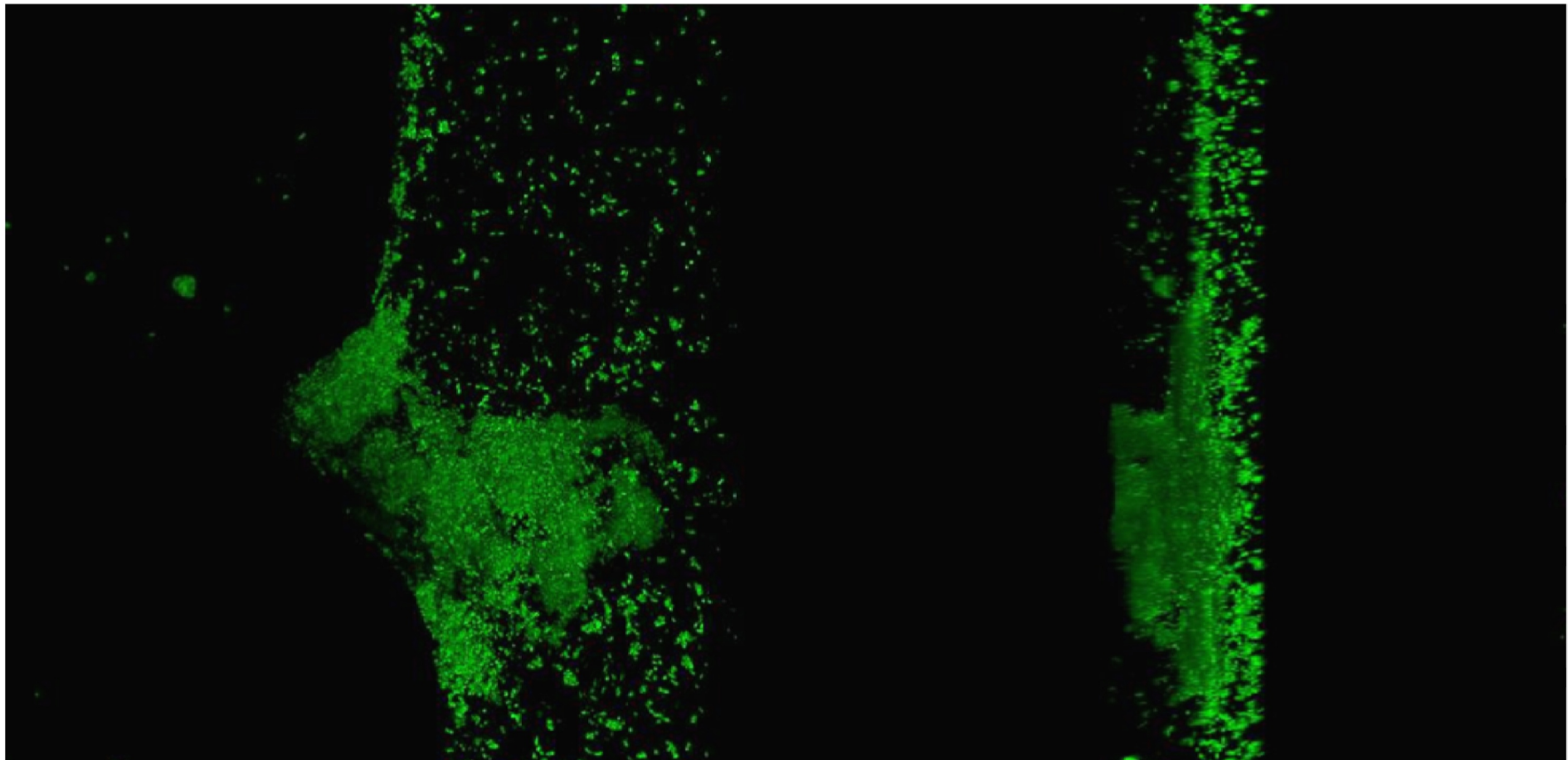
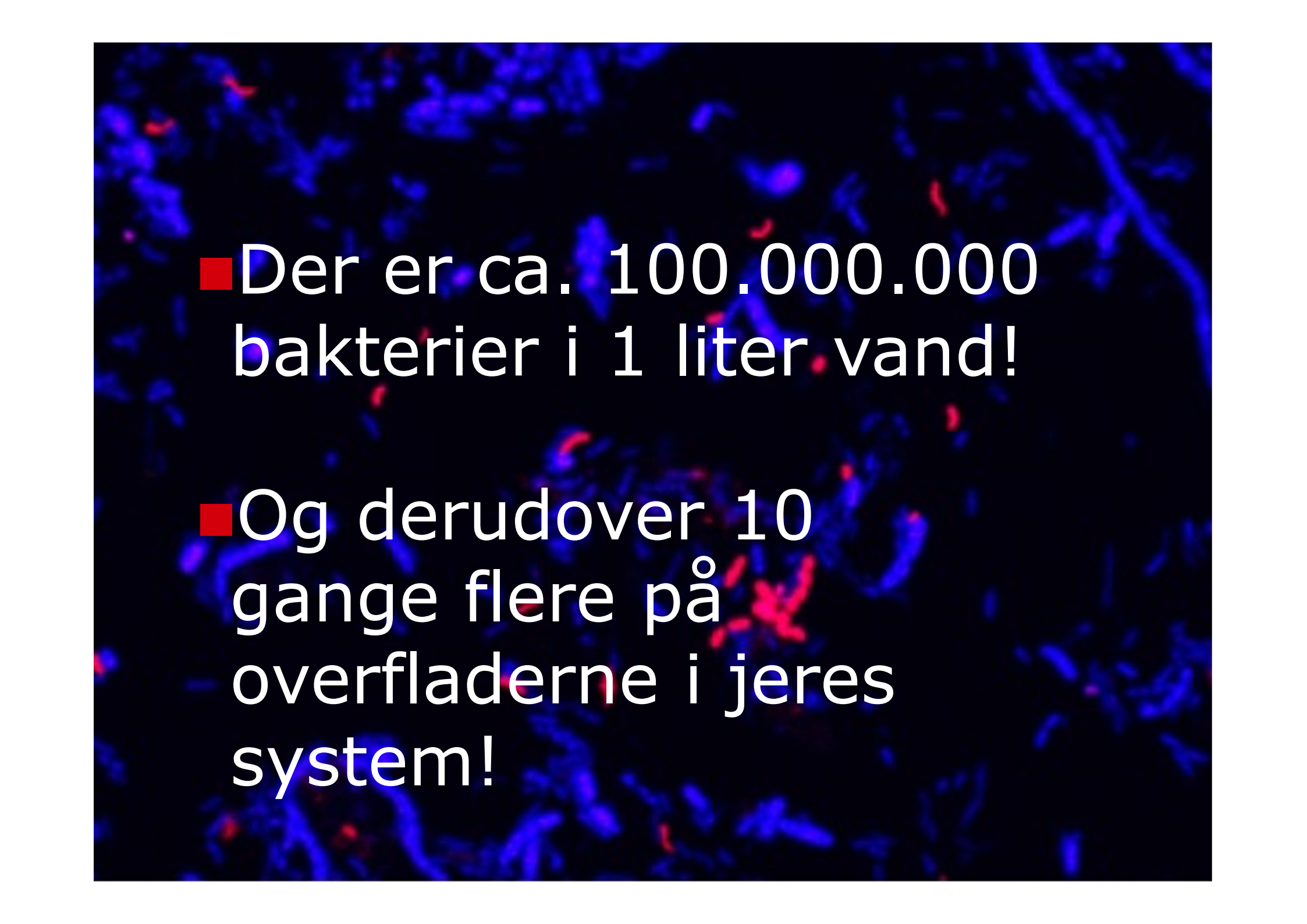




