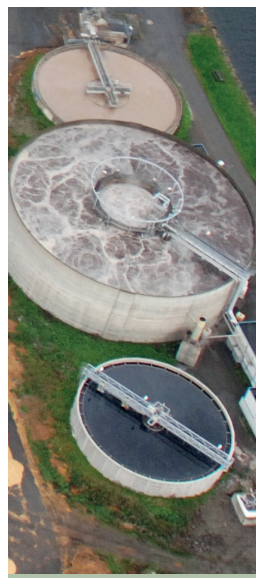
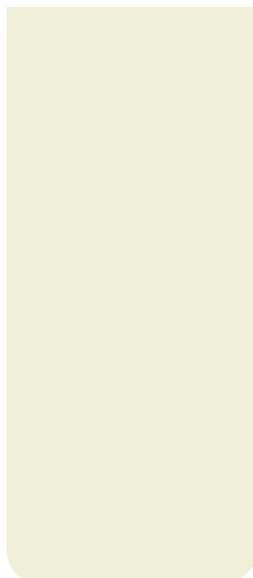
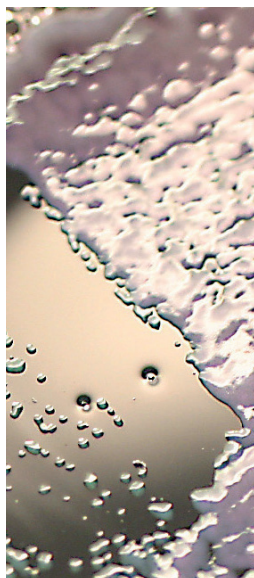


2011



Vannrapport 117

# Kartlegging av legionellaforekomst i luftede biologiske avløpsrensaneanlegg 2009-2010

Biodamrapporten

Wenche Fonahn

Vidar Lund

Jens Erik Pettersen



Vannrapport 117

# Kartlegging av legionellaforekomst i luftede biologiske avløpsrenseanlegg 2009 - 2010

Biodamrapporten

Wenche Fonahn

Vidar Lund

Jens Erik Pettersen

Utgitt av Nasjonalt folkehelseinstitutt  
Divisjon for miljømedisin  
Avdeling for vannhygiene  
Mai 2011

**Tittel:**

Vannrapport 117  
Kartlegging av legionellaforekomst i luftede biologiske avløpsrensaneanlegg 2009 – 2010  
Biodamrapporten

**Forfattere:**

Wenche Fonahn, Vidar Lund, Jens Erik Pettersen

**Bestilling:**

Rapporten kan lastes ned som pdf  
på Folkehelseinstituttets nettsider: [www.fhi.no](http://www.fhi.no)

**Design omslag:**

Per Kristian Svendsen og Unni Harsten

**Foto omslag:**

Bilde til venstre: Arne Høiby  
Bilde til høyre: Sødra Cell

ISSN 1503-2167

ISBN 978-82-8082-463-9 elektronisk versjon

## Forord

Folkehelseinstituttet tok i 2009, etter samråd med Statens forurensningstilsyn (nå Klima- og forurensningsdirektoratet), initiativ til et prosjekt for å kartlegge forekomsten av legionellabakterier i luftede biologiske avløpsrenseanlegg. Med bistand fra Statens forurensningstilsyn, Norsk Industri, TINE sentralt og Norsk Vann ble potensielle deltagere kartlagt. Til sammen 33 anlegg fordelt på 5 ulike bransjer ønsket å delta.

Prosjektet ble gjennomført i 2009-2010 som et samarbeid mellom Folkehelseinstituttet og Unilabs Telelab AS. Prosjektmedarbeidere har vært:

Fra Folkehelseinstituttet: forsker Vidar Lund (prosjektleder), seniorrådgiver Jens Erik Pettersen, forskningssjef Dominique A. Caugant og sjefingeniør Wenche Fonahn, avdelingsdirektør Ingeborg Aaberge og undertegnede.

Fra Unilabs Telelab AS: seniorrådgiver Eirik Ask og overingeniør Åse Nysæter.

En stor takk rettes til de anleggene som har deltatt i prosjektet og som gjorde denne kartleggingen mulig, og til Görel Allestam, Smittskyttsinstituttet, og Viggo Waagen, Borregaard Industries, som har kommentert rapporten.

Oslo, februar 2011

Truls Krogh  
avdelingsdirektør  
Avdeling for vannhygiene  
Folkehelseinstituttet

## Innhold

<b>FORORD</b> .....	<b>3</b>
<b>1. SAMMENDRAG</b> .....	<b>5</b>
<b>2. BAKGRUNN</b> .....	<b>7</b>
<b>3. MÅL</b> .....	<b>8</b>
<b>4. LITT OM SYKDOM OG SMITTEMÅTER</b> .....	<b>8</b>
<b>5. LITT OM VEKSTVILKÅR FOR LEGIONELLABAKTERIER</b> .....	<b>9</b>
<b>6. ORGANISERING OG DELTAGELSE</b> .....	<b>10</b>
<b>7. GJENNOMFØRING</b> .....	<b>10</b>
<b>8. ANLEGGSBESKRIVELSER</b> .....	<b>12</b>
8.1 GENERELT .....	12
8.2 KOMMUNALE AVLØPSANLEGG .....	13
8.3 MEIERIER .....	14
8.4 PETROKJEMISK INDUSTRI .....	16
8.5 TREFOREDNING .....	17
8.6 ANNEN INDUSTRI.....	18
<b>9. ANALYSEMETODER</b> .....	<b>20</b>
9.1 DYRKINGSMETODE.....	20
9.2 MOLEKYLÆRBIOLOGISKE METODER.....	21
9.2.1 <i>Kvantitativ realtime-PCR bestemmelse av Legionella pneumophila</i> .....	21
9.2.2 <i>Artsbestemmelse av Legionellaliknende kolonier ved sekvensering av 16S rRNA-genet</i> .....	23
9.2.3 <i>Sekvensbasert typing</i> .....	23
<b>10. ANALYSERESULTATER</b> .....	<b>24</b>
10.1 OVERSIKT OVER FUNN.....	24
10.2 DISKUSJON AV ANALYSERESULTATENE FOR HVER BRANSJE .....	28
<b>11. GRUNNLAG FOR VIRKSOMHETENES VIDERE OPPFØLGING</b> .....	<b>31</b>
11.1 GENERELT .....	31
11.2 INNHOLDET I EN RISIKOVURDERING .....	32
11.3 FORBYGGENDE TILTAK .....	32
11.4 KOMMENTARER ANGÅENDE DEN ENKELTE BRANSJE .....	33
<b>REFERANSER</b> .....	<b>35</b>
<b>VEDLEGG 1 RETNINGSLINJER FOR PRØVETAKING</b> .....	<b>36</b>
<b>VEDLEGG 2 FØLGESKJEMA</b> .....	<b>37</b>
<b>VEDLEGG 3 REGISTRERINGSSKJEMA (DATA SKRIVES I DE GRÅ FELTENE)</b> .....	<b>38</b>
<b>VEDLEGG 4 KARTLEGGING AV LEGIONELLAFOREKOMST I LUFTEDE BIOLOGISKE RENSEANLEGG – SAMTLIGE DATA OM DET ENKELTE ANLEGG (RAPPORTERT I HENHOLD TIL VEDLEGG 3)</b> .....	<b>39</b>
<b>VEDLEGG 5 OVERSIKT OVER ANALYSERESULTATER FRA KVANTITATIV REALTIME PCR-ANALYSER</b> .....	<b>43</b>

## Sammendrag

I Norge har det vært registrert tre utbrudd av legionærsykdom som med stor sannsynlighet er forårsaket av et biologisk renseanlegg. Det finnes imidlertid flere eksempler fra utlandet hvor utbrudd er knyttet til biodammer.

Erfaringer fra treforedlingsindustrien viser at legionellabakterier kan opptre i store konsentrasjoner i luftede biologiske renseanlegg som renser prosessavløp fra denne bransjen. Luftede biologiske renseanlegg benyttes til rensing av prosessavløp også fra annen industri og til rensing av kommunalt avløpsvann. Kunnskapen om forekomst av legionellabakterier i luftede biologiske anlegg er begrenset. Som grunnlag for prioritering av arbeidet med forebygging av legionellasmitte, var det ønskelig å gjennomføre en kvalitativ og kvantitativ undersøkelse av forekomst av *Legionella* i luftede biologiske renseanlegg for behandling av ulike typer avløpsvann.

Legionellabakterier forekommer i naturen. Det er til nå beskrevet 56 arter av *Legionella* og over 70 undergrupper (serogrupper). Ikke alle artene er kjent for å gi sykdom hos mennesker. De fleste registrerte sykdomstilfellene har vært forårsaket av *Legionella pneumophila*, serogruppe 1, men også andre serogrupper og arter kan være sykdomsfremkallende.

Prosjektet har vært et samarbeid mellom Folkehelseinstituttet og Unilabs Telelab AS, med førstnevnte som prosjektleder. Prosjektet ble startet i samråd med Statens forurensningstilsyn (nå Klima- og forurensningsdirektoratet).

Totalt 33 anlegg, fordelt på 5 bransjer, har deltatt i prosjektet.

Kommunale avløpsrenseanlegg: 8

Meierier: 8

Petrokjemisk industri: 9

Treforedlingsindustri: 4

Annen industri: 4

Antall deltagere og anleggenes geografiske spredning anses som tilfredsstillende for å ivareta prosjektets mål.

Det er gjennomført fire prøveomganger fordelt over ett år, henholdsvis i juni, august/september og november 2009, og i april 2010. Prøvene er tatt fra den aktive fasen i luftebassengene. Det ble tatt to parallelle prøver, den ene ble sendt til Unilabs Telelab for dyrking, og den andre til Folkehelseinstituttet for kvantitativ PCR-analyse. Dyrkningsprøver fra Unilabs Telelab ble også sendt inn til Folkehelseinstituttet for genotyping. Opplysninger om renseanleggene er rapportert elektronisk til Folkehelseinstituttet, og driftsdata er rapportert i forbindelse med hver prøveomgang. Det er stor variasjon mellom anleggene både hva gjelder utforming og størrelse, fra åpne utendørs bassenger med areal på over 1000 m<sup>2</sup> til innendørs totalt tildekkede anlegg på 10 – 50 m<sup>2</sup>. De fleste anleggene er av type aktivslam, dvs. bassenger der bakteriekulturen sirkulerer fritt i bassengene ved luftinnblåsing. De øvrige benytter biofilmprosesser der biofilmen sitter fast på et medium, de fleste av typen “moving bed”. På grunn av stor variasjon i omfang og kvalitet av innrapporterte data i forbindelse med hver prøveomgang, og det begrensede antallet prøver, er det ikke tilstrekkelig informasjon til å foreta statistiske analyser av sammenhenger mellom tekniske forhold og legionellaforekomst.

*Legionella* dyrkningsanalyse ble utført av Unilabs Telelab i henhold til ISO 11731:1998.

Som del av prosjektet ble det også prøvet ut en kvantitativ bestemmelsesmetode basert på såkalt PCR-teknikk, ved hjelp av et kommersielt tilgjengelig test-kit. Ved tradisjonell dyrking bestemmes bare levende, dyrkbare bakterier. Ved PCR-teknikk påvises både levende dyrkbare bakterier, levende ikke-dyrkbare bakterier, samt døde bakterier.

I de **kommunale rensanleggene** ble det med dyrking kun påvist legionellabakterier ved ett av de åtte anleggene. Ved hjelp av PCR-teknikk ble det imidlertid påvist *L. pneumophila* i fem av anleggene, dog i lave konsentrasjoner.

I prøvene fra de åtte **meierianleggene** ble det ikke i noen av anleggene påvist legionellabakterier ved dyrking. Ved tre anlegg ble det påvist *L. pneumophila* ved PCR-teknikk, men i meget lave konsentrasjoner.

I de **petrokjemiske** anleggene ble det både ved dyrking og PCR-teknikk påvist *L. pneumophila* i seks av de ni anleggene, og i til dels høye konsentrasjoner.

I anleggene tilknyttet **treforedlingsindustri** ble det påvist legionellabakterier i tre av fire anlegg, med *L. pneumophila* som dominerende art. Med PCR-teknikk ble *L. pneumophila* påvist i alle anleggene.

I de fire anleggene tilknyttet **annen industri** ble det heller ikke påvist legionellabakterier ved dyrking, men det ble påvist *L. pneumophila* i lave konsentrasjoner med PCR-teknikk i tre anlegg.

Det anbefales at anleggene gjennomfører en vurdering av eksponeringsrisikoen. Utgangspunktet for en risikovurdering er anleggets potensial for å fremme oppvekst av legionellabakterier. En vurdering av dette potensialet bør omfatte både en vurdering av om forutsetningene for legionellavekst synes å være til stede, og dokumenterte erfaringer i form av analyser. Derne må det vurderes hvilke hendelser som kan tenkes å medføre at mennesker blir eksponert for legionellainfiserte aerosoler, både på bedriftsområdet og utenfor.

Som hovedregel anbefales bruk av åndedrettsvern ved arbeid i tilknytning til biologiske rensanlegg med mindre eksponeringsrisikoen er neglisjerbar.



## 1. Bakgrunn

Det har vært registrert tre utbrudd av legionærsykdom i Norge, i Sarpsborg-/Fredrikstadorrådet i Østfold, som med stor sannsynlighet er forårsaket av et biologisk renseanlegg. I mai 2005 ble 103 personer diagnostisert med legionærsykdom, hvorav 10 døde. I november samme år ble det påvist tre nye tilfeller av legionærsykdom i samme område, med samme legionellastamme som forårsaket utbruddet i mai. I 2008 ble fem personer diagnostisert, hvorav to døde.

I 2005 ble det konkludert med at et skrubberanlegg ved Borregaard Industries var smitekilden. Forsvarets forskningsinstitutt (FFI) og Borregaard Industries har i ettertid sannsynliggjort at det biologiske renseanlegget ved fabrikken var den viktigste årsaken til smittespredningen. Uansett hva som var spredningsveien for utbruddet, om det var legionellainfiserede aerosoler spredt gjennom luft via skrubberanlegget eller annen aerosoldannelse basert på elvevann nedstrøms utslippet i Glomma, er det enighet om at legionellene opprinnelig stammet fra det biologiske renseanlegget.

Etter granskning av mulige årsaker til utbruddet i 2008 ble det konkludert med at det luftede biologiske renseanlegget for prosessavløpsvann ved Borregaard Industries på en eller annen måte måtte være involvert i smittespredningen. Denne overveiende sannsynlige årsakssammenhengen medførte at Statens forurensningstilsyn (nå Klima- og forurensningsdirektoratet) ga Borregaard dispensasjon fra utslippskravet, og de luftede biodammene ble stengt.

De tre nevnte utbruddene i Østfold er de eneste kjente tilfellene i Norge der legionellasmitte er knyttet til biologisk rensing av avløpsvann. Som vist i det etterfølgende finnes det imidlertid flere eksempler på slike sammenhenger fra utlandet.

