

# Bruk av kobber- og sølvioner til kontroll av legionellavekst

## Litteraturstudie om mulig utvikling av sølvresistens hos bakterier

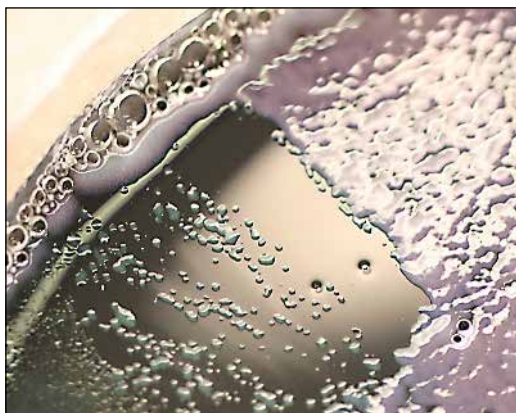
Av Jens Erik Pettersen og Vidar Lund

Jens Erik Pettersen er sivilingeniør fra NTH og seniorrådgiver. Vidar Lund er PhD i vannhygiene og seniorforsker. Begge er ansatt ved Nasjonalt folkehelseinstitutt, Avdeling for mat, vann og kosmetikk.

### Summary

**Controlling *Legionella* growth using Copper-Silver Ionization – A literature review concerning Bacterial Resistance.** Copper-silver ionization to control *Legionella* in building water plumbing systems has been used for many years, especially in USA. The method is however relatively new in Norway. For environmental reasons the Norwegian Institute of Public Health recommends restricting the use to buildings with high risk of people being infected with Legionnaires' disease. Since silver has properties that might lead to bacterial resistance, we wanted to examine the need

for further restrictions. Despite the extensive use of silver as a bactericide in different applications, development of resistance is not well documented. The positive effect of using copper-silver ionization for legionella control is however well documented, and the method is an important treatment-alternative. The literature studied does not justify recommending further restrictions in the application of the method. It should however be considered to point out that low (suboptimal) doses of silver and copper will increase the probability of developing bacterial resistance.



Dyrkingssskål med legionellabakterier. Foto: Arne Høiby.

### Sammendrag

Kobber- og sølvionisering for å hindre oppvekst av legionellabakterier i interne ledningsnett i bygninger har vært benyttet i mange år, spesielt i USA, men er relativt nylig tatt i bruk i Norge. Folkehelseinstituttets legionellaveiledning anbefaler at behandling med kobber og sølv bare brukes i bygninger hvor risikoen for å bli smittet med legionærsykdom er stor. Begrunnelsen er miljøbettinget. Fordi det er vist at enkelte bakterier kan utvikle sølvresistens, ønsket vi å undersøke om det er grunn til å skjerpe anbefalingene ytterligere. Til tross for at sølvs bakteriedrepende egenskaper utnyttes i en rekke forskjellige sam-

menhenger, er utvikling av resistens lite dokumentert. Den positive effekten av kobber- og sølvionisering til kontroll av legionellavekst er imidlertid godt dokumentert, og metoden er et viktig behandlingsalternativ. Litteraturstudien gir ikke grunnlag for å anbefale ytterligere begrensnings av bruksområdene, men det bør vurderes å påpeke at lave (suboptimale) doser av sølv og kobber vil øke sannsynligheten for bakteriell resistensutvikling.

## Innledning

Legionærsykdom er en alvorlig lungesykdom. Smitten skjer ved innånding av aerosoler (små vandrdåper) som er forurensset med legionellabakterier, og dusjer er ansett for å være blant kildene med størst smittepotensial. Det kan være vanskelig å bli kvitt legionellabakteriene når de først har etablert seg i et internt vannledningsnett. I helseinstitusjoner og andre bygg som huser mennesker i risikogruppen for smitte, er det derfor aktuelt å installere kontinuerlig vannbehandling, dersom man ikke klarer å kontrollere legionellaveksten i ledningsnettet med enklere metoder.

Kobber- og sølvionisering er ved siden av klordioksid den behandlingsmetoden for forebygging av legionellavekst i interne ledningsnett i bygninger som er best dokumentert. Positivt ladede kobber- og sølvioner bindes til negativt ladede bakterieceller, kobber penetrerer overflaten på bakteriene og åpner for at sølvionene kan komme inn og inaktivere bakteriene. Kombinasjonen av disse to metallionene gir derfor en betydelig synergieffekt som fører til celledød.

