

Det gror i drikkevanns- ledningene: Legionella og andre patogene bakterier

Av Vidar Lund

Vidar Lund er ansatt som forsker ved Nasjonalt folkehelseinstitutt

Innlegg på fagtreff i Norsk Vannforening 28. januar 2008

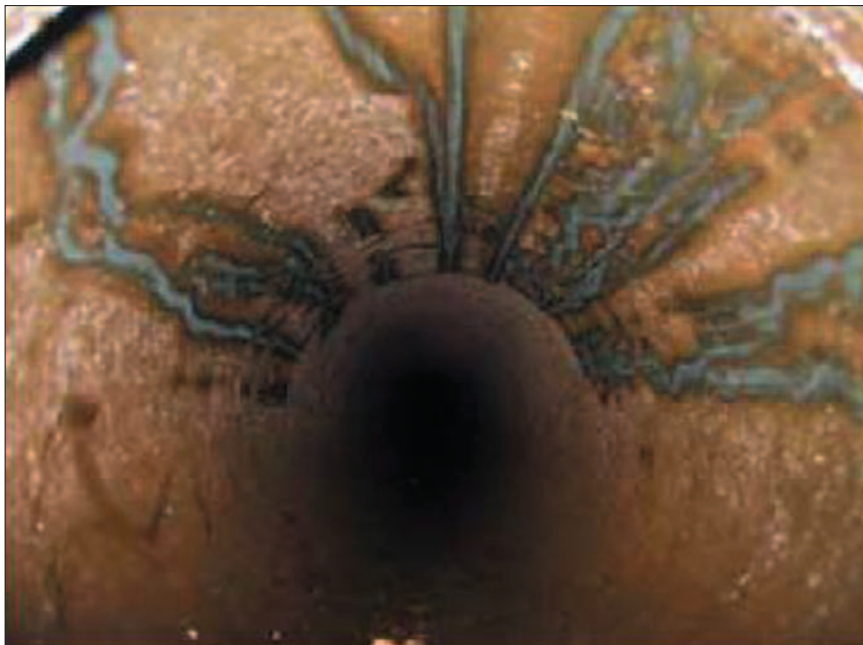
Innledning

Å være festet til en overflate, for eksempel en rørvegg, er en svært effektiv måte for en mikrobe å forbli i et gunstig miljø, og samtidig unngå å bli skylt ut av et vannsystem. En mikrobe som har evnen til å feste seg til en overflate har mulighet til å skaffe seg tilstrekkelig med næring fra vannet som renner forbi, selv om næringsinnholdet i vannet ville vært for lavt til å opprettholde bakterievekst i de frie vannmassene. "En biofilm har mange likhetspunkter med et komplekst, flerkulturelt samfunn, mye likt et moderne bysamfunn" (Watnick and Kolter, 2000). En biofilm består hovedsakelig av et komplekst "samfunn" av mikrober som er "sammenvevd" i en polysakkaridmatrix, som består av klebrige stoffer som skiller ut av mikrobene som etablerer seg på røroverflaten. Utviklingen av en biofilm starter med at noen bakterier som er "spesialister" i å feste seg, skiller ut

klebrige "festetråder" som de benytter for å "bardunere seg fast" til overflaten. Deretter kommer det stadig nye mikrober fra vannet og fester seg eller adhererer til det som allerede er etablert, sammen med organisk stoff fra vannet. Utviklingen av biofilmen skjer over tid og hvilke bakterier, sopp og protozoer som inngår avhenger av hva slags "mat" som er tilgjengelig, vanntemperaturen, voksestedets egnethet, samt fravær av effektiv desinfeksjonsrest. Etter at det er dannet en velutviklet biofilm vil også patogene bakterier og opportunistiske bakterier, bakterier som kan gi sykdom hos personer med redusert immunforsvar, kunne etablere seg sammen med større mikrober som amøber o.l. Det er anslått at for hver bakterie man finner i vannet i for eksempel et vannrør vil det være ca 1000 organismer tilstede i biofilmen i systemet (Momba et al., 2000). Med tanke på at andelen av befolkningen

med redusert immunforsvar stadig øker, vil det være viktig å skaffe seg tilstrekkelig kjennskap til sammensetningen av mikrober i biofilmen, for

å kunne kontrollere utviklingen av biofilm og slamdannelse i distribusjonssystemet.