Danmark 1997. Næringsmiddelindustri. Fem tilfeller av Pontiacfeber. Smittet i forbindelse med arbeid ved slamfortykker ved renseanlegget. (*Gregersen et al. 1999*)

USA 2000. Næringsmiddelindustri (sukkerproduksjon). 15 tilfeller av Pontiacfeber. Smittet i forbindelse med bruk av rensed avløp til høytrykkspyling. (*Castor et al. 2005*)

Frankrike, 2003/2004. Petrokjemisk industri. 86 tilfeller av legionærsykdom hvorav 18 døde. Smittekilde var et kjøletårn ved fabrikken. En av konklusjonene fra risikoanalysen var at en betydelig mengde luftbåren *Legionella* fra det biologiske renseanlegget kan ha blitt tilført kjøletårnet. Spredning over en distanse på 6 km. (*Tran Minh Nhu Nguyen et al. 2006 (Pas-de-Calais outbreak)*)

Sverige 2004. Treforedlingsindustri. Ett tilfelle av legionærsykdom. Det biologiske renseanlegget mulig årsak. Smitteavstand var ca. 100 meter. (*Allestam and Långmark, SMI 2007*)

Finland 2006. Treforedlingsindustri. To tilfeller av legionærsykdom ved to forskjellige fabrikker. Begge tilfellene var arbeidsrelatert. Det ene tilfellet skyldtes trolig eksponering for aerosoler i forbindelse med installasjon av en pumpe i et ettersedimenteringsbasseng etter biologisk rensing. Det andre tilfellet skyldtes sannsynligvis eksponering for aerosoler fra et aktivslamanlegg, spredt over en distanse på ca. 200 meter. (*Kusnetsov et al. 2010*)

Finland 2007. Kjemisk fabrikk. Fem ansatte ble diagnostisert med Pontiacfeber (*Ruotsalainen et al. 2008*)

Sverige 2008. Lærindustri. Tre diagnostiserte og ett antatt tilfelle av legionærsykdom.  
(Upubliserte data, kommunelege Västra Götaland)

Sverige 2010. I september ble det konstatert fem tilfeller av legionærsykdom i Domsjö nordøst i Sverige. Tilfellene ble knyttet til det biologiske renseanlegget ved en treforedlingsbedrift. Utdrag fra pressemelding: *”Orsaken till de fem fallen i Domsjö är kopplade till den rengöring som gjordes vid Domsjö Fabrikens bioreningsanläggning i samband med underhållsstoppet i september. DNA-analys av legionellabakterier har bekräftat att smittan kommer från anläggningen. Två av de smittade deltog i rengöringsarbetet i anläggningen”*.

Totalt er 233 personer i seks land registrert smittet med legionellose mellom 1997 og 2010, der årsaken er knyttet til biologisk rensing.

Erfaringer fra treforedlingsindustrien viser at legionellabakterier kan opptre i store konsentrasjoner i luftede biologiske renseanlegg som renser prosessavløp fra denne bransjen. Luftede biologiske renseanlegg benyttes til rensing av prosessavløp også fra annen industri og til rensing av kommunalt avløp. Kunnskapen om forekomst av legionellabakterier i luftede biologiske anlegg ved disse er begrenset.

Som grunnlag for prioritering av arbeidet med forebygging av legionellasmitte, var det ønskelig å kartlegge legionellaforekomsten i luftede biologiske renseanlegg i Norge.

## 2. Mål

Å gjennomføre en kvalitativ og kvantitativ undersøkelse av forekomst av *Legionella* i luftede biologiske renseanlegg for behandling av ulike typer avløpsvann. Dette gjøres ved å kartlegge i hvilken grad *Legionella* finnes i slike anlegg, hvilke arter, serogrupper og genotyper av *Legionella* det dreier seg om, og i hvilke mengder de forekommer.

## 3. Litt om sykdom og smittemåter

Legionellabakterien gir hovedsakelig to sykdomsbilder: Legionærsykdom som er en alvorlig lungebetennelse, og Pontiacfeber som vanligvis gir en mild, influensaliknende sykdom uten lungebetennelse. Fellesbetegnelse for begge sykdommene er legionellose. Inkubasjonstiden for legionærsykdom er 2-10 dager, vanligvis 5-6 dager. For Pontiacfeber er inkubasjonstiden fra noen timer til 6 dager (vanligvis 3 dager). Mange som blir utsatt for legionellabakterier, utvikler milde eller ingen symptomer.

Legionærsykdom kan initialt gi hodepine, muskelsmerter og slapphet. I løpet av få dager utvikles høy feber, tørrhoste og andre lungebetennelsessymptomer. Magesmerter og diaré kan forekomme. Laboratorieprøver kan vise nedsatt nyrefunksjon. Legionærsykdommen kan ha et alvorlig forløp med en betydelig dødelighet hos eldre og immunsvekkede (opptil 30 %). Rapportert dødelighet i land i Europa er i gjennomsnitt 5-6 %.

Pontiacfeber gir vanligvis en influensaliknende sykdom med feber, hodepine, muskelsmerter og tretthet, som oftest ikke trenger behandling. Symptomene ved Pontiacfeber varer vanligvis 2-5 dager.

Legionellabakteriene smitter ved at de pustes ned i lungene via legionellainfiserte aerosoler. Unntaket er sengeliggende pasienter som kan bli smittet ved at de får infisert væske i ”vrangstrupen” og ned i lungene.

I motsetning til når bakteriene forårsaker Pontiacfeber, blir sjelden friske mennesker med et intakt immunapparat smittet med legionærsykdom av legionellabakterier. Anerkjente risikofaktorer for legionærsykdom er kjønn og alder (spesielt menn over 55 år), røyking, alkoholisme, alvorlig underliggende sykdom, immunsupprimering (nedsettelse av immunsystemets virkning ved behandling) og immunsvikt. Pontiacfeber rammer like gjerne unge, friske som gamle og syke mennesker. Attakkraten (andel smittede som blir syke) for legionærsykdom antas å være 0,1-5 % (høyest for personer i risikogruppene), mens attakkraten for Pontiacfeber er høy, over 90 %.

Det er de samme legionellaartene som kan forårsake både legionærsykdom og Pontiacfeber, men man vet ikke årsaken til at legionellabakteriene noen ganger gir legionærsykdom, og andre ganger Pontiacfeber.

#### 4. Litt om vekstvilkår for legionellabakterier

Legionellabakterier forekommer i naturen. Man må regne med at de kan finnes overalt i overflatevann og i jordsmonn, men konsentrasjonen er gjennomgående lav. Typisk størrelse på bakterien er 2-6 x 0,5 µm. Det er til nå beskrevet 56 arter av *Legionella* og over 70 undergrupper (serogrupeer).

Ikke alle artene er kjent for å gi sykdom hos mennesker. De fleste registrerte sykdomstilfellene har vært forårsaket av *Legionella pneumophila*, serogruppe 1, men også andre serogrupeer og arter kan være sykdomsfremkallende.

En rekke faktorer innvirker på vekstforholdene for legionellabakterien:

- Legionellabakterier vokser best ved temperaturer mellom 20 og 50 °C. Ved temperaturer under 20 °C er formeringen begrenset. Erfaringer tilsier at i vannsystemer der temperaturen er over 60 °C vil legionellabakteriene ikke etablere seg eller vokse.
- Et svakt surt miljø med pH-verdi 6-7 regnes for å være mest gunstig for vekst av legionellabakteriene. De vokser ikke ved pH-verdi under 3 eller over 10. Det er imidlertid påvist legionellabakterier i væskesystemer både ved pH-verdier over 10 og under 3.
- Natriumsalter i konsentrasjoner over 1,5 % virker hemmende på vekst av legionellabakterier, og dette er antakelig grunnen til at legioneller ikke trives i sjøvann, men de kan overleve i sjøvann i en viss tid.
- Legionellabakteriene vokser helst i en biofilm sammen med andre organismer som finnes i vannsystemer, som protozoer, cyanobakterier og andre bakterier. En etablert biofilm på vanneksponte flater eller i frie vannmasser som i et aktivslamanlegg, er nærmest en forutsetning for å få etablert en aktiv vekst av legioneller. Legioneller finnes derfor ikke blant de første bakteriene som etablerer seg når en biofilm bygges opp. Under naturlige forhold har legionellabakteriene bare vært funnet i sameksistens med andre mikroorganismer, og intracellulært i protozoer.

De viktigste risikofaktorene for oppvekst er væskens temperatur og bakterienes tilgang til næringsstoffer. I et anlegg vil omfanget av begroing (biofilm), bunnfall, slamansamlinger, kalkavleiringer og korrosjonsprodukter som kan bidra til bakterie- og amøbevekst, være av stor betydning ved vurdering av risiko for legionellavekst. Legionellabakterier må ha tilgang på oksygen, de trives derfor ikke under anaerobe (anoksiske) forhold.

Sammensetningen/dominansen av de forskjellige artene av legionellabakterier vil kunne variere i samme anlegg over tid.

I samme typer anlegg kan det være individuelle forskjeller som gjør at vekstbetingelsene er forskjellige. Erfaringer fra andre anlegg kan derfor ikke brukes direkte.

## 5. Organisering og deltagelse

Prosjektet har vært et samarbeid mellom Folkehelseinstituttet og Unilabs Telelab AS, med førstnevnte som prosjektleder. Prosjektet ble startet i samråd med Statens forurensningstilsyn (nå Klima- og forurensningsdirektoratet).

Statens forurensningstilsyn og Norsk Industri har bidratt med oversikter over industribransjer med luftet biologisk avløpsrensing. TINE sentralt og Norsk Vann har bistått med å skaffe oversikt over potensielle deltagere fra henholdsvis meierier og kommunale avløpsrenseanlegg.

For å få med flest mulig anlegg ble prosjektkostnadene holdt lavest mulig. Arbeidet ble utført til selvkost. Prosjektkostnadene, kr 15 000,- per anlegg, har dekket materialutgifter til analyser og utsendelse av prøveflasker.

Totalt 33 anlegg har deltatt i prosjektet. Fordelingen mellom ulike bransjer er slik:

- Kommunale avløpsrenseanlegg: 8 av 10 forespurte
- Meierier: 8 av totalt 16 anlegg
- Petrokjemisk industri: Samtlige av de 9 forespurte
- Treforedlingsindustri: Samtlige av de 4 forespurte
- Annen industri: 4 av 6 forespurte

Antall deltagere og anleggenes geografiske spredning anses som tilfredsstillende for å ivareta prosjektets mål.

## 6. Gjennomføring

Den praktiske gjennomføringen kan oppsummeres som følger.

1. Det er gjennomført fire prøveomganger fordelt over ett år, henholdsvis i juni, august/september og november 2009, og i april 2010.
2. Prøvene er tatt fra den aktive fasen i luftebassengene av anleggenes eget personell i henhold til retningslinjer for prøvetaking, se vedlegg 1. Det ble tatt to parallelle prøver, den ene ble sendt til Unilabs Telelab AS og den andre til Folkehelseinstituttet, ekspress over natt, vedlagt følgeskjema for prøver, se vedlegg 2.

3. Unilabs Telelab AS har analysert prøvene ved dyrking. Isolatene er artsbestemt og serotypet.
4. Isolerte legionellakolonier ble sendt fra Unilabs Telelab AS til Folkehelseinstituttet for artsbestemmelse med molekylære metoder og videre genotyping av *Legionella pneumophila* i henhold til metode anbefalt av European Working Group for Legionella Infections (EWGLI).
5. Den andre prøven som ble sendt direkte til Folkehelseinstituttet, ble analysert ved hjelp av PCR-teknikk.
6. Opplysninger om renseanleggene er rapportert elektronisk til Folkehelseinstituttet i henhold til utsendt registrerings skjema, se vedlegg 3. Driftsdata er rapportert i forbindelse med hver prøveomgang.
7. Etter hver prøveomgang er analyseresultatene sendt deltagerne i prosjektet elektronisk, med en kort kommentar.

## 7. Anleggsbeskrivelser

### 7.1 Generelt

Det er stor variasjon mellom anleggene både hva gjelder utforming og størrelse, fra åpne utendørs bassenger med areal på over 1000 m<sup>2</sup> til innendørs totalt tildekkede anlegg på 10 – 50 m<sup>2</sup>, som illustrert med nedenstående bilder.



De fleste anleggene er av type aktivslam, dvs. bassenger der bakteriekulturen sirkulerer fritt i bassengene ved luftinnblåsing. De øvrige benytter biofilmprosesser der biofilmen sitter fast på et medium. Bortsett fra ett kommunalt anlegg som benytter biofilter, er biofilmprosessene av type ”moving bed”, der biofilmen sitter på elementer av polyetylen som sirkulerer i reaktorene.

For mange av anleggene er det biologiske trinnet kombinert med mekanisk og kjemisk rensing. Det kjemiske trinnet kan enten være foran eller etter det biologiske trinnet. Flere av anleggene, spesielt de som fjerner nitrogen, kombinerer anaerob (anoksisk) og aerob (luftet) biologisk behandling.

I det etterfølgende er det gitt en kort beskrivelse av de enkelte bransjene og noen sentrale opplysninger om den enkelte virksomhet/anlegg. Anleggsnummer er benyttet som identifikasjon på det enkelt anlegg. Av praktiske grunner er det under ”Annen industri” samlet fire anlegg som ikke har felles bransjebetegnelse. Temperaturene i figurene i dette kapitlet er i hovedsak gjennomsnittstemperatur for siste måned før prøvetakingen. For enkelte anlegg eller prøvetakingsomganger er gjennomsnittstemperaturen ikke rapportert. I disse tilfellene er temperaturer som er målt i forbindelse med prøvetakingen benyttet.

Skogsindustrierna i Sverige har fått utført en undersøkelse av sammenhengen mellom legionellaforekomst og tekniske forhold ved 42 biologiske renseanlegg for treforedlingsindustri

(Lindeberg, *Extract Informasjon*, 2007). Av flere parametere som ble undersøkt, ble det bare konstatert en sammenheng mellom legionellaforekomst og temperatur og oppholdstid i luftebassengene. Det ble funnet høye legionellaverdier i anlegg som opererte ved optimal temperatur for vekst av legionellabakterier ( $38 \pm 5$  °C), og som hadde oppholdstid i luftebassenget på over 11 timer.

På grunn av stor variasjonen i omfang og kvalitet av innrapporterte data i forbindelse med hver prøveomgang, og det begrensede antallet prøver, er det ikke tilstrekkelig informasjon til å foreta statistiske analyser av sammenhenger mellom tekniske forhold og legionellaforekomst.