Hvorfor opstår legionella i varmt brugsvand og hvorfor er det farligt?



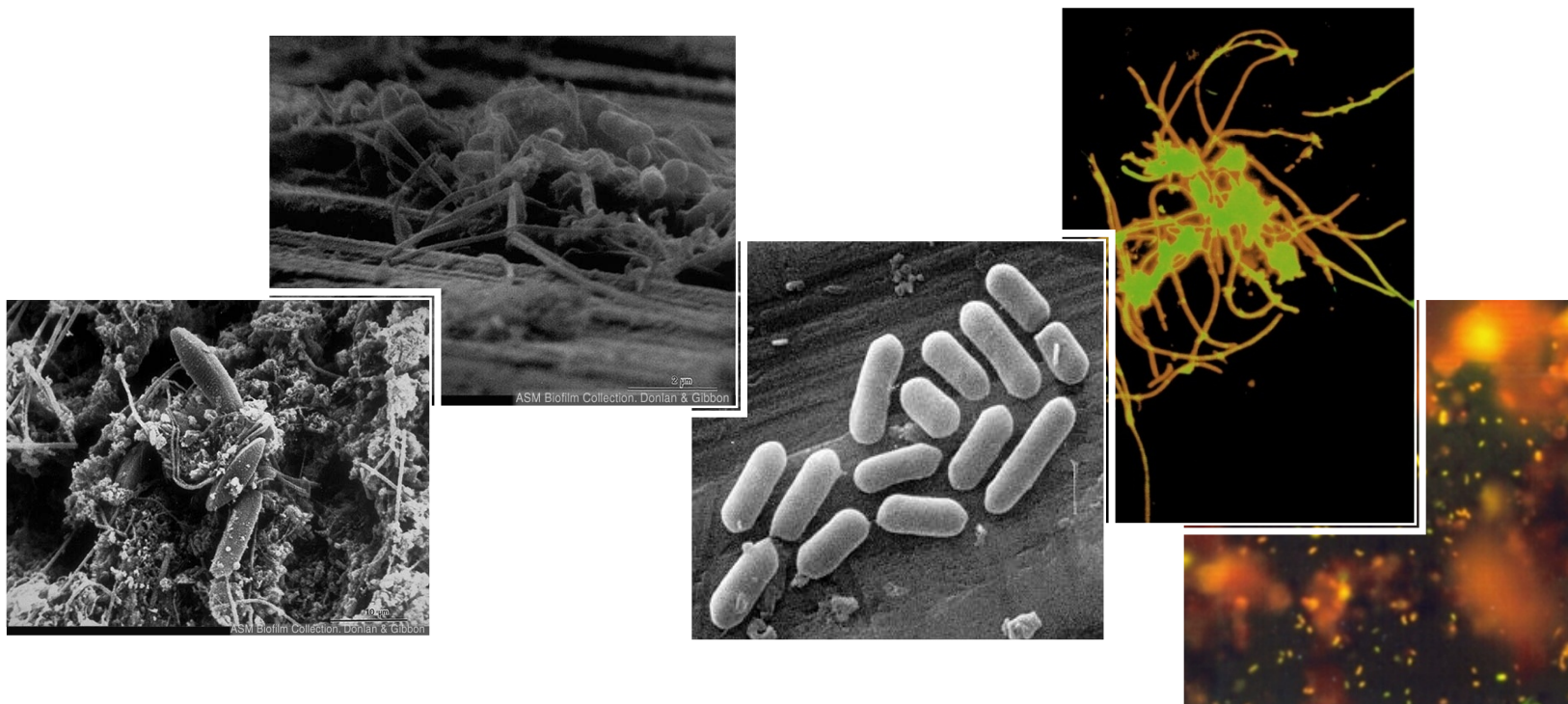
Trine Rolighed Thomsen (seniorkonsulent, lektor, mikrobiolog)
Center for Kemi- og Bioteknik, TI, Afd. for Bioteknologi, AAU, 7220 1828, trt@teknologisk.dk

- 
- A microscopic image showing a dense population of bacteria. The bacteria are stained in two colors: blue and red. The blue-stained bacteria are numerous and appear as various shapes, including rods and cocci. The red-stained bacteria are fewer in number and also show various shapes. The background is dark, making the stained bacteria stand out.
- Der er ca. 100.000.000 bakterier i 1 liter vand!
 - Og derudover 10 gange flere på overfladerne i jeres system!