Figur 1. Biofilm i et drikkevannsrør (foto: Lars Hem)

Hva slags bakterier finner vi i en biofilm?

Når vi snakker om bakterier i biofilm er det viktig å ha definert tre viktige begreper (Momba et al., 2000):

- 1) Gjenvekst (eng: regrowth): Betegnelsen benyttes på bakterier som har blitt noe skadet gjennom vannbehandlingsprosessen, men som fortsatt er så intakt at de er i stand til å reparere skadene og begynne å formere seg igjen, dersom vilkårene for vekst er til stede.
- 2) Ettervekst (eng: aftergrowth): Betegnelse på naturlige jord- og vannbakterier som danner biofilm i ledningsnett etter at vannet har forlatt behandlingsanlegget.
- 3) Gjennombrudd (eng: breakthrough): Betegnelse på bakterier som har klart å passere behandlingsanlegget uskadd, og som er i stand til å vokse i ledningsnett (Van der Wende and Characklis, 1990 og Momba et al., 2000).

I tillegg har vi de patogene bakteriene som er kommet inn i råvannet som en forurensningstilførsel, via avrenning fra beitemarker, utslipp av avløpsvann el. l., og som har overlevd vannbehandlingen eller kommet direkte inn på ledningsnettet via innsug. Disse patogene bakteriene kan overleve en stund (dager – måneder) i biofilmen eller slammet på lednings-

nettet, men er ikke i stand til å formere seg der.

Når vi videre skal gå igjennom noen av de bakteriene fra biofilm som kan være en helsetrussel, er det naturlig å dele ”emerging pathogens” inn i de som kan vokse i biofilmen og de som er påvist i biofilm, men som under våre klimatiske forhold normalt ikke kan vokse der, se tabell 1.

Eksempler på bakterier som kan vokse i biofilm	Eksempler på bakterier som er påvist i biofilm, men ikke kan vokse der under ”våre klimatiske forhold”
Legionella spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>
Aeromonas spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>
Pseudomonas spp.	<i>Campylobacter spp.</i>
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157 H7
Stentotrophomonas spp.	<i>Salmonella typhimurium</i>
Acinetobacter spp.	<i>Vibrio cholera</i>
Acromobacter spp.	
Klebsiella spp.	
<i>Mycobacterium avium intracellulare</i>	
<i>Arcobacter butzleri</i>	
Bacillus spp. (sporer)	

Tabell 1. Emerging pathogens påvist i biofilm

Beskrivelse av utvalgte emerging pathogens i biofilm

Legionella

Den mest kjente av de ”emerging pathogens” som er i stand til å vokse i interne vannledningsnett. Kjente smittekilder for *Legionella pneumophila* er kjøletårn, luftscrubbere, interne ledningsnett (spesielt dusjer), boblebad, luftfuktere, innendørs pynfontener, tåkemaskiner og høy-

trykksspylere. Legionella vokser godt ved temperaturer på 20-50°C i biofilm/ledningssslam, men vekst er beskrevet helt ned til 12°C. Bakterien trenger jern og aminosyren cystein for å vokse, og forekommer stort sett intracellulært i amøber. Bakterien overføres via aerosoler, små vanndråper <5µ i størrelse, som spres i luften og som pustes inn av en eksponert person.



Fig. 2. Et vannrør med blanding av rust og biofilm kan være godt egnet for legionellavekst (foto: Bjørn Eivind Løfsgaard, FHI)

Et risikoanlegg for legionellasmitte har følgende karakteristikk:

- Det er god kontakt mellom luft og vann
- Det dannes aerosoler som rives løs og spres via luften
- Systemet har en vanntemperatur mellom 20 og 50°C og det er organsk stoff til stede.
- Analyser viser høye kimtall, noe som tyder på at det er biofilm/slamdannelse i systemet.
- Vannsystem (for eksempel dusjanlegg) som ikke har vært i bruk på en stund.
- Anlegg med ”blindledninger” eller deler av ledningssystem som ikke er med i vannsikrulasjonen.