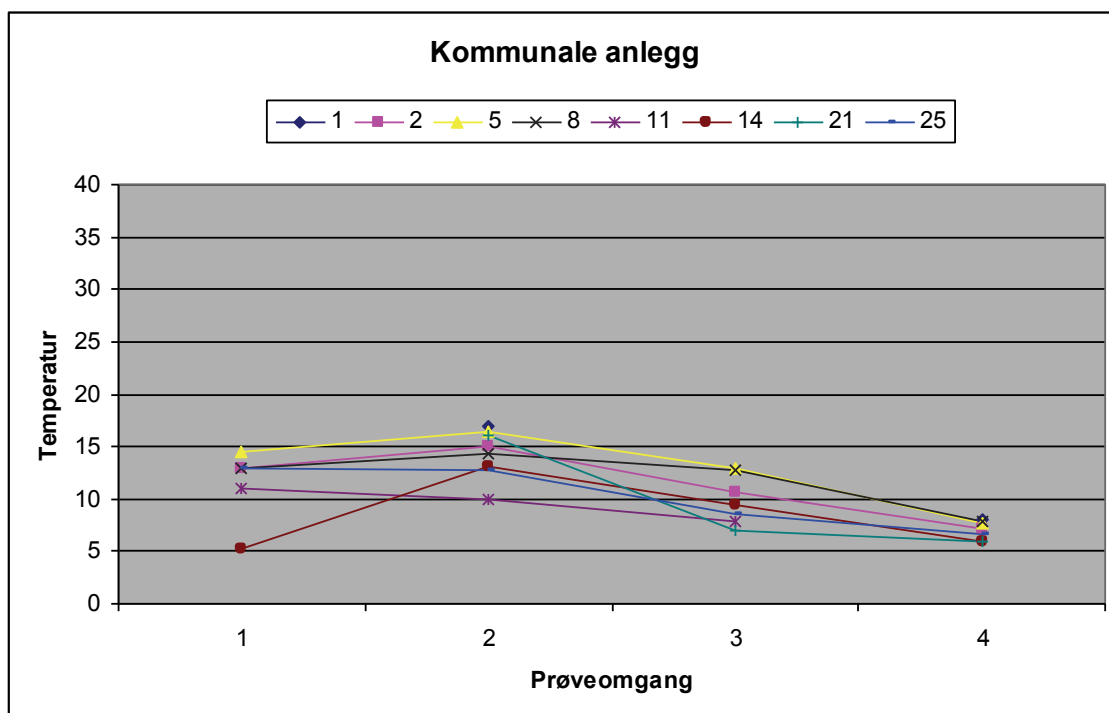
Driftsdataene vil imidlertid bli arkivert med tanke på at de kan komme til nytte senere dersom ny kunnskap omkring sammenhenger aktualiserer dette. På bakgrunn av erfaringene fra svensk treforedlingsindustri, er rapporterte verdier om avløpsvannets oppholdstid i luftebassenget og temperatur trukket ut og presentert for hver bransje. Rapporterte data om slamalder, som er et uttrykk for den totale tid en slamfnokk befinner seg i et aktivslamsystem, og slamkonsentrasjon, som er et uttrykk for konsentrasjonen av mikroorganismer, er også presentert.

## 7.2 Kommunale avløpsanlegg

Anleggene er lokalisert i Sør-Norge, de fleste på Østlandet. De behandler avløp fra husholdninger og næringsvirksomhet som har utslipp til det kommunale avløpsledningsnettet. Ett av anleggene har høy organisk belastning pga næringsmiddelindustri, og ett har høyt ammoniuminnhold.

Fem av anleggene har nitrogenfjerning, hvorav fire benytter Kaldnes moving bed. To av anleggene benytter aktivslam, mens ett benytter biofilter.

Typiske temperaturer i det aerobe biotrinnet er mellom 7 og 15 °C, avhengig av årstid. Høyeste registrerte temperatur er 16 °C og laveste 5,3 °C, se figur 7.1.



Figur 7.1 Registrerte temperaturer i biotrinnet – kommunale anlegg

Noen nøkkeltall om anleggene fremgår av tabell 7.1. Registrerte pH-verdier ligger mellom 4,9 og 7,9.

**Tabell 7.1 Kort beskrivelse av de kommunale avløpsanleggene**

Forkortelser: M: Mekanisk B: Biologisk K: Kjemisk

Anl. Nr.	Bransjebeskrivelse	Anleggsbeskrivelse	Gj.sn. oppholdstid i luftebass. Timer	Gj. sn. slamalder Døgn	Gj.sn. slamkons. mg/l	Anmerkning
1	Kommunalt avløp	M, B, K. Etterdenitrifisering. Moving bed	5			Høy ammoniumkons. Kaldnes. Nitrogenfjerning
2	Kommunalt avløp	M, B, K. For- og etterdenitrifisering. Moving bed	2			Kaldnes. Nitrogenfjerning
5	Kommunalt avløp	M, B, K. For- og etterdenitrifisering. Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR)				Nitrogenfjerning
8	Kommunalt avløp	M, B, K. Fordenitrifisering. Aktivslam	6	24-28	3100	Nitrogenfjerning
11	Kommunalt avløp	M, K, B. Biofilter	1			
14	Kommunalt avløp,	M, B, K. Aktivslam	5	6,5	1650	Tilførsel fra næringsm. Industri, høy organisk belastning
21	Kommunalt avløp	M, B. Aktivslam. Anaerob/aerob	4	5-10	3800	
25	Kommunalt avløp	M, B, K. Etterdenitrifisering. Moving bed	3			Kaldnes. Nitrogenfjerning

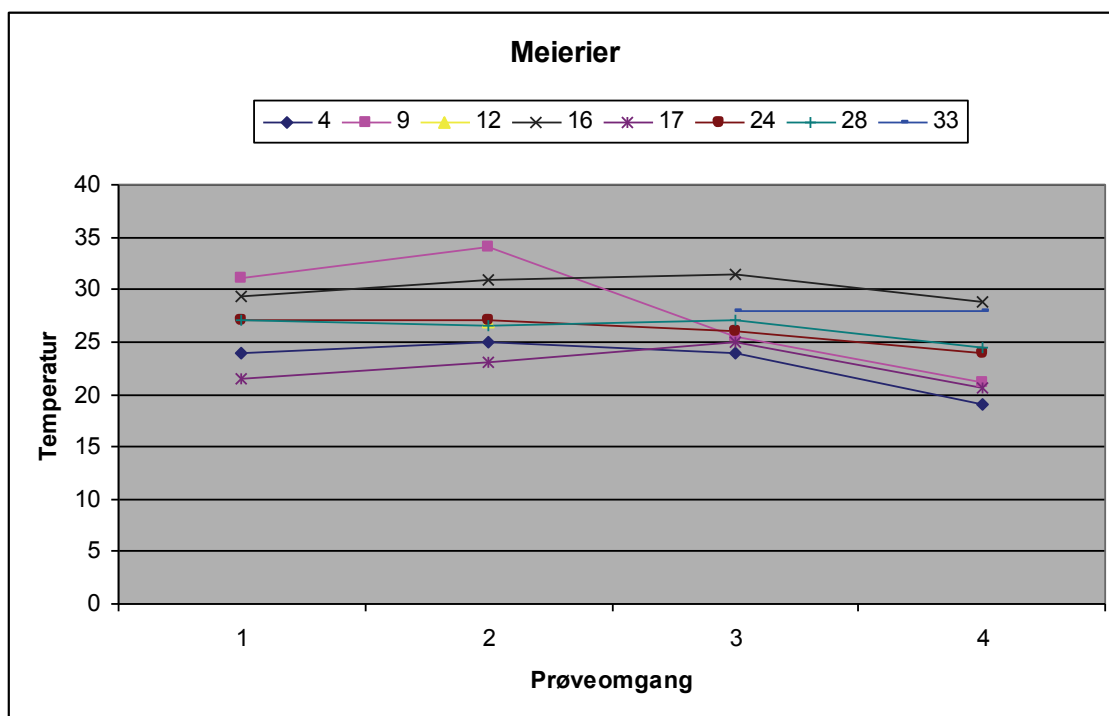
### 7.3 Meierier

Anleggene ligger spredt i Sør-Norge, det nordligste anlegget ligger i Nord-Trøndelag. Som det fremgår av tabell 7.2 behandler samtlige anlegg avløp fra produksjon av meieriprodukter. Enkelte anlegg har også annen produksjon, og noen behandler også sanitærvløpet fra virksomheten. Samtlige anlegg har utslipp til kommunalt ledningsnett, og de fleste anleggene fungerer som forrenseanlegg før rensing i det kommunale avløpsrenseanlegget.

Alle anleggene unntatt ett er aktivslamanlegg. Unntaket er et Kaldnes moving bed-anlegg. Oppholdstiden i luftebassenget er vesentlig lengre i aktivslamanleggene enn i anlegget med biofilmprosess.

Typiske temperaturer i det aerobe biotrinnet er mellom 20 og 30 °C. Høyeste registrerte temperatur er 34 °C og laveste 19 °C, se figur 7.2.





Figur 7.2 Registrerte temperaturer i biotrinnet – meierier

Noen nøkkeltall om anleggene fremgår av tabell 7.2. Registrerte pH-verdier ligger mellom 5,3 og 8,0.

Tabell 7.2 Kort beskrivelse av avløpsanleggene for meierier

Forkortelser: M: Mekanisk B: Biologisk K: Kjemisk

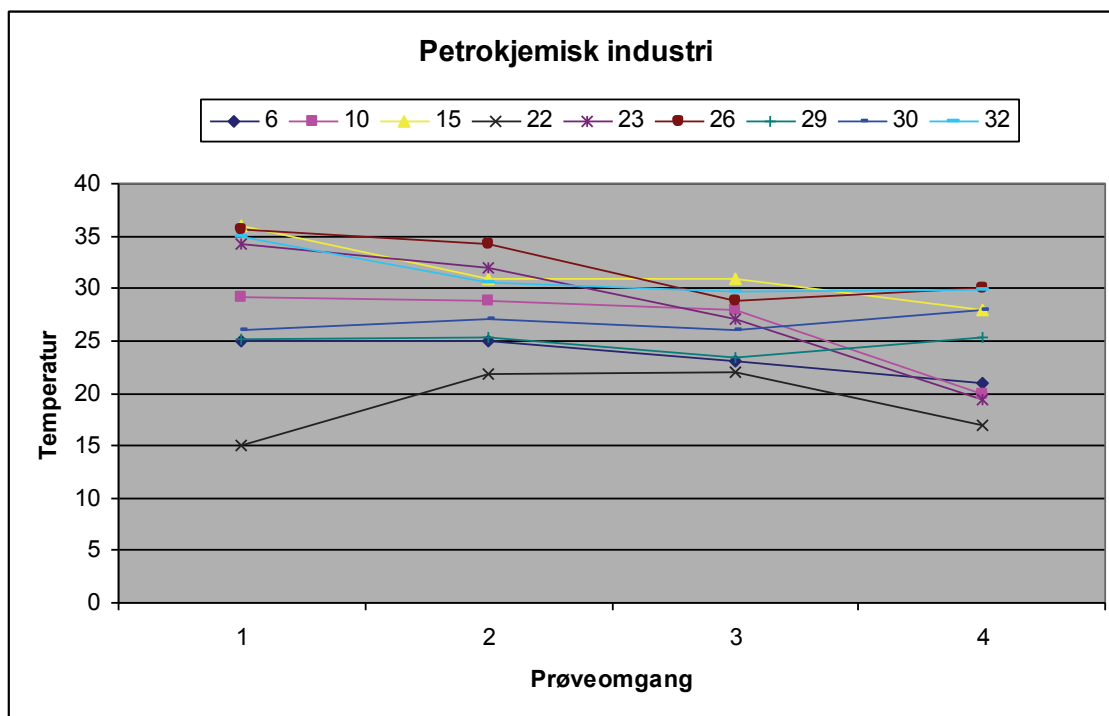
Anl. Nr.	Bransjebeskrivelse	Anleggsbeskrivelse	Gj.sn. oppholdstid i luftebass. Timer	Gj. sn. slamalder Døgn	Gj.sn. slamkons. mg/l	Anmerkning
4	Produksjon av pultost og skjørøst	B. Moving bed + LT Bioline.	4			Kommunalt nett, Kaldnes
9	Fløtemiks, lut/syre og kloakk	B. Aktivslam	60		600	Kommunalt nett
12	Tørrmelkproduksjon	B. Aktivslam	72	3		Kommunalt nett
16	Produksjon av grøt, risdesserter, smelteost, fersk pasta og sauser	B. Aktivslam	24			Kommunalt nett
17	Produksjon av melkeprodukter og fruktdrikker	B. Aktivslam	74			Kommunalt nett
24	Produksjon av youghurt, rømme, cottage cheese	B. Aktivslam	48		700	Kommunalt nett
28	Ysteri	B. Aktivslam	24			Kommunalt nett
33	Ysteri	B. Aktivslam	24			Kommunalt nett

## 7.4 Petrokjemisk industri

Anleggene ligger spredt over hele landet, de fleste langs kysten. Type produksjon fremgår av tabell 7.3.

For ett av anleggene er det ikke gitt informasjon om type anlegg. Ett av anleggene er Kaldnes moving bed-prosess, de øvrige er aktivslamanlegg. Ett anlegg har nitrogenfjerning.

Typiske temperaturer i det aerobe biotrinnet er mellom 25 og 35 °C. Høyeste registrerte temperatur er 36 °C og laveste 15 °C, se figur 7.3.



Figur 7.3 Registrerte temperaturer i biotrinnet – petrokjemisk industri

Noen nøkkeltall om anleggene fremgår av tabell 7.3. Registrerte pH-verdier ligger mellom 6,5 og 9,1.

**Tabell 7.3 Kort beskrivelse av avløpsanleggene for petrokjemisk industri**

Forkortelser: M: Mekanisk B: Biologisk K: Kjemisk

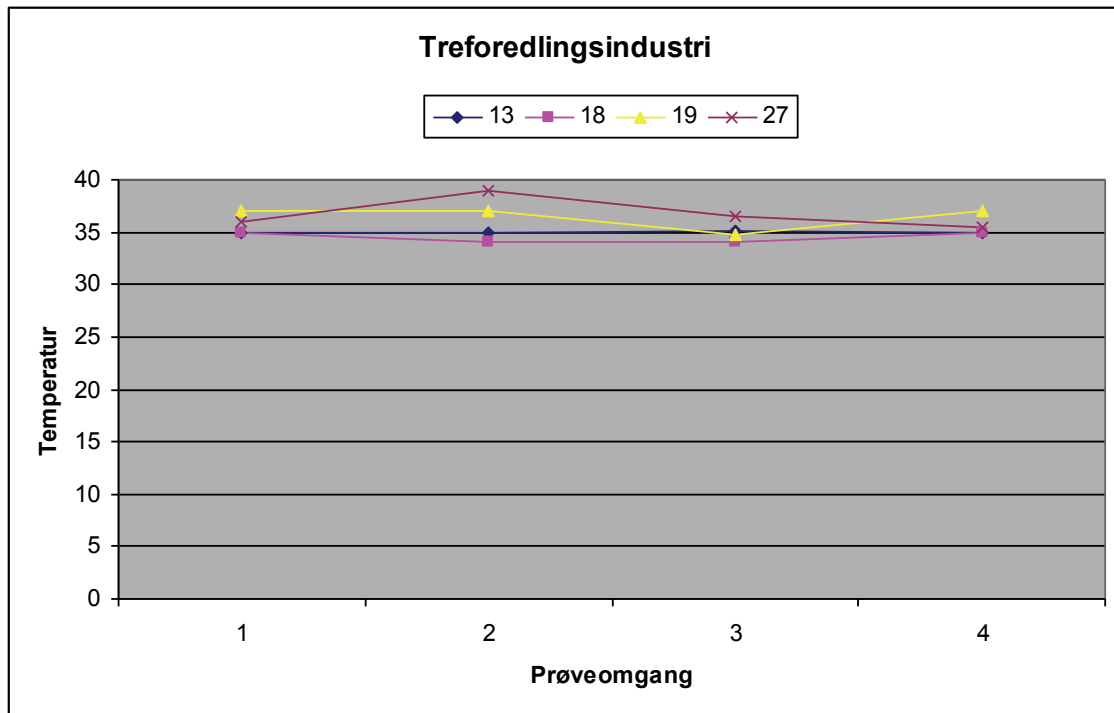
Anl. Nr.	Bransjebeskrivelse	Anleggsbeskrivelse	Gj.sn. oppholdstid i luftebass. Timer	Gj. sn. slamalder Døgn	Gj.sn. slamkons. mg/l	Anmerkning
6	Raffinering av råolje	K, B Fordenitrifisering. Aktivslam	15	25	4000	Nitrogenfjerning
10	Produksjon av LNG	K, B	21	21	4000	
15	Prosesseringsanlegg for nordsjøgass. metanol og LNG	B.	44			
22	Produksjon av polyetylen	B. Aktivslam	11		800	
23	Prosesseringsanlegg for nordsjøgass	B, K LSP-reaktor og Moving bed	72		700	Kaldnes
26	Raffinering av råolje	B. Luftet lagune	17	8,8	4200	
29	Prosesseringsanlegg for nordsjøgass	B.	58	89	4600	
30	Produksjon av etylen og propylen	Ingen informasjon				
32	Kloralkaliproduksjon, PVC	1) B. Aktivslam	24			1) Forbehandling som innebærer varmebehandling (dekomponering og stripping)

## 7.5 Treforedling

Anleggene er lokalisert i Nord-Trøndelag og på Østlandet. Produksjonen fremgår av tabell 7.4.

