af 19 anlæg. Relativ sjælden forekomst af de mest virulente eller smitsomme typer kan således være en årsag til, at der er relativt få tilfælde af legionærsygdom i Danmark. Årsagen hertil kendes ikke, og det skal erindres at denne undersøgelse kun omfatter én mulig smittekilde – nemlig varmtvandssystemet.

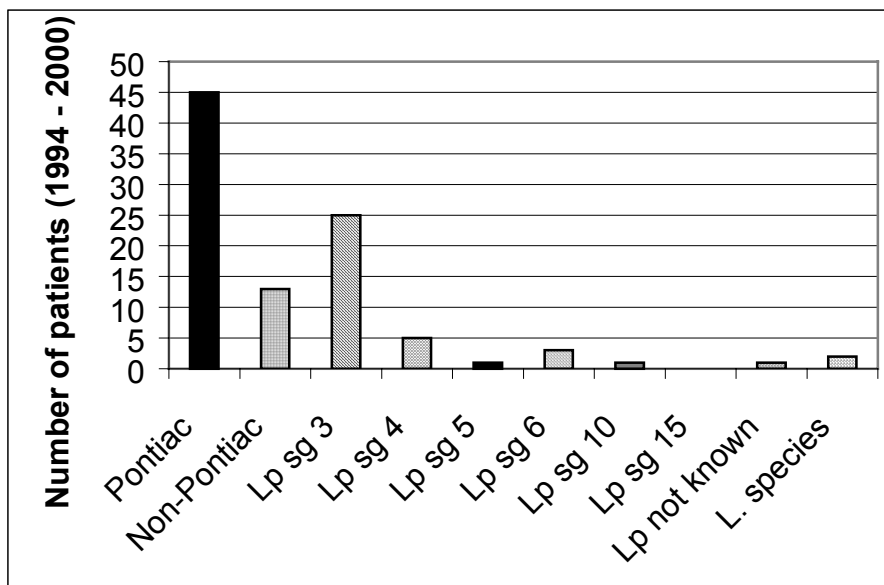
Figur 6.4.1

Legionella serogrupper påvist i 38 varmtvandsanlæg. Antal anlæg med angivne serogrupper³⁵ (Pontiac og non-Pontiac, begge serogruppe 1)



Figur 6.4.2

Legionella serogrupper isoleret fra 96 hverken -rejse- eller hospitalsrelaterede tilfælde af Legionærsygdom i Danmark i perioden 1994-2000³⁵ (Pontiac og non-Pontiac, begge serogruppe 1)



7 PCR/Dyrkning

Projektet gav mulighed for at forsøge at vurdere PCR til påvisning af *Legionella* DNA som en hurtig metode til påvisning af *Legionella* i vandprøver. Metoden er modificeret fra en PCR analyse, der i flere år har været i brug på Statens Serum Institut som en metode til påvisning af *Legionella* i prøver fra patienter (33). Anvendt på patientprøver opgives resultatet kun som negativt eller positivt. Erfaringer med analyse af vandprøver med *Legionella* PCR var på forhånd meget begrænsede. Eftersom dyrkning er standardmetoden (referencemetoden) til påvisning af *Legionella*, er det forsøgt at sammenligne PCR resultaterne med dyrkningsresultaterne for alle vandprøverne. En direkte kvantitativ sammenligning er dog ikke mulig da PCR i denne udformning højst er semikvantitativ. Resultaterne er derfor udtrykt som intervaller eller som større end eller mindre end en given koncentration.

7.1 *Legionella pneumophila*

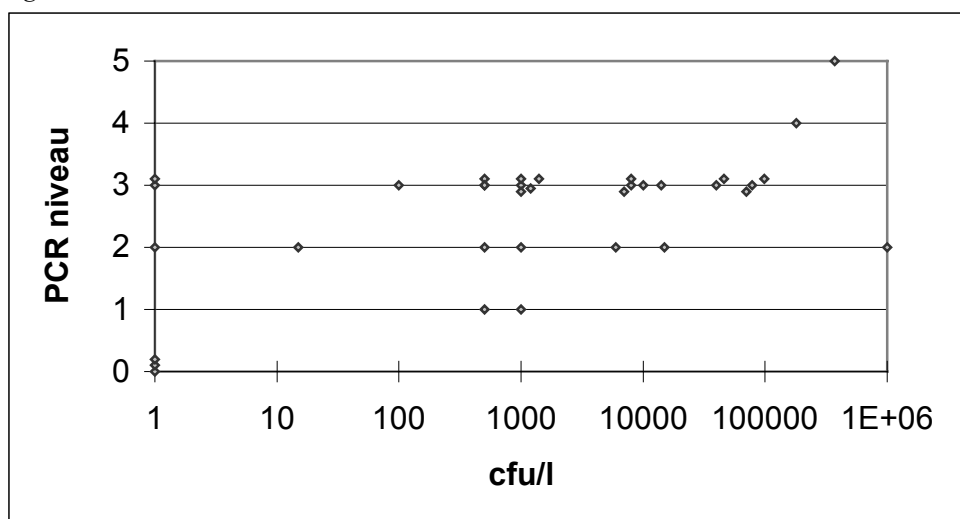
Resultaterne for de to metoder er herunder præsenteret på to forskellige måder: A) I tabel 7.1.1 hvor PCR resultaterne for *Legionella pneumophila* er angivet fordelt efter de samme kimtalsintervaller, som er anvendt i figur 4.1.1 og B) i figur 7.1.1 hvor PCR resultater for *Legionella pneumophila* er angivet som niveauer som funktion af dyrkningsresultaterne.