Metoden ble første gang tatt i bruk i et sykehus i Pittsburgh, Pennsylvania USA, i 1990. Siden har antallet anlegg økt betydelig. I 2011 ble kobber-/sølvionisering brukt i mer enn 300 sykehus på verdensbasis. Behandlingsmetoden benyttes også i sykehjem, eldreboliger, kontorbygg og boligblokker (1).

Kobber- og sølvionisering er relativt nylig tatt i bruk i Norge. Det første anlegget ble installert som et prøveprosjekt i sykehuset i Telemark i Skien medio 2000. Som grunnlag for Mattilsynets godkjenning av vannbehandlingskemika-

lier i drikkevann, vurderte Folkehelseinstituttet i 2007 helse- og miljømessige aspekter ved bruk av kobber- og sølvionisering (2). Hovedkonklusjonene er at tilsetning av anbefalte konsentrasjoner av sølv og kobber til drikkevannet ikke utgjør helsefare for normalbefolkningen, men at bruksområdene for metoden bør begrenses av hensyn til målet om at kloakkslam skal kunne brukes på jordbruksarealer. Et økt innhold av metaller i kloakkslammet kan i fremtiden begrense dagens høye andel av slam som benyttes til jordforbedring. Folkehelseinstituttet påpekte videre at det finnes litteratur som beskriver at bakterier som utsettes for sølv, over tid kan utvikle resistens ved tilsvarende mekanismer som ved utvikling av antibiotikaresistens. Vurderingen konkluderer med at behandlingsmetoden bør begrenses til bruk i interne ledningsnett i bygg der personer i risikogruppen for legionellasmitte kan bli eksponert, og at bare varmtvannet bør behandles. I Mattilsynets godkjenning er disse begrensningene imidlertid ikke tatt med.

De helse- og miljømessige vurderingene er basert på en behandlingsmetode som tilsetter kobber- og sølvioner ved bruk av elektrolyse. «All» omtale av kobber-/sølvionisering i litteraturen omhandler denne metoden. Typisk dosering er 200-400 µg/l kobber og 20-40 µg/l sølv, men det foreligger litteratur som har dokumentert effekt ved sølvkonsentrasjoner ned mot 10 µg/l (1). Fordi legionellabakteriene formerer seg intracellulært i amøber som finnes i biofilm, vil de kunne være godt beskyttet mot desinfeksjonsmidler (13). I visse situasjoner vil det derfor kunne være behov for noe høyere konsentrasjoner. Litteraturen dokumenterer at det har vært benyttet opp til 800 µg/l kobber og 80 µg/l sølv (1). Mattilsynet har også gitt tillatelse til bruk av en annen metode som markedsføres i Norge, der kobber- og sølvioner tilsettes i løsning sammen med en blanding av andre metallsalter. Konsentrasjonsnivåene av de virksomme bestanddelene, kobber og sølv, er henholdsvis 240 µg/l kobber og 0,01 µg/l sølv, som er vesentlig lavere enn det litteraturen beskriver som nødvendig for å gi en varig effekt mot oppvekst av legionellabakterier.

Hensikten med denne litteraturstudien er å vurdere om mulig resistensutvikling overfor sølv tilsier at Folkehelseinstituttets anbefalinger om bruk av kobber- og sølvionisering som behandlingsmetode for forebygging av legionellasmitte (3), bør endres. Vi har konsentrert oss om sølv fordi behandlingsmetoden tilfører sølv som et nytt kjemikalium i interne ledningsnett. Kobberkonsentrasjonene har i mange år vært til dels betydelige som følge av bruk av kobberledninger. Dette gjenspeiles også i drikkevannsforskriften hvor grenseverdien for kobber er 0,1 mg/l ut fra vannverkets behandlingsanlegg og 1,0 mg/l på tappepunktet fra det interne ledningsnettet.

### Bekymringen for resistensutvikling

Sølvets antimikrobielle egenskaper har vært kjent i over 2500 år, det har vært brukt både til å desinfisere drikkevann og innen medisin. Det benyttes til antimikrobiell behandling av alvorlige brannskader, til annen medisinsk behandling (bl.a. bandasjer og til forebygging av øyeinfeksjon hos nyfødte) og i medisinsk utstyr (bl.a. i kateter). Det er også omfattende bruk i alternativ medisin. Sølv har lenge vært benyttet som desinfeksjonsmiddel for vann, spesielt i renseutstyr til bruk i felt. Økt produksjon av nanopartikler har medført en dramatisk økning av sølv brukt i diverse forbrukerprodukter, f.eks. i sportsartikler og klær for å hindre lukt, i materialer for å hindre bakterievekst, f.eks. i kontainere og disketter som benyttes til lagring av kjøtt. Det benyttes i matvareemballasje, i kosmetikk, telefonrør, toalettseter og mange andre produkter (4).