Samtlige anlegg benytter aktivslam, ett av anleggene behandler deler av avløpet anaerobt før aerob rensing.

Typiske temperaturer i det aerobe biotrinnet er mellom 35 og 40 °C. Høyeste registrerte temperatur er 39 °C og laveste 34 °C, se figur 7.4.



Figur 7.4 Registrerte temperaturer i biotrinnet – treforedlingsindustri

Noen nøkkeltall om anleggene fremgår av tabell 7.4. Registrerte pH-verdier ligger mellom 7,0 og 7,8.

Tabell 7.4 Kort beskrivelse av avløpsanleggene for treforedlingsindustri

Forkortelser: M: Mekanisk B: Biologisk K: Kjemisk

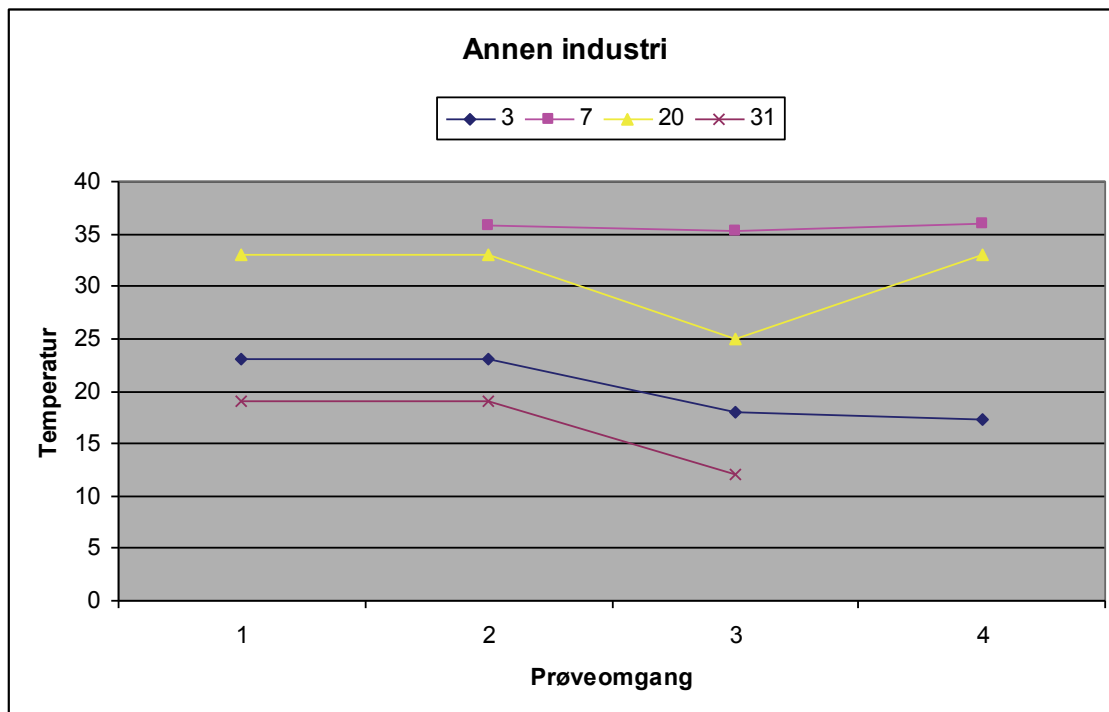
Anl. Nr.	Bransjebeskrivelse	Anleggsbeskrivelse	Gj.sn. oppholdstid i luftebass. Timer	Gj. sn. slamalder Døgn	Gj.sn. slamkons. mg/l	Anmerkning
13	Papirproduksjon, termomekanisk masse + returpapir	M, B. Aktivslam	36	22	4800	
18	Papirproduksjon	M, B, K. Aktivslam	35	7,5	3500	
19	Papirproduksjon	M, B, K. Anaerob og aktivslam	20	7,8	3500	25 % av volum/30-50 % av organisk behandles anaerobt
27	Kjemisk-termomekanisk papirmasse (CTMP)	M, B. Aktivslam	68	26	5200	

## 7.6 Annen industri

Anleggene er lokalisert på Østlandet. De har ikke noe til felles produksjonsmessig, men er samlet i én tabell av praktiske grunner. Type produksjon fremgår av tabell 7.5.

Ett anlegg er av type Kaldnes moving bed, de øvrige er aktivslamanlegg. Ett har nitrogenfjerning.

Temperaturene i det aerobe biotrinnet varierer fra under 20 °C for anlegg nr 31, til over 35 °C for anlegg nr. 7, se figur 7.5.



Figur 7.5 Registrerte temperaturer i biotrinnet – annen industri

Noen nøkkeltall om anleggene fremgår av tabell 7.5. Registrerte pH-verdier ligger mellom 6,5 og 8,4.

Tabell 7.5 Kort beskrivelse av avløpsanleggene for ”annen industri”

Forkortelser: M: Mekanisk B: Biologisk K: Kjemisk

Anl. Nr.	Bransjebeskrivelse	Anleggsbeskrivelse	Gj.sn. oppholdstid i luftebass. Timer	Gj. sn. slamalder Døgn	Gj.sn. slamkons. mg/l	Anmerkning
3	Produksjon av kjemikalier til trebearbeidende og oljeindustri	M, B. Aktivslam. Fordenitrifisering	58	43	1000	Nitrogenfjerning
7	Produksjon av silisiumskiver (wafere) for solcelleproduksjon	B. Aktivslam	60	1,8	9	
20	Produksjon av marine omega-3 deriverte legemidler	K, B, K. Moving bed	45		1300	Vann med fett, etanol og urea. Kaldnes
31	Potetindustri. Produksjon av chips	M, B, K. Aktivslam	11	11	2000	

## 8. Analysemetoder

Prøvene ble undersøkt ved hjelp av dyrkingsmetode og molekylærbiologiske metoder. Ved tradisjonell dyrking bestemmes bare levende, dyrkbare bakterier. Ved molekylærbiologiske metoder (PCR-teknikk) påvises både levende dyrkbare bakterier, levende ikke-dyrkbare bakterier, samt døde bakterier. Analysemetodene supplerer derfor hverandre på en god måte når en prøve skal bedømmes.

I denne undersøkelsen bestemmes ved dyrking både *Legionella pneumophila* og ulike andre legionellaarter, såkalte *Legionella species* (*Legionella* sp.). Ved den anvendte metode for kvantitativ realtime PCR bestemmes utelukkende *Legionella pneumophila*.

Alle kvantitative bestemmelser inneholder en kjede av handlinger fra prøvetaking til analyse, og hvert av trinnene er beheftet med usikkerhet. Selve prøvetakingen i biodammen innebærer unøyaktighet fordi man bare tar ut et svært lite volum i forhold til det totale bassengvolumet. Noe usikkerhet må altså påregnes selv om uttaksprosedyren skal sikre representative prøver.

### 8.1 Dyrkingsmetode

*Legionella* dyrkingsanalyse ble utført i henhold til ISO 11731:1998 ved Unilabs Telelab AS. Denne analysen påviser levende, dyrkbare legionellabakterier. GVPC agar og BCYE agar ble benyttet. Agarskålene er produsert ved Unilabs Telelab AS. Skålene er kontrollert for sterilitet og vekstegenskaper.

Prøver fra biologiske rensanlegg er krevende å analysere pga et høyt og mangfoldig innhold av bakterier. Selv om prøvene syre- og varmebehandles og dyrkes på selektive dyrkingsmedier (medier med tilsetninger som skal fremme vekst av legionellabakterier og hindre mest mulig oppvekst av andre bakterier), er det fortsatt mye bakgrunnsflora. Det vil si andre bakterier enn *Legionella* som også vokser opp på dyrkingsskålene, og gir overgrodde dyrkingsskåler. Prøvene ble derfor fortynnet, og den fortynningen som erfaringsmessig ville kunne leses av, er benyttet til å angi deteksjonsgrense. Dette fører til høye deteksjonsgrenser som vil variere med mengde bakgrunnsflora i prøvene fra de ulike anleggene. For å kunne påvise legionellabakterier må disse være i så høy konsentrasjon at de ikke fortynnes bort når man fortynner prøvene pga bakgrunnsfloraen. Det er viktig å være klar over at det derfor kan være legionellabakterier til stede i et høyt antall når deteksjonsgrensen er høy. For eksempel dersom deteksjonsgrensen er 100 000 cfu/liter kan det være 10 000 cfu/liter med legionellabakterier i prøven som ikke påvises.

Svarene fra dyrkningsprøvene er angitt som det antall legionellabakterier som påvises (cfu/liter) eller som "Ikke påvist", det vil si under deteksjonsgrensen.

Selv om prøvesvarene tallfestes er det viktig å være klar over at tallene må sees på som et estimat. *Legionella* dyrkingsanalyse er en semikvantitativ analyse. Erfaringsmessig vil usikkerheten kunne være opp mot  $\pm 1 \log_{10}$  (en tierpotens).

Isolerte legionellabakterier ble ved hjelp av en *Legionella* Latex agglutinasjonstest (Oxoid) videre artsbestemt. Denne testen identifiserer *Legionella pneumophila* serogr. 1, *Legionella pneumophila* serogr. 2-14 og en samlegruppe av 7 patogene arter (*Legionella longbeachae* 1 og 2, *Legionella bozemanii* 1 og 2, *Legionella dumoffii*, *Legionella gormanii*, *Legionella jordanis*, *Legionella micdadei*, *Legionella anis*). Det ble plukket tre representative kolonier av hver

kolonitype med lik morfologi (basert på utseende, fluorescens etc.). Koloniene ble sendt videre fra Unilabs Telelab AS til Folkehelseinstituttet for genotyping (forklares nærmere under avsnittet om molekylærbiologiske metoder.)

## 8.2 Molekylærbiologiske metoder

### 8.2.1 Kvantitativ realtime-PCR bestemmelse av *Legionella pneumophila*

#### Innledning

Som del av prosjektet ble det prøvd ut en kvantitativ bestemmelsesmetode basert på såkalt PCR-teknikk ("Polymerase Chain Reaction") ved hjelp av et kommersielt tilgjengelig test-kit. Dette arbeidet ble utført ved Folkehelseinstituttet. Analyser kan utføres raskere med en slik metode enn med dyrking, man har også mulighet til å bestemme bakterier spesifikt og i lave konsentrasjoner.

#### Kort om metoden

Med PCR-metoder er det mulig å påvise og kvantifisere deler av bakteriers arvestoff. Arvestoff, DNA, finnes inne i alle bakterieceller, og alle arter har spesifikke områder (gener) som skiller dem fra andre arter. Ved PCR-teknikk benyttes en spesiell kjemisk "reaksjonscocktail" til å "klippe ut" og kopiere deler av bakteriens DNA gjennom flere termiske reaksjonssyklusler. Når DNA-bitene er kopiert opp i et tilstrekkelig antall, vil de kunne påvises ved hjelp av fluorescerende stoffer. Reaksjonsforløpet kan følges for mange prøver samtidig.

Resultatene oppgis som genomiske enheter per liter (GU/l). Siden man analyserer på gener/DNA-biter som er spesifikke for den bakterien som skal bestemmes, vil ikke målingene forstyrres av andre tilstedeværende bakterier.

Forut for analysen må det tillages et rent DNA-ekstrakt av prøven. PCR-teknikken er følsom for ulike forurensninger som kan hemme (inhibere) reaksjonen, derfor må alle prøver gjennom en flertrinns renseprosess. Enkelte ganger vil det ikke lykkes å fjerne inhiberende forbindelser, og reaksjonen blir ufullstendig.

#### Utførelse

Prøvene fra biodammene ble konservert samme eller påfølgende dag som de ankom laboratoriet. Det ble pipettert ut 1500 µl som ble overført til Eppendorfrør. Hvert rør ble sentrifugert i 10 minutter ved høy hastighet, slik at det dannet seg en pellet av sedimentert stoff i bunnen av røret. Mesteparten av bakterieinnholdet blir felt ut sammen med annet partikulært materiale. Supernatanten (væskefasen) ble fjernet, og det ble tilsatt konserverende buffer til pelleten i røret. Prøvene ble deretter oppbevart ved -20 °C.

DNA fra prøvene ble isolert ved å lysere ("spreng") bakteriecellene med lysosym, proteinase K, og SDS-løsning ved 65 °C i 15 minutter. Løsningen ble rensert med NaCl/CTAB og det ble utført faseparasjon med kloroform/isoamylalkohol. DNA ble oppkonsentrert med isopropanolfelling ved -20 °C, og utfelt DNA ble rensert med 70 % etanol. DNA-pelletene ble resuspendert i 100 µl TE-buffer. De rensede DNA-ekstraktene ble oppbevart i fryser.

Til PCR-analysene ble det tatt ut 10 µl DNA-ekstrakt. Hver prøve ble analysert to ganger. Konsentrasjonen av DNA i ekstraktene ble målt spektrofotometrisk ("nano drop") for å kontrollere at prøvene inneholder DNA.

Til analysene ble det benyttet er ferdig ”kit” som inneholdt ”reaksjonscocktail” og standarder: ”*Legionella pneumophila* Quantitativ Detection Kit” fra LABAQA. Prøvene ble analysert på følgende instrument: Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR system.

### Usikkerhet

I tillegg til en viss usikkerhet i forbindelse med selve prøveuttaket i biodammen, innebærer flere av trinnene i analyseprosedyren usikkerhet. Uttaket (pipettering) av materiale i prøveflasken til videre analyse er et svært lite volum, kun 1500 µl (1,5 ml) så selv om prøveflasken ristes godt, er det ikke sikkert at prøvevolumet er representativt.

Selve DNA-ekstraksjonen innebærer en rekke trinn som hver for seg vil føre til en reduksjon av det opprinnelige innholdet.

Selve PCR-bestemmelsen er svært følsom, og instrumentet kan kvantifisere så lite som 10 genomiske enheter. En genomisk enhet tilsvarer i disse analysene én bakterie.

### Vurdering av PCR-analysemetoden

Innenfor rammen av dette prosjektet har det ikke vært mulig å beregne samlet unøyaktighet og usikkerhet i analyseresultatene. Likevel gir funnene grunnlag for å definere et måleområde som gir gode og reproducerbare kvantifiseringer, og et måleområde som gir usikre kvantifiseringer og en nedre påvisningsgrense. Nedre påvisningsgrense synes å variere noe i prøvene fra de forskjellige anleggene, og det er også noen prøver hvor reaksjonene ikke forløper som normalt på grunn av inhibering.

Alle analyseresultatene er presentert i vedlegg 5.

