

Overlevelse af indikatororganismer og patogener i ledningsnet

Vang, Óluva Karin; Corfitzen, Charlotte B.; Albrechtsen, Hans-Jørgen; Lindhardt, Bo

Publication date:
2011

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Vang, Ó. K., Corfitzen, C. B., Albrechtsen, H-J., & Lindhardt, B. (2011). Overlevelse af indikatororganismer og patogener i ledningsnet. Miljøstyrelsen.

DTU Library

Technical Information Center of Denmark

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



Miljøministeriet
Naturstyrelsen

Overlevelse af indika- tororganismer og pa- togener i ledningsnet

Óluva Karin Vang, Charlotte Bettina Corfitzen og
Hans-Jørgen Albrechtsen Institut for Vand og Miljøteknologi,
Danmarks Tekniske Universitet, Bo Lindhardt Nordvand A/S

Kolofon

Titel:

Overlevelse af indikatororganismer og patogener i ledningsnet

Emneord:

drikkevand, forurening, indikatororganismer, ledningsrenovering, Campylobacter, E. coli, coliforme bakterier, enterokokker, overlevelse, patogener, ledningsnet

Projektmidler:

Samfinansieret forskning mellem Miljøstyrelsen og DTU.

Udgiver:

Naturstyrelsen

Forfatter:

Óluva K. Vang, DTU Miljø
Charlotte B. Corfitzen, DTU Miljø
Hans-Jørgen Albrechtsen, DTU Miljø
Bo Lindhardt, Nordvand A/S

Sprog:

Dansk

År:

2011

ISBN nr.

978-87-7279-240-8

Udgiverkategori:

Statslig

Resume:

Projektet belyser en række risici vedrørende den mikrobiologiske drikkevandskvalitet i forbindelse med renovering af vandledninger. På baggrund af de opnåede resultater er der udarbejdet en række anbefalinger til vandforsyninger om renovering af vandledninger.

Projektet har også omfattet undersøgelser af overlevelsen af en række bakterier i drikkevand. Resultatet viste, at f.eks. E. coli og K. pneumoniae overlevede i mere end fire uger i drikkevand. Laboratorieundersøgelser viste, at rørmaterialer har indflydelse på overlevelsen af indikatorbakterier. Resultatet viste bl.a. at indikatorbakterier overlevede i drikkevand i 2 uger i støbejernsrør og i 4 uger i plastrør.

Må citeres med kildeangivelse.

Forbehold:

Naturstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter inden for miljøsektoren, finansieret af miljøministeriet. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for naturstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at styrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Overlevelse af indikatororganismer og patogener i ledningsnet

Óluva Karin Vang, Charlotte Bettina Corfitzen og
Hans-Jørgen Albrechtsen
Institut for Vand og Miljøteknologi, Danmarks Tekniske
Universitet

Bo Lindhardt
Nordvand A/S

Indhold

FORORD	4
SAMMENFATNING OG KONKLUSIONER	5
SUMMARY AND CONCLUSIONS	7
1 INTRODUKTION	9
1.1 BAGGRUND	9
1.2 FORMÅL	10
2 RENOVERING AF VANDLEDNINGER	12
2.1 TEKNIKKER TIL LEDNINGSRENOVERING	12
2.1.1 <i>Styret underboring</i>	12
2.1.2 <i>Jordraket</i>	14
2.1.3 <i>Hammerboring</i>	15
2.1.4 <i>Rørsprængning og relining</i>	15
2.2 RISIKOVURDERING AF LEDNINGSRENOVERING I NORDVAND A/S	16
2.2.1 <i>Styret underboring</i>	16
2.2.2 <i>Rørsprængning og relining</i>	16
2.2.3 <i>Tilkobling til hovedledning</i>	16
2.2.4 <i>Tilkobling til stikledning</i>	17
2.2.5 <i>Svejsning</i>	17
2.2.6 <i>Udgravning af huller</i>	17
2.2.7 <i>Opbevaring af PE-rør</i>	17
2.3 SÆRLIGE PROCEDURER VED LEDNINGSRENOVERING I NORDVAND A/S	18
2.3.1 <i>Skylningsprocedure af nye rør</i>	18
2.3.2 <i>Analyse af drikkevand efter reovering</i>	18
2.3.3 <i>Procedure når kvalitetskrav ikke opfyldes</i>	19
2.4 RISICI VED LEDNINGSRENOVERING	19
2.5 PROCEDUREÆNDRINGER I NORDVAND A/S I 2007	21
2.6 DELKONKLUSION	21
3 MIKROBIOLOGISK VANDKVALITET VED LEDNINGSRENOVERINGER I NORDVAND A/S 2006-2008	23
3.1 ANALYSE AF DATA OG OPLYSNINGER VED LEDNINGSRENOVERING	23
3.2 FELTUNDERSØGELSER VED RENOVERING AF LEDNINGSNETTET	29
3.2.1 <i>Mikrobiologisk kvalitet i stikledningshuller</i>	30
3.3 DELKONKLUSION	33
4 OVERLEVELSE AF INDIKATORORGANISMER I OG PATOGENER I DRIKKEVAND	34
4.1 LABORATORIEFORSØG	34
4.1.1 <i>Forsøgsopstilling og -forhold</i>	34
4.1.2 <i>Testvand</i>	34
4.1.3 <i>Forsøgsorganismer</i>	35
4.1.4 <i>Testmaterialer</i>	35
4.1.5 <i>Analyser</i>	35
4.2 OVERLEVELSE AF <i>E. COLI</i> –, <i>K. PNEUMONIAE</i> – OG <i>C. JEJUNI</i> STAMMER	36
4.2.1 <i>Overlevelse i vandfase</i>	37

4.2.2	<i>Kolonisering af biofilm på PE-rør af E. coli, K. pneumoniae og C. jejuni stammer</i>	38
4.2.3	<i>Løsrivelse fra biofilm</i>	42
4.3	MACCONKEY VS. COLILERT-18	42
4.4	DELKONKLUSION	43
5	EFFEKT AF RØRMATERIALER (PE, PEX OG SILICONE) PÅ OVERLEVELSEN AF UDVALGTE INDIKATORORGANISMER OG PATOGENER I DRILLEVAND	44
5.1	EFFEKT AF PE, PEX OG SILICONE PÅ OVERLEVELSEN AF <i>E. COLI</i> , <i>K. PNEUMONIAE</i> OG <i>C. JEJUNI</i>	44
5.2	<i>E. COLI</i> OG <i>K. PNEUMONIAE</i> KOLONISERING AF BIOFILM PÅ PE-, PEX- OG SILICONE-MATERIALE	46
5.3	DELKONKLUSION	47
6	OVERLEVELSE AF <i>E. COLI</i>, <i>K. PNEUMONIAE</i> OG <i>C. JEJUNI</i> I DRILLEVANDSRØR FRA LEDNINGSNETTET	48
6.1	VANDFASE	49
6.1.1	<i>Eftervækst af den naturlige drikkevandsflora</i>	51
6.2	BIOFILM KOLONISERING	52
6.2.1	<i>Biofilmdensitet (total ATP)</i>	53
6.3	DELKONKLUSION	54
7	DISKUSSION	55
7.1	RISICI VED LEDNINGSRENOVERING OG ANBEFALINGER	55
7.2	OVERLEVELSE AF INDIKATORORGANISMER OG PATOGENER I DRILLEVAND	56
7.3	EFFEKT AF RØRMATERIALER PÅ OVERLEVELSEN AF INDIKATORORGANISMER OG PATOGENER	57
7.4	OVERLEVELSE AF INDIKATORORGANISMER OG PATOGENER I BIOFILM	57
7.5	KONKLUSIONER	58
8	REFERENCER	59
	BILAG A: OVERSIGT OVER LEDNINGSRENOVERINGER I NORDVAND A/S 2006-2008	63
	BILAG B: FORSØGSOPSTILLING OG FORSØGSFORHOLD	68
	BILAG C: MIKROBIOLOGISKE ANALYSER	71
	BILAG D: METODEINDKØRING AF BESTEMMELSE AF <i>CAMPYLOBACTER</i>	74

Forord

Dette projekt er udført af DTU Miljø - Institut for Vand og Miljøteknologi, Danmarks Tekniske Universitet i samarbejde med Nordvand A/S. Projektet er udført for og finansieret af By- og Landskabsstyrelsen repræsenteret ved Linda Bagge og har været fulgt af en af By- og Landskabsstyrelsen udpeget følgegruppe. Tak til medarbejderne – især Mads Broe Pedersen – i Nordvand A/S for deres hjælp til feltundersøgelserne udført i dette projekt.

Forfattere: Óluva K. Vang, DTU Miljø
Charlotte B. Corfitzen, DTU Miljø
Hans-Jørgen Albrechtsen (projekt leder), DTU Miljø
Bo Lindhardt, Nordvand A/S

Følgegruppe: Charlotte Frambøl (DANVA)
Jørn Leth-Espensen (FDV)

Sammenfatning og konklusioner

I forbindelse med en række større forureningssager har indikatororganismer (coliforme, *E. coli*, Enterokokker) været til stede i ledningsnettet i lang tid, selv om ledningsnettet er blevet skyllet grundigt. For eksempel var *E. coli* og coliforme til stede i Århus' ledningsnet i 5-6 uger (2002), uden at årsagen til dette blev afdækket. Der er mange forekomster af indikatororganismer i ledningsnet, som ikke kan forklares med den nuværende viden. For at kunne vurdere alvorligheden af disse forekomster af coliforme, er det afgørende at have kendskab til, i hvilket omfang og under hvilke betingelser de overlever – og om de eventuelt ligefrem vokser i ledningsnettet.

Formålet med dette projekt har derfor været at undersøge overlevelse af udvalgte indikatororganismer og patogener i kontakt med diverse rørmaterialer og i rør udtaget fra ledningsnet med fokus på samspillet mellem vandfase og biofilm. Desuden undersøges betydningen af arbejdsprocedurer ved udskiftning af rør i ledningsnet, og om ledningsreovering kunne udgøre en risiko for den mikrobiologiske drikkevandskvalitet.

Indledningsvis blev det afdækket hvordan vandledninger reoveres . En gennemgang af ledningsreoveringen i Nordvand A/S identificerede en række risici for den mikrobiologiske drikkevandskvalitet, både før, under og efter reoveringen. På denne baggrund er der udarbejdet anbefalinger til vandforsyninger om reovering af vandledninger - herunder at indersiden af rør ikke kommer i kontakt med de ydre miljø ved opbevaring, at ledningsreovering bør foregå så kontrolleret som muligt, at personalet er trænet i hygiejne ved ledningsreovering, at der foreligger faste procedurer for ledningsreovering mv.

Mikrobiologiske analyser af vand fra udgravede huller til rørføring, viste at dette 'muddervand' havde høje kimtal og et væsentligt indhold af indikatororganismer (coliforme, *E. coli* og enterokokker). Vand fra huller kan derfor give problemer i ledningsnettet, hvis det kommer i kontakt med indersiden af rør ved rørføring. Derfor er det hensigtsmæssigt, at reoveringsproceduren sikrer, at vand i stikledningshuller o.l. fjernes.

Dette projekt har medført, at Nordvand A/S har udarbejdet mere strukturerede arbejdsgange og indført nye procedurer i deres reoveringsarbejde. Efter indførelse af de nye procedurer i Nordvand A/S har der kun været spredte forekomster af forhøjede kimtal ved ledningsreoveringer. Dette projekt har vist, at høje kimtal som følge af reovering af vandledninger kan forhindres ved god hygiejne og standardiserede procedurer ved ledningsreoveringer.

For at kunne vurdere risikoen ved en mikrobiel forurening af ledningsnettet ved ledningsreovering blev overlevelsen af en række bakterier i drikkevand undersøgt. Dette omfattede syv *Escherichia coli*, syv *Klebsiella pneumoniae* og seks *Campylobacter jejuni* stammer, som var isoleret fra både patienter og miljøet. Startkoncentrationen af *E. coli* og *K. pneumoniae* var 100-200 celler/ml og 1000 celler/ml for *C. jejuni*, hvilket var et lavt koncentrationsniveau tæt på et realistisk niveau. Samtlige stammer af indikatororganismerne *E. coli* og *K. pneumoniae*

(coliform bakterie) overlevede i mere end fire uger i drikkevand, hvilket var relativt lang tid, da vandets opholdstid sjældent er mere end en uge i ledningsnettet. Stammerne af den patogene bakterie *C. jejuni* kunne derimod kun påvises i vandfasen i to til fem døgn med den anvendte metode. Samlet set overlevede *K. pneumoniae* stammer bedre ($T_{1/2}$: 11-42 døgn) end *E. coli* ($T_{1/2}$: 6-18 døgn). Alle *E. coli* og *K. pneumoniae* stammerne kunne også detekteres i biofilmen på PE-rør, hvorimod ingen af *C. jejuni* stammerne kunne detekteres i biofilmen.

Derudover var der en tendens til at *K. pneumoniae* i højere grad koloniserede biofilmen på indersiden af rør end *E. coli*. Der var dog altid højere koncentrationen af både *E. coli* og *K. pneumoniae* i vandfasen end i biofilmen. Derudover var der altid et signifikant henfald af *E. coli* og *K. pneumoniae* i vandfasen i forsøgsperiodens 4 uger, hvorimod biofilmkoncentrationen var forholdsvis stabil, hvilket tyder på, at der er en bedre overlevelse i biofilmen.

Overlevelsen af *E. coli* og *K. pneumoniae* i drikkevand blev hæmmet ved tilstedeværelse af plastrør (PE (polyethylene), PEX (cross-linked polyethylene) og silicone), og effekten afhang af materialetypen. Silicone havde størst effekt på overlevelsen efterfulgt af henholdsvis PE og PEX (silicone >> PE > PEX). Begge indikatororganismer kunne påvises i biofilm på alle tre plastmaterialer i løbet af forsøgsperioden på 4 uger. Tilstedeværelse af plastrør havde ingen effekt på overlevelsen af *C. jejuni* i drikkevand, og det var ikke muligt at påvise *C. jejuni* i biofilmen på nogen af plastrørene. Der var ikke tydelig forskel i *E. coli* og *K. pneumoniae* biofilmkolonisering mellem de tre undersøgte plastmaterialer, selvom der var en højere biofilmdensitet på silicone end på PE og PEX.

Afslutningsvis blev det undersøgt, hvordan indikatororganismer og patogener overlever under realistiske forhold, dvs. i rør udtaget fra ledningsnettet med kalkudfældninger og en moden biofilm. Begge indikatororganismer – *E. coli* og *K. pneumoniae* – blev påvist i både vandfase og biofilm i mere end fire uger i PE-rør, mens de kun kunne påvises i 14 døgn i vandfase og biofilm i støbejernsrør. *C. jejuni* blev påvist i systemet i op til tre døgn med den anvendte analysemetode – og kun i vandfasen. *C. jejuni* kan muligvis være til stede i en ikke-dyrkbar tilstand, men det er uvist om cellerne er infektiøse i dette stadie. Der var væsentligt flere bakterier (total ATP) i vandfasen i støbejernsrør end i de tre undersøgte PE-rør, og støbejernsrørene havde en højere biofilmdensitet end PE-rørene. Ydermere viste det sig, at jo ældre PE-røret var, jo større var biofilmdensiteten og de undersøgte indikatororganismer koloniserede i højere grad denne biofilm.

Dette projekt har vist, at høje kimtal som følge af reovering af vandledninger kan forhindres ved at indføre god hygiejne og standardiserede procedurer ved ledningsreoveringer. Derudover er det vigtigt, at vand fra stikledningshuller ikke kommer i kontakt med rørens inderside ved rørføring, da det kan give problemer med den mikrobiologiske drikkevandskvalitet i ledningsnettet. Laboratorieforsøg med nye og gamle rør viste, at indikatororganismerne kan kolonisere indersiden af rør og overleve i mere end 4 uger. Laboratorie-undersøgelser viste også, at rørmaterialer har indflydelse på overlevelsen af indikatororganismer og sandsynligvis også patogener, hvor indikatororganismerne overlevede i drikkevand i 2 uger i støbejernsrør udtaget fra ledningsnettet i forhold til 4 uger i plastrør (PE, PEX).

Summary and conclusions

Following several of the larger contamination incidents in drinking water supplies, indicator organisms (coliforms, *E. coli*, enterococci) have been present in the distribution network for a long time even after extensive flushing. For example *E. coli* and coliforms were present in the distribution system of Aarhus for 5 to 6 weeks (2002), without the source being identified. Numerous observations regarding the presence of indicator organisms in drinking water distribution systems can not be explained by the current knowledge. In order to evaluate the significance of such presence of coliforms, it is necessary to gain further knowledge on which circumstances they can survive - or maybe even grow - in distribution systems.

The purpose of this project was to investigate the survival of selected indicator organisms and pathogens in contact with different types of pipe material and in pipes collected from distribution systems with special focus on the interaction between water phase and biofilm. Furthermore the purpose was, to investigate the influence of working procedures when replacing distribution pipes, including whether renovation of pipes represents a risk for the microbial drinking water quality.

Firstly, the working procedures during renovation work were mapped. An assessment of the working procedures at Nordvand A/S identified a series of risks for the microbial drinking water quality before, during and after the renovation work. Based on the identified risks a number of recommendations for the water supplies were prepared – including storage of new pipe preventing the inner surfaces to get in contact with the environment, the renovation work should be performed as controlled as possible, the staff should be trained in hygiene, defined procedures for the renovation work etc.

Microbial analysis of the water from renovation dig-outs revealed high bacterial counts and a significant level of indicator organisms (coliforms, *E. coli*, enterococci). This water can cause problems in the distribution network if it gets in contact with the inner surfaces of the new water pipes. Therefore the working procedure during renovation should always include removal of water from the dig-outs.

This project has lead to Nordvand A/S having more structured work procedures for pipe renovation. After the implementation of the new procedures, Nordvand A/S has only experienced few occurrences of high bacterial counts in relation to pipe renovation. Thus the project demonstrated that high bacterial counts following pipe renovation can be prevented by good hygiene and standardised working procedures.