Af de i alt 35 analyserede vandprøver blev der med PCR påvist *Legionella pneumophila* i de 32, inklusive tre prøver der var negative ved dyrkning. De påviste niveauer fundet ved hhv. dyrkning og PCR var i overensstemmelse for 23 af de 35 vandprøver, idet der var mindre end 10 x forskel på niveauerne, for fem prøver var der ca. 10 x forskel på niveauet, og kun for i alt 7 prøver var der mere end 10 x forskel på niveauerne for de to metoder.

Tabel 7.1.1 *Legionella pneumophila* PCR resultater fordelt efter kimtalsresultaterne ved dyrkning af de 35 vandprøver. Intervallerne er de samme, som anvendt i figur 4.1.1. Koden for prøven er angivet under PCR resultatet

Kimtals-intervaller cfu/l	0 - 10	10 – 500	500 – 5000	5000 – 50000	50000 – 500000	500000 – 5000000
PCR fund STED	Ikke påvist HY51	$\leq 10^3$ LI61	$\leq 10^3$ AM4P	$10^3 - 10^4$ OL1T	$\geq 10^4$ DI2P	$10^3 - 10^4$ JA3P
	Ikke påvist HY52	$10^3 - 10^4$ VI3L	$10^3 - 10^4$ HK52	$10^3 - 10^4$ BA1T	$\geq 10^4$ JA51	
	Ikke påvist CH4P	$\geq 10^3$ LI62	$\geq 10^4$ HK51	$\geq 10^4$ TI2K	$> 10^4$ AL2L	
	$10^3 - 10^4$ HY4L	$\geq 10^4$ OP1T	$\geq 10^4$ GU3P	$\geq 10^4$ UT3S	$\geq 10^5$ HA2P	
	$\geq 10^4$ NANA	$\geq 10^4$ SM2U	$\geq 10^4$ BRUA	$\geq 10^4$ JY4P	$\geq 10^6$ SM2G	
	$\geq 10^4$ NANB	$\geq 10^4$ BRUB	$\geq 10^4$ OS61	$\geq 10^4$ LI1T		
		$> 10^4$ OS4P	$\geq 10^4$ OS62	$\geq 10^4$ HA61		
				$\geq 10^4$ HA62		
				$\geq 10^4$ JA52		

Figur 7.1.1 PCR resultater angivet som niveauer (0 = ikke påvist *Legionella pneumophila*, 1 = $\leq 10^3$, 2 = $10^3 - 10^4$, 3 = $\geq 10^4$, 4 = $\geq 10^5$ og 5 = $\geq 10^6$ genomer/l) som funktion af påviste kimtal i de 35 vandprøver. Da flere punkter er sammenfaldende, er de spredt ud omkring de relevante reaktionsniveauer, så punkterne er synlige. Dyrkningsresultater uden vækst (under detektionsgrænsen 10 cfu/l) er angivet som 1 cfu/l. Det højeste dyrkningsfund $\geq 4,9 \times 10^6$ cfu/liter er af præsentationsmæssige grunde angivet som 10^6



7.2 *Legionella* species

I tre dyrkningsnegative vandprøver (HY51, HY52 og CH4P) blev der ikke påvist *Legionella pneumophila*, men i to af disse blev der påvist *Legionella* spp. ($\geq 10^3$ genomer/l). Begge prøver var fra samme anlæg (HY- anden prøveudtagning). Ved dyrkning blev der ikke påvist *Legionella* spp.

7.3 Konklusion

Ved PCR for *Legionella* påvises både døde, levende og ikke-dyrkbare men levende bakterier. Alene af den grund kan man ikke forvente, at resultaterne for dyrkning og PCR vil være helt i overensstemmelse. Man kan formode, at det samlede antal af bakterier (døde, levende og ikke dyrkbare) kan være langt højere end det man kan påvise ved dyrkning. Fund af *Legionella* ved PCR fra dyrkningsnegative prøver er derfor en mulighed. Det kan f.eks. tænkes at *Legionella* opformerer i rørender eller i returløbet, for derefter at blive dræbt af det varmere vand i varmtvandsbeholderen. Vandet ved tapstederne kan således indeholde et stort antal døde celler. Dette kan måske være forklaringen på forskellen mellem resultaterne for PCR og dyrkning fra anlæg NANA, hvor der ikke blev påvist *Legionella pneumophila* ved dyrkning men $\geq 10^4$ ved PCR (to prøver efter instruks A og B). Returvandstemperaturen var her 46°C (evt. mulighed for vækst af *Legionella*), mens temperaturen i vand fra varmtvandsbeholder var 54°C (*Legionella* dør). Temperaturen ved tapstedet var også over 50°C, og anlægget var nyt (1 år). Det kan også formodes, at antallet af døde bakterier kan variere meget efter varierende driftsforhold for et givet anlæg, hvis f.eks. vandtemperaturen i et anlæg hæves til over 50°C eller der påbegyndes behandling med biocider, kan biofilmen nedbrydes, og store mængder af døde bakterier skylles ud fra tapstederne. Sænkes temperaturen igen, eller ophører biocidbehandlingen, kan der ske en reetablering af biofilmen. I denne fase vil man måske hverken påvise døde eller levende bakterier. Der er dog ingen grund til at tro at der er udført biocidbehandling eller temperaturgymnastik på disse anlæg i den periode, hvor prøverne blev udtaget.