Hver prøve er analysert to ganger, og for en hensiktsmessig kategorisering av funn, er alle analyseresultater medregnet, det vil si 8 analyser per anlegg, fordelt på 4 prøver. Ut fra en samlet vurdering av analyseresultatene, viser det seg at funnene av *Legionella pneumophila*, ved PCR-analyse, kan plasseres i følgende kategorier:

**Tabell 8.1 Antall og type anlegg fordelt på kategorier av kvantitative funn av *Legionella pneumophila* analysert med realtime-PCR**

Kategori PCR-analyse	Antall anlegg	Type anlegg (antall)
<i>Ikke påvist i noen analyser</i>	12	Kommunale avløpsrenseanlegg (3) Petrokjemisk industri (3) Meierier (5) Annen industri (1)
<i>Ett til to lave og usikre funn i konsentrasjonsområdet <math>10^3</math>-<math>10^4</math></i>	6	Kommunale avløpsrenseanlegg (3) Meierier (2) Annen industri (1)
<i>To til fire signifikante, lave funn i konsentrasjonsområdet <math>10^3</math>-<math>10^5</math></i>	5	Kommunale avløpsrenseanlegg (2) Treforedlingsindustri (2) Annen industri (1)
<i>Signifikante funn i ca halvparten av analysene i konsentrasjonsområdet <math>10^4</math>-<math>10^6</math></i>	6	Petrokjemisk industri (4) Meierier (1) Annen industri (1)
<i>Signifikante funn i alle analyser i konsentrasjonsområdet <math>10^4</math>-<math>10^8</math></i>	4	Petrokjemisk industri (2) Treforedlingsindustri (2)



Påvisningsgrensen synes å ligge i området  $10^3$ - $10^4$  GU/l i de fleste prøvene. For de prøvene hvor det ble påvist *Legionella pneumophila* i lave konsentrasjoner i den ene analyseomgangen, men ikke i den andre analyseomgang, ble funnene betegnet som usikre.

I noen prøver er det imidlertid gjort signifikante, lave funn, hvilket betyr at lave verdier er blitt bekreftet i de to parallellene fra samme prøve.

Prøvene fra de anleggene som har høyest konsentrasjon av *Legionella pneumophila* faller i to kategorier. Signifikant påvisning i ca halvparten av prøvene forekommer i konsentrasjonsområdet  $10^4$ - $10^6$  GU/l. Signifikant påvisning i alle prøver forekommer i konsentrasjonsområdet  $10^4$ - $10^8$  GU/l.

### **8.2.2 Artsbestemmelse av Legionellaliknende kolonier ved sekvensering av 16S rRNA-genet**

Artsbestemmelse av bakterier kan gjøres ved hjelp av DNA-sekvensering av utvalgte 16S rRNA-genfragmenter (et område av arvestoffet som er spesifikt for å identifisere en spesiell bakterie). Ved å sammenlikne DNA-sekvensene av dette genet ("arveanlegget") med tilsvarende sekvenser fra andre bakteriearter, som det finnes informasjon om i ulike nasjonale og internasjonale databaser, kan vanligvis arten (eller den mest beslektede arten) bestemmes. Dette fremkommer som prosentvis likhet mellom de sekvensene av arveanlegg som ble funnet i prøven, og det som finnes i databasen.

### **8.2.3 Sekvensbasert typing**

Genotyping, for eksempel multi-lokus sekvenstyping (MLST) basert på 7 "husholdningsgener", egner seg bl.a. for å identifisere ulike "genetiske stammer" ("varianter") innen samme bakterieart. Dette gjøres ved å bestemme DNA-sekvensen til enkelte spesifikke DNA-fragmenter ("områder") som er oppkonsentrert fra flere deler av bakterienes arvestoff. DNA-sekvensene vil gi informasjon om bakterienes identitet (sekvenstype (ST)), og kan benyttes til smitteoppsporing ved et eventuelt utbrudd.

## 9. Analyseresultater

### 9.1 Oversikt over funn

Nedenfor følger en tabell som oppsummerer alle mikrobiologiske funn, sortert etter anlegg (anleggsnummer).

**Tabell 9.1 Bransjevis sammenstilling av analyseresultater**

*Forklaring:*

*qPCR = Kvantitativ realtime PCR, ip = ikke påvist, L.sp. = Legionella species, LP = Legionella pneumophila, E+03, E+04, E+05 etc. betyr henholdsvis 1000, 10 000, 100 000 etc.*

*Bransje: KR = Kommunalt avløpsrenseanlegg PK = Petrokjemisk industri TF = Treforedlingsindustri  
ME = Meierier AI = Annen industri*

Anleggs-nr.	Bransje	Prøve-omg.	FUNN				
			Dyrking Cfu/l	Art/sero-gruppe	Deteksjons-grense v/dyrking Cfu/l	16S - identifisering	qPCR LP, GU/l
1	KR	1	Usikkert funn		1,0E+05		ip
1	KR	2	ip		1,0E+05		ip
1	KR	3	ip		1,0E+05		ip
1	KR	4	ip		1,0E+05		3,4E+03
2	KR	1	ip		1,0E+05		ip
2	KR	2	ip		1,0E+06		ip
2	KR	3	ip		1,0E+05		ip
2	KR	4	ip		1,0E+05		ip
5	KR	1	ip		1,0E+04		ip
5	KR	2	ip		1,0E+05		ip
5	KR	3	ip		1,0E+04		ip
5	KR	4	ip		1,0E+04		ip
8	KR	1	ip		1,0E+05		ip
8	KR	2	ip		1,0E+06		5,5E+04
8	KR	3	ip		1,0E+06		ip
8	KR	4	ip		1,0E+06		9,3E+04
11	KR	1	ip		1,0E+06		ip
11	KR	2	ip		1,0E+05		ip
11	KR	3	ip		1,0E+05		ip
11	KR	4	ip		1,0E+04		ip
14	KR	1	ip		1,0E+06		9,0E+03
14	KR	2	ip		1,0E+06		ip
14	KR	3	ip		1,0E+06		ip
14	KR	4	ip		1,0E+05		2,0E+04
21	KR	1	ip		1,0E+06		2,5E+03
21	KR	2	ip		1,0E+06		5,5E+03
21	KR	3	ip		1,0E+06		8,0E+03
21	KR	4	ip		1,0E+06		ip
25	KR	1	ip		1,0E+05		ip

Anleggs- nr.	Bransje	Prøve- omg.	FUNN				
			Dyrking Cfu/l	Art/sero- gruppe	Deteksjons- grense v/dyrking Cfu/l	16S - identifisering	qPCR LP, GU/l
25	KR	2	ip		1,0E+04		5,0E+03
25	KR	3	LP 1,0E+05	LP gr 2-14	1,0E+05	L.pneumophila.(100 %)	1,5E+04
25	KR	4	ip		1,0E+05		8,5E+03
4	ME	1	ip		1,0E+06		ip
4	ME	2	ip		1,0E+07		ip
4	ME	3	ip		1,0E+06		ip
4	ME	4	ip		1,0E+06		ip
9	ME	1	ip		1,0E+06		ip
9	ME	2	ip		1,0E+06		ip
9	ME	3	ip		1,0E+06		ip
9	ME	4	ip		1,0E+07		ip
12	ME	1	ip		1,0E+06		1,0E+04
12	ME	2	ip		1,0E+06		2,0E+03
12	ME	3	ip		1,0E+05		1,0E+04
12	ME	4	ip		1,0E+07		ip
16	ME	1	ip		1,0E+06		ip
16	ME	2	ip		1,0E+06		ip
16	ME	3	ip		1,0E+07		ip
16	ME	4	ip		1,0E+06		ip
17	ME	1	ip		1,0E+06		2,0E+04
17	ME	2	ip		1,0E+05		1,5E+05
17	ME	3	ip		1,0E+05		2,5E+04
17	ME	4	ip		1,0E+05		ip
24	ME	1	ip		1,0E+05		ip
24	ME	2	ip		1,0E+05		ip
24	ME	3	ip		1,0E+06		ip
24	ME	4	ip		1,0E+05		ip
28	ME	1	ip		1,0E+06		6,0E+03
28	ME	2	ip		1,0E+05		ip
28	ME	3	ip		1,0E+07		ip
28	ME	4	ip		1,0E+06		ip
33	ME	3	ip		1,0E+06		ip
33	ME	4	ip		1,0E+06		ip
6	PK	1	L. sp. 1,1E+09	L.sp 7 pat., LP gr 2-14	1,0E+05	L.gormanii/ L.pneumophila (97 %)	1,5E+06
6	PK	2	L.sp. 2E+07	L.sp 7 pat.	1,0E+05	L. pneumophila/ L.gormanii (97 %); L.pneumophila/ L.parisiensis (98 %)	3,5E+06
6	PK	3	L.sp. 5E+06	L.sp. 7 pat.	1,0E+06		2,0E+07
6	PK	4	ip		1,0E+05		1,0E+07
10	PK	1	LP 1,0E+07	LP gr 1	1,0E+05	L.pneumophila (100 %)	3,0E+06
10	PK	2	LP 9,0E+07	Kryssreak. LP gr.1 og 2-14.	1,0E+06	L.pneumophila (100 %)	8,0E+06
10	PK	3	LP 1,0E+07	LP gr 1	1,0E+07	L.pneumophila (100 %)	1,0E+07

Anleggs- nr.	Bransje	Prøve- omg.	FUNN				
			Dyrking Cfu/l	Art/sero- gruppe	Deteksjons- grense v/dyrking Cfu/l	16S - identifisering	qPCR LP, GU/l
10	PK	4	ip		1,0E+05		7,0E+06
15	PK	1	L.sp. 1,0E+07	L.sp.	1,0E+07	L.sainthelensi/L. longbeachae (99 %)	3,0E+04
15	PK	2	L.sp 5,4E+07	L.sp.	1,0E+06	L.sainthelensi/L. longbeachae (99 %)	8,0E+04
15	PK	3	L.sp 3,0E+06	L.sp. to morfologisk ulike arter	1,0E+05	L.sainthelensi/L. longbeachae (99 %), Neisseriaceae (97 %)	ip
15	PK	4	ip		1,0E+05		ip
22	PK	1	ip		1,0E+05		ip
22	PK	2	ip		1,0E+06		ip
22	PK	3	ip		1,0E+06		ip
22	PK	4	ip		1,0E+06		ip
23	PK	1	ip		1,0E+06		ip
23	PK	2	LP 3,2E+06	LP gr 2-14	1,0E+05	L.pneumophila (99 %)	8,5E+05
23	PK	3	ip		1,0E+06		1,5E+04
23	PK	4	ip		1,0E+05		ip
26	PK	1	ip		1,0E+07		8,7E+03
26	PK	2	ip		1,0E+06		1,5E+05
26	PK	3	ip		1,0E+07		7,5E+05
26	PK	4	ip		1,0E+06		1,3E+04
29	PK	1	ip		1,0E+05		4,0E+03
29	PK	2	LP 2,6E+06	LP gr 1, LP gr 2-14	1,0E+05	L.pneumophila (100 %)	1,0E+06
29	PK	3	ip		1,0E+07		9,0E+04
29	PK	4	ip		1,0E+05		7,0E+03
30	PK	1	ip		1,0E+04		ip
30	PK	2	ip		1,0E+04		ip
30	PK	3	ip		1,0E+05		ip
30	PK	4	ip		1,0E+05		ip
32	PK	1	L.sp 4,5E+08	L.sp.	1,0E+06	Legionella sp (100 %)	inhibering
32	PK	2	L.sp. 1,0E+09	L. sp.	1,0E+07	Francisella cantonensis (98 %); Legionella sp (100 %)	ip
32	PK	3	ip		1,0E+07		ip
32	PK	4	ip		1,0E+06		ip
13	TF	1	L.sp./LP 1,0E+08	L.sp. 7 pat., LP gr 2-14.	1,0E+07	L.feeleii (99 %), L.pneumophila (97 %)	6,0E+03
13	TF	2	LP 2,0E+07	LP gr 2-14	1,0E+06	L.pneumophila (100 %)	2,0E+04
13	TF	3	ip		1,0E+06		3,5E+04
13	TF	4	ip		1,0E+05		6,0E+05
18	TF	1	ip		1,0E+06		ip
18	TF	2	ip		1,0E+06		3,0E+04
18	TF	3	ip		1,0E+05		ip
18	TF	4	ip		1,0E+06		ip

Anleggs- nr.	Bransje	Prøve- omg.	FUNN				
			Dyrking Cfu/l	Art/sero- gruppe	Deteksjons- grense v/dyrking Cfu/l	16S - identifisering	qPCR LP, GU/l
19	TF	1	ip		1,0E+06		6,3E+04
19	TF	2	ip		1,0E+05		ip
19	TF	3	L. sp 1,0E+06	L.sp. 7 pat.	1,0E+06	L.bozemanii (99 %)	ip
19	TF	4	ip		1,0E+06		ip
27	TF	1	LP 1,9E+08	LP gr 2-14, LP gr 1, L. sp. 7 pat	1,0E+05	L.pneumophila (100 %)	1,0E+08
27	TF	2	LP 7,0E+07	LP gr .1	1,0E+06	L.pneumophila (100 %)	3,5E+07
27	TF	3	LP 1,6E+07	LP gr. 1	1,0E+06	L.pneumophila (100 %)	4,8E+06
27	TF	4	L.pn. 1,0E+08		1,0E+07	L.pneumophila (100 %)	5,0E+07
3	A1	1	ip		1,0E+07		ip
3	A1	2	ip		1,0E+06		ip
3	A1	3	ip		1,0E+06		ip
3	A1	4	ip		1,0E+06		1,7E+05
7	A1	1	ip		1,0E+06		1,3E+05
7	A1	2	ip		1,0E+06		5,0E+04
7	A1	3	ip		1,0E+07		1,1E+04
7	A1	4	ip		1,0E+07		ip
20	A1	1	ip		1,0E+09		ip
20	A1	2	ip		1,0E+06		1,0E+05
20	A1	3	ip		1,0E+05		2,7E+04
20	A1	4	ip		1,0E+07		ip
31	A1	1	ip		1,0E+06		ip
31	A1	2	ip		1,0E+06		ip
31	A1	3	ip		1,0E+05		ip
31	A1	4	ip		1,0E+06		ip

*Legionella pneumophila* ble påvist i 6 anlegg. Resultatet fra den **sekvensbaserte genotypingen** viste at de funne bakteriestammene tilhørte syv genotyper ("varianter"). I ett anlegg ble den samme *L. pneumophila*-stammen (ST) påvist i alle fire prøveomganger (ST 576), mens i et annet anlegg ble det påvist to forskjellige *L. pneumophila*-stammer fra en og samme prøve (ST 70 og ST 59).

I tabell 9.2 er de kvantitative funn ved realtime PCR-analysene gjengitt som kategorier av funn etter hyppighet og konsentrasjon.