To evaluate the risk of a microbial contamination in relation with renovation work, the survival of a number of bacteria was investigated. This work included seven strains of *Escherichia coli*, seven strains of *Klebsiella pneumoniae* and six strains of *Campylobacter jejuni*, isolated from both clinical patients and the environment. Initial concentrations of *E. coli* and *K. pneumoniae* were 100-200 cells/ml and of *C. jejuni* 1000 cells/ml, which are low concentrations close to realistic levels. All strains of the indicators *E. coli* and *K. pneumoniae* survived for more than four

weeks in drinking water, which is a relative long time considering that the residence time of drinking water in distribution networks usually is shorter than one week. Strains of the pathogen *C. jejuni* were only detected in the water phase for two to five days by the applied analysis method. In general strains of *K. pneumoniae* ($T_{1/2}$: 11-42 days) survived better than strains of *E. coli* ($T_{1/2}$: 6-18 days). All strains of *K. pneumoniae* and *E. coli* could also be detected in the biofilm on PE-pipes, while none of the *C. jejuni* could be detected in biofilms.

Generally *K. pneumoniae* colonised the biofilm of the pipe surfaces to a higher degree than *E. coli*. However, the water phase concentration of *K. pneumoniae* and *E. coli* was always higher than the biofilm concentration. *K. pneumoniae* and *E. coli* always decayed significantly in the water phase during the four weeks investigated, while the biofilm concentration was relatively stable. This indicated a better survival in the biofilm.

The survival of *E. coli* and *K. pneumoniae* in drinking water was inhibited by the presence of plastic materials (PE (polyethylene), PEX (cross-linked polyethylene) and silicone) and the degree of the effect depended on material type. Silicone had the strongest inhibition on the survival in the water phase followed by PE and PEX (silicone >> PE > PEX). Both indicator organisms were detected in the biofilm on all three materials during the four weeks investigated. Contact with plastic pipes had no effect on the survival of *C. jejuni* in drinking water and *C. jejuni* was not detected in biofilms on any of the materials. There was no clear distinction between the colonisation of the biofilm on the three materials, though the biofilm density was higher on silicone than on PE and PEX.

It was investigated how indicator organisms and pathogens survived under realistic conditions, i.e. in pipes collected from a real distribution system, with scalings and mature biofilms. Both indicator organisms - *E. coli* and *K. pneumoniae* – were detected both in the water phase and in the biofilm for more than four weeks in PE pipes, but only for two weeks in cast iron pipes. *C. jejuni* was detected in the pipes for up to three days by the applied analysis method, and only in the water phase. *C. jejuni* might be present in a viable-but-not-culturable state, but it is unknown whether the cells are infectious in this state. There were significantly more bacteria (total ATP) in the water phase of cast iron pipes than in the investigated PE pipes, and the biofilm density on cast iron pipes was larger than on PE pipes. The older the PE pipe was the higher was the biofilm density and the higher degree of colonisation of the biofilm with indicator organisms.

The project has demonstrated that high bacterial counts following pipe renovation can be prevented by good hygiene and standardised working procedures. It is important that water from the renovation dig-outs do not get in contact with the inner surfaces of the new water pipes, since this can affect the microbial drinking water quality. Laboratory investigations with new and old pipes collected from real distribution systems demonstrated that indicator organisms can colonise the surfaces of pipes and survive for more than four weeks. Laboratory investigations demonstrated that pipe material influenced the survival of indicator organisms and most likely also the survival of pathogens, with indicator organisms surviving in drinking water for two weeks in cast iron pipes and four weeks in plastic pipes (PE, PEX).

1 Introduktion

1.1 Baggrund

I forbindelse med en række større forureningsager har indikatororganismerne (coliforme, *E. coli*, Enterokokker) været til stede i ledningsnettet i lang tid, selv om ledningsnettet er blevet skyllet grundigt. For eksempel var *E. coli* og coliforme til stede i Århus' ledningsnet i 5-6 uger (2002), uden at årsagen til dette blev afdækket. Ydermere blev coliforme påvist i husinstallationer i 13-21 uger efter forureningerne i Vanløse-Brønshøj i København og i Kirkelte i Nordsjælland (Reul et al., 2002).

Skiftet i analysemetoder for coliforme bakterier 1. maj 2005 til metoder med større følsomhed har også ført til en øget påvisning af coliforme (Guldbæk & Bagge, 2007). Således var der en fundprocent på 38% i Østjylland de første 7 måneder af 2006 (Østergaard, 2006). Dette afspejler næppe, at vandkvaliteten er blevet forringet, men måske at der er en større direkte tilførsel af overfladevand i vandforsyningerne end hidtil antaget. Indtrængen af overfladevand kan medføre forurening med patogener, og således er beskyttelsen af vandkvaliteten ringere end forventet. For at kunne vurdere alvorligheden af denne forekomst af coliforme, er det afgørende at have kendskab til, i hvilket omfang og under hvilke betingelser de overlever – og om de eventuelt ligefrem vokser i ledningsnettet. For eksempel overlever *E. coli* bedre i drikkevand under anaerobe forhold (Roslev, 2003), og bundsediment i ledningsnet, hvor der muligvis kan opstå iltfrie lommer, kan derfor have betydning for overlevelsen af *E. coli*.

Selv om der foreligger en del undersøgelser af, hvorledes forskellige patogener (for eksempel *Campylobacter*) overlever i drikkevand under laboratorieforhold (dvs. forsøg udført i glasflasker uden kontakt med røroverflader), er der meget ringe viden om, hvorledes patogener overlever under realistiske forhold i rør med kalkudfældninger, rust og biofilm. Silhan et al. (2006) fandt, at overlevelsen af *E. coli* i brugte rør (det vil sige rør med kalkudfældninger, rust og biofilm) var større i plastrør end i rør af galvaniseret stål eller kobber. Der er imidlertid ringe viden om, i hvilket omfang erfaringer fra indikatororganismernes overlevelse i ledningsnet kan overføres til patogener – som for eksempel *Campylobacter*.

Vandforsyningerne (fx Nordvand A/S) observerer ofte, at der ved reovering af ledningsnettet kan være meget vanskeligt at opnå en tilfredsstillende mikrobiel drikkevandskvalitet (primært mht. kimtal 22 og kimtal 37) i en nyligt udskiftet ledningsstrækning. Denne mikrobielle vækst kan skyldes afgivelse af organiske stof fra plastrørene, indtrængen af 'boremudder' under udskiftningen eller indtrængen af jord og slam fra gamle dele af ledningsnettet. Der er en lang række forhold og observationer i vandforsyningerne af forekomst af indikatororganismer i ledningsnet, som ikke kan forklares med den nuværende viden.

Denne rapport gennemgår indledningsvis metoder til ledningsreovering – herunder også hvordan vandforsyningen Nordvand A/S udfører planlagte ledningsreoveringer, for at identificere kritiske faser i reoveringsarbejdet. Det vil

sige, hvor der er risiko for forurening af vandledningen, for eksempel indtrængen af boremudder eller jord.

Dernæst giver rapporten et overblik over samtlige ledningsrenoveringer foretaget i Nordvand A/S i perioden 2006-2008. For samme periode analyseres de renoveringssituationer, hvor grænseværdierne for kimtal 22 og kimtal 37 overskrides efter ledningsrenovering.

Anden halvdel af rapporten beskriver resultatet af en række laboratorieforsøg om overlevelse af indikatororganismer og patogener i drikkevandsystemer, af hvilke faktorer der er styrende for deres overlevelse. Indledningsvis blev overlevelsen for flere stammer af både indikatororganismer (*E. coli* og *K. pneumoniae*) og en patogen organisme (*C. jejuni*) undersøgt, herunder hvorvidt der er forskel i overlevelse mellem forskellige stammer af samme organisme.

Efterfølgende er det undersøgt, hvad valg af rørmaterialer betyder for overlevelsen af indikatororganismer og udvalgte patogener både i vandfase og i biofilm. Desuden er væksten af den generelle mikrobielle population undersøgt, da nogle plastrør giver anledning til en væsentlig bakteriel vækst såvel i vandfasen som i form af biofilmdannelse (Corfitzen et al., 2002; van der Kooij et al., 2003, 2006).

Sidste del af rapporten omhandler, hvordan 'rigtige' rør udtaget fra ledningsnettet – både plast- og støbejernsrør – påvirker overlevelsen af indikatororganismer og patogener i drikkevand. Det vil sige, hvordan overlevelsen påvirkes i rør med rust og kalkudfældninger, med særligt fokus på tilstedeværelsen af en moden biofilm.

1.2 Formål

Projektets overordnede formål har været at undersøge samspillet mellem overlevelse af udvalgte indikatororganismer og patogener i kontakt med diverse rørmaterialer og i rør udtaget fra ledningsnet. Et delformål har været at undersøge, hvorvidt forskellige materialetyper og den øgede bakterievækst, som nogle materialetyper stimulerer, har betydning for overlevelsen af indikatororganismer og patogener.

For at kunne optimere valg af materialer til ledningsnet, sikre og forbedre vandets mikrobiologiske kvalitet i distributionssystemerne og optimere strategier til ledningsnettets vedligeholdelse og renovering blev følgende undersøgt:

- Betydningen af arbejdsprocedurer ved udskiftning af rør i ledningsnet, herunder indtrængen af boremudder eller jord ved ledningsrenovering.
- Analyse af ledningsrenoveringer i vandforsyningen Nordvand A/S i perioden 2006-2007.
- Betydningen af materialevalg (stål, plast) for overlevelsen af udvalgte indikatororganismer og patogener
- Styrende faktorer for overlevelsen af indikatororganismer og patogener i nye drikkevandsrør og rør udtaget fra ledningsnettet - først og fremmest samspillet med rørens biofilm og indflydelsen af sediment i bunden af ledningsnettet.

Projektet vil således under virkelighedsnære forhold give ny viden om forekomst af bakterier og overlevelsen af patogener i distributionsnet, og hvorledes materialevalg og renoveringer indvirker på denne overlevelse. Desuden forventes projektet at bidrage til at forbedre de hygiejniske procedurer ved ledningsrenoveringer.

2 Renovering af vandledninger

Ved renoveringsarbejde på ledningsnettet i Nordvand A/S, har der været flere tilfælde med forhøjede kimtal – både kimtal 22 og kimtal 37, som ikke umiddelbart kunne forklares. Udover kimtal blev der også analyseret for *E. coli* og coliforme bakterier. Disse indikatororganismer blev dog ikke påvist, så der var næppe tale om en fækal forurening. Inden ledningen tages i brug, udtager Nordvand A/S prøver af drikkevandet, efter at vandet har gennemløbet den nye ledning, for at sikre at de mikrobiologiske krav er opfyldt.

På grund af de forhøjede kimtal har vandforsyningen skyllet de nye ledninger over en længere periode og i enkelte tilfælde også været nødt til at desinficere ledningerne. De forhøjede kimtal kan skyldes, at

1. de nye plastrør, som lægges, har fungeret som ekstra substratkilde
2. de nye rør er blevet forurenede med organisk materiale, f.eks. jord eller overfladevand,
 - under opbevaring, det vil sige inden renoveringen
 - under selve renoveringsarbejdet, hvor arbejds gange, valg af renoveringsmetode og manglende hygiejne under ledningsrenovering hos den enkelte renoveringsarbejder kan have haft indflydelse.

For at kortlægge risikofaktorer ved renoveringsarbejdet beskrives de mest anvendte metoder til renovering af vandledninger og de metoder og procedurer, som Nordvand A/S følger under og efter renoveringen. Der fokuseres således på fremgangsmåden ved planlagt renovering af vandledninger og ikke renovering ved ledningsbrud.

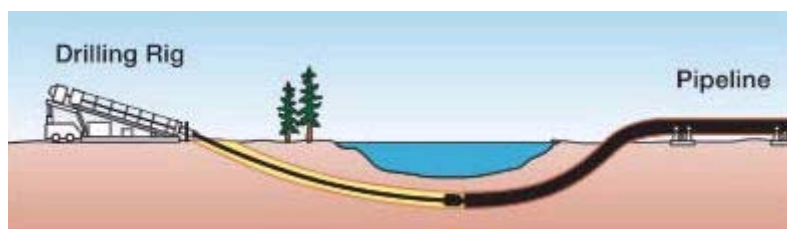
2.1 Teknikker til ledningsrenovering

Renovering af vandledninger udføres oftest ved hjælp af no-dig metoder, hvor der lægges nye ledninger og udskiftning af gamle vandledninger uden opgravning. Der er sket en stadig udvikling af teknikken, så der i dag kan etableres ledninger af høj kvalitet og under langt de fleste jordbundsforhold (Oppenhagen, 2000). No-dig metoder anvendes, hvor normale graveforhold er vanskelige eller uhensigtsmæssige - de er mindre tidskrævende og giver færre gener for beboere, trafik og miljø; især trafikken forstyrres i et meget mindre omfang end ved brug af de traditionelle gravemetoder. Derudover er der også økonomiske fordele, da det er billigere at reetablere overflader efter anvendelse af no-dig metoder. I det følgende gives et overblik over de forskellige variationer af no-dig metoderne.

2.1.1 Styret underboring

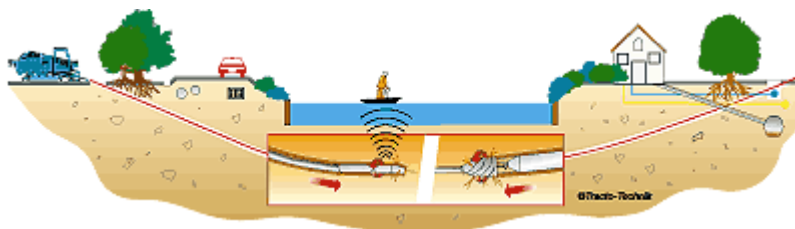
Ved styret underboring styres et borehoved i en forudbestemt dybde, uden opgravning. Proceduren starter ved at grave et hul, som er udgangspunktet for boringen (starthul) samt et hul, hvor boringen afsluttes (modtagehul). Boringen foregår som regel mellem to gravede huller, men kan også udføres fra og til jordoverfladen (Figur 1; Figur 2) eller i kombination (Oppenhagen, 2000). Derudover udgraves huller, hvor den nye PE-ledning skal forbindes til

stikledninger eller tilsluttes til anden forsyningsledning. Ved udskiftning af en vandledning lægges den nye parallelt med den eksisterende ca. en meter forskudt.



Figur 1: Styret underboring fra og til jordoverfladen. Figuren illustrerer tilbagetrækningen af ledning under en sø (www.umn.dk, 2008).

Indledningsvis placeres boremaskinen med den rigtige hældning og retning ved starthullet. Boremaskinen kan rotere boret og trykke det fremad. Boret består af hule borestænger, som samles med gevindsamlinger, efterhånden som boret føres frem. Under normal fremdrift roterer borehovedet; såfremt retningen skal ændres eller korrigeres, stoppes rotationen, og boret presses fremad uden rotation. Borehovedet har en asymmetrisk spids, som gør, at retningen ændres eller tvinger borestangen tilbage i den rigtige retning (Nielsen et al., 2001). Hele processen styres af maskinføreren på boremaskinen, ved hjælp af et navigationssystem. Selve borehovedet indeholder en sender, som giver signal om dybde, retning/hældning og temperatur mv. til en modtagerstation på terræn, som bæres af en navigatør, der går i nærheden af borehovedet (Figur 2). Modtageren sender signalerne videre til et display på boremaskinen, så maskinføreren også kan se forholdene omkring borehovedet. Navigatøren giver også via radiokontakt løbende maskinføreren besked på, hvornår og hvor meget retning eller dybde skal ændres (Oppenhagen, 2000)(Nielsen et al., 2001).



Figur 2: styret underboring fra og til jordoverfladen. Figuren illustrerer fremboringen under en sø, hvor signalet fra borehovedet omkring dybde og retning bliver modtaget til person på terræn og tilbagetrækning af reamer og påmonteret ledning (www.umn.dk, 2008).

Der bores først frem med en relativt lille dimension. Når borehovedet er nået frem til sluthullet, afmonteres det, og der påmonteres en reamer (udvider) med en udvendig diameter, der er lidt større end den PE-ledning, som skal lægges. Når borestængerne trækkes tilbage, udvider reameren borehullet til den ønskede dimension, dvs. passende til det planlagte rør (Oppenhagen, 2000). PE-ledningen forsynes med en trækfast afslutningsprop og fastgøres til reameren, hvorefter boremaskinen trækker borestangen med reamer og det påmonterede rør tilbage til boremaskinen – udgangspunktet for boringen. Ved tilbagetrækning af borestang og PE-ledning, roterer borestang og reamer. Der er en drejelig kobling på reameren, så den kan rotere, uden at røret samtidig drejes med rundt. Når reameren er nået tilbage til boremaskinen med det fastgjorte rør, adskilles reamer og rør; derefter tilsluttes ledningen i begge ender (Nielsen et al., 2001).

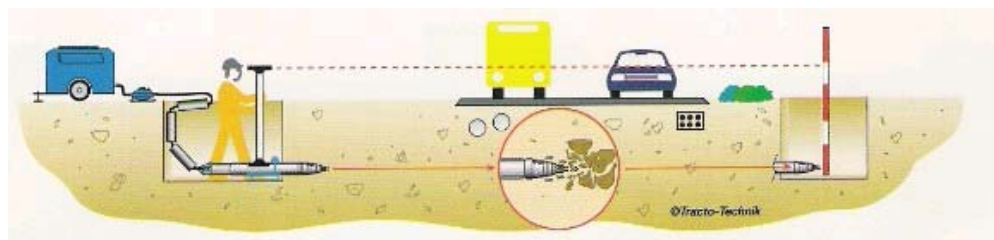
Ved styret underboring er forbrugerne sikret vandforsyning fra det gamle system, undtagen 1-2 timer hvor stikledningen kobles på den nye ledning. Vandforsyningen udskifter stikledningen ind til skel.