Det har vært to store legionella-utbrudd i Norge, ett assosiert med spredning fra et kjøletårn på et hotell i Stavanger i 2001 (26 syke hvorav 7 døde) og ett utbrudd assosiert med smitte fra et luftscrubberanlegg på Borregaard i 2005 (56 syke hvorav 10 døde) (Blystad et al., 2001, Nygård et al., 2008). Det er også beskrevet mindre utbrudd og enkelttilfeller assosiert med boblebad og interne vannforsyningsnett (spesielt dusjanlegg og i private hjem). En undersøkelse fra Trondheim tyder på at flere personer smittes ved dusjing i private hjem enn ved større utbrudd i vårt land (Garåsen et al., 2005). For ytterligere informasjon om forekomst og forbygging av legionellasmitte henvises til ”Forebygging av legionellasmitte-en veiledning” som ligger på vårt nettsted (www.fhi.no).

Opportunistiske bakterier i biofilm

Som eksempel på opportunistiske bakterier som er påvist i biofilm kan nevnes bakterieslekter som *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia* og *Acromobacter*. Disse bakteriene er vist å kunne vokse på rørvegger og kan gi sårinfeksjoner, urinveisinfeksjoner, noen også luftveisinfeksjoner (f.eks. *Burkholderia cepacia* som kan gi alvorlig lungebetennelse hos pasienter med cystisk fibrose), og septicaemi/bakteremi (blodforgiftning) hos mennesker med nedsatt immunforsvar. *Sphingomonas paucimobilis* infeksjon ble assosier med et ”multibakterielt” vannbåret utbrudd ved et sykehus i Finland 1994

(Kusnetsov et al. 2003). Både *Pseudomonas* og *Mycobacterium* kan også vokse i biofilm og har forårsaket utbrudd assosiert med løserevet biofilm fra boblebad og rørsystem. I det ”multibakterielle” utbruddet ved et sykehus i Finland, beskrevet ovenfor, ble det også påvist *Mycobacterium fortuitum*, i tillegg til *Sphingomonas*, fra sykehusets interne vannsystem.

Aeromonas spp.

Aeromonas er Gram negative stavbakterier med en diameter på 0,3-1,0 μ og en lengde på 1,0-3,5 μ . Sykdom har vært assosiert med konsum av ubehandlet drikkevann i Nordøst-Skottland (Gavriel et al. 1998). *Aeromonas* gir akutt, selvbegrensende, diaré. Feber og oppkast er også beskrevet, samt sår- og luftveisinfeksjoner. Yngre barn og eldre mennesker tilhører risikogruppene. Undersøkelser har vist at halvparten av de kliniske isolatene (bakterier isolert fra syke personer) vokser godt ved 4-5°C, og de har stor pH-toleranse. *Aeromonas* er også relativt tolerant overfor klor, og forsøk har vist at man oppnådde >4 log reduksjon (99,99 % inaktivering) etter 10 minutters kontakttid med 0,6 mg/l klor ved pH 6,5 og en vanntemperatur på 25°C. I en skotsk undersøkelse ble *Aeromonas* isolert fra 21 av 31 undersøkte råvannskilder. Det var flest isolater ved en vanntemperatur >12°C, og det ble ikke vist noen sammenheng mellom *Aeromonas* og kimtallsbakterier (HPC) i de undersøkte vannprøvene (Gavriel et al. 1998). Ved en undersøkelse fra USA ble det funnet 103-104 CFU/100 ml

presumptive *Aeromonas* spp i råvann, men ingen i renvannet eller i vann på ledningsnettet. *A.hydrophila* ble imidlertid påvist i 7,7 % av biofilmprøvene på nettet, noe som indikerer ettervekst på nettet (Chauret et al., 2001). I en norsk undersøkelse av 33 ulike vannkilder, fra fjell til lavlandet, ble det funnet gj.sn. 60 CFU/100 ml *Aeromonas* i de analyserte vannprøvene (Ørmen og Østensvik, 2001). 42 % av de isolerte bakteriene var *Aeromonas hydrophila*, og den største andelen av denne arten ble funnet i de reneste vannforekomstene. *Aeromonas* er også påvist jevnlig på ledningsnettet i Fredrikstad.