**Tabell 9.2 Antall biologiske renseanlegg etter bransje fordelt på kategorier av kvantitative funn ved realtime PCR-analyse**

	Ikke påvist i noen analyser	Ett til to lave og usikre funn $10^3$ - $10^4$ GU/l	To til fire signifikante, lave funn $10^3$ - $10^4$ GU/l	Signifikante funn i halvparten $10^4$ - $10^6$ GU/l	Signifikante funn i alle $10^4$ - $10^8$ GU/l
Kommunale avløpsrenseanlegg	3	3	2	0	0
Petrokjemisk industri	3	0	0	4	2
Treforedlingsindustri	0	0	2	0	2
Meierier	5	2	0	1	0
Annen industri	1	1	1	1	0

## 9.2 Diskusjon av analyseresultatene for hver bransje

### Kommunale avløpsrenseanlegg

Som vist i tabell 9.1 ble det med sikkerhet kun påvist *Legionella pneumophila* med dyrkingsteknikk i én prøve fra ett kommunalt renseanlegg, i en konsentrasjon på  $10^5$  CFU/l. Ved hjelp av PCR-teknikk ble det imidlertid påvist *L. pneumophila* i prøver fra 5 av de 8 anleggene, dog i lave konsentrasjoner. (jfr. tabell 9.2). I PCR-analysene lå konsentrasjonen av *L. pneumophila* i prøvene fra de kommunale avløpsrenseanleggene svært nær deteksjonsgrensen for analysen, som var  $10^3$ - $10^4$  genomiske enheter (GU) per liter, og reflekterer sannsynligvis bakgrunnsnivået av *L. pneumophila* i denne typen anlegg.



Prøveflaske fra kommunalt avløpsrenseanlegg med moving bed



Prøveflaske fra kommunalt avløpsrenseanlegg med aktivslam

### Meierier

Som det fremgår av tabell 9.1 ble det ikke, ved dyrkingsanalyser, påvist legionellabakterier over deteksjonsgrensen ved noen av de 8 undersøkte anleggene. Resultatene fra PCR-analysene viste imidlertid positive funn i 3 anlegg. Konsentrasjonen av *L. pneumophila* i nesten alle anleggene

var nede på deteksjonsgrensen for analysen ( $10^3$ - $10^4$  GU/l). Resultatene var noe overraskede på bakgrunn av at disse anleggene har gunstig veksttemperatur for bakterier og lett nedbrytbart organisk stoff, som bakteriene kan leve på. Det kan imidlertid hende at høye konsentrasjoner av melkesyrebakterier i meierienes avløpsvann kan begrense mengden legionellavekst i vannet, men dette er ikke dokumentert i våre undersøkelser.



Prøveflaske fra meieri med aktivslam

### Petrokjemisk industri

I de petrokjemiske anleggene ble det både ved dyrking og PCR-teknikk påvist *Legionella* i seks av anleggene, men konsentrasjonene og hvilke arter av *Legionella* som ble påvist, varierte mye fra prøve til prøve. I prøvene fra 4 av de 6 anleggene ble det påvist *L. pneumophila* ved dyrking. Variasjonene i konsentrasjon og arter av *Legionella* kan være en indikasjon på variasjoner i anlegget over tid, men det kan også skyldes det faktum at prøvematerialet er vanskelig å analysere. Selv om *L. pneumophila* så ut til å dominere, så indikerte den genetiske identifisering (16S-identifisering) at noen av prøvene inneholdt flere ulike legionellaarter. Resultatene fra dyrkingsprøvene viste generelt høye konsentrasjoner, i intervallet  $10^6$ - $10^9$  cfu/l, mens den benyttede PCR-metodikken, som kun påviser *L. pneumophila*, lå i intervallet  $10^4$ - $10^8$  GU/l. Resultatene fremkommer i tabell 9.1 og tabell 9.2



Prøveflaske fra petrokjemisk anlegg



Prøveflaske fra petrokjemisk anlegg

### Treforedling

Som forventet var de fleste anleggene fra treforedlingsbedrifter positive for *Legionella*. Tre av fire anlegg hadde positive legionellafunn ved dyrking. De aller fleste legionellene som ble påvist var *L. pneumophila*, men andre legionellaarter som *L. bozemanii* og *L. feeleii* ble også påvist. Konsentrasjonene som ble påvist var relativt høye, og varierte fra  $10^6$  til  $10^8$  cfu/l. Resultatene fra PCR-analysene viste at konsentrasjonen av *L. pneumophila* i prøvene utgjør den største andelen av legionellabakteriene, med konsentrasjoner i intervallet  $10^4$  til  $10^7$  GU/l. Signifikante funn av *L. pneumophila* ble påvist i alle prøvene ved to anlegg ( $10^4$ - $10^8$  GU/l). Selv om vi ikke fant legionellabakterier i alle prøvene, bekrefter resultatene at forekomst av *Legionella* i til dels høye konsentrasjoner er vanlig i biologiske renseanlegg for treforedlingsindustri.



Prøveflaske fra treforedlingsanlegg



Prøveflaske fra treforedlingsanlegg

### Annen industri

Siden denne gruppen utgjøres av en blanding av ulike typer industrier, ville det være naturlig at man her ville finne større variasjoner i konsentrasjoner av *Legionella* enn i de andre gruppene som er mer homogene. Imidlertid viser resultatene, både basert på dyrking og PCR-analyser, et generelt lavt nivå av legionellabakterier. Alle dyrkingsanalysene fra disse anleggene var negative, det vil si at konsentrasjonen av *Legionella* var under deteksjonsgrensen (det som kan påvises) for denne metoden. Resultatene fra PCR-analysene, som generelt sett er mer følsomme enn dyrkingsmetoden, viser at tre av fire anlegg hadde minst én positiv prøve for *L. pneumophila*. Funnene lå i området  $10^4$ - $10^5$  GU/l (se tabell 9.1 og 9.2). De fleste positive prøvene stammer fra anlegg med de gunstigste temperaturene for legionellavekst.



Prøveflaske fra annen industri med moving bed



Prøveflaske fra annen industri med aktivslam



## 10. Grunnlag for virksomhetenes videre oppfølging

### 10.1 Generelt

Ifølge internkontrollforskriften skal alle virksomheter gjennomføre risikovurderinger som grunnlag for tiltak for å hindre skade på helse og miljø. Omfanget av en risikovurdering vil avhenge av anleggets kompleksitet, hvor sannsynlig det er at skader vil kunne oppstå og det potensielle omfanget av slike skader. Dette betyr at alle virksomheter må gjennomføre risikovurderinger med hensyn til mulig legionellasmitte.

Risiko defineres matematisk som sannsynlighet x konsekvens ved bruk av ulike risikotall eller risikokategorier. Denne formen for risikovurdering kan være hensiktsmessig for å sammenligne risikoer og for å få et inntrykk av hva som representerer en større eller mindre risiko ved en aktivitet. I en risikovurdering som skal danne grunnlag for å forstå hvilke risikoer legionellabakterier forårsaker, og for å styre aktivitetene for å minimalisere slike risikoer, er Petroleumstilsynets definisjon et bedre utgangspunkt:

*Med risiko forbundet med en aktivitet menes kombinasjonen av mulige fremtidige hendelser og konsekvenser av disse, og tilhørende usikkerhet.*

Utgangspunktet for en risikovurdering er anleggets potensial for å fremme oppvekst av legionellabakterier. En vurdering av dette potensialet bør omfatte både en vurdering av om forutsetningene for legionellavekst synes å være til stede og dokumenterte erfaringer i form av analyser. Dernest må det vurderes hvilke hendelser som kan tenkes å medføre at mennesker blir eksponert for legionellainfiserte aerosoler, både på bedriftsområdet og utenfor. Eksempler på slike hendelser er spredning:

- Via aerosoler direkte fra overflaten fra åpne bassenger
- Via aerosoler i punktutslipp for oppsamlet luft fra bassengene for lukkede anlegg
- I forbindelse med vedlikeholdsarbeider
- Ved ”poding” av andre aerosoldannende anlegg der vekstvilkårene for legioneller er til stede
- Ved aerosoldannende bruk av vassdrag nedstrøms utslipp av legionellaholdig avløp
- Ved naturlig aerosoldannelse fra vassdraget

Det vil alltid være usikkerhet knyttet til risikovurderinger. Usikkerheten kan reduseres ved at man gjennomfører ulike typer analyser og utredninger, og ved systematisk bruk av erfaring og ny kunnskap. Risiko er med andre ord ikke statisk, den utvikler seg over tid, blant annet som følge av aktiviteter og tiltak som gjennomføres, erfaringer som høstes og anvendelse av ny teknologi.

I drikkevannsforvaltningen benyttes begrepet ”hygieniske barrierer”. Begrepet er et uttrykk for tiltak som skal sikre at vannet er trygt å drikke. Det er krav om at det alltid er minst to virksomme hygieniske barrierer i et vannforsyningssystem, slik at vannet fortsatt er hygienisk trygt selv om en av barrierene svikter. En slik tilnærming kan være hensiktsmessig også når det gjelder risikoreducerende tiltak med hensyn til legionella.

I det etterfølgende er det konkretisert hva en risikovurdering bør omfatte og gitt eksempler på forebyggende tiltak.

## 10.2 Innholdet i en risikovurdering

En risikovurdering i forholdet til legionellaeksponering innebærer å:

- Identifisere installasjoner som kan innebære risiko for vekst av legionellabakterier.
- Identifisere fra hvilke deler av disse installasjonene det kan bli spredning av aerosoler som kan inneholde legionellabakterier, enten direkte fra en installasjon eller indirekte ved infisering av andre aerosoldannende innretninger.
- Kartlegge mulige risikoområder for legionellavekst i aktuelle installasjoner og vurdere sannsynlighet for legionellaforekomst i disse risikoområdene.
- Vurdere eksponeringspotensialet (alvorlighet) - hvor mange kan bli eksponert for legionellaforurenset aerosol, og, i den grad det er mulig, om det er utsatte grupper (gamle, syke, røykere mv.) som kan bli eksponert.
- Beskrive hva som er gjort for å forhindre overføring av legionellabakterier via aerosol (tekniske tiltak, drifts- og vedlikeholdsrutiner) og eventuelle beskyttelsestiltak internt (bruk av maske oa.).
- Vurdere behovet for ytterligere risikoreducerende tiltak, både tekniske endringer, endringer i drifts- og vedlikeholdsrutiner og rutiner som skal følges ved sykdomstilfeller, utbrudd eller mistanke om utbrudd.

Rutinene i tilfelle utbrudd eller mistanke om utbrudd bør blant annet beskrive hvem som har ansvaret for varsling fra/til myndigheter, hvem som har ansvaret for den tekniske oppfølgingen, for eksempel prøvetaking og eventuelle forebyggende tiltak, og hvem som internt har myndighet til eventuelt å stanse driften.

## 10.3 Forbyggende tiltak

Smittorisiko kan begrenses enten ved å hindre spredning av legionellabakterier eller ved å beskytte personer som kan bli eksponert for legionellainfiserende aerosoler.

Begrensning av spredningen kan enten gjøres ved å hindre legionellabakterier i å etablere seg, eller ved å begrense dannelsen av infiserende aerosoler som spres til omgivelsene.

*Det er per i dag ikke nok kunnskap om alle faktorer som kan påvirke vekst av legioneller, og derfor heller ikke om hvordan vekst av legionellabakterier i biologiske renseanlegg kan begrenses. Vi kan ikke forklare hvorfor disse bakteriene finnes i enkelte anlegg, men ikke i andre.*

Det bør derfor fokuseres på å hindre at legionellabakterier som vokser i det biologiske renseanlegget forårsaker dannelse av infiserende aerosoler som kan spre smitte. Eksempler på aktuelle tiltak for å redusere faren for spredning av infiserende aerosoler:

- Bygge inn luftbasseng med kontrollert avlufting og behandling av utslippet på en måte som minimaliserer faren for aerosolspredning.
- Bruke luftere med lav aerosoldannelse.
- Dersom det er fare for at infiserende aerosoler kan "pode" andre typer aerosoldannende anlegg (kjøletårn, skrubber) på eget bedriftsområde, og i den grad det er mulig også utenfor bedriftsområdet, sørge for forbyggende tiltak ved slike anlegg.
- Desinfisere utslippene både til luft og til vann

- Sørge for rutiner som minimerer dannelse og spredning av aerosoler ved drifts- og vedlikeholdsaktiviteter i tilknytning til legionellaholdig prosess-/avløpsvann (spyling, vanning oa.).

Man må også være oppmerksom på at utslipp av legioneller via avløpet fra et renseanlegg vil kunne gi betydelige konsentrasjoner i et vassdrag nedstrøms utslippet, avhengig av størrelsesforholdet mellom utslippet og vannføringen i vassdraget. Aersoldannelse direkte fra vassdraget, for eksempel fra en foss, eller aersoldannende bruk av vassdraget, for eksempel til vanning, vil da medføre smitterisiko.

For å beskytte personer som kan bli eksponert for legionellaholdige aerosoler, anbefaler Arbeidstilsynet at man bruker en halv- eller helmaske etter CE-klasse EN143, med filter i beskyttelsesklasse P3, som er oppgitt å hindre passasje av virus og bakterier.

Flere anleggseiere har innført regler om bruk av åndedrettsvern. Som eksempel har en av industrivirksomhetene påbud om bruk av P3 støvmasker for alle som oppholder seg innen 200 meter fra det biologiske anlegget.

Det er verd å påpeke at bruk av åndedrettsvern også vil beskytte mot smitte av eventuelle andre sykdomsfremkallende mikrober. For flere anlegg, kanskje spesielt de for rensing av kommunalt avløpsvann, er dette en relevant problemstilling.

## 10.4 Kommentarer angående den enkelte bransje

Som det fremgår av omtalen av analyseresultater, er negative funn ingen garanti for fravær av legionellabakterier. Dette skyldes både at prøvene er vanskelige å analysere, og at forekomsten i et anlegg kan variere over tid.

Nedenfor er det gitt noen vurderinger basert på analyseresultatene, erfaringer med bransjen og temperaturen i anleggene.

### Kommunale avløpsrenseanlegg

Temperaturen i anleggene ligger gjennomgående under 20 °C, som er ansett som nedre grense for nevneverdig legionellavekst. Det ble likevel påvist legionellabakterier ved dyrking i ett av anleggene, og ved PCR-teknikk i ytterligere fire anlegg av de totalt åtte undersøkte anleggene. Funnene ligger nær deteksjonsgrensen.

Det foreligger lite informasjon om forekomst av legionellabakterier i kommunale avløpsrenseanlegg. I en undersøkelse av 17 kommunale biologiske avløpsrenseanlegg i Finland ble *Legionella* påvist i ett av anleggene (*Kusnetsov et al. 2009*). I en nederlandsk undersøkelse ble *Legionella* spp. påvist i alle de fem undersøkte avløpsrenseanleggene ved PCR, i konsentrasjoner på ca 10<sup>5</sup> GU/ml (10<sup>8</sup> GU/l), men ikke i noen av anleggene ved dyrking (deteksjonsgrenser i område 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> cfu/l). *Legionella* spp. og *L. pneumophila* ble også påvist med PCR i luftprøver fra tre av de fem undersøkte anleggene, men i så lave konsentrasjoner som 0,56-56 GU/m<sup>3</sup> luft. Risikoen for legionellasmitte for de ansatte ved de undersøkte avløpsrenseanleggene ble derfor ansett som lav, selv om det ble påvist en høy risiko for smitte fra andre patogene bakterier, spesielt ved rengjøring/service på anleggene (Medema et al.2004).

Fordi temperaturen er så vidt lav, var det uventet at vi skulle få positive funn. Det anbefales å analysere flere prøver over en periode for å få et bedre grunnlag for å vurdere forekomsten. Slike undersøkelser bør også omfatte innløpet til renseanlegget for å kunne vurdere i hvilken grad legionellene blir tilført via råkloakken.

Det anbefales å benytte åndedrettsvern når arbeiderne kan bli eksponert for aerosoler i renseanlegget. Dette er en fornuftig beskyttelse som bør benyttes også ved anlegg som ikke har påvist *Legionella*, da det vil beskytte mot alle sykdomsfremkallende mikrober (jfr. Medema et al. 2004).