Et andet forhold, der kan bidrage til forskellige resultater for dyrkning og PCR, er, at man ved dyrkning ikke måler det faktuelle kimtal men derimod kolonidannende enheder (cfu). Det er langt fra sikkert, at hver koloni kun hidrører fra én kim, f.eks. kan en amøbevakuole indeholde over 1000 bakterier. Hvis den ikke ødelægges inden udsæd vil hele indholdet måske kun resultere i én cfu. Ved PCR ville sådan en enkelt vakuole med bakterier kunne give en meget kraftig reaktion.

I den anden retning trækker, at nogle vandprøver indeholder komponenter (f.eks. rust), der er mere eller mindre hæmmende for PCR reaktionen. I denne undersøgelse kunne alle vandprøverne analyseres ved PCR, da ingen af dem hæmmede reaktionen helt. Mindst én prøve (JA3P) var dog delvist hæmmende

(bedømt på båndintensiteten for den interne kontrol). Dette var sandsynligvis forklaringen på, at resultatet for PCR med denne prøve var mere end 100 x lavere (10^3 - 10^4 genomer/l) i forhold til dyrkning, hvor der blev påvist $\geq 4,9 \times 10^6$ cfu/liter. PCR-resultaterne kan således være såvel højere som lavere værdier end dyrkningsresultatet.

Denne undersøgelse giver ikke noget entydigt svar på spørgsmålet, om PCR er anvendelig til påvisning af *Legionella* i vandprøver. Undersøgelsen viser dog, at PCR generelt ikke har problemer med at påvise *Legionella* i vandprøver, men til en bedømmelse af antallet af levende bakterier (og dermed potentielt infektiøse kim) er metoden ikke anvendelig.

8 Litteraturliste

1. Kilvington S, Price J. Survival of *Legionella pneumophila* within cysts of *Acanthamoeba polyphaga* following chlorine exposure. J. Appl. Bacteriol. (1990) **68**:519-525
2. Schulze RR, Rodder M, Exner M. [Multiplication and killing temperatures of naturally occurring *Legionellas*]. Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. B. (1987) **184**:495-500
3. Lo Presti F, Riffard S, Vandenesch F et al. The first clinical isolate of *Legionella parisiensis* from a liver transplant patient with pneumonia. J. Clin. Microbiol. (1997) **35**:1706-9.
4. Uldum SA, Helbig JH. Sero- and subgroup distribution of clinical isolates of *Legionella* Spp. in Denmark from 1994 to June 2000. 5th International Conference on *Legionella*, (2000) Ulm, Germany. Poster.
5. Bang S, Uldum SA, Hanehøj H, Jensen ET. *Legionella*-infektioner 1996 – 1997. EPI-NYT (1998) Uge 42/43.
6. Dournon EW, Bibb F, Rjagopalan P, Desplaces N, McKinney RM. Monoclonal antibody reactivity as a virulence marker for *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains. (1988) J. Infect. Dis. **157**: 496-501.
7. Helbig, JH, Lück PC, Knirel YA, Witzleb W, Zähringer U. Molecular characterization of a virulence-associated epitope on the lipopolysaccharide of *Legionella pneumophila* serogroup 1. Epidemiol. Infect. (1995) **115**: 71-78.
8. Pelaz C, Martin-Bourgon C. [Characterization of clinical and environmental isolates of *Legionella* associated with outbreaks and study of the infection sources]. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. (1993) **108**:359-65. Spanish.
9. Castellani Pastoris M, McIntyre M, Goldoni P. *Legionella pneumophila* serogroup 1 population in Italy by monoclonal subtyping. Epidemiol. Infect. (1990) **105**:169-74.
10. Formica N, Tallis G, Zwolak B et al. Legionnaires' disease outbreak: Victoria's largest identified outbreak. Commun. Dis. Intell. (2000) **24**:199-202.
11. Castellani Pastoris M, Ciceroni L, Lo Monaco R et al. Molecular epidemiology of an outbreak of Legionnaires' disease associated with cooling tower in Genova-Sestri Ponente, Italy. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. (1997) **16**:883-92.
12. Benkel DH, McClure EM, Woolard D et al. Outbreak of Legionnaires' disease associated with a display whirlpool spa. (2000) **29**:1092-1098.
13. Jernigan DB, Hofmann J, Centron MS et al. Outbreak of Legionnaires' disease among cruise ship passengers exposed to a contaminated whirlpool spa. Lancet (1996) **347**:494-9.
14. Stout JE, Yu VL, Muraca P. Legionnaires' disease acquired within the homes of two patients. JAMA (1987) **257**:1215-1217
15. Aldea MJ, Moreno MP, Gutierrez V, Pac MR, Guimbao J, Santodomingo R. [Outbreak of Legionnaires' disease in a private apartment building]. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. (1992) **10**:403-8. Spanish.
16. Ruf B, Schurmann D, Horbach I, Seidler K, Pohla HD. Nosocomial *Legionella* pneumonia: demonstration of potable water as the source of infection. (1988) Epidemiol. Infect. **101**:647-654
17. Gahrn-Hansen B, Uldum SA, Schmidt J, Nielsen B, Birkeland SA, Jørgensen KA, Nosokomial infektion med *Legionella pneumophila* på en nefrologisk afdeling. Ugeskr. Læger. (1995) **157**:590-594.