Det er dokumentert at bakterier kan utvikle sølvresistens (4), (5). Den omfattende og til dels uoversiktlige bruken av sølv til mange forskjellige formål er en viktig årsak til økende oppmerksomhet og bekymring for hvilke konsekvenser dette kan ha for utvikling av resistens, både hos bakterier i naturen og sykdomsfremkallende bakterier. Dette har også gitt seg utslag i en viss skepsis til bruk av kobber-/sølvionisering som behandlingsmetode mot legionellabakterier.

### Grunnlaget for litteraturstudien

Det er gjort litteratursøk i basene MEDLINE, EMBASE og Web of Science. Avdelingssjef Egil Lingaas ved Oslo Universitetssykehus og Per Harald Bjark, tidligere smittevernoverlege ved Sentralsykehuset i Vestfold i Tønsberg samt representanter for aktører som tilbyr tjenester innen legionellaforebygging og -bekjempelse, er også forespurt om referanser. I tillegg er det supplert med egne litteratursøk.

### Kunnskap om resistensutvikling generelt

EUs «Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks» har vurdert helse og miljømessige konsekvenser ved bruk av nanosølv, blant annet betydningen for antimikrobiell resistens (6). Av konklusjonene, som er fra desember 2013, refereres følgende:

*“Some of the genetic basis of bacterial resistance to ionic silver has been well documented, notably the expression of well-characterised efflux systems. There is a paucity of information on the resistance mechanisms to Ag-NPs, although recent transcriptomic and proteomic data suggest that a decrease in oxidative damage by regulation of anaerobic respiration is important. Exposure to ionic silver and Ag-NPs produces a stress-response and affects gene expression. More data is needed to better understand the bacterial response to ionic silver and Ag-NPs (nanoparticles) exposure. Regarding the hazard associated with the dissemination of the resistance mechanism following the use of Ag-NPs, no documentation is available at this moment and this represents a serious gap in knowledge.*

*These data clearly demonstrated the effect of Ag-NPs on the distribution of bacterial flora and on the bacterial adaptation in certain conditions and uses; however, these data are fragmentary and focused on few specific cases. Although silver and nanosilver can clearly contribute to the dissemination of resistance genes, evidence of such dissemination and the presence of silver resistance gene in the environment is scarce because of the lack of informative study.”*

Det er ikke definert entydige «Minimum inhibitory concentrations» (MIC-verdier) som karakteriserer «breakpoints» (mottagelighet, mellomfase og resistens) for sølvioner, og MIC-verdier som er benyttet for vurdering av bakteriers mottagelighet for antibiotika er ikke fastsatt ved studier av sølvholdige produkter. Ulike prosjekter har definert egne MIC-verdier hvilket gjør det vanskelig å sammenlikne resultater. Som eksempel nevnes de to største studiene som undersøker sølvioners MIC-verdier i ca. 100 stammer av *Pseudomonas aeruginosa*, der resultatene varierer fra 8 til 70 mg/l (7). Mangel på standardiserte tester medfører at det er lite dokumentasjon av effekt overfor enkeltbakterier. Tester som omhandler effekter av sølv bygger i hovedsak på bruk av store bakteriepopulasjoner (6).

Vurderinger av sølvresistens er i stor grad knyttet til sårbehandling. Det påpekes at til tross for omfattende bruk er det publisert mindre enn 20 rapporter om bakteriell sølvresistens fra 1975 til 2007. Selv om sølvresistens er påvist, indikerer den foreliggende dokumentasjonen at den kliniske trusselen er lav. Det påpekes at faren for utvikling av resistens er større dersom det benyttes suboptimale konsentrasjoner («for lave konsentrasjoner til å inaktivere mikrober») (7) (11). Kombinasjonen av kobber- og sølvioner ved behandling av vann i interne ledningsnett gir effektiv inaktivering av legionellabakterier ved langt lavere doser enn ved vanlig benyttede konsentrasjoner av sølvioner til sårbehandling. En årsak kan være at kobber bidrar til at sølvet trenger lettere inn i cellene.