### **Meierier**

I ingen av prøvene fra de totalt åtte anleggene ble det påvist legionellabakterier ved dyrking. Ved tre anlegg ble det påvist *Legionella pneumophila* ved PCR-teknikk, men i meget lave konsentrasjoner.

At det så å si gjennomgående ikke er påvist legionellabakterier, gir grunn til å anta at biologisk rensing av meieriavløp ikke favoriserer oppvekst av slike bakterier. Temperaturen i samtlige anlegg ligger i et område som er gunstig for legionellavekst. Det må derfor være andre faktorer ved disse anleggene som hindrer eller begrenser legionellavekst.

### **Petrokjemisk industri**

Det er påvist legionellabakterier i seks av de ni anleggene både ved dyrking og ved PCR-metode, i til dels høye konsentrasjoner.

Temperaturen i luftebassengene ligger i et gunstig område for legionellavekst. Av de to anleggene hvor det ikke er påvist legionellabakterier, verken ved dyrking eller PCR, opererer det ene med temperaturer omkring 20 °C. Disse to anleggene behandler avløp fra produksjon av henholdsvis polyetylen, og etylen/propylen, en annen type produksjon enn de øvrige petrokjemianleggene, som i hovedsak raffinerer råolje og prosesserer nordsjøgass.

For å gi et bedre grunnlag for risikovurderingene bør det analyseres flere prøver over en periode, og risikovurderingene bør omfatte vurderinger av de problemstillingene som er påpekt tidligere i kapitlet.

Det anbefales å benytte åndedrettsvern når arbeiderne kan bli eksponert for aerosoler i renseanlegget.

### **Treforedlingsindustri**

Det er tidligere dokumentert at legionellabakterier vil kunne vokse i biodammer for rensing av avløp fra treforedlingsindustri. Det ble også i dette prosjektet funnet til dels høye verdier i tre av de fire anleggene. I det fjerde anlegget var dyrkingsresultatene negative, men det ble funnet lave verdier ved PCR-teknikk i én prøve.

Erfaringer har vist at forekomst av *Legionella* i et anlegg kan variere over tid. Bransjen har vært kjent med denne problemstillingen i relativt lang tid.

Det anbefales å benytte åndedrettsvern når arbeiderne kan bli eksponert for aerosoler i renseanlegget.

### **Annen industri**

Disse anleggene har ikke noe til felles hva gjelder produksjon. Det ble ikke påvist legionellabakterier ved dyrking ved de fire anleggene, men de ble funnet i lave konsentrasjoner ved PCR-teknikk i tre anlegg. Det ble gjort flest funn i anleggene med den gunstigste vanntemperaturen for legionellavekst.

Det anbefales at behovet for bruk av åndedrettsvern, og eventuelt uttak av prøver for ytterligere analyser, vurderes ut fra risikoforhold ved det enkelte anlegg.

## Referanser

Allestam G, Långmark J. Legionella i bioreningsanläggningar – Kartläggning och riskbedömning 2005 – 2007. Smittskyddsinstitutets rapportserie 2007;3:12.

Casto ML, Wagstrom EA, Danila RN, Smith KE, Naimi TS, Besser JM, et al. An outbreak of Pontiac fever with respiratory distress among workers performing high-pressure cleaning at a sugar-beet processing plant. *J Infect Dis* 2005;191:1530-7. <http://pubget.com/paper/15809913>

Gregersen P, Grunnet K, Uldum K, Andersen BH, Madsen H. Pontiac fever at a sewage treatment plant in food industry. *Scand J Work Environ Health* 1999;25(3):291-5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10450782>

Routsalainen E, Kusnetsov J, Seppälä I, Kanervo-Nordström A, Virolainen-Julkunen A, Lyytikäinen O, A cluster of Pontiac fever among employees in the biological waste-water treatment plant of a chemical mill. Abstract book, European Working Group of Legionella Infections. 23rd Meeting, May 11-13 2008, Madrid.

Kusnetsov J, Airaksinen P, Pitkänen T, Kauppinen A, Vepsäläinen A, Miettinen I, Torvinen E. Occurrence of legionella and other pathogenic microbes in communal waste water treatment plants with low water temperature. Abstract book, Legionella 2009, October 13-17, Institut Pasteur, Paris.

Kusnetsov J, Neuvonen L-K, Korpio T, Uldum SA, Mentula S, et al. Two Legionnaire's disease cases associated with industrial waste water treatment plants: a case report. *BMC Infectious Disease* 2010;10:343.

Lindeberg O. Undersökning av samband mellan Legionellaforekomst och teknisk utformning av bioreningsanläggningar – En utvärdering utförd på uppdrag av Skogsindustrierna. Extract Informasjon AB, 2007.

Medema G, Wullings B, Roeleveld P, van der Kooij D. Risk assessment of legionella and enteric pathogens in sewage treatment works. *Water Supply* 2004;4(2):125-32.

Nguyen TMN, Ilef D, Jarraud S, Rouil L, Campese C, Che D, et al. A community-wide outbreak of Legionnaire's disease linked to industrial cooling towers – how far can contaminated aerosols spread? *J Infect Dis* 2006;193:102-11.

## Vedlegg 1 Retningslinjer for prøvetaking

- Det tas ut prøver fire ganger (tre ganger i 2009 og en i 2010). Det vil bli gitt nærmere beskjed om prøvetakingstidspunkt 1 – 2 uker før prøvetakingen
- Prøvene tas på avtalt prøvetakingstidspunkt
- Prøvene tas i begynnelsen av uken (helst mandag) slik at de er hos analyselaboratoriet senest torsdag morgen
- Prøvene tas ca ½ - 1 m under overflaten i et område av luftebassenget der det er god omrøring. Unngå bakevjer!
- Prøvene tas samme sted hver gang
- Det tas ut to prøver (½ liters flasker) i hver prøveomgang, som skal analyseres hhv. ved Unilabs Telelab AS og Folkehelseinstituttet. Det skal benyttes sterile flasker som mottas fra Unilabs Telelab
- Merk flaskene godt med dato og anleggsnavn
- En flaske skal sendes til Unilabs Telelab, og en skal sendes til Folkehelseinstituttet
- Utfylt følgeskjema legges ved begge flaskene. Behold en kopi selv
- Send prøvene **ekspresst over natt**, helst som kjølevare (f.eks. i en isoporeske med kjøleelementer). Pakk flaskene godt inn så de ikke knuses i posten
- Adresser:
  - Unilabs Telelab AS  
Miljømikrobiologi  
Strømdaljordet 4  
3727 Skien
  - Nasjonalt folkehelseinstitutt  
v/ Vidar Lund  
Postboks 4404, Nydalen  
0403 Oslo
- Fyll ut Excel registreringsskjema, som er sendt virksomheten per e-post, og send dette etter hver prøvetaking, elektronisk til [jens.erik.pettersen@fhi.no](mailto:jens.erik.pettersen@fhi.no)

---

### Kontaktinfo:

Unilabs Telelab AS, avdeling for miljømikrobiologi: tlf 35 50 57 57, [miljolab.no@unilabs.com](mailto:miljolab.no@unilabs.com)

Nasjonalt folkehelseinstitutt, Avdeling for vannhygiene, v/Vidar Lund tlf. 21 07 64 43, e-post: [vidar.lund@fhi.no](mailto:vidar.lund@fhi.no), eller Jens Erik Pettersen, tlf. 21 07 62 44.

## Vedlegg 2 Følgeskjema

Anleggsnavn: \_\_\_\_\_

Adresse: \_\_\_\_\_

Postnr/sted: \_\_\_\_\_

Kontaktpers: \_\_\_\_\_

Tlf: \_\_\_\_\_

**Se eget dokument "Veiledning til prøvetaking"**

		Målt på prøvetakings- tidspunkt	
Prøvetakings- dato	Vann- temperatur, °C	pH	Lab. nr. (for laboratoriet)

**NB! Husk:**

- Å merke prøveflaskene
- Å fylle ut og sende inn Excel registreringskjema

Evt. kommentarer/avvik som anses å ha betydning for prøveresultatet:

### Vedlegg 3 Registreringsskjema (data skrives i de grå feltene)

Returneres: [jens.erik.pettersen@fhi.no](mailto:jens.erik.pettersen@fhi.no)

<b>Formelle data</b>	Fyll ut nedenfor
Virksomhets-/anleggsnavn	
Org.nr. ihht. Brønnøysundregistrene	
Adresse	
Kontaktperson	
Telefon	
E-postadresse	
<b>Data om renseanlegget</b>	Fyll ut nedenfor
Beskrivelse av type avløpsvann/produksjon	
Byggeår	
Luftebassengets areal, m <sup>2</sup>	
Luftebassengets volum, m <sup>3</sup>	
Gjennomsn. oppholdstid i luftebassenget, timer	
Gjennomsn. luftinnblåsing m <sup>3</sup> /time	
Gj.sn. mengde utløp fra renseanlegget, m <sup>3</sup> /time	
Utslippssted (type resipient)	

Flytskjema over renseprosessene (helst A4-format) og tegning som viser prøvetakingspunkt, sendes elektronisk, alternativt per post til Folkehelseinstituttet.

Nedenstående data rapporteres så fremt de finnes. I tillegg bes andre relevante analyser oversendt elektronisk. Alle data oppgis som **gjennomsnitt for siste måned før prøvetaking**

Dato for prøvetaking		
Data som registreres i luftebassenget ifm hver prøvetaking (gj.sn.siste måned)	Antall prøver	Gjennomsnittsverdi
Temperatur		
pH		
Oksygeninnhold, mg O <sub>2</sub> /l		
COD, mg/l, inn til luftebasseng		
COD, mg/l, ut fra luftebasseng		
Tot-N, mg/l, inn til luftebasseng		
Tot-N, mg/l, ut fra luftebasseng		
Tot-P, mg/l, inn til luftebasseng		
Tot-P, mg/l, ut fra luftebasseng		
Slamkonsentrasjon, mg/l		
Slambelastning, kg COD tilført/kg SS og døgn		
Slamvolumindeks, mg/g		
Slamalder, døgn		

**Generell beskrivelse av produksjon/endringer i produksjonen eller annet av betydning for kvaliteten på avløpsvannet eller prøveresultater**

--



## Vedlegg 4 Kartlegging av legionellaforekomst i luftede biologiske renseanlegg – Samtlige data om det enkelte anlegg (rapportert i henhold til vedlegg 3)

Anleggsnummer	Bransjeskisse	Byggår	Luftebasseng areal, m <sup>2</sup>	Luftebasseng volum, m <sup>3</sup>	Gjennomsnitt oppholdstid i luftebasseng, timer	Gjennomsnitt luftinnblåsing m <sup>3</sup> /time	Gjennomsnitt mengde utløp fra renseanl., m <sup>3</sup> /time	Utslippssted	Prøveomg. 1 Temp. gjennomsnitt	Prøveomg. 2 Temp. gjennomsnitt	Prøveomg. 3 Temp. gjennomsnitt	Prøveomg. 4 Temp. gjennomsnitt	Prøveomg. 1 pH gjennomsnitt	Prøveomg. 2 pH gjennomsnitt	Prøveomg. 3 pH gjennomsnitt	Prøveomg. 4 pH gjennomsnitt	Prøveomg. 1 Oksygeninnh mg O <sub>2</sub> /l gjennomsnitt	Prøveomg. 2 Oksygeninnh mg O <sub>2</sub> /l gjennomsnitt
1	Kommunalt avløp	1998	100	695	5	1500	270	Leira, elv	13	17	10,7	8	6,9	6,64	7,3	7,4		
2	Kommunalt avløp	1997	80	480	2	1500	1000	Sjø	14,5	15	12,9	7,2	6,2	6,1	6,5	7,9		
5	Kommunalt avløp	1974	139	1250	8	8	1500	Nielva	14,5	16,4	12,9	7,6	6,2	6,4	6,5	7,9		6,8
8	Kommunalt avløp	2001	5760	38000	6	8000	4300	Oslofjorden	13	14,3	12,7	7,8	6,9	7,5	7,3	7,7		2
11	Kommunalt avløp	1989	95	380	1	800	180	Vangsvatnet	11	10	7,8	6	7,2	7	6,8	7,2		
14	Kommunalt avløp	1976	215	733	5	8500	1432	Mjøsa	5,3	13,1	9,5	6	7,2	7,4	7,2	7,1		2,5
21	Kommunalt avløp	1995	233	1400	4		320	Nordspjen		16	7	6					1,5	
25	Kommunalt avløp	1994	65	380	3	3	488	Mjøsa	12,9	12,72	8,5	6,7	4,87	7,73	6,17	6,88	6	7,03
6	Petrokjemisk industri	1994	490	2330	15	1000	120	Oslofjorden	25	25	23	21	7,5	7,5	7,5	7,5	4	5
10	Petrokjemisk industri	2007	100	900	21	1000	29,2	Hav	29,2	28,9	28	20	7,1	7,35	7,3	7,2	5,8	6,5
15	Petrokjemisk industri	1996	90	530	44	630	12	Sjø	36	31	31	28	6,5	6,5	7,5	7,5		
22	Petrokjemisk industri								15	21,8	22	17	9,1	7,9	8	8,2		
23	Petrokjemisk industri	2006	300	1500	72	4600	31	Sjø	34,3	32	27	19,4	7,7	8,1	8,2	8,63		6
26	Petrokjemisk industri	1989		2300	17	4900	150	varierer	35,6	34,3	28,8	30	7,41	6,9	7,1	7	3	1,7
29	Petrokjemisk industri	1996	50	251	58	1850	5	Kvaløsen	25,1	25,4	23,4	25,3	7,9	7,8	7,9	7,7	7,5	7,5
30	Petrokjemisk industri						26		26	27	26	28	8,7	6,8	6,6	6,7		
32	Petrokjemisk industri						35		35	30,5	29,7	29,8	8,7	8,7	8,6	8,7		
13	Treforedlingsindustri	1998	2826	33500	36	19440	960	Fjord, sjø	35	35	35,1	35	7,8	7,8	7,8	7,3	2	2
18	Treforedlingsindustri	2006	2830	24000	35	23000	800	Elv, Begna	35	34	34	35	7,1	7,4	7,3	7,2		
19	Treforedlingsindustri	1992	1860	20000	20	12000	1000	Tista elv	37	37	34,7	37	7,1	7	7	7		
27	Treforedlingsindustri	1995	1308	15700	68		230	Beistadfjorden	35,9	39	36,5	35,5	7,4	7,5	7,4	7,4		3
4	TINE melier	2004	14	30	4	90	1	Trysleva	24	25	24	19	7,3	7,5	7,3	7,8		
9	TINE melier	1993	125	500	60		4	Kommunalt nett	31,1	34,1	25,5	21,1	6,4	6,4	6,1	6,5	0,2	0,2
12	TINE melier	1993	112	442	72	2,3	4	Kommunalt nett		26,9				7,6				
16	TINE melier	1991	79		24		6	Kommunalt nett	29,4	30,9	31,5	28,9	6,85	6,6	7,06	7,17		
17	TINE melier	1991	124	2456	74		33	Kommunalt nett	21,5	23	25	20,6	5,8	7,1	7	5,3	4,2	
24	TINE melier	2006	290	1000	48	864	10	Kommunalt avløp	27	27	26	24	7,3	7,3	6,9	7,2		
28	TINE melier	2003	338	2024	24	0	50	Kommunalt avløp	27	26,5	27	24,5	7,5	8,3	7,1	6,9		
33	TINE melier	2009	550	2200	24		50	Kommunalt nett		28	28	28		7,8	7,8	8		
3	Annen industri	1976	100	500	58	350	35	Gullaugvika, Nidelva	23	23	18	17,3	8	8,4	8,4	8,1	0,2	0,3
7	Annen industri	2006	87	696	60		6	Delavlop til SFT-renne		35,8	35,2	35,9	7,5	7,5	7,1	7,1		2,7
20	Annen industri	2008	50	340	45	4000	8	Sjø	33	33	25	33	7,4	6,5	6,5	6,6	3	3
31	Annen industri	1988	500	2000	11	1000	25	Glomma	19	19	12	12	6,5	6,5	7,36	6,6		4