18. Joseph C, Morgan D, Birtles R, Martin-Bourgon C, Black M, Garcia-Sanchez I, Griffin M, Bornstein N, Bartlett C. An international investigation of an outbreak of Legionnaires disease among UK and French tourists. (1996) *Eur. J. Epidemiol.* **12**:215-9.
19. Castellani Pastoris M, Benedetti P, Greco D, Volpi E, Fehrenbach FJ, Horbach I, Wewelka G. Six cases of travel-associated Legionnaires' disease in Ischia involving four countries. *Infection* (1992) **20**:73-7.
20. Yu VL. Could aspiration be the major mode of transmission for *Legionella*? *Am. J. Med.* (1993) **93**:13-15
21. Uldum S, Bang S. *Legionella*-infektioner 1998. *EPI-NYT* (2000) Uge 2.
22. Uldum S, Bang S. Rejseerhvervet Legionærsygdom. *EPI-NYT* (1998) Uge 21/22
23. Hanehøj H, Uldum SA, Pringler N. Two different subgroups of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolated from the same source with identical DNA types. 14th EWGLI Meeting (1999) Dresden, Germany. Poster.
24. Graversen L, Uldum S, To tilfælde af *Legionella* pneumoni fra samme etageejendom. *EPI-NYT* (2000) Uge 36.
25. Lüttichau HR, Vinther CC, Uldum SA, Møller JS, Faber M, Jensen JS. Et udbrud af Pontiac-feber blandt børn og voksne efter brug af et spabad. *Ugeskr. Læger.* (1999) **161**:3485-3462.
26. Gregersen P, Grunnet K, Uldum SA, Andersen BH, Madsen H. Pontiac fever at a sewage treatment plant in the food industry. *Scand. J. Work. Environ. Health.* (1999) **25**:291-295
27. Asbjorn J, Andersen HK. *Legionella pneumophila* i det varme brugsvand på danske sygehuse og institutioner. En spørgeskema- og stikprøveundersøgelse. *Ugeskr. Læger.* (1995) **157**:586-590.
28. Jeppesen C, Bagge L, Jeppesen VF. *Legionella pneumophila* i bassin vand. *Ugeskr. Læger.* (2000) **162**:3592-4
29. Råd og anvisninger om *Legionella*. CAS, Statens Serum Institut (1995).
30. ISO 11731: 1998 (E) Water quality – Detection and enumeration of *Legionella*.
31. Helbig JH, Kurtz JB, Castellani Pastoris M, Pelaz C, Lück PC: Antigenic lipopolysaccharide components of *Legionella pneumophila* recognized by monoclonal antibodies: Possibilities and limitations for division of the species into serogroups. *J. Clin. Microbiol.* (1997) **35**:284-285
32. Yamamoto H, Hashimoto Y, Ezaki T. Comparison of detection methods for *Legionella* species in environmental water by colony isolation, fluorescent antibody staining, and polymerase chain reaction. *Microbiol. Immunol.* (1993) **37**: 617-622
33. Uldum SA, Mølbak K. Polymerase chain reaction as a routine method for the diagnosis of Legionnaires' disease. 5th International Conference on *Legionella*, (2000) Ulm, Germany. Poster.
34. *Legionella* i varmt brugsvand. Overvågning, udredning og forebyggelse af legionærsygdom. Den Centrale Afdeling for Sygehushygiejne, Statens Serum Institut. 1. udg. 2000.
35. Pringler N, Brydov P, Uldum SA. Occurrence of *Legionella* in Danish hot-water systems. 5th International Conference on *Legionella*, (2000) Ulm, Germany. Poster