Under boreprocessen føres boremudder gennem den hule borestang frem til nogle huller i borehovedet og reameren, hvor det strømmer ud i borehullet. Boremudderen har flere funktioner: at stabilisere boretunnelen, så borehullet ikke falder sammen, at køle og smøre borehoved og borestang under boringen, at transportere borematerialer, samtidig med at det blandes med det løsborede materiale og fungerer som smøremiddel ved tilbagetrækningen af PE-ledningen (Nielsen et al., 2001). De geologiske forhold afgør valg af tilsætningsmidler i borevæsken. I fleste tilfælde anvendes boremudder af en vand- og bentonitblanding (Wessels et al., 2005).

2.1.2 Jordraketen

Jordraketen anvendes til at lægge stikledninger for gas, vand og el. Jordraketten er et trykluftdrevet hammerhoved, som vibrerer gennem jorden. Hammerhovedet kan gå i begge retninger, dvs. enten kan en svejset PE-ledning trækkes efter jordraketten eller raketten kan køre frem og trækkes tilbage med PE-ledningen efter sig (Nielsen et al., 2001).

Proceduren starter med udgravning af to huller - et starthul og et modtagehul. Raketten placeres i starthullet. Rakettenes nøjagtige placering justeres med laser i henhold til en målepind i modtagehullet (Figur 3). Tryklufthanlægget, som typisk er placeret i en bil, får en hammer i raketten til at bevæge sig fremad. Efter at raketten har arbejdet sig ud i modtagehullet, kan man montere røret på luftslangen og trække det med tilbage til starthullet eller blot trække raketten tilbage og manuelt skubbe ledningen gennem hullet. Dette afhænger af længde af skydningen og de geologiske forhold (Nielsen et al., 2001).



Figur 3: Boring med jordraketen mellem to udgravede huller under en vej (www.umn.dk, 2008).

Jordraketten og den forreste spids udformes meget forskelligt afhængig af fabrikat, og hvilken jordart jordraketten er beregnet til (Nielsen et al., 2001). Metoden er velegnet i både ler, sand og grus, men ikke i bløde jordarter, hvor hammerens vægt ofte betyder, at den synker og kommer ud af kurs. Nøjagtigheden, hvormed den rammer slutpunktet, er typisk 1 % af ledningslængden (Nielsen et al., 2001).

Jordrakter kan være styrede med samme princip som ved styret underboring, hvor borehovedet er asymmetrisk. Raketten styres ved at dreje luftslangen, men styringen er vanskelig (Nielsen et al., 2001). En symmetrisk raket har tendens til at gå opad, da de fleste trykbølger går i den retning, hvor jorden kan løftes. Rakettenes asymmetri ophæver denne asymmetri, så raketten kører vandret (Nielsen et al., 2001).

2.1.3 Hammerboring

Fremdriften ved hammerboring er lufthammerslag. Forskellen mellem hammerboring og jordraket er, at borehovedet ved hammerboring også roterer, mens det bankes frem (Nielsen et al., 2001). Borehovedet er også asymmetrisk og kan styres. Maskiner til hammerboring findes både som terrænmodel, som er pladskrævende, og som pitmodel, hvor der udgraves et hul til boremaskinen, hvor hullets sider anvendes som modhold ved boring og trækning (Nielsen et al., 2001). Princippet med metoden svarer til styret underboring, bortset fra at der ikke anvendes boremudder.

2.1.4 Rørsprængning og relining

Når der lægges en ny PE-ledning af samme dimension eller større end det gamle rør, kan det gamle rør sprænges. Proceduren starter med opgravning ved samtlige stikledninger. Inden selve rørsprængningen starter, skæres de eksisterende anboringsbøjler og de tilknyttede stikledninger over for at lette skærehovedets passage (www.fvd.dk, 2008). En wire presses igennem det eksisterende rør til sluthullet, hvor der påmonteres et skærehoved og den nye PE-ledning bag skærehovedet, og efterfølgende trækkes skærehoved og PE-ledning tilbage. Skærehovedet sprænger ledningen og skaber dermed plads til den nye PE-ledningen. Efterfølgende tilsluttes ledningen forsyningsnettet, og alle stikledninger tilkobles (www.fvd.dk, 2008).

Ved relining føres et nyt rør igennem et allerede eksisterende rør (Figur 4). Det nye rør vil have en mindre dimension end det gamle og dermed også mindre gennemstrømning. Derudover er proceduren for relining den samme, som beskrevet for rørsprængning.



Figur 4: Relineing i Nordvand A/S 2008.

Rørsprængning eller relining, skylning af den nye ledning, eventuel desinfektion og tilslutning planlægges ofte, så det hele kan udføres i løbet af samme arbejdsdag. Dermed kan renoveringen gennemføres uden at etablere nødforsyning (www.fvd.dk, 2008). Det er imidlertid en ulempe, at det dermed ikke umiddelbart er muligt at udtage vandprøver til kontrol af skylning og desinfektion, og det er heller ikke muligt at foretage en egentlig trykprøvning af de færdige installationer.

2.2 Risikovurdering af ledningsreovering i Nordvand A/S

Nordvand A/S anvender styret underboring, rørsprængning eller relining ved reovering af ledningsnettet og deres anvendelse i Nordvand A/S beskrives i det følgende.

2.2.1 Styret underboring

I Nordvand A/S udføres styret underboring, som beskrevet i afsnit 2.1.1., i længder op til 200 m ad gangen. Af praktiske årsager udføres ofte kun 100-120 m ad gangen, idet der skal være plads til de sammensvejsede PE-ledninger i nærområdet, inden de lægges (Lindhardt, 2008). Ved boring af en strækning på 100-120 m produceres ca. 10 tons boremudder, hvilket svarer til hvad der kan opsamles i en slamsuger (Pedersen, 2008).

Når ledningen er trukket på plads, kobles den på det eksisterende ledningsnet i den ene ende. Den anden ende efterlades, så den når op af sluthullet til en efterfølgende skylning af ledningen og prøvetagning af drikkevand til analyse af de mikrobiologiske parametre. Derefter monteres de planlagte T-stykker, ventiler m.v. på ledningen (Lindhardt, 2008).

Nordvand A/S anvender bentonit opslæmmet i vand (Bentonite af typen Tunnelgeltm fra firmaet Baroid) som boremudder ved styret underboring (Lindhardt, 2008).

2.2.2 Rørsprængning og relining

Når der udføres rørsprængning eller relining i Nordvand A/S, er proceduren som tidligere beskrevet (jf. afsnit 2.1.4). Disse to metoder benævnes i det følgende samlet som relining.

Når Nordvand A/S anvender relining som reoveringsmetode, indledes arbejdsgangen med at blotlægge ledningen to steder - et starthul og et modtagehul. En til to meter af den eksisterende ledning fjernes i start- og modtagehullet. Der blotlægges tillige stiktilslutninger og andre forgreninger mellem start- og modtagehullet. Afstanden er normalt ca. 100 m pr. deletape. I Nordvand A/S foretages relining som regel på små villaveje (Lindhardt, 2008).

Det er ikke muligt at opretholde vandforsyningen, når der udføres relining, og dermed er forbrugerne som regel uden vand i op til otte timer. Alternativt etableres en midlertidig forsyning, dvs. når den nye PE-ledning er lagt, følges samme arbejdsprocedure som ved rørlægning efter styret underboring – herunder undersøgelse af vandkvaliteten (jf. afsnit 2.3.2).

2.2.3 Tilkobling til hovedledning

Når forsyningsledningen er lagt i jorden kobles den til hovedledningen. Der bliver lukket for vandet i hovedledningen på hver side af det sted, hvor indgrebet vil blive foretaget. På hovedledningen fjernes med en sav et stykke ledning, så vandet i hovedledningen kan pumpes op af hullet. Fjernelsen af vandet er vigtig for at forhindre overfladevand i at trænge ind i hovedledningen. Efterfølgende svejses et T-stykke på den gamle hovedledning, som er tilkoblet en ventil, hvor forsyningsledningen kan tilkobles. Tilkoblingen mellem forsyningsledningen og hovedledningen foregår ligeledes ved svejsning.

2.2.4 Tilkobling til stikledning

Når den nye ledning overholder de mikrobiologiske drikkevandskrav, begynder monteringen af stikledninger (Lindhardt, 2008). Stikledningerne monteres ved hjælp af en topanboring, der muliggør, at stikledningerne kan monteres, mens der er normalt forsyningstryk på ledningen. Når alle stikledninger er monteret, kobles den sidste ende af ledningen sammen med det øvrige ledningsnet. Denne operation kræver, at trykket tages af ledningen.

Tilkoblingen sker efter, at forsyningsledningen er sat under tryk. Dermed er operationen mindre udsat for forurening end tilkoblingen på hovedledningerne. Indgrebet sker, uden at omgivelserne er i kontakt med rørets inderside, hvor et bor trænger igennem kappen på forsyningsledningen. I samme forbindelse tilkobles stikledningen. Efter monteringen kontrolleres vandprøverne i beboelsesejendommene ikke, da metoden anses for et være forureningsfri (Lindhardt, 2008).

Der er to forskellige tilkoblinger af stikledninger. Ved stikledninger, der skal forbindes på samme side af vejen, som forsyningsledningen udgraves, der hele vejen til matrikelgrænsen. Skal der tilkobles til den anden side af vejen, sker dette ved en pumpeboring, der skyder boret over til et hul på den anden side af vejen. På den måde beskadiges asfalten ikke (Lindhardt, 2008).

2.2.5 Svejsning

Inden rørene lægges i jorden, svejses endestykkerne sammen. Dette gøres ved hjælp af en stuksvejser, som sikrer temperatur, tryk og afhøvling af rørender. To ender sættes mod hinanden med en afstand af 6 cm, hvorefter en høvlemaskine sikrer en ensartet overflade i hver enkel rørende. Høvlemaskinen er elektrisk drevet uden olie, og den er en del af stuksvejseren. Efter afhøvling afsprittes enderne indvendigt og udvendigt for at undgå statisk elektricitet og for at rense for bakterier. Spritningen foregår ved, at en blomsterforstøver sprøjter en smule sprit (93 % ethanol) på rørene, og der tørres efter med papir. Et svejseapparat tilsluttes begge rørender på samme tid og står i 62 sekunder med et tryk på 14-15 bar. Svejseren skal være på 240°C. Efter opvarmning af enderne fjernes svejseren, og enderne holdes mod hinanden maskinelt i 8 minutter med et tryk på 14-15 bar. Tid, temperatur og tryk bestemmes ved en svejsetabel udleveret af producenten. Efter svejsningen har rørene i sammenføjnngen en vulst både indvendigt og udvendigt med en bredde på 1 cm og en højde på 2-3 mm. Hele svejsningsprocessen sker under halvtag, indtil afkølingen er foretaget. Svejsningen foregår ved samme metode ved tilkobling til hovedledning og tilkobling af stikledninger.

2.2.6 Udgravning af huller

Huller udgraves med dimensionerne ca. 3 x 1 m og ca. 1,5 m i dybden. Hullerne udgraves i forbindelse med tilkobling til hovedledninger og for hver enkelt tilkobling af stikledninger ind til husstande. Efter udgravning og når hullerne forlades, bliver de overdækket med stålplader for at hindre ulykker og for at skærme af for større dyr. Pladerne forhindrer dog ikke overfladevand i at komme i hullet. Hullerne står i mange tilfælde udgravede i flere uger, i visse tilfælde længere end en måned.

2.2.7 Opbevaring af PE-rør

PE-rørene leveres ca. 12 m lange. I de fleste tilfælde leveres rørene direkte på renoveringslokaliteten, hvor de opbevares lukket med en prop i hver ende, indtil de

skal lægges. Varigheden af opbevaringen varierer, flere uger er ikke usandsynligt. Proppen går omkring 3 cm ind i røret, så røret er tæt. Hvis proppen ikke er tæt og rørene opbevares, hvor de kan overskyldes af overfladevand ved kraftige regnskyl, kan overfladevand trænge ind i røret og forurene det. For at undgå overtryk i røret, har proppen et lille hul, hvor en forurening kan introduceres.

2.3 Særlige procedurer ved ledningsrenovering i Nordvand A/S

2.3.1 Skylningsprocedure af nye rør

I Nordvand A/S skylles alle nye forsyningsledninger igennem, inden de tages i brug, og vandet analyseres for kimtal 22, kimtal 37, coliforme bakterier og *E. coli* (Lindhardt, 2008). Dvs. at drikkevandet i den nye ledning undersøges for, om de mikrobiologiske krav er opfyldt, inden ledningen endeligt tilkøbes det eksisterende ledningsnet og tages brug.

I vandforsyningen er der udviklet en skylningsprocedure til at skylle nye ledninger, som afhænger af ledningsdiameter og længde. Der åbnes kontrolleret for vandet for at mindske eventuel turbulens, der kan få bundfældet materiale til at hvirvle rundt i røret. For 50-125 mm ledninger gennemskylles kraftigt med frit afløb ved 1. skyl, mens ledninger større end 160 mm skylles igennem med en 4" brand-slange for enden af ledningen (1. skyl) (Tabel 1). Alt efter dimension og længde skylles der mellem 1 og 12 timer. Derefter monteres vandmåler og prøvehane ved afgang af ledningen. Flowet i den nye ledning reguleres, så vandet udskiftes ca. 8 gange i døgnet (2. skyl), indtil ledningen sættes i drift (Lindhardt, 2008). Flowrater ved skylning af diverse ledningsdimensioner ses i Tabel 1.

Tabel 1: Flowrater ved skylning af 100 m nylagt ledning.

Rørdiameter [mm]	1. skyl	2. skyl [m ³ /døgn]
63	Kraftig skylning	2,0
90	med frit afløb	3,9
110	~10 m ³ /t	5,9
125		7,6
160	Skylles igennem	12,5
180	med 4"	15,8
200	brandslange for	19,5
225	enden	24,7

Den specifikke skylningsprocedure angivet i Tabel 1 blev indført i vinteren 2007 (jf. afsnit 3.1). Inden indførelsen denne procedure blev der som udgangspunkt skyllet kraftigt de første timer, hvorefter skylningen er sat til 4-8 volumen udskiftning i døgnet. Det kraftige skyl er skønnet til at være 10 m³/t for en 90 mm ledning og 4-8 volumen i døgnet, svarende til 1,9-3,8 m³/d for en 90 mm ledning på 100 m (Lindhardt, 2008).

2.3.2 Analyse af drikkevand efter renovering

Inden en ny ledning tages i brug, skal den godkendes med hensyn til de mikrobiologiske kvalitetskrav til drikkevand (Tabel 2), hvilket betyder at kimtal 22 og kimtal 37 ikke må være højere end henholdsvis 200 og 20 CFU/ml, mens de andre indikatorer skal være ikke-målelige. Første kontrol bliver foretaget efter 24 timers skyl og dernæst med jævne mellemrum, indtil den mikrobiologiske vandkvalitet opfylder kravværdierne.

Tabel 2: Kvalitetskrav til mikrobiologiske parametre for drikkevand. i.m.: ikke målelig (Bek nr. 1449, 2007).

Parameter	Enhed	Grænseværdi ved indgang til ejendom
Coliforme bakterier	pr. 100 ml	i.m.
<i>Escherichia coli</i>	pr. 100 ml	i.m.
Kimtal ved 37 °C	pr. ml	20
Kimtal ved 22 °C	pr. ml	200

I Nordvand A/S renoveres normalt 150-400 m pr. etape. Når renoveringsarbejdet er afsluttet, udtages en vandprøve for at undersøge, om de mikrobiologiske parametre opfylder kravværdierne (Lindhardt, 2008). Denne prøvetagning kan være forskelligt organiseret afhængigt af, om der lægges en ny ledning parallelt med den eksisterende (styret underboring) eller om den lægges ind i den eksisterende (relining).

Når den nye ledning lægges ved styret underboring, bliver den koblet på det eksisterende ledningsnet i den ene ende. Den anden ende tilkobles ikke men står åben, så ledningen kan skylles. Efter den indledende kraftige gennemskylning udtages en vandprøve, der analyseres for kimtal 22, kimtal 37, colifome og *E. coli*. Når drikkevandsprøven opfylder kvalitetskravene, udtages ikke yderligere prøver på den pågældende etape. Samtidig med prøvetagningen fra den nye ledning, udtages der også en vandprøve fra den nærmeste brandhane, for at kende vandkvaliteten på det vand, der forventes at løbe gennem ledningen (referenceprøve). Derudover måles vandets temperatur ved prøvetagning (Lindhardt, 2008).

Ved relining kan man etablere en midlertidig forsyning, dermed vil arbejdsgangen, efter at den nye forsyningsledning er lagt, svare til arbejdsgangen ved styret underboring, herunder kontrollen af vandkvaliteten. Hvor man ikke etablerer en midlertidig vandforsyning, men kobler forbrugerne på med det samme, er der ikke mulighed for at udtage en kontrolprøve, før ledningen sættes i drift. Dermed udtages en vandprøve på tidspunktet for ibrugtagning.

2.3.3 Procedure når kvalitetskrav ikke opfyldes

Hvis kvalitetskravene på det nye ledningsnet ikke er opfyldt efter renovering, fortsættes skylningen af den nye ledning, indtil kvalitetskravene opfyldes. Hvis forureningen forsætter, og skylningsproceduren i sig selv ikke er tilstrækkelig, vil ledningen også blive desinficeret med en svamp med Rodalon. Fortsætter forureningen, vil ledningen i sidste ende blive desinficeret med klor. Efter en kloring af ledningerne, ses tit en kortvarig opblomstring af den naturlige vandflora, dermed er det vigtigt at fortsætte med skylningen i den efterfølgende periode.

2.4 Risici ved ledningsrenovering

Renoveringsarbejdet på ledningsnettet i Nordvand A/S er gennemgået for at identificere risici med hensyn til den mikrobiologiske drikkevandkvalitet. Hver enkelt operation, som Nordvand A/S foretager i forbindelse med renoveringsarbejdet, er blevet vurderet. Oversigt over identificerede risici er angivet i Tabel 3.

Tabel 3: Oversigt over risici ved ledningsrenovering.