Anleggsnummer	Prøveomg. 1 Slamalder, døgn- gjennomsnitt	Prøveomg. 2 Slamalder, døgn- gjennomsnitt	Prøveomg. 3 Slamalder, døgn- gjennomsnitt	Prøveomg. 4 Slamalder, døgn- gjennomsnitt	Anmerking
1					Ingen data registrert prøveomg 1. Excel-ark mangler prøveomg 3.
2					pH og temp ikke rapportert. Tatt fra følgeskjema for prøve.
5					Ingen rapporterte data, pH og temperatur fra følgeskjema for prøve.
8	37	24	28		pH og temperatur ikke rapportert prøveomg 1. Tatt fra følgeskjema for prøve. Et av biofilterne har vært ute av drift i to uker i august. Ikke simultantelling mellom 7 og 12/10. Dosert kalk til returslammet i slutten av mats og begynnelsen av april.
11					pH og temperatur ikke rapportert. Tatt fra følgeskjema for prøve.
14	6,5	6,5	6,5	6,5	Nøyaktig samme data er rapportert for samtlige fire prøveomganger. Ingen rapporterte data, pH og temperatur fra følgeskjema for prøve.
21					
25					
6	25	25			
10	19	22,5			pH og temperatur for prøveomg 2 og 3 hentet fra følgeskjema for prøve.
15					
22					Excel-ark mangler prøveomg 1 og 2, pH og temperatur fra følgeskjema for prøve (lav temperatur grunnert stopp på dampkjølen prøveomg 1).
23					Driftsdata fra MBBR. Det opplyses at prøve er tatt fra LSP (før MBBR), hvor temperatur er 23 grader. Slambelastning målt som TOC. Det opplyses at excel-arket for prøveomgang 3 skal benyttes, men temperaturen som er angitt på følgeskjemaet er vesentlig lavere (19,4 grader).
26	8,8	8,8			Excel-ark mangler prøveomg 1 og 2, pH og temp fra følgeskjema for prøve.
29	89	89	89	89	TOC ut fra luftbasseng (prøveomg 1, 2, 3, 4); 6, 13, 14, 14 mg/l, PO4-P ut luftbasseng (omg 1, 2, 3, 4); 0,2, 0,1, 0,1, 0,3 mg/l
30					Excel-ark mangler, pH og temperatur fra følgeskjema for prøve.
32					Excel-ark mangler, pH og temperatur fra følgeskjema for prøve.
13	24	28	16	21	Oppgitte verdier, omg 1: middel for 10 døgn, omg 2: 2 enkelmålinger, omg 3: døgnsamleprøve 16.11.09, omg 4: gjennomsnitt siste 14 dager. Slambelastning (omg 1, 2, 3, 4): 41900/3200, 31600/1700, 45400/3100, 50300,6100.
18	7,5	7,5	7,5	7,5	
19	6,9	8,35		8	Prøveomg 1: Varierende belastning 60-100 %, Oksygeninnhold: Inn: 2,4 mg/l, ut: 0,1-0,5 mg/l. Prøveomg 3: Excel-ark mangler, pH og temperatur fra følgeskjema for prøve.
27	20	19	29	36	Anlegget har ikke vært i "ordinær" drift sommer 09. April-aug normalbelastning i 6 av 17 uker. Etter 3.august: "Normalbelastet", men ustabil drift. Store variasjoner i sedimenteringsevne, lave slamkonsentrasjoner. Ser ut til å stabilisere seg mot slutten av august 09. Produksjonsanlegget var ikke i drift i perioden 22.02 - 15.03. 10 og temperaturen i luftbasseng falt under 20 grader.
4					Volym luftbasseng: 2x15, Lufthinblåsing: 2x45.
9					
12	3	3	3	3	Gjennomsnitt luftinblåsing m3/time: 1,5 - 3,0 mg/l, pH og temp ikke rapp. Tatt fra følgeskjema for prøve.
16					
17					Prosessvannet omfatter ikke sanitær- og overflatevann. Næringsstoffene kommer fra produksjon av melk- og juiceprodukter.
24					Prøveomg 2: Samleprøve for uke 27. Prøveomg 4: Samleprøve. KOF7 utført i stedet for COD.
28					COD ut og Tot-P inn og ut tatt etter sedimentering.
33					COD inn/ut: Viser størrelsesorden (oppgett per telefon fra Solheim). Excel-ark mangler for omg 2, 3, 4, pH og temp fra følgeskjema for prøve.
3	68	33	40	30	Deltatt fom prøveomg 3. Ikke mottatt Excel-skjema prøveomg 4, pH og temperatur fra følgeskjema for prøve.
7	1,2	1,2	2,4	2,4	Annex er totalt 400 m2, luftet del er 100 m2. Annex er totalt 2000 m3, luftet del er 500 m3. COD inn luftbasseng: prøve tatt ut i Annex ved innløp til biobassengene. COD ut fra luftbasseng. Se for øvrig excel-ark for COD utløp fra Anox-basseng.
20					Ikke excel-ark prøveomg 1. Redusert belastning på rensesanlegget juli 09.
31	12	10	10	10	Slamkonsentrasjon i væskeløst analyseres som COD utført (mg/l) og omregnes til SS (mg/l). Da det er fett i løpsvannet må det tas høyde for at denne fraksjonen kan påvirke COD-analysene.
					Avløpet varierer avhengig av råstoffkvalitet, volum og vannforbruk.

## Vedlegg 5 Oversikt over analyseresultater fra kvantitativ realtime PCR-analyser

Forklaring:

ip = ikke påvist

E+03, E+04, E+05 etc betyr henholdsvis 1000, 10 000, 100 000 etc

Bransje: KR = Kommunalt avløpsrenseanlegg, PK = Petrokjemisk industri,

TF = Treforedlingsindustri, ME = Meierier, AI = Annen industri

Anleggsnummer	Prøveomg.	Bransje	L.pneum (GU/l) Analyseomgang 1	L.pneum (GU/l) Analyseomgang 2	L.pneum (GU/l) Gjennomsnitt	DNA-konsentrasjon ng/μl
1	1	KR	ip	ip	ip	14,37
1	2	KR	ip	ip	ip	7,08
1	3	KR	ip	ip	ip	15,07
1	4	KR	3,4E+03	ip	3,4E+03	26,08
2	1	KR	ip	ip	ip	34,84
2	2	KR	ip	ip	ip	4,21
2	3	KR	ip	ip	ip	34,43
2	4	KR	ip	ip	ip	19,29
3	1	AI	inhibert	ip	ip	313,52
3	2	AI	ip	ip	ip	202,35
3	3	AI	ip	ip	ip	179,65
3	4	AI	1,7E+05	ip	1,7E+05	189,83
4	1	ME	ip	ip	ip	32,31
4	2	ME	ip	ip	ip	86,84
4	3	ME	ip	ip	ip	186,69
4	4	ME	ip	ip	ip	29,98
5	1	KR	ip	ip	ip	37,95
5	2	KR	ip	ip	ip	5,27
5	3	KR	ip	ip	ip	7,18
5	4	KR	ip	ip	ip	12,51
6	1	PK	2,1E+06	1,2E+06	1,5E+06	779,84
6	2	PK	4,0E+06	2,8E+06	3,5E+06	349,41
6	3	PK	1,4E+07	2,6E+07	2,0E+07	710,17
6	4	PK	7,5E+05	1,9E+07	1,0E+07	818,36
7	1	AI	2,1E+05	4,9E+04	1,3E+05	220,78
7	2	AI	3,5E+04	6,1E+04	5,0E+04	530,97
7	3	AI	1,4E+04	8,1E+03	1,1E+04	318,92
7	4	AI	ip	ip	ip	410,64
8	1	KR	ip	ip	ip	352,79
8	2	KR	5,5E+04	ip	5,5E+04	240,41
8	3	KR	ip	ip	ip	263,75
8	4	KR	ip	9,3E+04	9,3E+04	425,54
9	1	ME	ip	ip	ip	417,69
9	2	ME	ip	ip	ip	280,96
9	3	ME	ip	ip	ip	381,77
9	4	ME	ip	ip	ip	346,81
10	1	PK	4,1E+06	1,4E+06	3,0E+06	1269,95

Anleggsnummer	Prøveomg.	Bransje	<i>L.pneum</i> (GU/l) Analyseomgang 1	<i>L.pneum</i> (GU/l) Analyseomgang 2	<i>L.pneum</i> (GU/l) Gjennomsnitt	DNA-konsentrasjon ng/μl
10	2	PK	9,2E+06	6,2E+06	8,0E+06	140,83
10	3	PK	7,9E+06	1,2E+07	1,0E+07	251,62
10	4	PK	1,2E+07	2,2E+06	7,0E+06	513,58
11	1	KR	ip	ip	ip	41,46
11	2	KR	ip	ip	ip	9,64
11	3	KR	ip	ip	ip	4,31
11	4	KR	ip	ip	ip	1,82
12	1	ME	Inhibert	3,3E+03/1,1E+05	1,0E+04	891,67
12	2	ME	Inhibert	1,9E+03/ip	2,0E+03	510,84
12	3	ME	Inhibert	Inhibert/1,3E+04	1,0E+04	1206,77
12	4	ME	Inhibert	ip/ip	ip	1268,64
13		TF	Inhibert	6,0E+03/ip	6,0E+03	789,45
13	2	TF	3,1E+04	1,3E+04	2,0E+04	498,39
13	3	TF	5,8E+04	1,2E+04	3,5E+04	427,09
13	4	TF	1,2E+06	4,5E+04	6,0E+05	823,6
14	1	KR	ip	9,1E+03	9,0E+03	målestøy
14	2	KR	ip	ip	ip	932,85
14	3	KR	ip	ip	ip	1148,49
14	4	KR	ip	1,9E+04	2,0E+04	512,78
15	1	PK	5,1E+04	4,2E+03	3,0E+04	46,68
15	2	PK	1,0E+05	6,3E+04	8,0E+04	31,01
15	3	PK	ip	ip	ip	8,91
15	4	PK	ip	ip	ip	25,16
16	1	ME	Inhibert	ip/ip	ip	885,56
16	2	ME	ip	ip	ip	254,08
16	3	ME	ip	ip	ip	332,41
16	4	ME	ip	ip	ip	320,58
17	1	ME	3,3E+04	9,9E+03	2,0E+04	429,92
17	2	ME	1,7E+05	1,0E+05	1,5E+05	274,93
17	3	ME	2,5E+04	ip	2,5E+04	230,00
17	4	ME	ip	ip	ip	307,21
18	1	TF	ip	ip	ip	303,67
18	2	TF	5,3E+04	9,5E+03	3,0E+04	167,78
18	3	TF	ip	ip	ip	252,53
18	4	TF	ip	ip	ip	351,78
19	1	TF	5,9E+04	6,6E+04	6,3E+04	340,45
19	2	TF	ip	ip	ip	352,98
19	3	TF	ip	ip	ip	261,45
19	4	TF	ip	ip	ip	520,83
20	1	AI	ip	ip	ip	330,14
20	2	AI	1,2E+05	8,5E+04	1,0E+05	276,54
20	3	AI	2,7E+04	ip	2,7E+04	3,12
20	4	AI	ip	ip	ip	218,50
21	1	KR	Inhibert	2,5E+03/ip	2,5E+03	1684,75
21	2	KR	6,4E+03	4,8E+03	5,5E+03	1205,12
21	3	KR	7,9E+03	ip	8,0E+03	1702,39
21	4	KR	ip	ip	ip	1195,63

Anleggsnummer	Prøveomg.	Bransje	<i>L.pneum</i> (GU/l) Analyseomgang 1	<i>L.pneum</i> (GU/l) Analyseomgang 2	<i>L.pneum</i> (GU/l) Gjennomsnitt	DNA-konsentrasjon ng/μl
22	1	PK	ip	ip	ip	9,28
22	2	PK	ip	ip	ip	11,48
22	3	PK	ip	Inhibert	ip	målestøy
22	4	PK	ip	Inhibert	ip	22,58
23	1	PK	ip	ip	ip	253,25
23	2	PK	8,3E+05	8,9E+05	8,5E+05	65,80
23	3	PK	8,1E+03	1,9E+04	1,5E+04	146,74
23	4	PK	ip	ip	ip	119,41
24	1	ME	ip	ip	ip	256,07
24	2	ME	ip	ip	ip	288,70
24	3	ME		ip	ip	175,07
24	4	ME	ip	ip	ip	211,30
25	1	KR	ip	ip	ip	56,73
25	2	KR	ip	5,1E+03	5,0E+03	14,98
25	3	KR	ip	1,4E+04	1,5E+04	58,13
25	4	KR	ip	8,5E+03	8,5E+03	49,51
26	1	PK	8,7E+03	Inhibert	8,7E+03	1502,57
26	2	PK	Inhibert	2,3E+05/8,4E+04	1,5E+05	380,17
26	3	PK	Inhibert	1,3E+06/2,2E+05	7,5E+05	554,81
26	4	PK	ip	1,3E+04	1,3E+04	368,97
27	1	TF	1,5E+08	6,2E+07	1,0E+08	198,59
27	2	TF	2,1E+07	5,1E+07	3,5E+07	548,96
27	3	TF	4,8E+06	Inhibert	4,8E+06	494,64
27	4	TF	7,8E+07	2,9E+07	5,0E+07	815,25
28	1	ME	Inhibert	5,9E+03/ip	6,0E+03	1070,88
28	2	ME	ip	ip	ip	783,62
28	3	ME	ip	ip	ip	1017,88
28	4	ME	ip	ip	ip	1208,54
29	1	PK	ip	4,3E+03	4,0E+03	280,18
29	2	PK	1,1E+06	1,0E+03	1,0E+06	173,13
29	3	PK	1,1E+05	6,4E+04	9,0E+04	97,65
29	4	PK	ip	6,9E+03	7,0E+03	305,28
30	1	PK	ip	ip	ip	32,51
30	2	PK	ip	ip	ip	4,97
30	3	PK	ip	ip	ip	12,82
30	4	PK	ip	ip	ip	41,13
31	1	AI	ip	ip	ip	365,38
31	2	AI	ip	ip	ip	458,36
31	3	AI	ip	ip	ip	397,03
31	4	AI	ip	ip	ip	215,66
32	1	PK	Inhibert	inhibert	inhibert	396,28
32	2	PK	ip	ip	ip	582,93
32	3	PK	ip	ip	ip	364,01
32	4	PK	ip	ip	ip	307,51
33	3	ME	ip	ip	ip	451,52
33	4	ME	ip	ip	ip	376,26





[www.fhi.no](http://www.fhi.no)

Utgitt av Nasjonalt folkehelseinstitutt  
MAi 2011  
Postboks 4404 Nydalen  
NO-0403 Oslo  
Telefon: 21 07 70 00  
Rapporten kan lastes ned gratis fra  
Folkehelseinstituttets nettsider [www.fhi.no](http://www.fhi.no)