LEGIONELLA I VARMT VAND - Anlægs karakteristisk og analyse – 22 anlæg

Prøvekode	Kategori	Lejligh.	Person.	Alder år	Anlægstype	Specielt om type	VVB-vol. m ³	Forbrug m ³ /d	Oph.-tid timer	Electrolyse ¹	B.mrk. slam, rør ²	Temp. til ledn.	Temp. øvrige beh.	Temp. cirk.-retur	Temp (tap 2 min.)	Prøvested	B.mrk. forbrug, cirk. o.a.	Serogruppe ³	Legion. cfu/liter
OL1T	Beboelse	290	580	40	3 VVB	I serie	3x6,3	15	30			50	50 ca.	40 ca.	45	Køkken	Tempvar. Reg. 50 ⁰	4 +51/1	6 x 10 ³
BA1T	Beboelse	72	115	37 6 VX	1 VVB	Forvarm.-VX	3,2	7	11			53		50	50 (1)	Bad, HV	Cirk. delvis	3	1,5x10 ⁴
OP1T	Beboelse	64	150	33 15beh	1 VVB		2,5	6	10		(lugt) gele Lidt plast?	58		53	48 (1)	Bad, HV	Skøn af KV	4	10 ² -10 ³
HA2P	Beboelse	30	60	0,2 ln. +VVB	1 VVB		1,5	2	18	Katolyse		55-58		46	47 (1)	Køkken	Skøn af KV	1 noP 6	1,8x10 ⁵
TI2K	Beboelse	264	600	30	2 VVB	I serie	2x5	28	9			55	40-45 skøn	49	51	Køk/bad?		3	1 x 10 ⁴
VI3L	Beboelse	160	320	2 VX 1 cirk.	2 VX	I serie ELGE	0 ca.	11	0 ca.	NEJ		52		44	51 (1)	Køkken	Skøn af KV	2-14	10-20
GU3P	Beboelse	174	350	80 40beh	2 VVB	1. VVB efterkøler damp	3,5 3,5	13	6 6		Beholder nyrenset	56	32	50	51	Bad, HV kontor		6	1,4x10 ³
JA3P	Beboelse	186	350	85 40beh	2 VVB	1. VVB efterkøler damp	3,5 3,5	13	6 6		Bh.nyrens (plast?)	53	33	46	44	Vask kælder	Uklar prøve	2-14	≥4,9x10 ⁶
UT3S	Beboelse	40	60	60 0,1VX	2 VX	I serie ELGE	0 ca.	?	0 ca.	NEJ		56		50	39 44 (3)	Bad	Cirk. delvis	2-14	4,6x10 ⁴
AM4P	Beboelse	42	100	40 25beh	3 VVB, små	Parallelle	3x0,3	4	5	NEJ		54		51	48	Bad, HV	Skøn af KV	2-14	1 x 10 ³
HK51	Beboelse	82	120	75 8 beh	1 VVB		3	5,2	14	NEJ		55		50	49 (1) 51 (4)	Bad,bruse-slange		2-14 4, 6	1 x 10 ³
NANA	Beboelse	46	180	1	1 VVB	Ladekreds-VX	2	5	10		Rustfri, plast i lejl.	54		46	51 (1) 54 (4)	Bad,bruse-slange			Ikke påvist
BRUA	Beboelse	242	500	>80 4-8rør	1 VVB	Ladekreds-VX	5	22	5	Katolyse	Kobberrør Ikke slam	54		48	49 (1) 49,5 (3)	Møderum taphane	CU ⁺⁺ 1,2 mg/l	6	1 x 10 ³

LEGIONELLA I VARMT VAND - Anlægs karakteristisk og analyse – 22 anlæg

Prøvekode	Kategori	Lejligh.	Person.	Alder år	Anlægstype	Specielt om type	VVB-vol. m ³	Forbrug m ³ /d	Oph.-tid timer	Electrolyse ¹	B.mrk. slam, rør ²	Temp. til ledn.	Temp. øvrige beh.	Temp. cirk.-retur	Temp (tap 2 min.)	Prøvested	B.mrk. forbrug, cirk. o.a.	Serogruppe ³	Legion. cfu/liter
SM2G	Idrætshal Skole			30	1 VVB		1	0,1	240	Katolyse	Ingen slam	57		50	53 (1)	Baderum kumme	Forbrug varierer	6	3,7x10 ⁵
SM2U	Skole		500	45	1 VVB		2,5	0,35	170			60(-50) stor var		45 ca.	<25 (4) (alt. 50)	Rengøring vask	Ikke cirk. prøvested	6	10 ² -10 ³
HY4L	Institution børn		80	13	1 VVB, lille indbyg. i unit		0,06 ca.	0,3	5	NEJ	Kobberr. Plast tap.	55 ca. umålt		Ikke cirk.	47 49 (3)	Køkken	Skøn af KV		Ikke påvist
DI2P	Virksomh.		150 bad	40	1 VVB		6	?	24 eller mere			60 ca. 50 week			51	Baderum kumme	Forbrug varierer	6	9,8x10 ⁴
CH4P	Virksomh.			12	1 VVB		3,5	14	3 i arb. tiden			35-45 >55 nat		42	34	Omkæd. HV	Forbr. var. =0 nat/w.		Ikke påvist
OS4P	Idrætshal			20	Blande 1 beh.+1 bl.b.	0,6 blande-beh. altid 37 ⁰	1,5 0,6	2,2	16 7	NEJ		37	56	35	36	Baderum	Forbr.var. Morg.prøv	1 P 1noP 4	10 ² -10 ³
JY4P	Idrætshal svøm/sprt.			20	Blande 2 beh.+1 bl.b.	1,5 blande-beh. altid 38 ⁰	2x 1,5 1,5	13	6 3			38	58	37	38	Baderum?	Forbr.var. Morg.prøv	1 noP 2-14	8 x10 ³
LI1T	Plejhjem	48	55	30 8 beh	1 VVB	Ladekreds-VX	2,5	1,8	33	NEJ	VVB ikke rens 3 år	60		56	55	Bad,bruse-slange		4	8 x10 ³ ca.
AL2L	Plejhjem + pl.center	52	52 + cent.	30 (20)	2 VVB	I serie	1 3,5	4	6 21		Brunt(sta) 1.VVB	48	28	43	45	Køk/bad?	Lavt forbr. weekend	2-14	7,8x10 ⁴

Forkortelser (forklaring): VVB (varmtvandsbeholder), VX (varmeveksler for opvarmning af vand), HV (håndvask), KV (koldt vand).