Bakterier i tekniske systemer

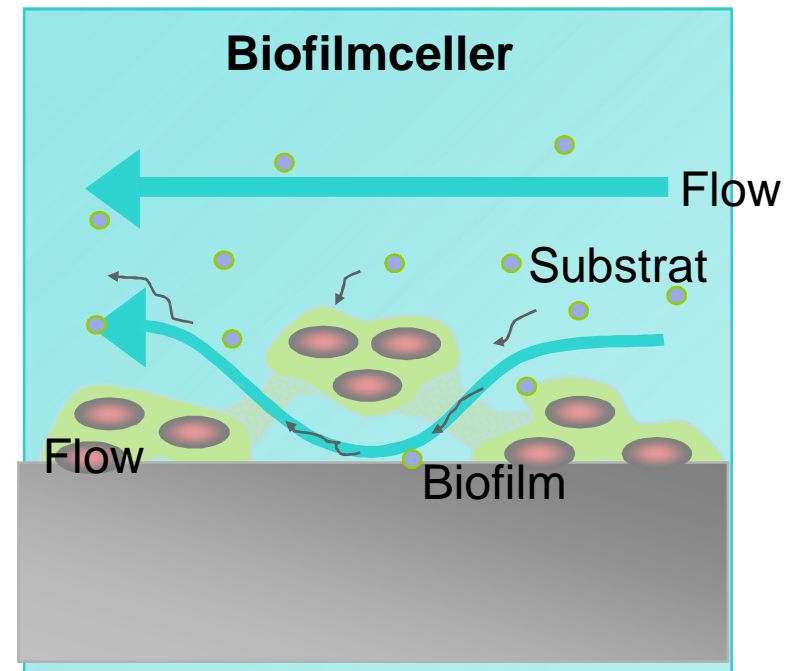
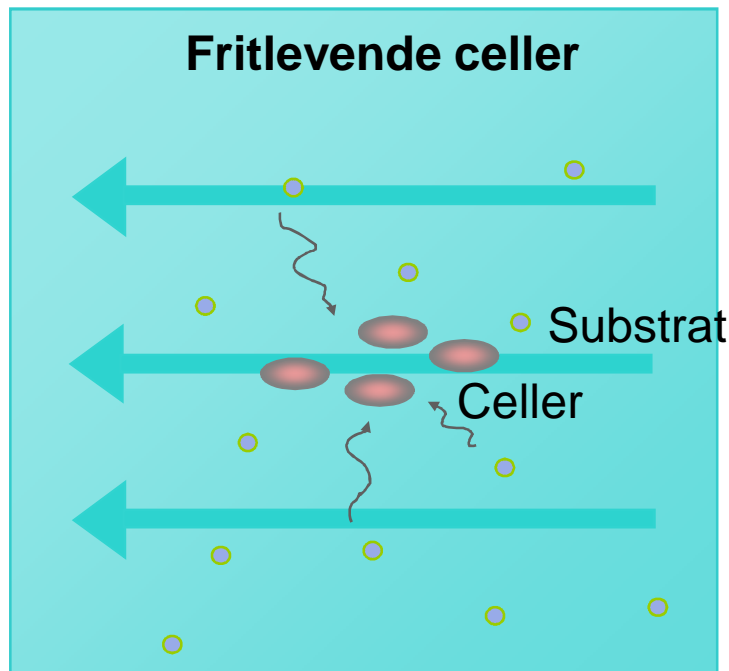
- Bakterier kan leve i næsten ethvert miljø og findes i praktisk talt alle tekniske systemer.
- 90% af bakterierne i et teknisk system sidder på overflader.





Biofilm

- De fleste bakterier lever ikke frie, men vokser på overflader i komplekse mikrobiologiske samfund kaldet biofilm.

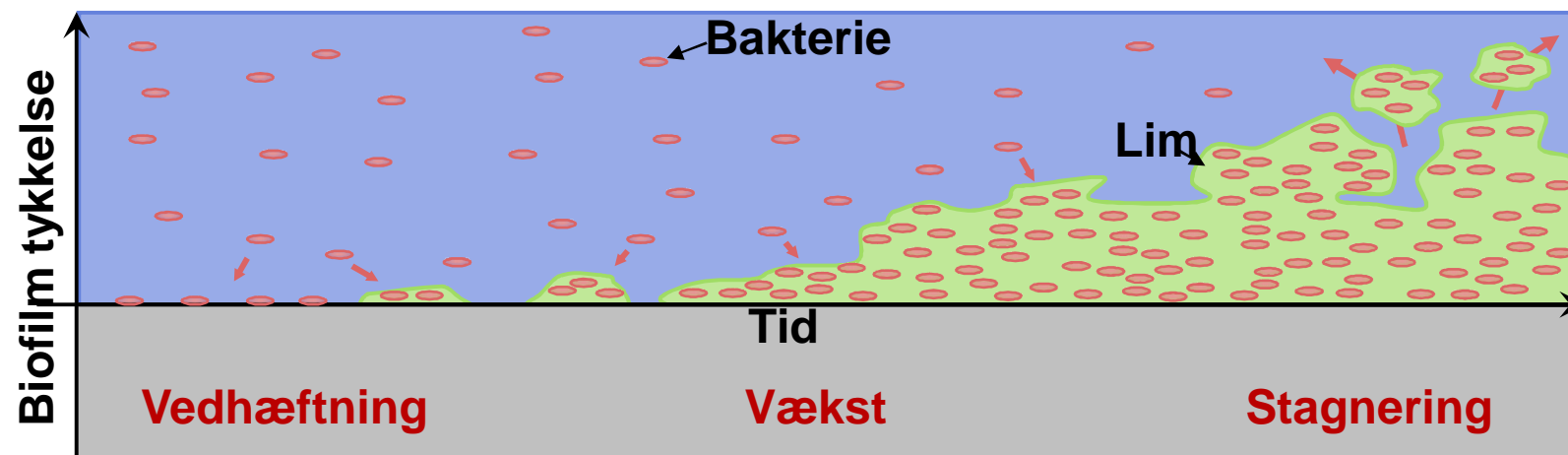


Metaloverflade



Hvad er biofilm lavet af?

- **Vand** (70-95% af den totale vægt)
- Forskellige **bakterier** og andre mikroorganismer, hvoraf nogle kan være sygdomsfremkaldende
- **Organisk stof** (50-90% af tørstofindholdet)
- Uorganiske **partikler**
- Ekstracellulære polymere substanser (en **lim** som holder biofilmen sammen)