På 1970-tallet ble det rapportert utbrudd av brannsårinfeksjoner, og det ble påvist sølvresistens hos en rekke Gram-negative bakterier, deriblant *Pseudomonas aeruginosa* (6). *Pseudomonas aeruginosa* kan også vokse i drikkevannsledninger ved siden av andre Gram-negative bakterier som *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella*, og Gram-positive mycobakterier. Disse bakteriene kan gi infeksjoner hos mennesker med svekket immunforsvar. Det er derfor av interesse å finne litteratur som beskriver resistensutvikling av disse bakteriene ved bruk av sølv til desinfeksjon av vann. Sølvkonsentrasjonene som

benyttes til behandling av vann er gjennomgående vesentlig lavere enn ved sårbehandling, noe som skulle favorisere en resistensutvikling.

At bakterier har egenskaper som kan utvikle resistens mot sølv, og den omfattende og økende bruk av sølv til forskjellige formål, er argumenter som brukes når det argumenteres for redusert bruk av sølvholdige produkter (5).

## Sølvresistens hos legionellabakterier

Det er funnet to henvisninger som konkluderer med at legionellabakterier kan utvikle sølvresistens i interne vannledningssystemer, henholdsvis fire års erfaringer med bruk av Cu/Ag-ionisering i et tysk universitetssykehus, publisert i 1999 (8), og in vitro forsøk med isolater av *Legionella pneumophila* før og etter installasjon av Cu/Ag-ionisering ved syv sykehus, publisert i 2005 (10).

### Fire års erfaringer med bruk av Cu/Ag-ionisering i et tysk universitetssykehus (8)

Konklusjonene er begrunnet slik:

- I de tre første driftsårene var konsentrasjonen av sølv lav, i gjennomsnitt ca. 5 µg/l, mot normalt 30-60 µg/l. Grunnen var at tysk grenseverdi for sølvkonsentrasjoner i drikkevann er 10 µg/l.
- Konsentrasjonene av *Legionella pneumophila* (*L.pn.*) gikk ned det første året (3,8 log reduksjoner), for deretter å stige igjen.
- Sølvkonsentrasjonen ble hevet til 30 µg/l det fjerde året uten at det ble oppnådd forventet reduksjon i legionellakonsentrasjoner (kun 1,3 log reduksjoner).
- Artikkelen konkluderer med at årsaken må anses å være resistensutvikling.

Bare varmtvannet ble behandlet, og kobberkonsentrasjonene var hele tiden ca. 200 µg/l mot normalt 300-600 µg/l.

Konklusjonen om sølvresistens er imøtegått (9) med begrunnelse i at ingen data i artikkelen underbygger påstanden om resistens, derimot dokumenterer artikkelen at manglende effekt på legionella mest sannsynlig skyldes lave sølv- og kobberkonsentrasjoner. Følgende fremheves:

- Andelen positive legionellaprøver bør legges til grunn, ikke konsentrasjoner. Andel positive prøver var fortsatt 55 % etter det første året.
- Kobberverdiene er vesentlig lavere enn anbefalt også etter at sølvkonsentrasjonen ble hevet.
- Det er begrensninger i den tekniske installasjonen som innebærer at ionekonsentrasjonene vil svinge avhengig av vannforbruk.
- Prøvene fra tapp punkter ble tatt hhv etter 10-30 sekunder og 5-10 minutter. De målte ionekonsentrasjonene er for lave til å forvente vesentlig effekt, og i tillegg kan ionekonsentrasjonene målt etter 5-10 minutter være overestimert. (fordi de kan tilsvare konsentrasjonene som er utløst fra generatoren og ikke konsentrasjonsnivået i varmtvannet).

### In vitro-forsøk med *Legionella.pneumophila*-isolater fra syv sykehus (10)

Forsøket ble initiert for «å følge opp» konklusjonene fra erfaringene fra det tyske sykehuset. Isolatene ble utsatt for sølvioner i konsentrasjoner på 40-80 µg/l og kobberioner i konsentrasjoner på 400-800 µg/l. Mer enn 99,9 % dødelighet etter 24 timers eksponering ble definert som «mottagelighet» overfor sølv og kobberioner og mindre enn 99,9 % dødelighet etter 48 timers eksponering som resistens.

Av 22 testede isolater tatt fra de syv sykehusene etter oppstart av ionisering, ble det funnet resistens hos halvparten (11 isolater). Ingen av sykehusene hadde bare resistente isolater. Ved to av sykehusene, som hadde benyttet behandlingsmetoden i mer enn 10 år, ble det ikke funnet resistens. Sett i forhold til den relativt godt dokumenterte effekten av behandlingsmetoden overfor legionellabakterier, konkluderes det med at mulig resistensutvikling ikke er så godt dokumentert at metoden bør forbyes. Det anbefales at institusjoner som tar i bruk Cu/Ag-ionisering tar vare på legionellaisolater før installasjon, og periodevis etter igangsetting av behandlingen, for å kunne påvise en eventuell resistensutvikling.