Arcobacter butzleri en ny ”emerging pathogen” i drikkevannsledninger

Arcobacter er en ”Campylobacter-liknende” bakterie, som tidligere ble kalt ”Oksygentolerante Campylobacter” (se fig.). *Arcobacter* er per i dag ikke vurdert som noen stor helsetrussel for mennesker, men er ansett som en ”emerging human pathogen”, og er relativt hyppig forekommende hos ulike husdyr, spesielt høns ser ut til å være et viktig reservoar for denne bakterien (Kabeya et al., 2004). Bakterien er imidlertid ved flere tilfeller blitt assosiert med mage-/tarminfeksjon med langvarig vandig diaré og hos personer med immunsvikt også livstruende blodforgiftning (Snelling et.al, 2006). *Arcobacter* er vist å kunne feste seg til ulike rørmaterialer, alt fra rustfritt stål og kobber til ulike plastmaterialer. Bakteriene vokser innenfor temperaturområdet 4-20°C (Assanta et al. 2002). I en tysk undersøkelse av

råvann og renvann fra 6 vannverk gav 147 isolater med ”Campylobacter-liknenede” bakterier, hvorav 100 av disse isolatene var *Arcobacter butzleri* (Jacob et al., 1998). *A. butzleri* er også isolert fra grunnvann i USA.



Fig. 3. Scanning elektron mikroskopibilde av *Arcobacter butzleri* på et filter med 0,45 my porestørrelse (Manke & Dickinson, 1996)

Mikrober som kan overleve i biofilm

I tillegg til de ulike bakteriene som er i stand til å vokse i biofilm under norske forhold, finnes det også en del mikrober som er vist å kunne overleve en viss tid i biofilm, avhengig av de fysiske, kjemiske og biologiske miljøforhold (temperaturforhold, konkurrerende mikroflora, pH og adsorpsjon til partikler) de utsettes for i ledningsnett. Eksempler på slike humanpatogene bakterier er *Campylobacter* spp., *Helicobacter pylori* (”magesårbakterien”), *Salmonella typhimurium*, samt parasittene *Cryptosporidium* og *Giardia*. En forutsetning for at humanpatogene mikrober, som ikke er i stand til å vokse i våre ledningsnett, skal kunne

være en smittefare er at de foreligger i tilstrekkelig stort antall i ledningsnettet til at man kan bli smittet ved å drikke vannet. Et viktig likhetstrekk ved de mikrobenes som er nevnt over, er at de alle er såkalte ”lavdoseinfeksjoner” (få organismer skal til for å gi smitte) og kan gi smitte dersom tilstrekkelig mange sedimenterte mikrober rives løs fra biofilmen eller eventuelt virvles opp fra slammet i ledningen og føres med vannet frem til forbrukeren.

Biofilm – et sted for utveksling av viktig informasjon

Som nevnt tidligere er en biofilm et tett sammensatt bakteriesamfunn hvor det foregår en utstrakt utveksling av informasjon mellom de ulike bakteriene som finnes der. Det er vist at biofilmbakterier ”snakker sammen” ved hjelp av signalmolekyler som transporteres fra celle til celle (quorum-sensing). Samtidig foregår det også en utveksling av gener (arveanlegg) mellom ulike bakterier, på tvers av artsgrenser. Man kan derfor tenke seg at resistensgener som koder for resistens mot for eksempel antibiotika vil kunne spres lett i et biofilmsamfunn og medføre økt utvikling av multiresistens blant miljøbakterier og patogene bakterier som måtte finnes i biofilmen. Endringer i klima, som vi nå er vitne til, med mildere vintre, vil sannsynligvis føre til at ”eksotiske bakteriearter” vil kunne etablere seg også i våre drikkevannsledningsnett, og øke drikkevannets potensiale som spredningsmedium for humane sykdommer. Dette er et ”skrekkszenarium” som vi ennå ikke

har oversikt over, men som på lang sikt kanskje kan innvirke på vår evne til å bekjempe smittsomme sykdommer.