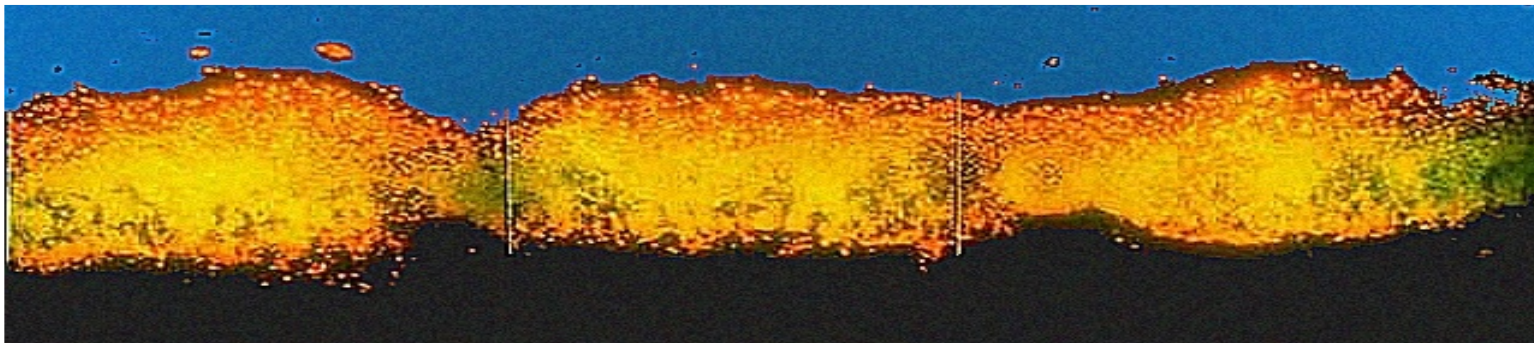


Hvilke miljøer kan biofilm tolerere?



TEKNOLOGISK
INSTITUT

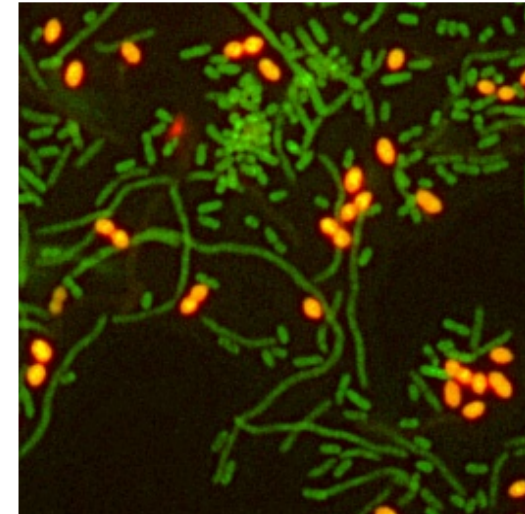
- Temperaturer: $-12 < 110^{\circ}\text{C}$
- pH: $0 < 13$
- Saltindhold: Destilleret vand $<$ koncentrerede opløsninger
- Organisk stof: $10 \mu\text{g/l}$ i ultrarent vand
- Overflader: Alle, inkl. giftige metaller som kobber
- Stråling: UV-lamper og radioaktive materialer
- Biocider: $< 2 \text{ mg/l}$ frit klor
- Tryk: $< 1400 \text{ Atm}$





Biofilm - og hvad så?

- Modstandsdygtige for bekæmpelse
- Kan ikke skylles ud
- *Legionella* lever gerne i biofilm



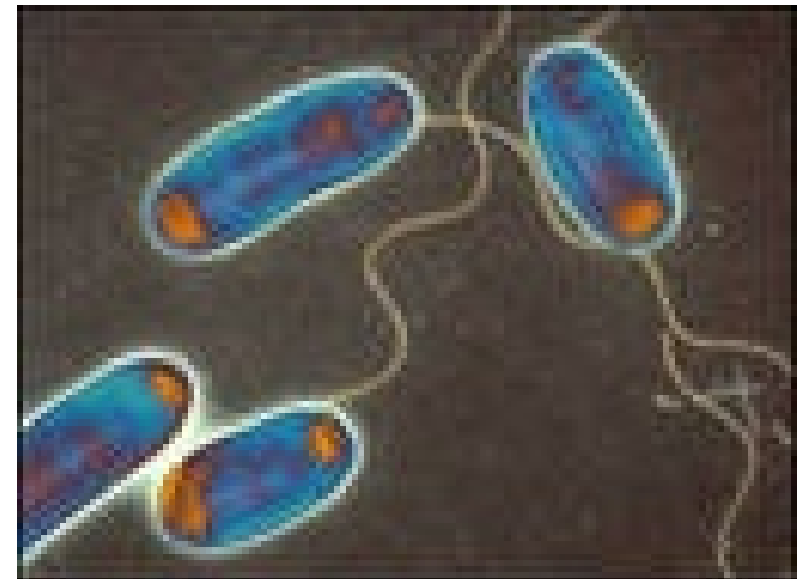
Legionella



TEKNOLOGISK
INSTITUT

Karakteristika

- Stavformet bakterie 0,3-0,9 x 2-3 μm
- Gram negative, der lever af organisk stof
- Kræver Fe, 1-5 mg/l
- pH fra 5,5-9,2
- Temperaturer fra 20°C til 50°C
- Fordoblingstid ned til ca. 3 timer
- I vandinstallationer er *Legionella* fortrinsvis lokaliseret i biofilm
- Intracellulær vækst (amøber)
- Sygdomsfremkaldende





Primært personer med nedsat immunforsvar smittes

- Legionærsygen er en alvorlig form for lungebetændelse.
- Pontiac feberen er en influenza lignende sygdom.
- Risikoen for at blive smittet er relativ lille.
- Der skal indåndes vandpartikler indeholdende bakterier

Legionærsyge i Hefners boblebad

Festdeltagere fik kedelig overraskelse: Feber og åndenød efter besøg hos Playboy-kongen

10:05, 19. apr 2011 | Jesper Hjorth



Ifølge seniorforsker Søren Uldum, Statens Serum Institut, er der årligt omkring 120 tilfælde af legionærsygdom, primært som følge af smitte med legionella-bakterier større varmtvandssystemer. Cirka 15 procent er med dødelig udgang.



Metoder til at analysere for *Legionella*

- **Traditionel dyrkning** af *Legionella* efter DS 3029 ,
modificeret udgave af ISO 11731:1998
Dyrkes på BCYE-agar (Buffered Charcoal Yeast
Extract agar).
- Dyrkning af *Legionella* kræver grundig kendskab til
metoden samt erfaring og rutinemæssig håndtering af
cellerne.
- Analysetid er ca. 10 dage for *Legionella* sp. Ved
verifikation kræves endnu ca. 2 analysedage.
- Fordel ved dyrkning er at kun levende celler fra
systemet detekteres.