Stadie	Risici
Inden reovering	<ul style="list-style-type: none"> • Opbevaring af rør: ødelagte rørpropper m.v.
Under reovering	<ul style="list-style-type: none"> • Rørføring – indtrængen af jord/vand/boremudder • Svejsning: afsprøjtning og dannelse af vulst • Tilslutning af hovedledning – indtrængen af vand/jord fra udgravede huller • Åbning for vand – ophvirvling af sediment
Efter reovering	<ul style="list-style-type: none"> • Afsmitning af organisk materiale fra PE-rør
Andet	<ul style="list-style-type: none"> • AOC-indhold i vandet: eftervækst af bakterier • Høj temperatur: eftervækst af bakterier
Uheld	<ul style="list-style-type: none"> • Boring ind i andre ledninger

Inden selve reoveringen påbegyndes, er det vigtigt at rørene behandles og opbevares med omhu, så jord, overfladevand m.m. ikke kommer i kontakt med rørenes inderside. Det kræver, at der holdes øje med rør, hvor endeproppen er sprækket, ødelagt eller ligefrem har manglet under opbevaringen. Det er således vigtigt at hindre, at rørenes inderside udsættes for det ydre miljø, som vil forurene røret og give anledning til eftervækst af bakterier, når røret bliver tilkoblet ledningsnettet.

Ved selve rørføringen kan jord, overfladevand og/eller boremudder trænge ind i røret, hvor proppen på ledningen, som er tilkoblet på reameren, ikke holder tæt, når røret trækkes frem. Boremudder, som bentonit, har en høj viskositet, og kan være svær at skylle ud, og eventuelt fastholde bakterier i røret. Det er dog vurderet, at den nye prop, som Nordvand A/S har indført i 2007 (jf. afsnit 2.5), forhindrer bentonit og andet at komme ind i de nye ledninger under rørføringen. Derudover tyder undersøgelser af bentonit på, at det ikke kan bruges som substrat for bakterier (Wessels et al., 2005).

Tilslutning til hovedledningen forløber oftest uden problemer, men i nogle tilfælde kan overskydende vand fra gamle ledninger komme ind i det åbne rør, efter at have været i kontakt med hullernes sider. Når den gamle ledning saves over, vil vand fra det gamle ledningsstykke fylde hullet op. Det anbefales, at dette vand holdes ude af de åbne ledninger. Derfor er det vigtigt, at vandet pumpes væk og at pumpekapaciteten er større end vandtrykket fra den eksisterende ledning. Efter nedbør vil de udgravede huller desuden blive fyldt med overfladevand, som kan indeholde fækalier fra dyr og jord, da hullerne står åbne op til flere uger. Den mikrobiologiske kvalitet i vand fra udgravede huller er nærmere undersøgt (jf. afsnit 3.2).

Inden svejsning af rørene afsprøjttes ydersiden af rørene med 93 % ethanol, hvilket kan bruges som substrat for bakterier. Det anses dog for at være et minimalt problem, da der er lille sandsynlighed for at dette vil komme i kontakt rørenes inderside. Ved svejsning af rørene opstår desuden en lille vulst inde i rørene, hvor organisk materiale, bentonit eller bakterier kan samles. Det vil derfor være sværere at skylle uønsket materiale ud. Det anses dog kun for at være et mindre problem mht. den efterfølgende mikrobiologiske kvalitet af drikkevandet.

Når der åbnes for vandet i en hovedledning, efter vandet har stået stille i længere tid, kan vandstrømningen ophvirvle bakterier, udfældningsprodukter eller organisk materiale i de eksisterende rør. For at undgå ophvirvling af sediment, kan der åbnes

kontrolleret for vandet, som i Nordvand A/S (jf. afsnit 2.3.1) for at undgå et turbulent flow.

Der er en væsentlig afsmitning fra PE-rør i form af organisk materiale, som kan bruges som substrat og dermed påvirke mikrobiel eftervækst (Corfitzen et al., 2002; van der Kooij et al., 2003, 2006). På grund af kort opholdstid i de nye rør, vurderes det dog usandsynligt, at afsmitning er en væsentlig årsag til de høje bakterieantal, som Nordvand A/S har observeret i forbindelse med ledningsrenoveringer (jf. kapitel 3).

2.5 Procedureændringer i Nordvand A/S i 2007

I efteråret 2006 blev grænseværdierne for kimtal 22 og kimtal 37 overskredet efter at Nordvand A/S havde renoveret nogle af deres vandledninger. Dette gav anledning til mange overvejelser over årsagen til de forhøjede kimtalsværdier i drikkevandet. Identifikationen af diverse risici ved ledningsrenovering, udført af DTU Miljø i samarbejde med vandforsyningen, resulterede i, at der blev strammet op på en række arbejdsgange ved renovering af ledningsnettet.

Et af Nordvands A/S tiltag var at ændre lukningen af den rørende, der bliver monteret på reameren, så der ikke på nogen måde kan presses boremudder/jord ind i røret, når røret trækkes frem. Proppen svejses på enden af røret og fungerer som en spids, der er ca. 1,5 meter lang og er fuldstændig lukket ca. 1 meter inde i røret. Når det nye rør er lagt, fjernes proppen, som kan genbruges, og rørets inderside har dermed ikke været i kontakt med omgivelserne under renoveringsarbejdet. Tidligere blev der anvendt en mekanisk lukkeanordning, der ikke nødvendigvis har været tæt.

Nordvand A/S ville også gerne sikre, at de nye ledninger blev skyllet tilstrækkeligt efter rørføringen. Forskriften for hvordan rørene skal skylles, blev derfor opdateret (jf. afsnit 2.3.1), det vil sige at flow og afløb blev justeret efter rørens dimension. Proceduren blev samtidig genopfrisket for medarbejderne.

Til sidst og ikke mindst var det vigtigt for vandforsyningen, at information til samtlige medarbejdere blev forbedret angående hygiejne ved ledningsrenovering. Alle medarbejdere blev derfor ajourført angående gældende procedurer for ledningsrenovering med fokus på hygiejne.

2.6 Delkonklusion

Ved ledningsrenovering er det vigtigt, at metoden vælges med henblik på gældende omstændigheder, dvs. om der er tale om en forsyningsledning, en stikledning, hvilken jordtype der er tale om, om der skal lægges en ledning ind i en eksisterende ledning eller om en helt ny ledning skal lægges m.v., samt hvilke fordele og ulemper der er ved de forskellige renoveringsmetoder.

En gennemgang af ledningsrenoveringen i Nordvand A/S identificerede en række risici for den mikrobiologiske drikkevandskvalitet, både før, under og efter renoveringen. Derfor foretog vandforsyningen en række specifikke tiltag, for at reducere og til dels eliminere mikrobiologiske problemer, f.eks. i form af implementeringen af ny prop.

Dette projekt har allerede medført, at Nordvand A/S har udarbejdet mere strukturerede arbejdsgange i deres renoveringsarbejde. Det har været nødvendigt at specificere nogle af deres rutiner, som f.eks. flowet ved gennemskylning af nye

ledninger. Generelt blev vandkvaliteten på nye ledningsstrækninger markant forbedret efter indførelsen af den nye prop. Efterfølgende er der dog observeret tilfælde med høje kimtalsværdier, dvs. at alle problemer ikke er løst.

Nordvand A/S anser deres kontrol af den mikrobiologiske kvalitet efter tilkoblingen af en ny ledning som en betydningsfuld forholdsregel, når der udføres renovering af ledningsnettet. Dette er jo ikke almindelig procedure for landets vandforsyninger. Derudover har vandforsyningen også sat fokus på at uddanne personale og samtidig opnå standardiserede metoder ved renovering af ledningsnettet. En gennemgang af skylle- og renoveringsproceduren i Nordvand A/S fremmede bevidstheden hos medarbejderne om problematikker ved ledningsrenovering.

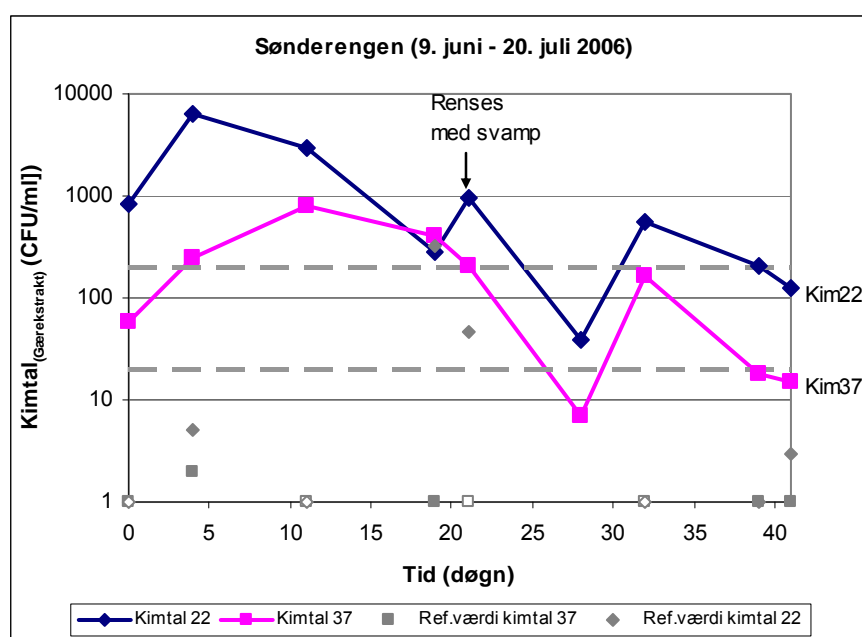
3 Mikrobiologisk vandkvalitet ved ledningsrenoveringer i Nordvand A/S 2006-2008

I en række ledningsrenoveringer i Nordvand A/S hen over sommer og tidlige efterår i 2006 blev vandkvalitetskriterierne ikke opfyldt, og der blev derefter systematisk indsamlet analyseresultater fra de efterfølgende renoveringsopgaver. I det følgende beskrives de fire renoveringsopgaver, der gav problemer med vandkvaliteten i sommeren 2006 samt analyse af data og oplysninger fra renoveringer over en periode på 2 år og 4 måneder.

3.1 Analyse af data og oplysninger ved ledningsrenovering

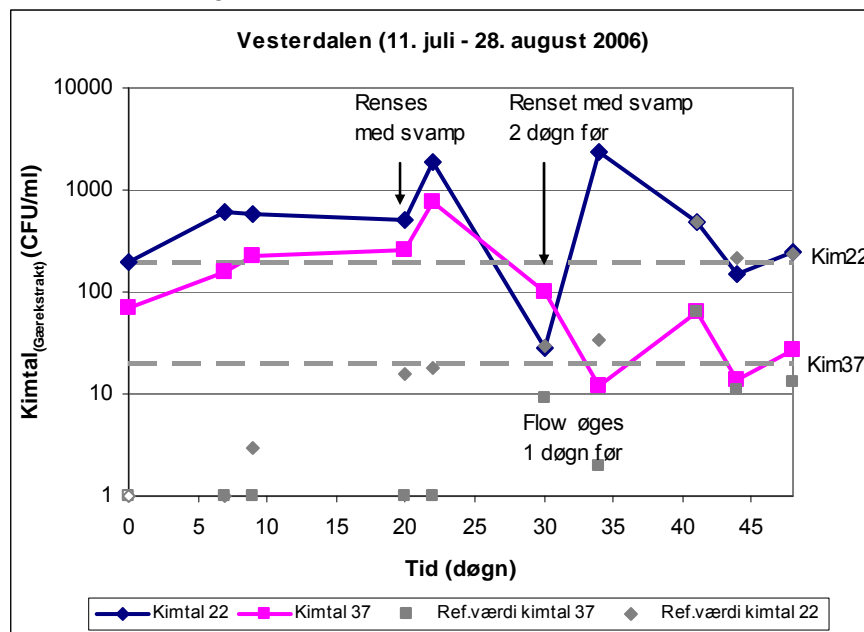
Bilag A er en oversigt over de strækninger, der er renoveret i Nordvand A/S over ca. 2½ år, i alt 50 renoveringsopgaver. I de fleste tilfælde overholdte den første vandprøve på den nyrenoverede strækning de mikrobiologiske krav, men i tolv tilfælde, det vil sige for over en femtedel af de nye ledninger, der blev renoveret i denne periode, tog det fra 4 op til 87 døgn, før drikkevandskravene var opfyldt. Der blev ikke påvist coliforme eller *E. coli* i nogen af tilfældene, men værdierne for kimalt 22 og kimalt 37 var forhøjede.

I juni-august 2006 blev der udført tre renoveringsopgaver (Sønderengen, Vesterdalen, Mindevej - Bilag A), hvor vandkvalitetskravene ikke blev opfyldt i første vandprøve fra den nylagte ledning. På Sønderengen og Vesterdalen tog det relativ lang tid, inden ledningerne var skyllet rene, henholdsvis 6 og 7 uger. Efter ca. 3 ugers gennemskylning, blev strækningerne rensat med svamp med rodalon, hvilket ikke gav nogen markant forbedring. Skylningen fortsatte, og forureningen aftog langsomt over tid (Figur 5; Figur 6).



Figur 5: Udvikling i kimalt 22 og kimalt 37 på Sønderegnen i perioden juni-juli, 2006 efter etablering af nyt PE-rør i ledningsnettet i Nordvand A/S. Ø=125 mm. Stiplede linier angiver kravværdier for kimalt 22 og kimalt 37. Åbne punkter illustrerer, at værdien er <1 CFU/ml.

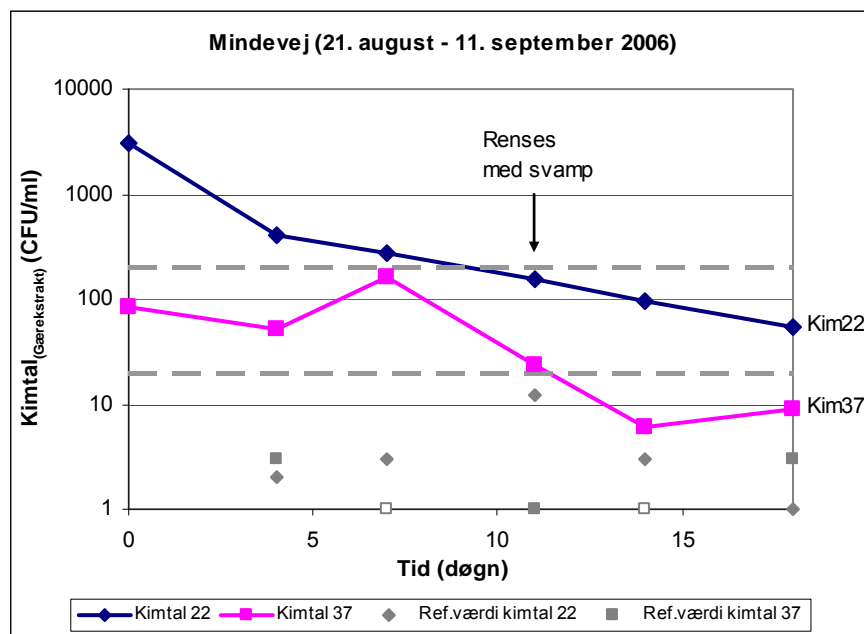
På Sønderegnen blev ledningen rensed med svamp efter tre uger med for høje kimalt (Figur 5). Desinficeringen så ud til at hjælpe på situationen, idet begge parametre var under kravværdien en uge senere, men elleve døgn efter rensningen var begge parametre steget igen. Referenceprøverne var under kravværdierne med hensyn til kimalt 22 og kimalt 37, dermed kan stigningen ikke skyldes dårlig vandkvalitet i det gennemstrømmende vand.



Figur 6: Udvikling i kimalt 22 og kimalt 37 på Vesterdalen i perioden juli-august, 2006 efter implementering af nyt PE-rør i ledningsnettet i Nordvand A/S. Ø=90 mm. Stiplede linier angiver kravværdier for kimalt 22 og kimalt 37. Åbne punkter illustrerer, at værdien er <1 CFU/ml.

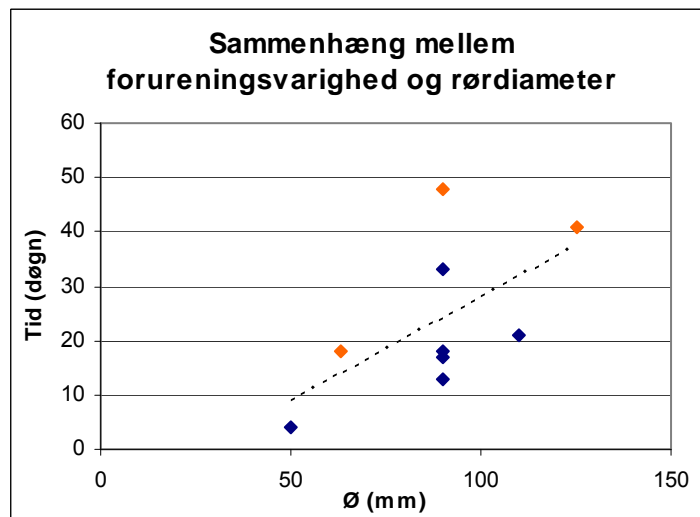
For at komme forureningen til livs ved renoeringen på Vesterdalen, blev der i to omgange rensed med svamp, og efter en forureningsvarighed på 1 måned blev flowet på strækningen også øget til 4 m³/døgn (Figur 6). Efter begge desinfektioner var der en lille stigning for kimalt 22 og kimalt 37 efterfulgt af et fald mod grænseværdien. Det vurderes, at begge tiltag har bidraget til at opnå en acceptabel vandkvalitet på den nye strækning. Sidste prøvetagning viser igen en stigning for begge parametre, hvilket sandsynligvis skyldes, at vandet opstrøms (referenceprøver) i denne periode (referenceprøver) havde for højt kimalt (Figur 6).

På Mindevej gik det hurtigere – knap tre uger – end i de to andre renoeringstilfælde med at skylle forureningen bort (Figur 7). Efter knap to uger blev ledningen rensed med svamp, hvor både kimalt 22 og kimalt 37 efterfølgende fortsat faldt.



Figur 7: Udvikling i kimalt 22 og kimalt 37 på Mindevej i perioden august-september, 2006 efter implementering af nyt PE-rør i ledningsnettet i Nordvand A/S. Ø=63 mm. Stiplede linier angiver kravværdier for kimalt 22 og kimalt 37. Åbne punkter illustrerer, at værdien er <1 CFU/ml.