Referanser

Assanta, M.A., Roy, D., Lemay, M-J. & Montpetit, D. 2002. Attachment of *Arcobacter butzleri*, a New Waterborne Pathogen, to Water Distribution Pipe Surfaces. *Journal of Food Protection* 65(8):1240-1247.

Blystad, H., Bjorlow, E., Aavitsland, P. & Holm M. 2001. Outbreak of legionellosis in Stavanger, Norway. Final report. *Eurosurveillance Weekly*, 5, 2001.

Chauret, C., Volk, C., Creason, R., Jarosh, J., Robinson, J. & Warnes, C. 2001. Detection of *Aeromonas hydrophila* in a drinking-water distribution system: a field and pilot study. *Can.J. Microbiol.* 47(8): 782-786.

Garåsen, H., Sagvik, E., Kvendbø, J., Lian, A., Jacobsen, T. & Nylenna, M. 2005. Legionella i Trondheim – smitteoppsporing og miljøkartlegging. *Tidsskr Nor Lægeforen* 125: 1791-1793.

Gavriel, A.A., Landre, J.P.B. & Lamb, A.J. 1998. Incidence of mesophilic *Aeromonas* within a public drinking water supply in north-east Scotland. *Journal of Applied Microbiology* 84: 383-392.

Jacob, J., Woodward, D., Feuerpfeil, I. & Johnson, W.M. 1998. Isolation of *Arcobacter butzleri* in raw water and drinking water treatment plants in Germany. *Zent.bl.Hyg. Umweltmed.* 201: 189-198.

Kabeya, H., Maruyama, S., Morita, Y., Ohsuga, T., Ozawa, S., Kobayashi, Y., Abe, M., Katsube, Y. et al. 2004. Prevalence of *Arcobacter* species in retail meats and antimicrobial susceptibility of the isolates in Japan. *Int. J. Food Microbiol* 90: 303-308.

Kusnetsov, J., Torvinen, E., Perola, O., Nousiainen, T. & Katila, Marja-Leena. 2003. Colonization of hospital water systems by legionellae, mycobacteria and other heterotrophic bacteria potentially hazardous to risk group patients. *APMIS* 111:546-556.

Manke, T. & Dickinson, J.S. 1996. What is This? Food Pathogen: *Arcobacter butzleri*. Scanning Electron Microscopy Image of Bacteria in Filter Pores. Ames, IA: Iowa State University (ISU) <http://www.micro.iastate.edu/ugrad/bacteria-in-pore.html>.

Momba, MNB., Kfir, R., Venter, SN. & Cloete TE. 2000. An overview of biofilm formation in distributin systems and its impact on the deterioration of water quality. *Water SA* 26(1):59-66. (finnes på www.wrc.org.za)

- Nygård, K., Werner-Johansen, Ø., Rønsen, S., Caugant, D., Simonsen, Ø., Kanestrøm, A., Ask, E., Ringstad, J., Ødegård, R., Jensen, T., Krogh, T., Høyby, E.A., Ragnhildstveit, E., Aaberge, I.S. & Aavitsland, P. (2008). An outbreak of Legionnaires Disease Caused by Long-Distance Spread from an Industrial Air Scrubber in Sarpsborg, Norway. *Clinical Infect. Diseases* 46:61-69.
- Snelling, W.J., Matsuda, M., Moore, J.E. & Dooley, J.S.G. 2006. Under the Microscope: *Arcobacter*. *Letters in Applied Microbiology* 42: 7-14.
- Van der Wende, E. & Characklis, W.G. 1990. Biofilms in potable water distribution systems. In: McFeters GA (ed) *Drinking Water Microbiology: Progress and Recent Developments*. Springer-Verlag. New York. 249-268
- Watnick, P. & Kolter, R. 2000. Biofilm, City of Microbes. Mini-review. *Journal of Bacteriology*, 182(10): 2675-2679.
- Ørmen, Ø. & Østensvik, Ø. 2001. The occurrence of aerolysin-positive *Aeromonas* spp. In Norwegian water sources. *Journal of Applied Microbiology*. 90: 797-802.