¹ Har electrolyse, hvis ingen bemærkning

² Galvaniserede rør, hvis ingen bemærkning

³ Serogruppe forklaring: 1 P er SG1 Pontiac, 1 noP er SG1 non Pontiac

LEGIONELLA I VARMT VAND - Gentagne prøver i anlæg (evt. udtaget et nyt sted) og dobbeltprøver, A og B - 8 anlæg

Prøvekode	Kategori	Lejligh.	Person.	Alder år	Anlægstype	Specielt omtype	VVB-vol. m3	For-brug m3/d	Oph.-tid timer	Electrolyse ¹	B.mrk. slam, rør ²	Temp. til ledn.	Temp. øvrige beh.	Temp. cirk.-retur	Temp (tap 2 min.)	Prøvested - evt. NYT sted	B.mrk. forbrug, cirk. o.a.	Serogruppe ³	Legion. cfu/liter
HA2P	Beboelse	30	60	0,2 ln. +VVB	1 VVB		1,5	2	18	Katolyse		55-58		46	47 (1)	Køkken	Skøn af KV	1 noP 6	1,8x10 ⁵
HA61 gent. A												"55-58" umålt		"46" umålt	45 53 (4)	Bad, bruse-sl. NYT st.		1 noP 6	ca.1,4x10 ⁴ ⁴
HA62 - B															53 (4)			1 6	ca.7 x10 ³ 4
JA3P	Beboelse	186	350	85 40beh	2 VVB	1. VVB efterkøler damp	3,5 3,5	13	6 6		Bh. nyrens (plast?)	53	33	46	44	Vask kælder	Uklar prøve	2-14	≥4,9x10 ⁶
JA51 gent. A												54	34	47	45 ca. 50 (4)	Bad, bruse-sl. NYT st.	Klar prøve	2-14 15	7 x10 ⁴
JA52 - B															50 (4)			2-14 15	4 x10 ⁴
HK51 - A	Beboelse	82	120	75 8 beh	1 VVB		3	5,2	14	NEJ		55		50	49 (1) 51 (4)	Bad, bruse-slange		2-14 4, 6	1 x10 ³
HK52 - B															51 (4)			2-14 4, 15	1 x10 ³
NANA - A	Beboelse	46	180	1	1 VVB	Ladekreds-VX	2	5	10		Rustfri, plast i lejl.	54		46	51 (1) 54 (4)	Bad, bruse-slange			Ikke påvist
NANB - B															54 (4)	Bad, HV			Ikke påvist
BRUA - A	Beboelse	242	500	>80 4-8rør	1 VVB	Ladekreds-VX	5	22	5	Katolyse	Kobber rør Ikke slam	54		48	49 (1) 49,5 (3)	Moderum taphane	CU ⁺⁺ 1,2 mg/l	6	1 x10 ³
BRUB - B															49,5 (3)			6	ca. 1 x10 ²

Forkortelser (forklaring): VVB (varmtvandsbeholder), VX (varmeveksler for opvarmning af vand), HV (håndvask), KV koldt vand).
Ved dobbeltprøver er **A** udtaget som den første liter og **B** efter 3-5 min. tapning ved stabil temperatur.

¹ Har electrolyse, hvis ingen bemærkning

³ Serogruppe forklaring: 1 P er SG1 Pontiac, 1 noP er SG1 non Pontiac

² Galvaniserede rør, hvis ingen bemærkning

⁴ Forhøjet, da ca. 25% koldt vand i prøve

LEGIONELLA I VARMT VAND - Gentagne prøver i anlæg (evt. udtaget et nyt sted) og dobbeltprøver, A og B - 8 anlæg

Prøve-kode	Katego-ri	Lej-ligh.	Per-son.	Alder år	Anlægstype	Specielt om-type	VVB-vol. m3	For-brug m3/d	Oph.-tid timer	Electro-lyse ¹	B.mrk. slam, rør ²	Temp. til ledn.	Temp. øvrige beh.	Temp. cirk.-retur	Temp (tap 2 min.)	Prøvested - evt. NYT sted	B.mrk. forbrug, cirk. o.a.	Sero-grup-pe ³	Legion. cfu/liter
HY4L	Instituti-on børn		80	13	1 VVB, lille indbyg. i unit		ca. 0,06	0,3	5	NEJ	Kobberr. Plast tap.	ca. 55 umålt		Ikke cirk.	47 49 (3)	Køkken	Skøn af KV		Ikke påvist
HY51 gent. A												ca. 50 skøn			46 (1) ca.	Køkken			Ikke påvist
HY52 - B															44 (4)				Ikke påvist
OS4P	Idræts hal			20	Blande 1 beh.+1 bl.b.	0,6 blande-beh. altid 37 ⁰	1,5 0,6	2,2	16 7	NEJ		37	56	35	36	Baderum	Forbrugs variation Morgen-prøve	1 P 1 noP 4	10 ² -10 ³
OS61 gent. A												38			38 (2-4)	Baderum	Prøve kl.7	1 noP 4	1,2x10 ³
OS62 - B												37			37 (2-4)		Kl.15 efter 800 l forbrug	1 noP 4	1 x10 ³
LI1T	Plejhjem	48	55	30 8 beh	1 VVB	Ladekreds-VX	2,5	1,8	33	NEJ	VVB ikke rens 3 år	60		56	55	Bad, bruse-slange		4	ca.8 x10 ³
LI61 gent. A												55		51	53 (3)	Bad, bruse-sl. NYT st.		4	10 ¹ -10 ²
LI62 - B															53 (3)			4	10 ¹ -10 ²