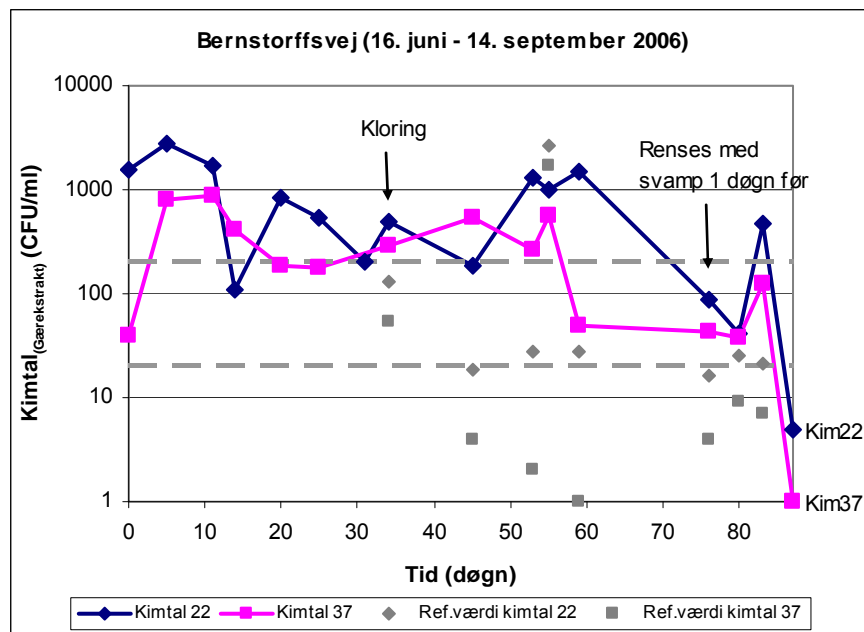
Der er tendens til, at jo større rørdiameteren har været, jo længere tid tog det, inden forureningen blev fjernet (Figur 8). Dette kan være en af årsagerne til, at det i dette tilfælde, hvor ledningsdiameteren var 63 mm gik relativt hurtigere at fjerne forureningen sammenlignet med Søndereggen og Vesterdalen, som havde henholdsvis ø 125 mm og ø 90 mm.



Figur 8: Sammenhæng mellem forureningsvarighed af kimalt 22 og/eller kimalt 37 og rørdiameter for renoveringssituationer i perioden juni 2006 til december 2007. Orange punkter angiver renoveringssituationer inden ændring i arbejdsprocedurer, mens blå punkter angiver renoveringssituationer efter ændring i arbejdsprocedurer. Stiplet linie: lineær regression - korrelation mellem varighed og rørdiameter.

På Bernstorffsvej gik der 87 døgn, inden kimaltallet var under kravværdien på trods af, at ledningen i hele perioden blev grundigt skyllet og desinficeret (Figur 9). Til forskel fra de andre renoveringssituationer, hvor forsyningsledninger blev renoveret, er der i dette tilfælde tale om en råvandsledning, som havde stået tom i

et år inden renoveringen. Først da ledningen blev skyllet med anaerobt vand, opfyldte kimalt 22 og kimalt 37 kvalitetskravene.



Figur 9: Udvikling i kimalt 22 og kimalt 37 på Bernstorffsvej i perioden juni-september, 2006 efter implementering af nyt PE-rør (råvandsledning) i ledningsnettet i Nordvand A/S. Ø=250.

Efter renoveringen på Mylius Erichsens Alle, Høeghsmindevej og Dahlenstræde var der forhøjede kimtalet. Disse tilfælde er ikke illustreret på grund af få prøvetagninger, og fordi forureningen rimeligt hurtigt blev skyllet ud uden desinficering.

På Mylius Erichsens Alle opfyldte første vandprøve efter renoveringen kravværdierne, men efterfølgende sås for høje værdier for både kimalt 22 og kimalt 37. Kimtallet i referenceprøven var også forhøjet, hvilket sandsynligvis har været årsagen til forureningen på den nye strækning.

Den første prøvetagning efter renoveringen på Dahlenstræde viste, at vandkvaliteten var i orden, men en prøvetagning tre dage senere viste forhøjet kimalt 37. Vandet i en af forsyningsledningerne til den nyanlagte ledning, havde en dårlig vandkvalitet (kimalt 22 og kimalt 37), antageligt på grund af stillestående vand, idet der var et meget lille forbrug fra ledningen i forhold til ledningsstørrelsen. Efter en kraftig gennemskylning af denne ledning opfyldte vandkvaliteten i den nye ledning kravværdierne, og forureningen blev forholdsvis hurtigt skyllet væk. På Høeghsmindevej (1. etape) sprang en slutmuffe den første nat efter gennemskylningen, så der frit kunne strømme vand ud. Der blev lukket for vandet om natten, og først dagen efter blev ledningen lukket. Derfor kan det ikke udelukkes, at jordvand kan være trukket ind i ledningen og eventuelt forårsaget forureningen. Forureningen blev dog hurtigt skyllet ud, inden to uger. Forureningen på både Dahlenstræde og Høeghsmindevej har dermed været forbundet med, at kvaliteten på ledningsnettet ikke var i orden og ikke omstændigheder under renoveringsarbejdet.

I tre ud af fire ledningsetaper, som blev renoveret af eksterne entreprenører, har vandkvaliteten ikke været acceptabel ved første prøvetagning (Figur 10). I det ene tilfælde, Jægersvinget, var der kun problemer med kimalt 37 ved første prøvetagning, mens det tog 21 og 33 døgn at renskylle ledningerne på henholdsvis Niels Andersensvej og Ermelundsvej. En nærmere udredning af disse tre

renoveringsopgaver har ikke været mulig, da Nordvand A/S ikke kender alle detaljer ved renoveringsarbejdet.

Renoveringsmetode og rørtype

I den observerede renoveringsperiode er der oftest anvendt styret underboring. Nordvand A/S har i alle forureningstilfælde, hvor de selv har været entreprenør, anvendt styret underboring. Derimod har de eksterne entreprenører anvendt relining i et tilfælde og styret underboring i de to andre tilfælde, hvor første prøvetagning ikke blev godkendt. Dermed er der ikke tilstrækkeligt grundlag for at vurdere, hvorvidt valget af metode spiller en rolle med hensyn til forureningssagerne.

Det har ikke været muligt at undersøge sammenhæng mellem røregenskaberne og forureningssituationerne, da der var stor variation mellem typen af PE-rør i de forskellige sager.

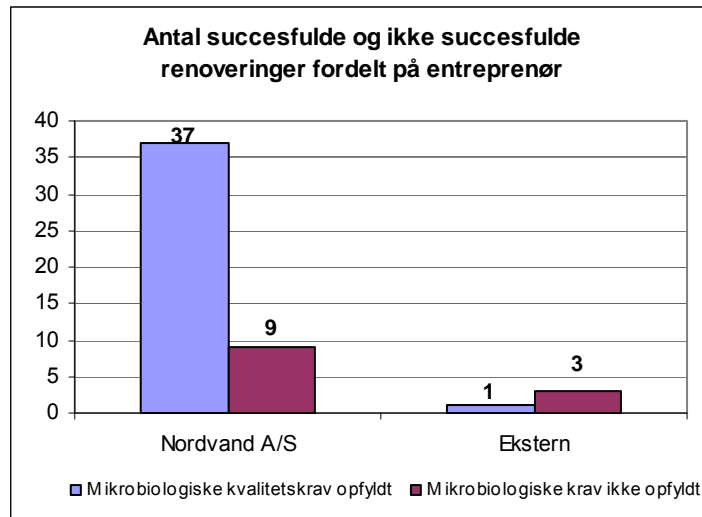
Entreprenør og opstramning af procedurer

Problemerne i renoveringsopgaverne sommeren 2006 resulterede i, at der blev strammet op på en række arbejdsgange. F.eks. blev lukningen af den rørende, som blev monteret på reameren, ændret, idet Nordvand A/S gik over til at svejse en ende-prop på røret, så at boremudder/jord ikke kunne blive presset ind i røret ved tilbagetrækning. Tidligere havde der være anvendt en mekanisk lukkeanordning, der ikke nødvendigvis var 100 % tæt. Denne prop blev implementeret umiddelbart før arbejdet på Mindevej i august 2006 (Bilag A).

Dvs. at implementering af den nye prop alene ikke har været nok for at forhindre de høje kintal observeret ved renoveringen på Mindevej.

Derudover blev vejledningen, som beskriver, hvordan rørene skal skylles, opdateret og genopfrisket for alle medarbejdere. Denne procedure blev revideret som beskrevet tidligere (jf. Tabel 1, afsnit 2.3). Tidligere var der ikke frit afløb ved skylning, men der var sat en slange for enden af den nye PE-ledning. Det vil sige, at flowet inde i røret muligvis har været for lavt, så ledningen ikke blev skyllet grundigt nok. Den nye skylningsprocedure blev indført ved tilkoblingen af Ellemosevej/Hagens Allé i januar-februar i 2007. Denne praksis har således ikke været benyttet for de renoveringstilfælde præsenteret i afsnit 3.1.

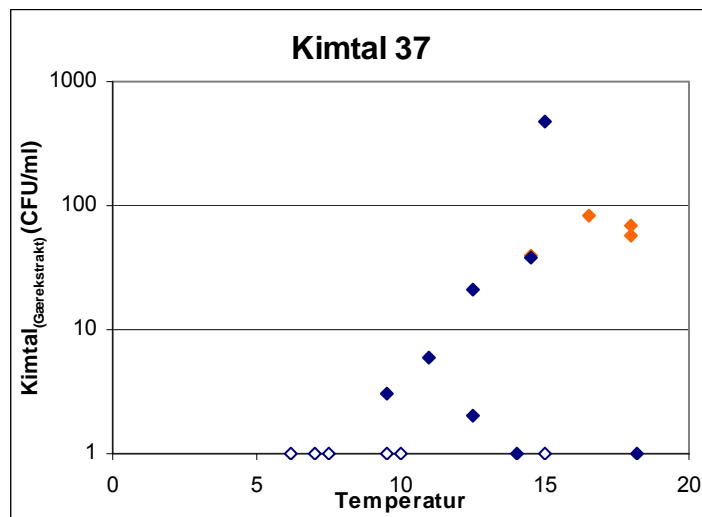
Frem til oktober 2008 har Nordvand A/S selv stået som entreprenør for 45 renoveringsetaper. Heraf opfyldte vandkvaliteten ikke de mikrobiologiske kravværdier (Figur 10) på ni etaper. På tre af disse etaper (Mylus Erichsens Alle, Høghsmindevej (1. etape) og Dahlenstræde) har forureningen sandsynligvis haft andre årsager end selve renoverings-processen, mens referenceprøverne for de to sidste tilfælde (Henriettevej og Ordrupdalvej) viste for høje kintalsværdier, dvs. at renovering med al sandsynlighed ikke har forårsaget det høje kintal i den nye ledning. I samme periode har de eksterne entreprenører haft problemer med tre ud af i alt fire renoveringsetaper. Dette indikerer, at ændringer i arbejdsprocedurerne i Nordvand A/S har haft en positiv betydning for den mikrobiologiske drikkevandskvalitet ved ledningsrenovering. Entreprenøren har eget udstyr, egne arbejdere og leverer egne rør, og dermed kan forskel i arbejdsprocedurer være årsag til de for høje kintal, som er set siden sommeren 2006.



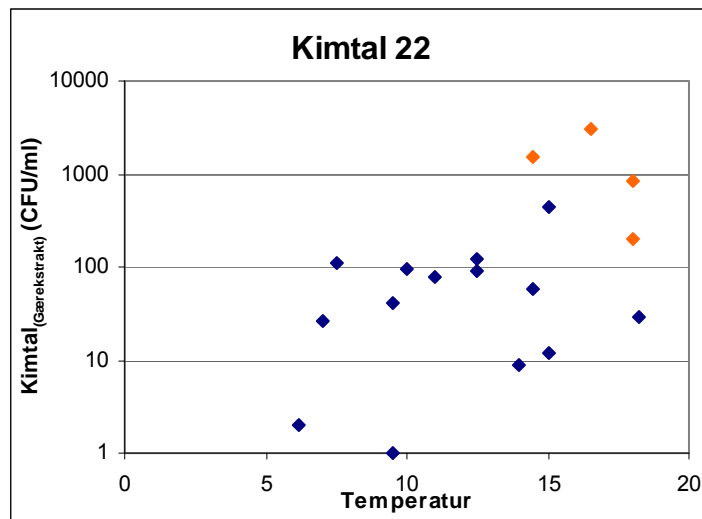
Figur 10: Antal succesfulde og ikke succesfulde renoveringer med hensyn til kimalt fordelt på entreprenør i perioden 2006-2008.

Årstid og temperatur

Der er en tendens til, at ved de højeste vandtemperaturer er der observeret de højeste kimalt – både kimalt 22 og kimalt 37 (Figur 11; Figur 12).



Figur 11: Sammenhæng mellem kimalt 37 og temperatur i perioden juni 2006 til december 2007. Orange punkter angiver renoveringssituationer inden ændring i arbejdsprocedurer, mens blå punkter angiver renoveringssituationer efter ændring i arbejdsprocedurer.



Figur 12: Sammenhæng mellem kimal 22 og drikkevandstemperatur i perioden juni 2006 til december 2007. Orange punkter angiver renoveringssituationer inden ændring i arbejdsprocedurer, mens blå punkter angiver renoveringssituationer efter ændring i arbejdsprocedurer.

Indflydelse af plastrør

Plastrør kan bidrage til bakterievækst (Corfitzen et al., 2002), og i de fleste forureningssager tager det relativt lang tid at skylle ledningerne rene - over 3 uger. De forhøjede kimal kan fortsætte over længere tid, selv ved kraftig gennemskylning, hvilket indikerer, at der er en konstant tilstedeværelse af næringsstoffer til bakterievækst. Dette kan enten være frigivelse af organiske forbindelser fra plastmaterialet eller fra f.eks. jord, som er kommet ind i røret ved renoveringen og som eventuelt sidder i biofilmen på indersiden af røret og dermed svær at skylle væk. Forureningen af ledningen på 1. etape på Høeghsmindevej og Dahlensstræde kunne relativt hurtigt skylles væk, hvilket kan indikere en forurening, der ikke sidder fast på rørvæggen.

3.2 Feltundersøgelser ved renovering af ledningsnettet

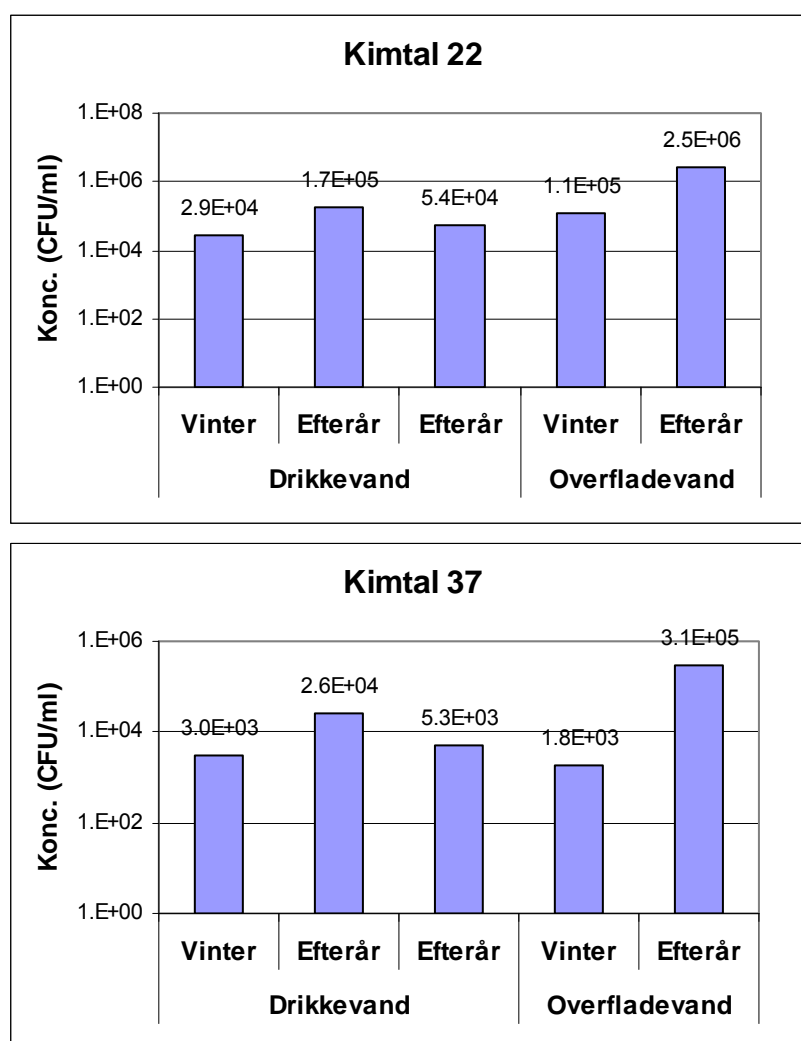
Udgravede huller, hvor styret underboring eller relining starter og slutter og hvor forsyningsledning og stikledninger sammenkøbes, udgør en risiko for forurening af rør. Vand/mudder fra disse huller kan komme i kontakt med rørets inderside, hvis den nye ledning ikke er beskyttet tilstrækkeligt. Derfor undersøgte vi den mikrobiologiske kvalitet af vand fra udgravede stikledningshuller. To forskellige vandtyper fra udgravede huller blev undersøgt: 1) drikkevand fra overskåret ledning, som dermed er løbet ud i stikledningshullet og 2) overfladevand fra stikledningshullet, dvs. vand opsamlet i stikledningshullet efter nedbør.