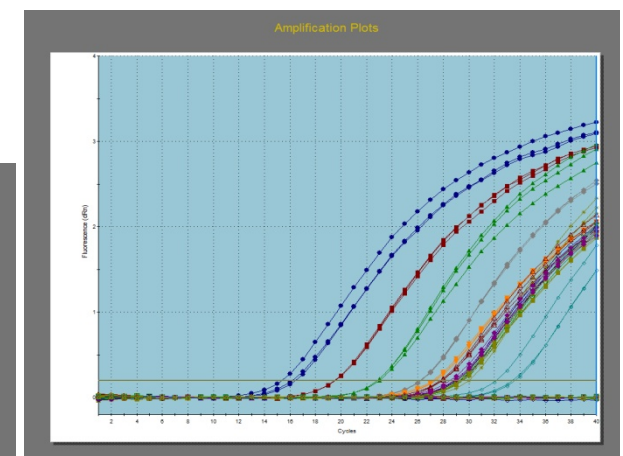
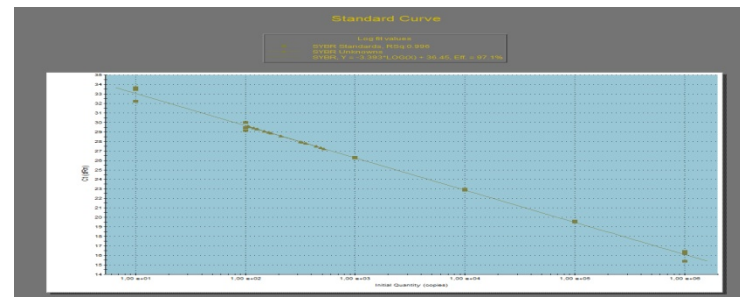


Metoder til at analysere for *Legionella*



TEKNOLOGISK
INSTITUT

- **Molekylærbiologisk** detektion af *Legionella* ved qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction).
- Metoden benytter samme princip som en konventionel PCR til at opformere specifikke gener fra et DNA ekstrakt.
- Metoden bruger fluorescens til at registrere, hvor hurtigt DNA opformeres i en PCR reaktion. Jo hurtigere fluorescensen når et fastlagt niveau, jo mere DNA har der været til stede i prøven.





Metoder til at analysere for *Legionella*



TEKNOLOGISK
INSTITUT

- Metoden bruges bredt indenfor mikrobiologi til at undersøge antallet af mikroorganismer i en prøve.
- Analysetid er ca. 2 dage for *Legionella* sp. Mulighed for at udvide med nye qPCR assays specifikke for feks. *Legionella pneumofila*.
- Fordel ved qPCR er et hurtigt analysesvar. Ulempe er at metoden detektere både levende og døde celler.
- qPCR metoden er fx velegnet til overvågningsopgaver, hvor udviklingen af *Legionella* følges.

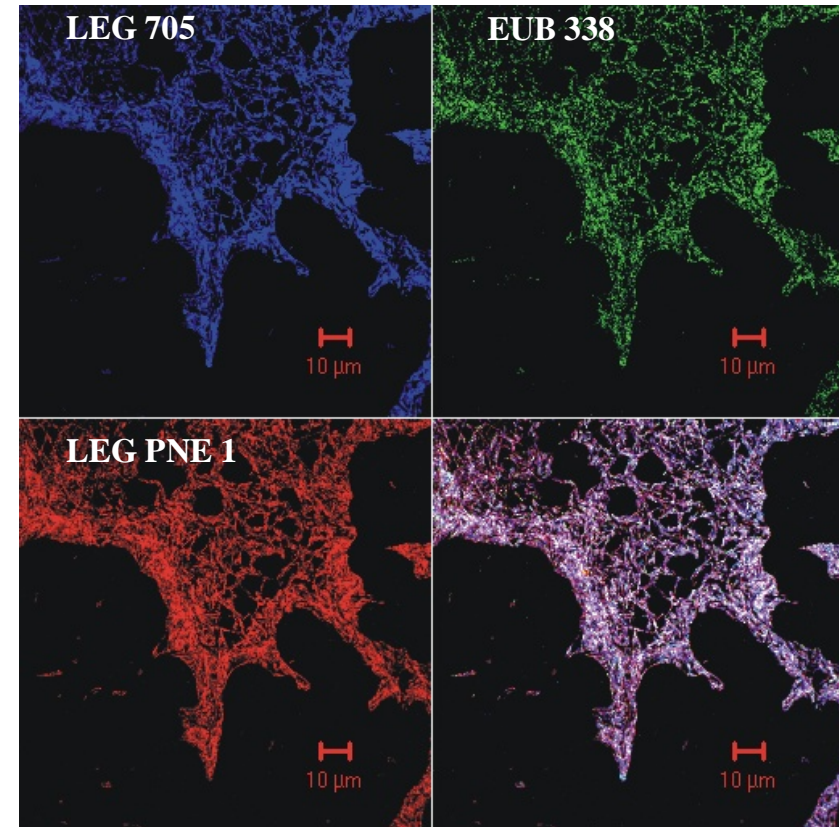
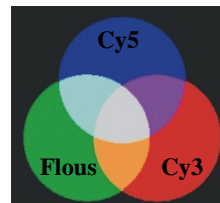
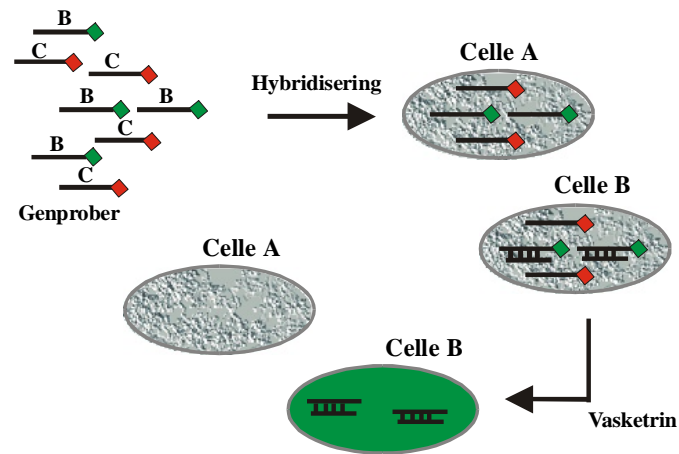




Identifikation af bakterier med genprober og fluorescensmikroskopi



TEKNOLOGISK
INSTITUT





FOREKOMST AF *LEGIONELLA* I 16 VANDINSTALLATIONER

Formål:

- At undersøge forekomsten af *Legionella* i biofilm fra 16 danske vandinstallationer