Forkortelser (forklaring): VVB (varmtvandsbeholder), VX (varmeveksler for opvarmning af vand), HV (håndvask), KV koldt vand). Ved dobbeltprøver er **A** udtaget som den første liter og **B** efter 3-5 min. tapning ved stabil temperatur.

¹ Har electrolyse, hvis ingen bemærkning

³ Serogruppe forklaring: 1 P er SG1 Pontiac, 1 noP er SG1 non Pontiac

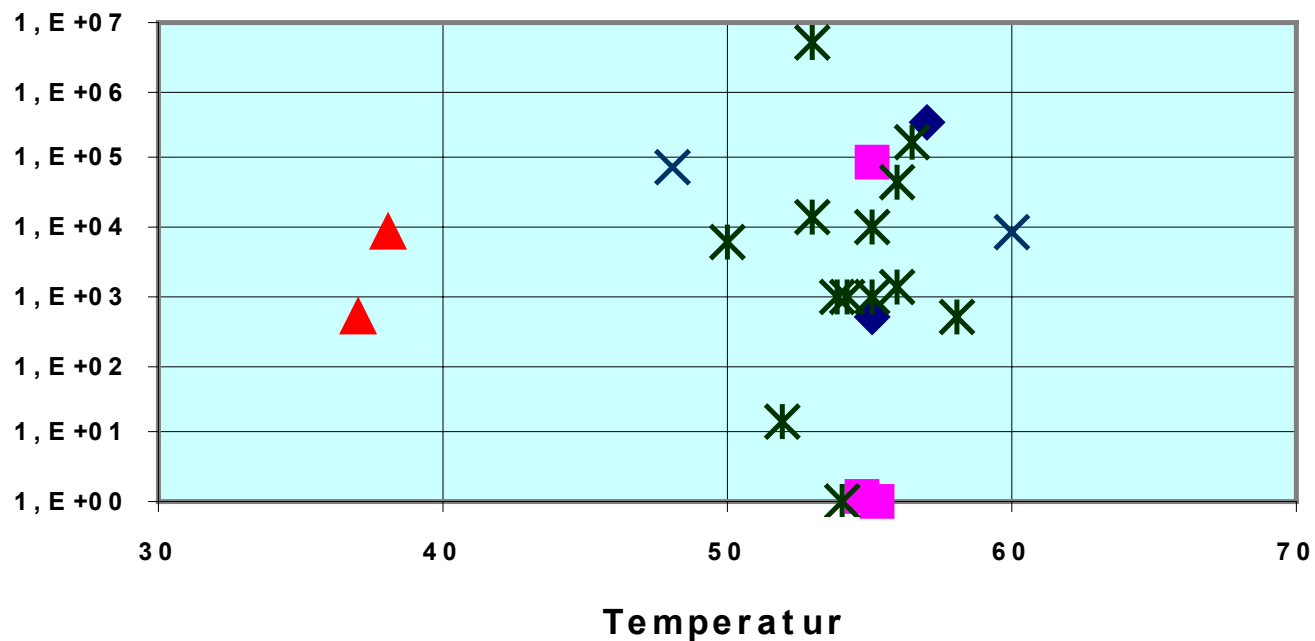
² Galvaniserede rør, hvis ingen bemærkning

⁴ Forhøjet, da ca. 25% koldt vand i prøve

LEGIONELLA I VARMT VAND - Gentagne prøver i anlæg (evt. udtaget et nyt sted) og dobbeltprøver, A og B - 8 anlæg