Følgende parametre blev målt:

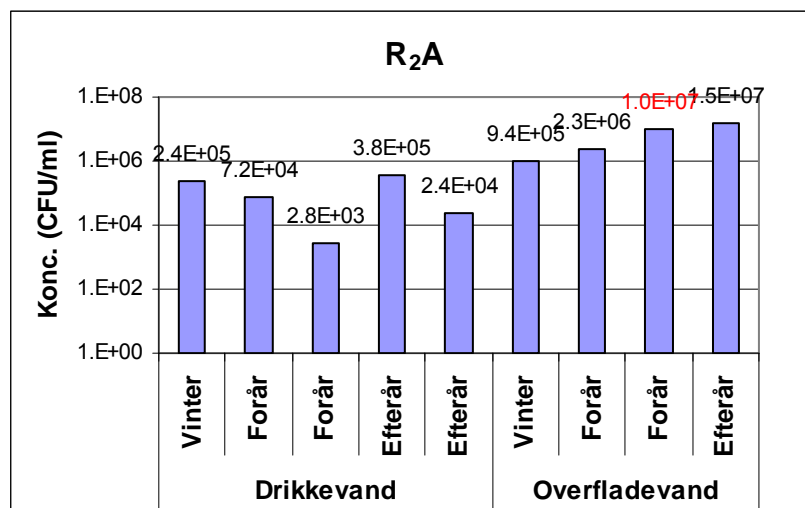
- Kimal 22° C (ISO 6222)
- Kimal 37° C (ISO 6222)
- HPC (R₂A)
- Coliforme og *E. coli* (Colilert-18)
- Enterokokker (Enterolert-E)
- Temperatur (12,3-12,9°C)

3.2.1 Mikrobiologisk kvalitet i stikledningshuller

Vandprøver fra stikledningshuller blev indsamlet i fire omgange fra januar til oktober 2008. Kimtalsanalyserne (gærekstrakt) og pladespredning på R₂A-medie viste, at der generelt var højere bakterieniveauer i både drikkevand og overfladevand fra udgravede huller i efterårsperioden (Figur 13; Figur 14). Det vil sige, at vand fra stikledningshuller om efteråret udgør en større risiko sammenlignet med vand fra vinter- og forårsperioden, hvis det skulle komme ind i de nye rør. Ud fra kimtal 22 og kimtal 37 var der ikke systematisk forskel mellem vand af forskellig oprindelse, dog var der en tendens til højere kimtal i overfladevand. Kimtal på R₂A-mediet var generelt højere i overfladevand end i drikkevand fra stikledningshullet. Det analyserede vand fra stikledningshuller – uanset drikkevand eller overfladevand - indeholdt dog til enhver tid på året høje bakterieniveauer, og det er derfor uønskeligt, at dette vand kommer i forbindelse med indersiden af rør i ledningsnettet.

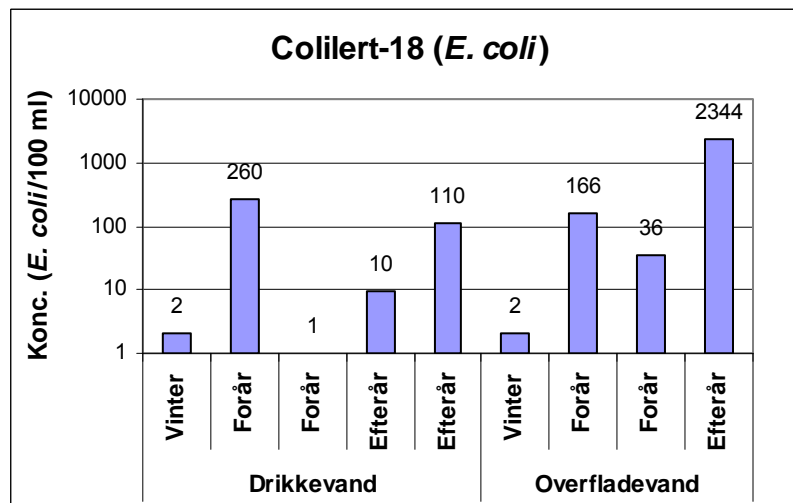
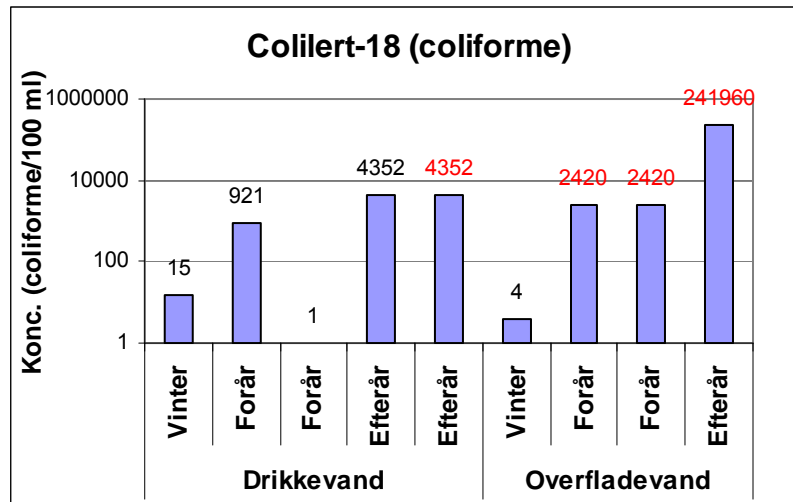


Figur 13: Koncentration af Kimtal 22 og kimtal 37 i overfladevand og drikkevand i huller etableret ved ledningsreovering i Nordvand A/S i 2008.

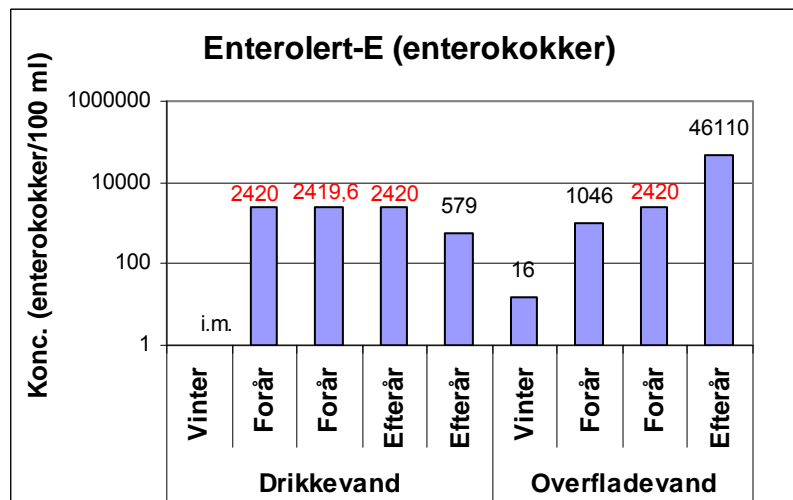


Figur 14: Koncentration af HPC bakterier (R2A) i overfladevand og drikkevand i huller etableret ved ledningsrenovering i Nordvand A/S i 2008. Røde tal angiver usikker værdi.

Vand fra stikledningshullerne indeholdt også høje koncentrationer af coliforme bakterier og enterokokker (Figur 15; Figur 16). Enterokokker (tidligere betegnet fækale streptokokker) er tarmbakterier og forekomst indikerer lige som ved *E. coli* fækal forurening med vand fra kloak eller lignende. Derimod var der stor variation i *E. coli* koncentrationerne, dvs. alt fra 1 *E. coli*/100 ml til 2344 *E. coli*/100 ml (Figur 15). Tilstedeværelsen af disse indikatororganismer og dermed risiko for sygdomsfremkaldende organismer, understøtter, hvor vigtigt det er, at dette vand ikke kommer ind i de nye rør.



Figur 15: Koncentration af coliforme og *E. coli* i overfladevand og drikkevand i huller etableret ved ledningsrenovering i Nordvand A/S i 2008. Røde tal angiver, at alle brønde var gule, dvs. koncentrationen med stor sandsynlighed er større end angivet.



Figur 16: Koncentration af enterokokker i overfladevand og drikkevand i huller etableret ved ledningsrenovering i Nordvand A/S i 2008. Røde tal angiver, at alle brønde var fluorescerende, dvs. koncentrationen med stor sandsynlighed er større end angivet. i.m.: ikke målt.

3.3 Delkonklusion

En gennemgang af renoveringsetaperne i Nordvand A/S i perioden 2006-2008 viste, at de forhøjede kimal sandsynligvis skyldtes renoveringsprocedurer, temperatur, utilstrækkelig skylning, rørdiameter m.v. Implementering af en påsvejet prop under rørføringen har elimineret muligheden for indtrængen af jord og vand under rørføringen. Derudover var en opstramning på procedurer og øget bevidsthed hos medarbejderne ved ledningsrenovering med til at reducere de tilfælde, hvor der er for høje kimal. Dette understøttes af, at Nordvand A/S har ikke har haft nævneværdige problemer med den mikrobiologiske drikkevandskvalitet ved ledningsrenoveringer i 2007-2008, dvs. efter Nordvands A/S opstramning af procedurer for ledningsrenovering.

Uanset årstid kan vand fra stikledningshuller introducere en forurening, hvis det kommer i kontakt med indersiden af de nye rør. Derfor er det hensigtsmæssigt, at renoveringsproceduren altid tager højde for, at vand i stikledningshuller fjernes.

4 Overlevelse af indikatororganismer i og patogener i drikkevand

I flere forureningssituationer i Danmark er indikatororganismer blevet påvist i drikkevandet op til flere uger, efter forureningen fandt sted. Dette kan skyldes, at forureningskilden stadig er ukendt, eller at den ikke er fuldstændig elimineret. Men sandsynligvis er det et resultat af det komplicerede samspil i ledningsnettet imellem hydrauliske forhold, blinde ender af ledningsnettet og interaktioner mellem vandfase og biofilm.

Ved en drikkevandsforurening er det uhyre vigtigt, at kunne forudsige hvor længe og under hvilke forhold både patogener og indikatororganismer kan overleve i ledningsnettet, for at kunne foretage tilstrækkelige tiltag til at komme forureningen til livs.

4.1 Laboratorieforsøg

4.1.1 Forsøgsopstilling og -forhold

Laboratorieforsøg til at undersøge overlevelsen af de udvalgte indikatororganismer og patogener blev udført i to forskellige forsøgsopstillinger:

- 1) Stykker af udvalgte rørmaterialer i flasker med drikkevand tilsat bakterier (rør-i-drikkevand)
- 2) Rør udtaget fra det eksisterende ledningsnet med drikkevand tilsat bakterier (drikkevand-i-rør)

Flasker og rør blev inkuberet ved 10°C eller 15°C i mørke.

Overfladeareal/Vandvolumen-forholdet (S/V-forholdet) i rør-i-drikkevand forsøg var $0,5 \text{ cm}^{-1}$ og varierede mellem 0,4 og $\sim 1,1 \text{ cm}^{-1}$ i drikkevand-i-rør forsøg, da rør i forskellige dimensioner blev udtaget fra det eksisterende ledningsnet. S/V-forholdet er et udtryk for forholdet mellem volumen vand, der er i kontakt med et givent materiale. Små rør har et stort S/V-forhold, hvorimod store rør har et lille S/V-forhold, dvs. jo større S/V-forhold jo større relativ betydning har overfladen for processerne i systemet (Corfitzen et al., 2003). For yderligere oplysninger om forsøgsopstilling og forsøgsforhold, se Bilag B.

4.1.2 Testvand

Vand tappet ved afgang fra Lyngby Vandværk blev anvendt som testvand i laboratorieforsøgene. Vand fra Dybendal Vandværk blev anvendt i ét forsøg, hvor Lyngby Vandværk havde stoppet produktionen pga. udskiftning af sandfilter (jf. Figur 19; Figur 22).

4.1.3 Forsøgsorganismer

Escherichia coli og *Klebsiella pneumoniae* blev anvendt som repræsentative indikatororganismer. *E. coli* er den mest anvendte indikatororganisme, og der er mange erfaringer med anvendelsen af denne, idet den har været anvendt i mere end 100 år som indikator for mikrobiel drikkevandskvalitet. *K. pneumoniae* tilhører den coliforme gruppe af bakterier, og er således også en indikatororganisme. *K. pneumoniae* er også en opportunistisk patogen, som menes at være god til at klæbe til overflader (Krogfeldt, 2007; Philibert et al., 2006).

Infektioner med *Campylobacter* er et stigende problem både i Danmark og internationalt, og *Campylobacter* er nu den hyppigste årsag til bakterielle mave-tarminfektioner i Danmark, hyppigere end f. eks. *Salmonella*, hvis der ses bort fra den *Salmonella*-epidemi, som har hærget i Danmark i 2008 (SSI, 2009). Hyppigste årsag til *Campylobacter* infektioner er via husdyr og spising af fjerkræ. *Campylobacter jejuni* er også i flere tilfælde blevet identificeret ved sygdomsudbrud ved drikkevandsforureninger (Stenström et al., 1994; Barwick et al., 2000; Clark et al., 2003; Hännien et al., 2004; EPI-NYT, 2007; Zoonose-Nyt, 1997; www.ing.dk, 2009).

4.1.4 Testmaterialer

Ledningsnettet i Danmark udgøres primært af plastmaterialer og støbejern, som fremover sandsynligvis vil blive erstattet af plastmaterialer, som er mere fleksible, mindre modtagelige for brud og har lavere anlægsomkostninger end de traditionelle materialer (Corfitzen et al., 2002). Rørmaterialerne PE (polyethylen) og PEX (cross-linked polyethylen) anvendes i stigende grad i vandforsyningen - i distributionsnettet og i husinstallationer. Disse rørmaterialer kan afgive biotilgængelige organiske forbindelser til ledningsnettet, som bakterier kan leve af, og dermed være med til at øge den mikrobielle eftervækst (Corfitzen et al., 2003). Der er imidlertid ringe viden om, hvorvidt og hvilken indflydelse disse rørmaterialer har på overlevelsen af indikatororganismer og patogener, når de kommer ind i distributionssystemet. Plastmaterialerne PE og PEX blev valgt til laboratorieforsøgene og silicone blev anvendt som positiv kontrol (Corfitzen, 2004).

Trods den stigende anvendelse af plastrør i forsyningsnettet, udgør støbejernsrør dog stadig en væsentlig del ledningsnettet. Der findes ingen national opgørelse over hvilke materialer og mængder, der har været anvendt eller anvendes inden for opbygningen af distributionsnettet for drikkevand i Danmark, men det er estimeret at støbejern udgør ca. 23 % (Nielsen et al., 2004). Støbejernsrør blev derfor også inkluderet i denne undersøgelse.

For yderligere oplysninger af anvendte drikkevandsrør se Bilag B.

4.1.5 Analyser

Følgende analyser blev anvendt til detektion og kvantificering af de udvalgte indikatororganismer og patogener i drikkevandsforsøg (vandfase og biofilm):

- *E. coli* og *K. pneumoniae*: MacConkey agar
- *E. coli* og *K. pneumoniae*: Colilert-18

- *C. jejuni*: Abeyta Hunt Bark (AHB) agar

Den naturlige drikkevandsflora blev ligeledes målt i alle undersøgelser (vandfase og biofilm):

- Heterotrophic plate counts: R₂A (20 °C)
- Total Adenosine Triphosphat (ATP)

For procedurer for de enkelte analysemetoder se Bilag C.

4.2 Overlevelse af *E. coli*-, *K. pneumoniae* - og *C. jejuni* stammer

I laboratorieforsøg blev det undersøgt, om der var forskel i overlevelsen mellem stammer inden for samme art, og hvorvidt der var forskel i overlevelsen af *E. coli*, *K. pneumoniae* og *C. jejuni* i drikkevand. De undersøgte *E. coli* stammer var alle sekventerede og isoleret fra patienter eller i ét tilfælde fra en rotte (Tabel 4) (SSI, 2007). *K. pneumoniae* stammerne var isoleret fra både patienter og miljøet (Tabel 5) (SSI, 2007). Fem af de anvendte *C. jejuni* stammer var isoleret fra danske patienter; for den sjette *C. jejuni* stamme var oprindelsen ukendt, men den var sekventeret (Tabel 6) (SSI, 2008).

Tabel 4: Stammer af *Escherichia coli* anvendt i laboratorieforsøg i dette projekt.

<i>Escherichia coli</i>	Org. navn	Isoleret fra	Yderligere oplysninger
CAS523	J96	Urinvejsinfektion	-
CAS649	536	Urinvejsinfektion	-
CAS448	CI-10	Urinvejsinfektion	-
CAS25	BJ4	Fæces (rotte)	Kan ligne <i>K. pneumoniae</i>
CAS607	MG1665	Fæces (K12)	-
KAK377	CFT073	Urinvejsinfektion	-
ATCC 25922	-	-	-

Tabel 5: Stammer af *Klebsiella pneumoniae* anvendt i laboratorieforsøg i dette projekt. *intern ref.: M&R nr. 1.

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Org. navn	Isoleret fra	Yderligere oplysninger
CAS55	3091	Urinvejsinfektion	Human patogen
CAS280	132-98	Blod	Human patogen; varmeresistent (60° C)
CAS343	MGH78578	Lunge	Human patogen
CAS571	DSH29	Blod	Human patogen
CAS651	Kp342	Plante	USA
CAS121	E67	Overfladevand	-
Eurofins*	-	-	-

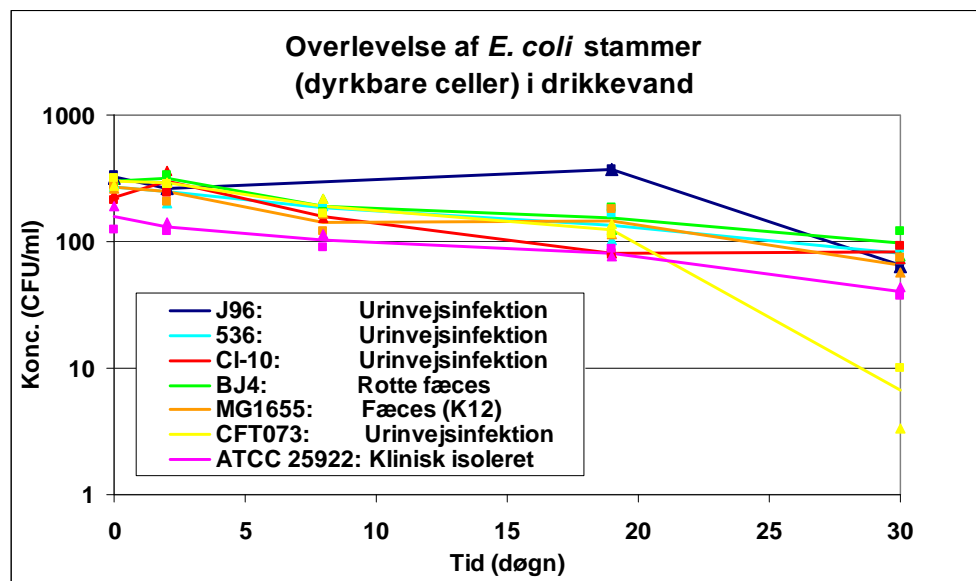
Tabel 6: Stammer af *Campylobacter jejuni* anvendt i laboratorieforsøg i dette projekt.