	Udvalgte lokaliteter	Varmtvandsforsyning	Temperatur [°C]
1	Boligkompleks (I)	Varmtvandsbeholder	62
2	Boligkompleks (II)	Fjernvarme	45
3	Fitness center	Fjernvarme	40
4	Folkeskole (I)	Varmtvandsbeholder	43
5	Folkeskole (II)	Varmtvandsbeholder	52
6	Folkeskole (III)	Varmtvandsbeholder	49
7	Hospital	Varmtvandsbeholder	55
8	Plejehjem (I)	Fjernvarme	63
9	Plejehjem (II)	Varmtvandsbeholder	53
10	Plejehjem (III)	Varmtvandsbeholder	49
11	Vuggestue (I)	Varmtvandsbeholder	46
12	Vuggestue (II)	Varmtvandsbeholder	45
13	Svømmehal (I)	Varmeveksler	41
14	Svømmehal (II)	Varmeveksler	39
15	Supermarked - frugtafdeling	Alm. Koldvandsforsyning	15
16	Universitet	Varmtvandsbeholder	50



FOREKOMST AF *LEGIONELLA* I 16 VANDINSTALLATIONER

Resultater:

■ PCR

13 ud af 16 fundet positive

Overensstemmelse med resultater fra FISH

■ FISH

63% af positive indeholder *Legionella pneumophila*



DETALJERET HOT SPOT ANALYSE

Formål:

- At klarlægge sammenspillet mellem *Legionella* og biofilm i vandinstallationer

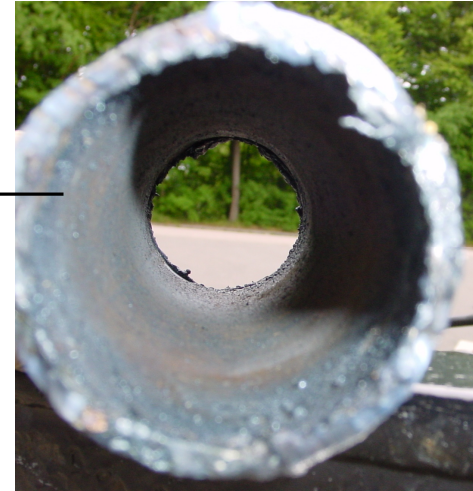
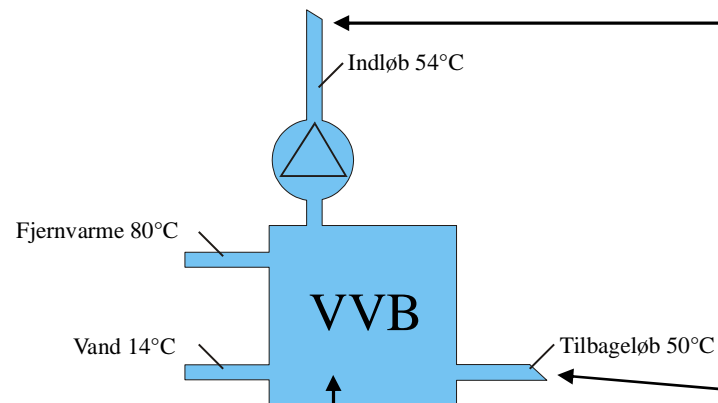
Undersøgelserne vil omhandle:

- At foretage kvalitative og kvantitative bestemmelser af *Legionella* i biofilm
- At identificere, hvor i vandinstallationen *Legionella* er forekommende
- Om forekomst af biofilm er ensbetydende med forekomst af *Legionella*
- At undersøge temperaturens indflydelse på forekomsten af *Legionella*



DETALJERET HOT SPOT ANALYSE

Prøvelokaliteten:



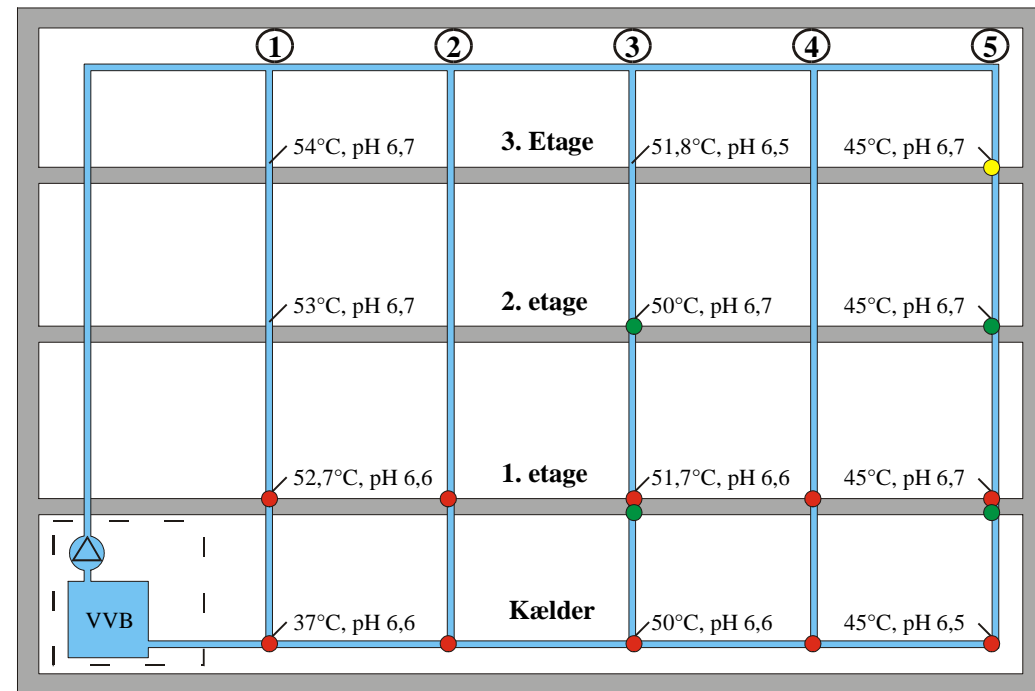
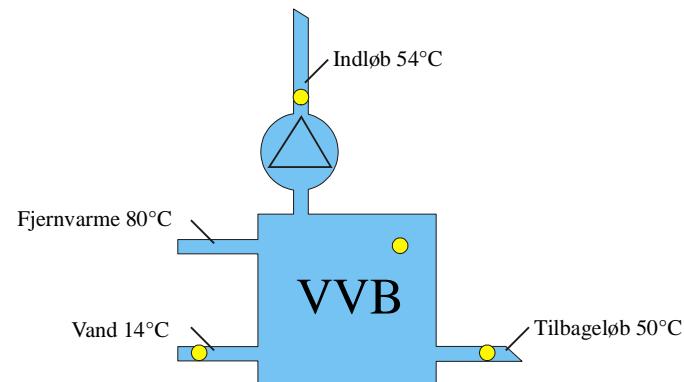
Eskelund, P. E., Thomsen, T. R., Nielsen, J. L., & Nielsen, P. H. (2002). Legionella i vandinstallationer. *Danvak Magasinet*, 2, 30-32.