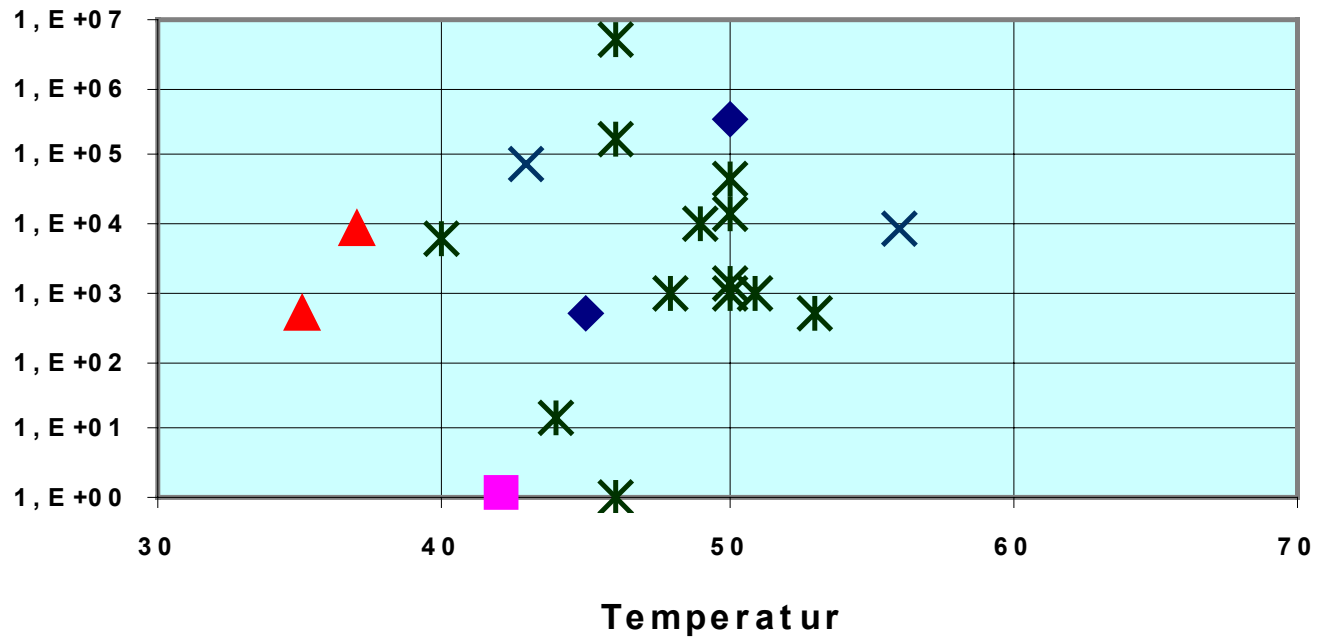
Legionella ift. vandtemperatur - boilerrum

Leg. cfu/liter



Legionella ift. vandtemperatur - cirkulationsretur

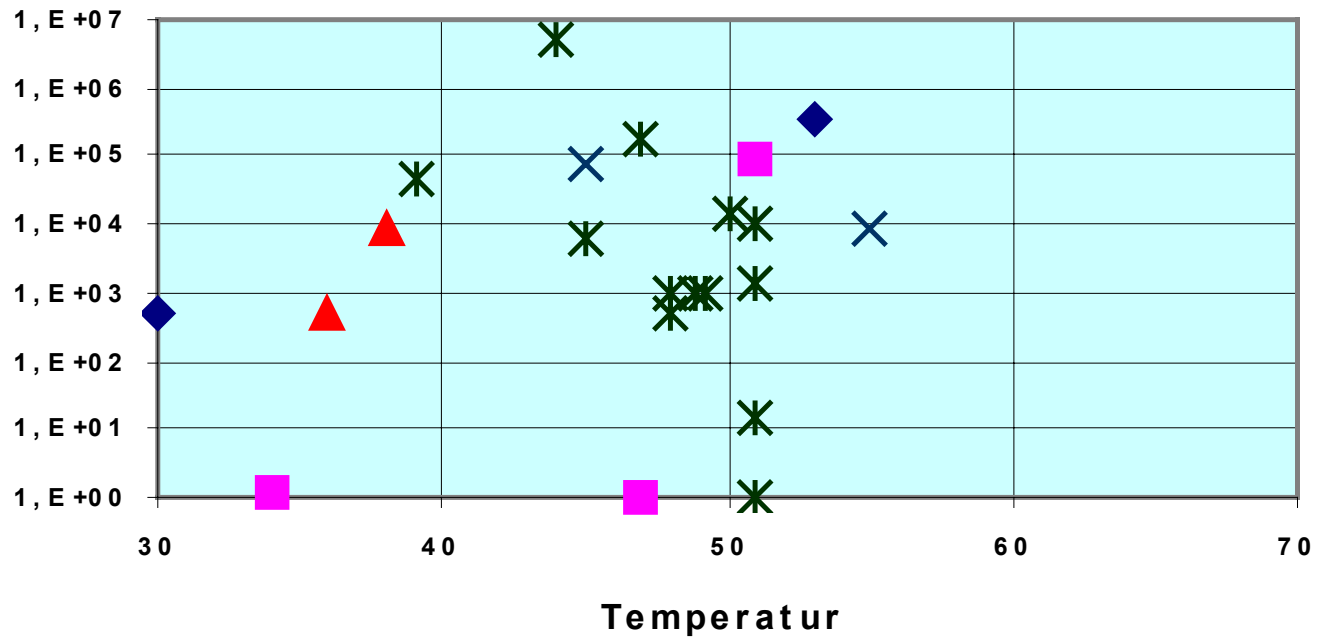
Leg. cfu/liter



- ◆ Skole o.l.
- Div. kategorier
- ▲ Idræt badetemp.
- × Plejehjem
- * Beboelse

Legionella ift. vandtemperatur - tapsted

Leg. cfu/liter



Legionella ift. temperatur - tapsted - Regression beboelse

Leg. cfu/liter