<i>Campylobacter jejuni</i>	Org. navn	Isoleret fra	Yderligere oplysninger
1283	-	Patient	-
1260	-	Patient	-
11168	NCTC11168	-	Sekventeret stamme
1372	-	Patient	Reaktiv arthrit / Reiters syndrom (ledbetændelse)
1209	-	Patient	
1312	-	Patient	

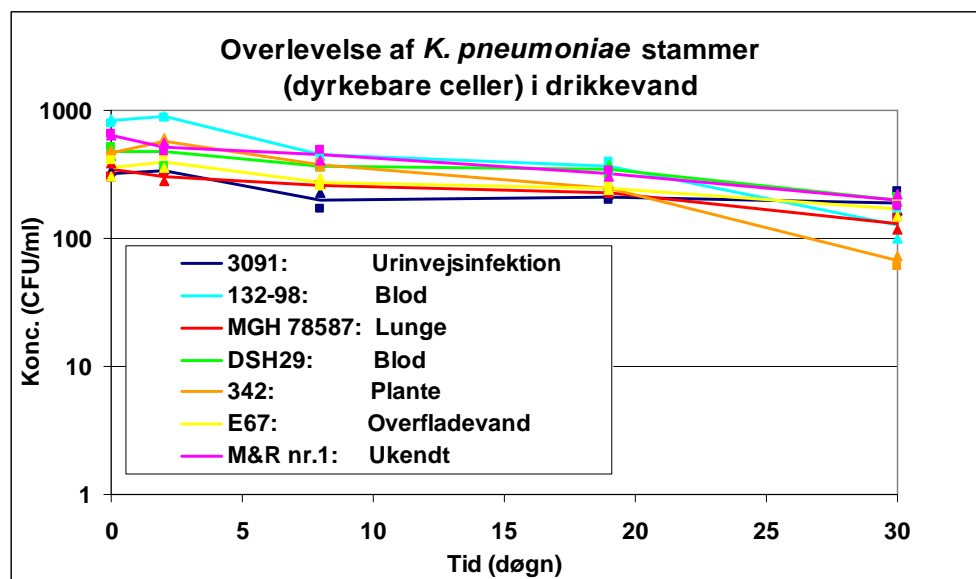
4.2.1 Overlevelse i vandfase

Overlevelsen af *E. coli*, *K. pneumoniae* og *C. jejuni* blev undersøgt i flasker med 0,5 L testvand. Startkoncentrationerne af *E. coli* stammerne var 50-300 celler/ml, og 300-800 celler/ml for *K. pneumoniae* stammerne. Start-koncentrationen for *C. jejuni* stammer var ca. 1000 celler/ml, hvor koncentrationen af dyrkbare celler var 235-630 CFU/ml umiddelbart efter tilsætningen af bakterier til drikkevand.

Alle fjorten undersøgte *E. coli* og *K. pneumoniae* stammer overlevede i mere end fire uger i drikkevand. Som forventet, henfaldt koncentration af *E. coli* og *K. pneumoniae* i vandfasen i løbet af forsøgsperioden på 30 døgn. På dag 30 var *E. coli* koncentrationen 7-98 CFU/ml, og koncentrationen af *K. pneumoniae* stammer var 67-200 CFU/ml (Figur 17; Figur 18).



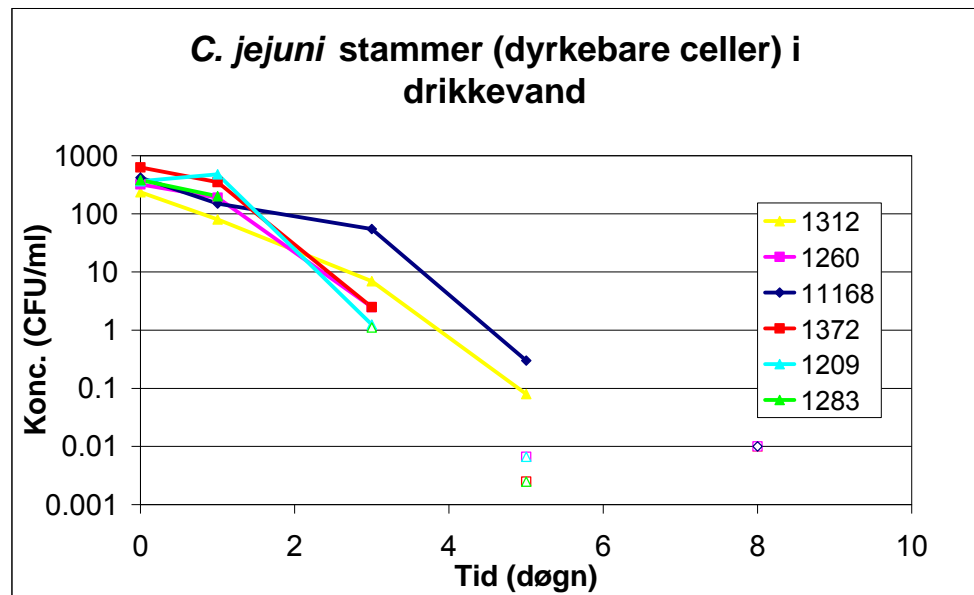
Figur 17: Overlevelse af syv *E. coli* stammer i drikkevand ved 15°C. Kurver repræsenterer gennemsnitskoncentration af duplikater fra to flasker.



Figur 18: Overlevelse af syv *K. pneumoniae* stammer i drikkevand ved 15°C. Kurver repræsenterer gennemsnitskoncentration af duplikater fra to flasker.

Henfaldskonstanterne for *K. pneumoniae* og *E. coli* blev estimeret ved lineær regression i semi-log plot under antagelse af, at begge organismer havde en 1. ordens henfaldsrate ($C(t) = C_0 \cdot e^{-k \cdot t}$; C_0 : skæring af y-akse; k : henfalds-konstant, t : tid). Halveringstider, beregnet ud fra henfaldskonstanter, var 16-18 døgn for *E. coli* stammerne, undtagen af *E. coli* CFT073, som havde en halveringstid på 6 døgn. Halveringstiderne for *K. pneumoniae* stammerne var 11-42 døgn, dvs. der var en større variation i halveringstid end for *E. coli* stammerne.

I modsætning til *E. coli* og *K. pneumoniae* stammerne, som overlevede i drikkevand i mere end fire uger, kunne den benyttede dyrkningsmetode kun påvise *C. jejuni* stammerne i drikkevandet i 2-5 døgn efter inokulering (Figur 19).



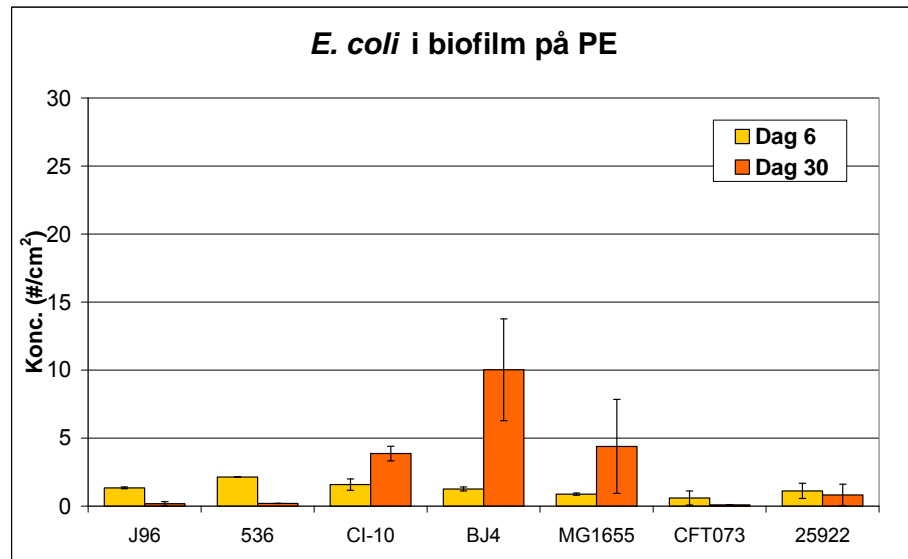
Figur 19: Overlevelse af 6 *C. jejuni* stammer i drikkevand ved 10°C. Kurver repræsenterer gennemsnitskoncentration af duplikater.

4.2.2 Kolonisering af biofilm på PE-rør af *E. coli*, *K. pneumoniae* og *C. jejuni* stammer

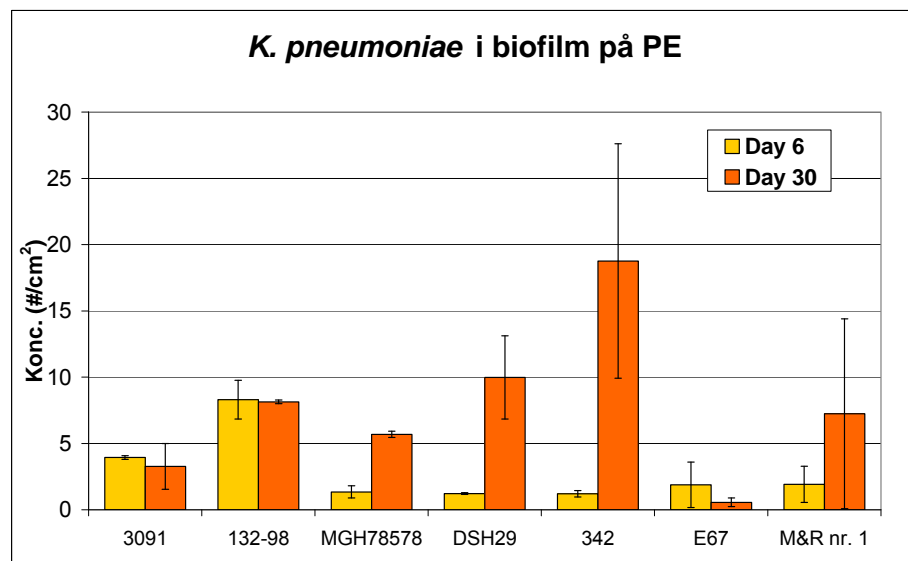
For at undersøge hvorvidt og i hvilken grad indikatororganismer og patogener koloniserer biofilmen på indersiden drikkevandsrør, blev nye rørstykker af PE (dvs. rørstykker uden biofilm ved forsøgets start) overført til flasker med drikkevand tilsat bakterier.

Alle *E. coli*- og *K. pneumoniae*-stammer kunne påvises i biofilmen på prøvetagningsdagene – dag 6 og dag 30. Der blev foretaget biofilmprøver på dag 6, hvor vandfasekoncentrationen stadig var forholdsvis høj (53-158 CFU/ml og 168-323 CFU/ml for hhv. *E. coli* og *K. pneumoniae* - målt på dag 8) - og ved slutningen af forsøget (dag 30), hvor vandfasekoncentrationen var <1-10 CFU/ml for *E. coli* stammerne og 1-20 CFU/ml for *K. pneumoniae* stammerne. Generelt blev *K. pneumoniae* stammerne påvist med højere koncentrationer (ca. 1-20 CFU/cm²) i biofilmen end *E. coli* stammerne (<1-10 CFU/cm²) (Figur 20; Figur 21). De syv stammer viste også forskel i biofilmkoncentrationen. De høje biofilmkoncentrationer for *K. pneumoniae* kan skyldes, at vandfasekoncentrationen var højere end for *E. coli*. Dog viste andre forsøg, hvor vandfasekoncentrationen for *E. coli* og *K. pneumoniae* var den samme, at der er tendens til en højere biofilmkolonisering af *K. pneumoniae* i forhold til *E. coli* (Figur 22). Koncentrationen af indikatororganismerne i biofilmen kompenserer dog ikke

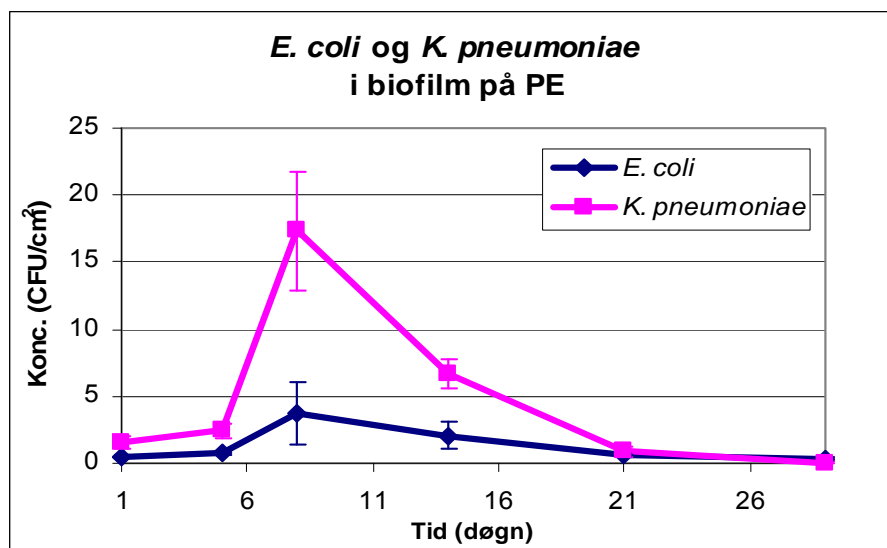
fjernelsen af *K. pneumoniae* og *E. coli* i vandfasen, dvs. der sker et henfald i koncentrationen i systemet. For fire *K. pneumoniae* stammer og tre *E. coli* stammer var koncentrationen i biofilmen højere på dag 30 end på dag 6.



Figur 20: *E. coli* koncentration med angivelse af minimum og maksimum værdi i biofilmen på dag 6 og dag 30.



Figur 21: *K. pneumoniae* koncentration med angivelse af minimum og maksimum værdi i biofilmen på dag 6 og dag 30.



Figur 22: Udvikling i koncentration af *E. coli* ATCC 25922 og *K. pneumoniae* M&R nr.1 i biofilm af PE-rør.

For de fleste *E. coli* og *K. pneumoniae* stammer oversteg biofilmkoncentrationen aldrig vandfasekoncentrationen, til trods for at *E. coli* og *K. pneumoniae* koncentration i vandfasen faldt betydeligt i løbet af forsøgsperioden af 30 døgn (Tabel 7). Derimod var koncentrationen af *E. coli* og *K. pneumoniae* i biofilmen mere eller mindre konstant i løbet af forsøgsperioden. På dag 30, hvor vandfasekoncentrationen var faldet til ca. 1-4% af startkoncentration var biofilmkoncentrationen af *E. coli* mellem 3 og 53% (ses bort fra *E. coli* CFT073) og 23 til 63% for *K. pneumoniae*.

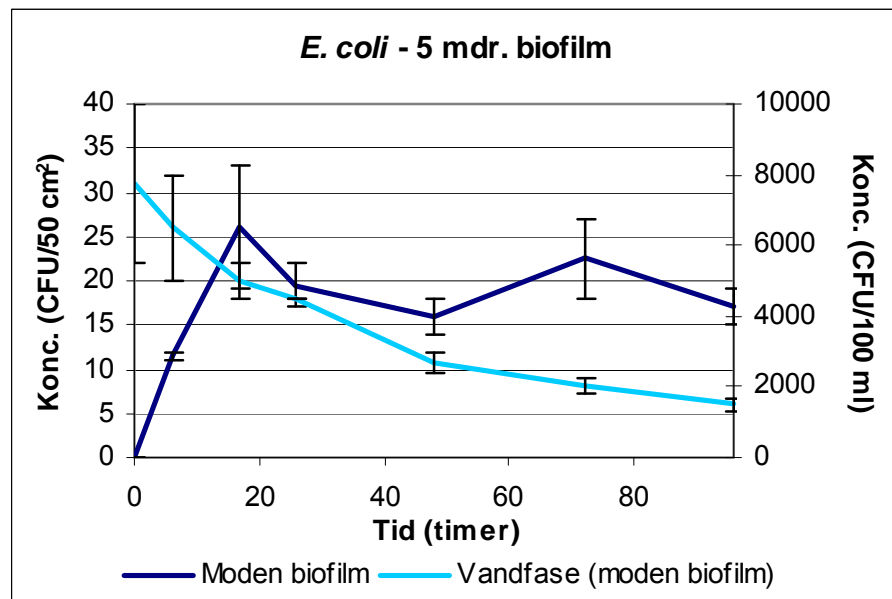
Tabel 7: Massebalance for hver stamme af *E. coli* og *K. pneumoniae* på dag 30 (vandfase, biofilm på PE og glasunderside på forsøgsflaske).