DETALJERET HOT SPOT ANALYSE

Prøvetagning:

- Udskrab fra vandhane
- Udskrab fra bruseslange
- Udskrab selve rørsystemet



- 4 udskrab inde i selve vandinstallationen
- 4 udskrab fra bruseslanger
- 10 udskrab fra diverse vandhaner



DETALJERET HOT SPOT ANALYSE

Afhjælpende foranstaltninger:

- Årsag til temperaturgradient skyldes muligvis dårlig isolering af vandrør på loftet
- Udskiftning af bruseslanger





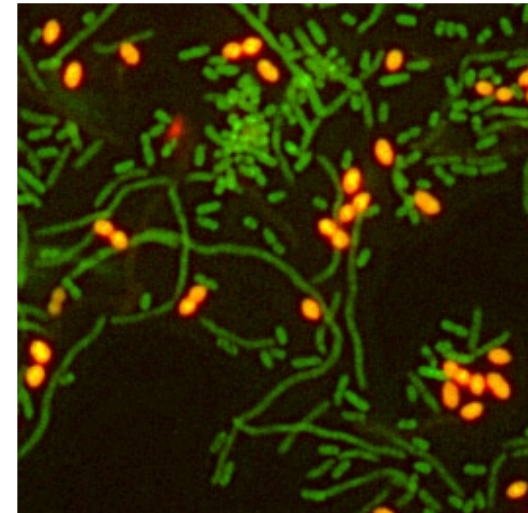
Forebyggelse udvikling af biofilm med *Legionella*

- Undgå temp. fra 20°C til 50°
 - Kort og direkte ledningsnet
 - Kort opholdstid
 - Godkendte materialer
 - God drift og vedligeholdelse
 - Opvarmning til 70 °C
 - Undgå spray og dannelse af aerosoler
-
- Varmedesinfektion
 - Desinfektion ved klorering
 - Yderligere tiltag
 - UV-bestråling
 - Ozon
 - Filtreringssystemer
 - Osv.



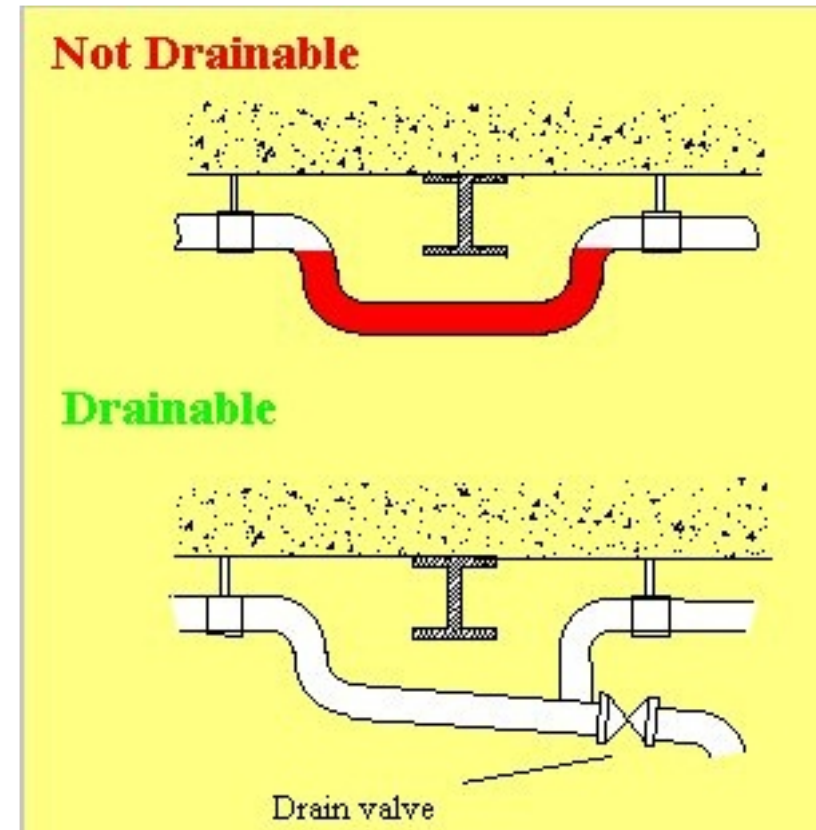
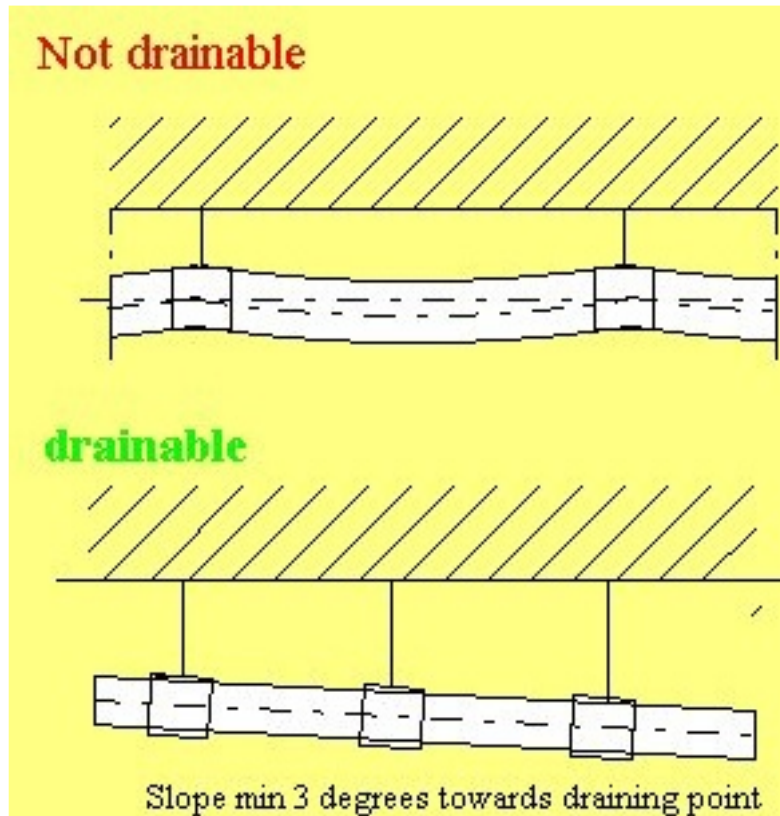
Systemopbygning