## Sølvresistens hos andre vannbårne patogene bakterier som kan vokse i interne ledningssystemer for drikkevann

Eksempler på patogene bakterier som kan vokse i ledningssystemer og som kan gi infeksjoner hos mennesker med svekket immunforsvar er:

- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Stenotrophomonas maltophilia*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Mycobakterier*
- *Aeromonas hydrophila*
- *Klebsiella*

Som nevnt tidligere er det påvist resistensutvikling hos en rekke Gram-negative bakterier, blant annet *Pseudomonas aeruginosa*, i forbindelse med brannsårbehandling. Det er imidlertid ikke funnet litteratur som omtaler resistensutvikling hos ovennevnte bakterier ved bruk av sølv til behandling av vann. Det foreligger dokumentasjon som indikerer at kobber-/sølvionisering vil kunne hindre vekst også av andre opportunistiske bakterier i vannledninger enn legionellabakterier (12).

## Oppsummerende vurdering

Sølv har egenskaper som kan utvikle resistens hos bakterier, og det er påvist at dette skjer. Til tross for at sølvs bakteriedrepende egenskaper utnyttes i en rekke forskjellige sammenhenger, er utvikling av resistens lite dokumentert. Dette påpekes blant annet i en EU-rapport fra desember 2013 (6). Selv om resistensutvikling er påvist, er det relativt få dokumenterte tilfeller sett i forhold til den omfattende bruken av sølv. Da sølv kan utvikle resistens ved de samme mekanismer som gjør bakteriene resistente mot antibiotika, er det naturlig å ha en restriktiv holdning til bruk av metoden.

Kobber-/sølvionisering er imidlertid ved siden av behandling med klordioksid den best dokumenterte behandlingsmetoden mot legionellabakterier, og er i flere land ansett som et viktig behandlingsalternativ i interne ledningssystemer. I Folkehelseinstituttets legionellaveiledning er det en relativt restriktiv holdning til

bruk av metoden. Det anbefales at bruken begrenses til behandling av drikkevann i interne ledningsnett i høyrisikoanlegg, og der forekomsten av *Legionella* er et problem. Den foreliggende litteraturstudien anses ikke å gi grunnlag for å endre disse rådene. Det bør imidlertid vurderes å kommentere i legionellaveiledningen at lave (suboptimale) doser av sølv og kobber vil øke sannsynligheten for bakteriell resistensutvikling.

## Litteratur

1. Lin Y.E. et al. Controlling Legionella in Hospital Drinking Water: An Evidence-Based Review of Disinfection Methods, Infection Control and Hospital Epidemiology February 2011, Vol 32, No2, p 166-173
2. Folkehelseinstituttet, Helsemessig vurdering for Mattilsynet av elektrolysesystem som tilfører sølv- og kobberioner til drikkevann på sykehus mot Legionella. 15.02.2007
3. Folkehelseinstituttet, Forebygging av legionellasmitte – en veiledning, Vannrapport 118 2012.
4. Silver, S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds, FEMS Microbiology Reviews 27 (2003) p 341-353.
5. Mijndonckx, K. et al. Antimicrobial silver: uses, toxicity and potential for resistance. Biometals (2014) 26 p 609-621.
6. European Commission, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, Nanosilver: safety, health and environmental effects and role in antimicrobial resistance. Preliminary Opinion, 12. December 2013.
7. Chopra, I. The Increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause of concern? Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2007) 59, p 587-790.
8. Rohr, U. et al. Four Years of Experience with Silver-Copper Ionization for Control of Legionella in a German University Hospital Hot Water Plumbing System, Clinical Infectious diseases 1999, 29, 1507-1511.
9. Lin, Y.E. Ionization Failure Not Due to Resistance, Clinical Infectious diseases, 2000, 31, p 1315-1316.
10. Mietzner, M. et al. Reduced susceptibility of Legionella Pneumophila to the antimicrobial effects of copper and silver ions. Poster, 45<sup>th</sup> Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2005 16-19.
11. Percival, S.L. et al. Bacterial resistance to silver in wound care, Journal of Hospital Infection 2005 60, 1-7.
12. Rodriguez N. S. Silver disinfection in water distribution systems, Dpt. of Agriculture and Biosystems Engineering. The University of Arizona 2008.
13. Thomas, V. et al. Amoebae in domestic water systems: resistance to disinfection treatments and implication in Legionella persistence 2004 Journal of Applied Microbiology 97(5): 950-63.