- Opdel systemet i mindre separate enheder
- Overflader (tanke) skal kunne rengøres
- Undgå korrosion
- Undgå stillestående vand
- Undgå bundfældning





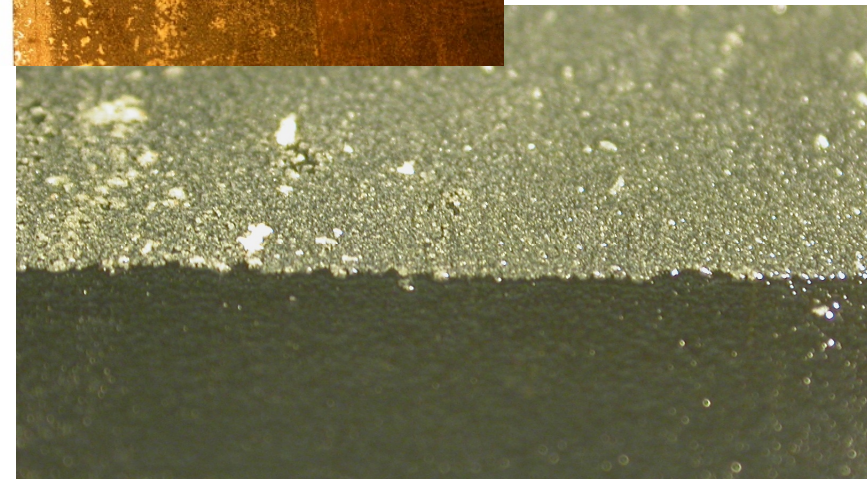
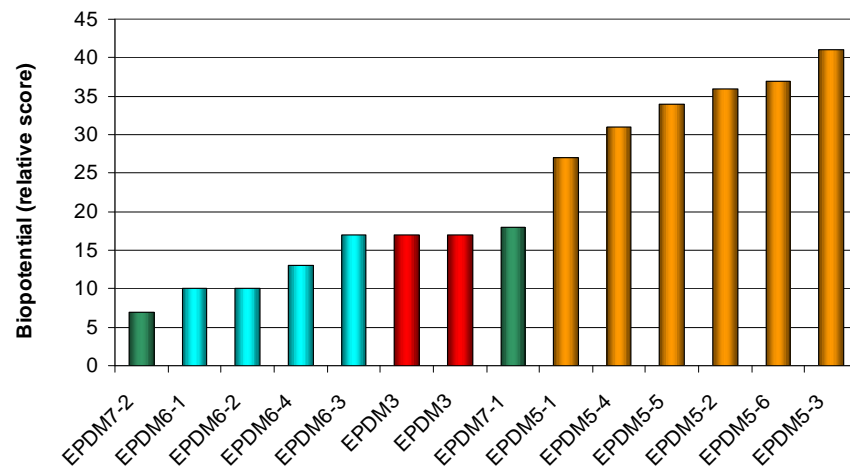
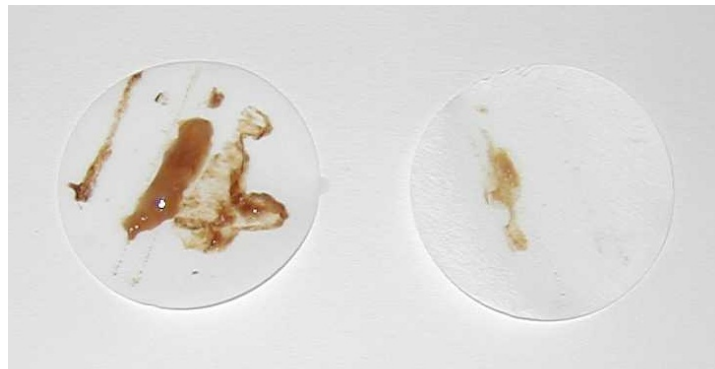
Hygiejnisk design





Materialer – gummi er mad

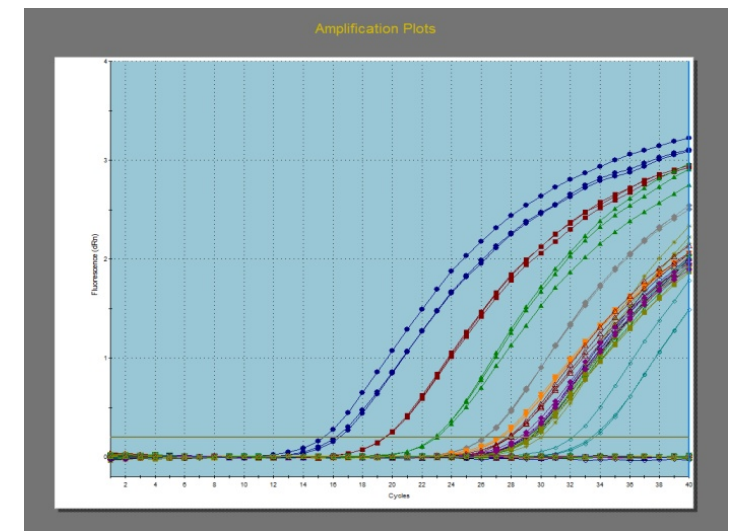
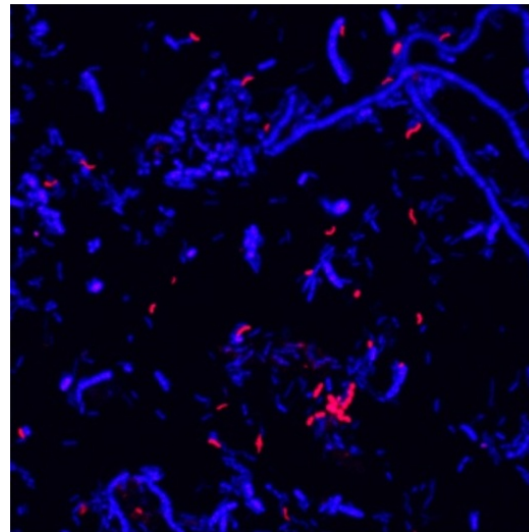
- Stil krav til materialer
Fx tyske normer kræver en 'biofilmmåling'.





Behov

- Standardisering af prøvetagning
- Standardisering af detektionsmetoder
- Grænseværdier; vand versus biofilm



Spørgsmål?