	Vandfase		Biofilm	
		%	PE	Glasflaske
<i>E. coli</i>				
		%	%	%
J96		61	32	6,7
536		91	3	6,3
CI-10		72	19	8,4
BJ4		65	33	2,1
MG1655		80	19	0,5
CFT073		0	100	0,0
25922		33	53	14,0
<i>K. pneumoniae</i>				
		%	%	%
3091		75	25	0,2
132-98		75	24	1,0
MHG 78578		69	30	0,2
DSH29		77	23	0,1
342		68	32	0,0
E67		72	28	0,3
M&R nr.1		37	63	0,6

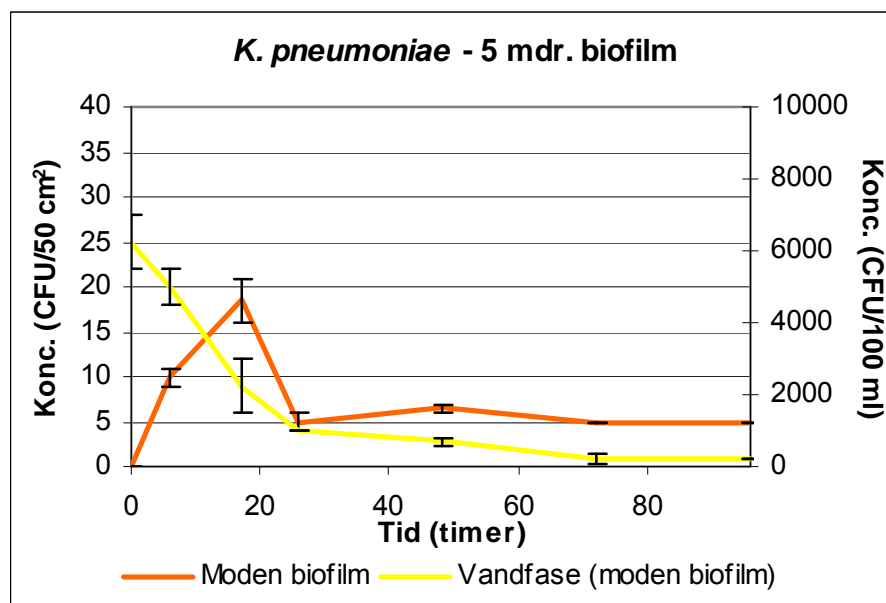
Biofilmen blev også analyseret for *C. jejuni* stammer på dag 1, 5 og 8, men kun på dag 1 blev *C. jejuni* påvist i den resuspenderede biofilm, men i forholdsvis lave koncentrationer. Disse blev sammenholdt op mod vandfasekoncentrationen på dag 1 for den enkelte stamme, for at vurdere om der i virkeligheden var tale om en kolonisering af biofilmen, eller om de påviste *C. jejuni* i den resuspenderede biofilm skyldtes den lille mængde vandfase, som hænger ved på rørmaterialerne, når biofilmen høstes. Ud fra et estimat af vandmængden på rørmaterialerne (estimeret ved afvejning af våde og tørre rør), er det vurderet, at *C. jejuni* koncentrationen i den resuspenderede biofilm skyldtes den vandmængde, som følger med, når biofilmen høstes. Altså var der ingen kolonisering af *C. jejuni* i biofilmen på PE-materialet.

For at undersøge hvor hurtigt *E. coli* og *K. pneumoniae* koloniserer biofilmen på rørmaterialer, blev udviklingen i biofilmkoncentrationen af *E. coli* ATCC og *K. pneumoniae* M&R nr.1 fulgt hyppigere i et yderligere flaskeforsøg med PEX-materialer. Både *E. coli* og *K. pneumoniae* blev påvist i biofilmen på PEX allerede efter 6 timer i drikkevand podet med de to organismer (Figur 23; Figur 24).

Igen faldt vandfasekoncentration tydeligt i løbet af hele forsøget, mens biofilmkoncentrationen var forholdsvis stabil (Figur 23; Figur 24). Det vurderes, at enten er der en bedre overlevelse i biofilmen eller også sker der en konstant kolonisering af biofilmen af bakterierne i vandfasen i løbet af forsøget. Den forholdsvis stabile biofilmkoncentration kan muligvis også forklares med, at bakterierne er dyrkbare i en længere periode, når de er i biofilmen, hvor næringsstoffer er lettere tilgængelige end i vandfasen.



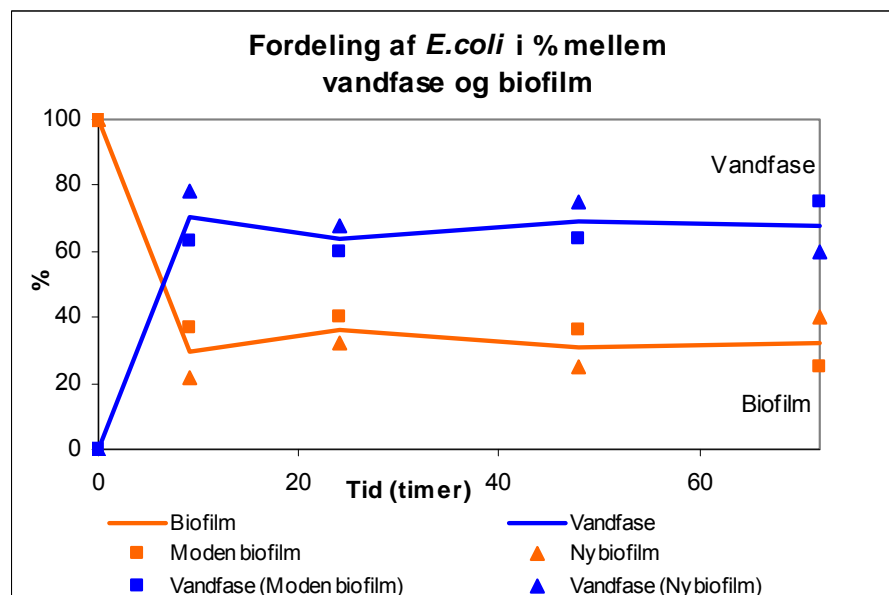
Figur 23: Gennemsnitskoncentration med afvigelse i duplikater for *E. coli* i vandfase og i 5 mdr. biofilm på PEX-materialer. Vandets startkonc. 78-98 CFU/ml; opsætning inkuberet ved 15 °C.



Figur 24: Gennemsnitskoncentration med afvigelse i duplikater for *K. pneumoniae* i vandfase og i 5 mdr. biofilm på PEX-materialer. Vandets startkonc. 63 CFU/ml; opsætning inkuberet ved 15 °C.

4.2.3 Løsrivelse fra biofilm

Når plastmaterialer havde været eksponeret for drikkevand med *E. coli* og *K. pneumoniae* i 96 timer og efterfølgende overført til rent drikkevand, blev der frigivet *E. coli* og *K. pneumoniae* fra biofilm til vandfase, hvor ca. 70 % af *E. coli* var i vandfasen efter 9-72 timer henstand (Figur 25).

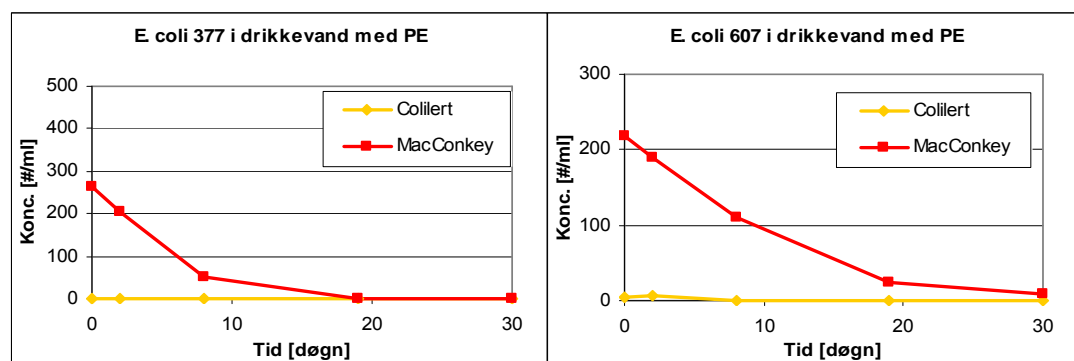


Figur 25: Fordeling af *E. coli* i % mellem vandfase og biofilm.

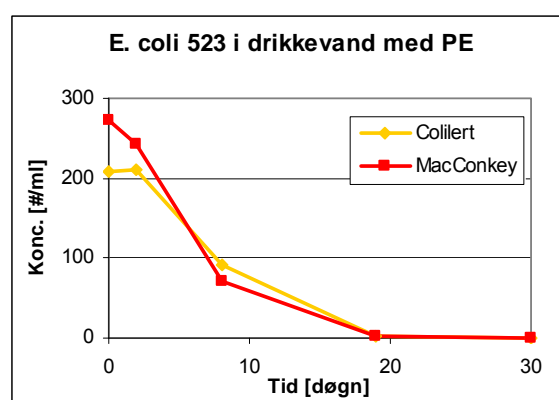
4.3 MacConkey vs. Colilert-18

E. coli blev også kvantificeret med Colilert-18 og sammenlignet med resultater fra pladespredning på MacConkey agar. To *E. coli* stammer (MG1655 (fæces) og CFT073 (urinvejsinfektion) kunne ikke detekteres med Colilert-18 (Figur 26). For

de øvrige stammer var der lidt lavere koncentrationer med Collert-18 indtil dag 8, hvorefter resultaterne stort set var ens for de to metoder.



Figur 26: *E. coli* stammerne CFT073 (figur t.h.) og MG1655 (figur t.v.) kvantificeret på MacConkey agar og med Collert-18.



Figur 27: Koncentration af *E. coli* (523) i drikkevand i kontakt med PE kvantificeret på MacConkey agar og med Collert-18.

4.4 Delkonklusion

Vandfase:

- *E. coli* og *K. pneumoniae* stammer overlevede i mere end fire uger i drikkevand.
- *C. jejuni* stammer kunne påvises i vandfasen i to til fem døgn i vandfasen.
- *K. pneumoniae* stammer overlevede bedre (lavere halveringstider) end *E. coli*.

Biofilm:

- Alle *E. coli* og *K. pneumoniae* stammer kunne detekteres i biofilmen på PE-rør, hvorimod ingen af *C. jejuni* stammerne kunne detekteres i biofilmen.
- Der var en tendens til højere biofilmkolonisering af *K. pneumoniae* end af *E. coli*.
- Altid højere koncentrationen af *E. coli* og *K. pneumoniae* i vandfasen i forhold til biofilmen.
- I forsøgene var der altid et 'stort' henfald af *E. coli* og *K. pneumoniae* i vandfasen i løbet af 4 uger, hvorimod biofilmkoncentrationen var forholdsvis stabil.
- *E. coli* og *K. pneumoniae* kan frigives fra biofilm til vandfase.

5 Effekt af rørmaterialer (PE, PEX og silicone) på overlevelsen af udvalgte indikatororganismer og patogener i drikkevand

Der foreligger en del undersøgelser af, at nogle plastrør giver anledning til en væsentlig bakteriel vækst i såvel vandfasen som biofilm (Corfitzen et al., 2002; van der Kooij et al., 2003). Der er imidlertid begrænset viden om disse rørmaterialers indflydelse på overlevelsen af indikatororganismer og patogener ved en drikkevandsforurening. I dette projekt er PE, PEX og silicone undersøgt for deres betydning for overlevelse af *E. coli*, *K. pneumoniae* og *C. jejuni* i drikkevand.

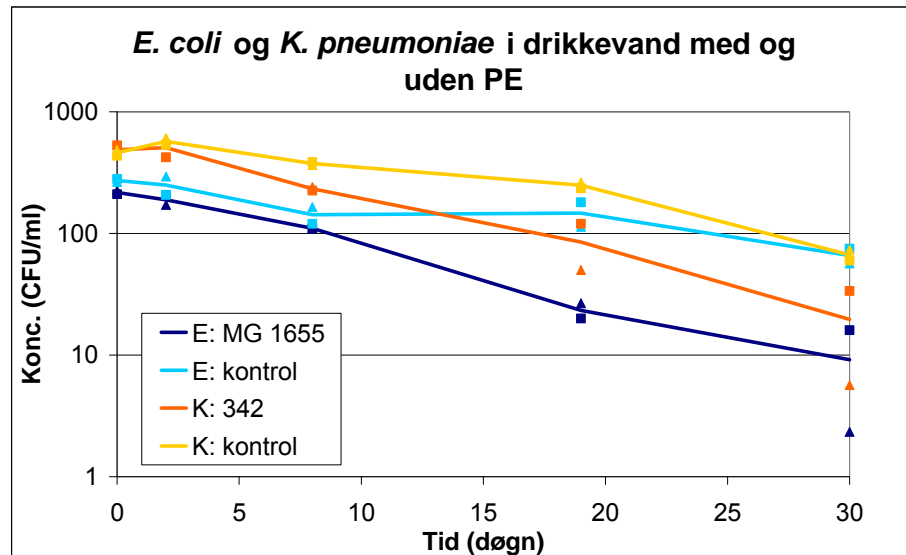
Undersøgelsen blev udført i batchforsøg med stagnant vand (Figur 28); inkubering ved 10 eller 15°C; vandvolumen/overfaldeareal forhold af plastmaterialer på 0,5 cm⁻¹; startkoncentrationer for *K. pneumoniae* og *E. coli* var omkring 100-200 celler/ml og en *C. jejuni* koncentration på omkring 1000 celler/ml.



Figur 28: Forsøgsopsætning: 2 L flasker med drikkevand fra Lyngby Vandværk med PE, PEX og silicone inokuleret med *K. pneumoniae* og *E. coli* og 2 L flasker med drikkevand fra Lyngby Vandværk kun inokuleret med *K. pneumoniae* og *E. coli* (kontrolflasker). Inkuberet ved 15 °C.

5.1 Effekt af PE, PEX og silicone på overlevelsen af *E. coli*, *K. pneumoniae* og *C. jejuni*

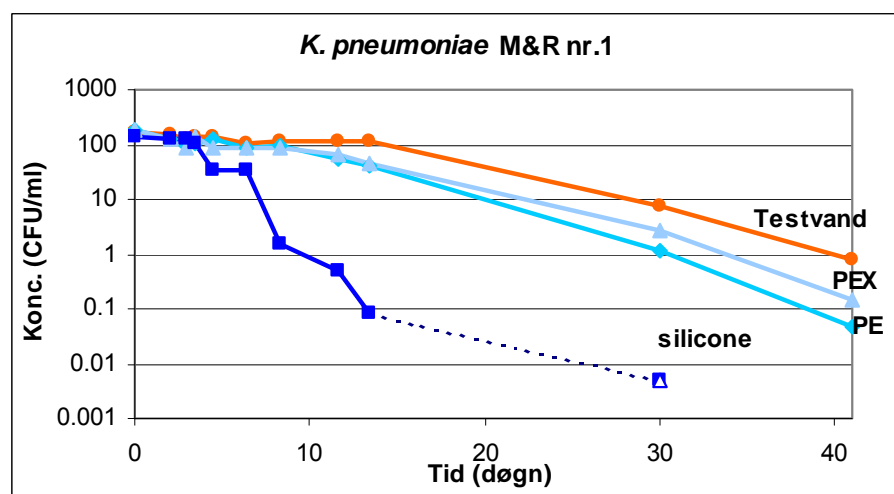
Indledningsvis blev det undersøgt, hvorvidt PE rørmaterialer havde indflydelse på overlevelse af *E. coli*, *K. pneumoniae* og *C. jejuni* stammerne. Alle syv stammer af både *E. coli* og *K. pneumoniae* blev hæmmet ved tilstedeværelsen af PE-materialet, dvs. at bakterierne overlevede i en kortere periode i vandfasen. En stamme af hver af de to organismer er vist som eksempel i Figur 29. Ved forsøgets afslutning (dag 30) var der markant højere koncentration af *E. coli* og *K. pneumoniae* i flasker kun med testvand end i flasker med testvand og PE-rørstykker. Koncentrationerne for *E. coli* MG1655 og *K. pneumoniae* 342 var på dag 30 hhv. 66 og 67 CFU/ml i vand uden plastmaterialer, mens koncentrationer i vand med plastmaterialer til samme tid var 9 og 20 CFU/ml.



Figur 29: Overlevelse af *K. pneumoniae* og *E. coli* i vand fra Lyngby Vandværk i kontakt med og uden PE-materiale, inkuberet ved 15 °C. Linjen repræsenterer gennemsnitskoncentrationen for to flasker, hvor de omkringliggende punkter viser koncentration for hver flaske.

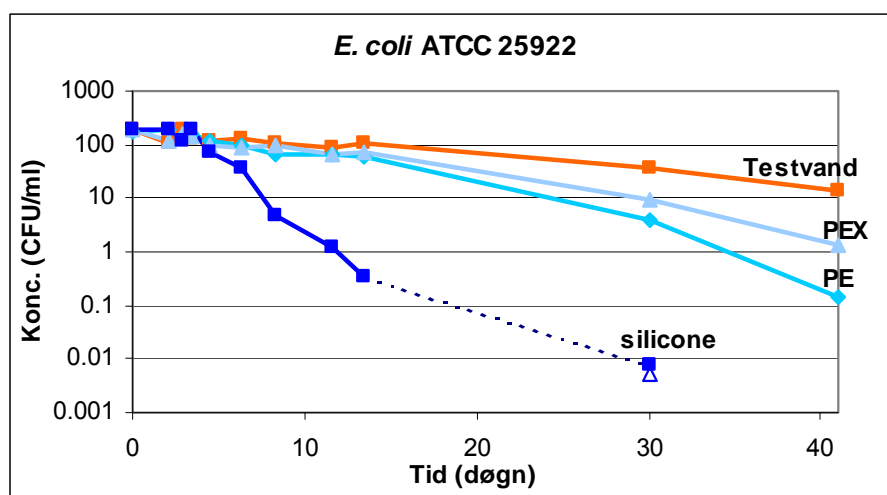
Samme hæmmede effekt, som PE- materialet havde på overlevelsen af *E. coli* og *K. pneumoniae* stammer, kunne ikke påvises for *C. jejuni*. Dette kan skyldes, at effekten af PE-materialet på overlevelsen af *E. coli* og *K. pneumoniae* først blev tydelig efter to til tre ugers inkubering, hvor *C. jejuni* kun kunne påvises i op til fem døgn. Af samme årsag blev der ikke undersøgt yderligere, hvorvidt andre polymere materialer måtte have indflydelse på overlevelsen af *C. jejuni* stammerne.

E. coli ATCC 25922 og *K. pneumoniae* M&R nr.1 blev udvalgt til undersøgelser af betydning af forskellige polymerer (PE, PEX og silicone) for deres overlevelse i drikkevand. Silicone havde størst effekt på overlevelsen i vandfasen, dvs. begge bakterier overlevede kortere end i vand med PE eller PEX (Figur 30; Figur 31). Drikkevand med PEX havde mindst indflydelse på overlevelsen af *K. pneumoniae* og *E. coli* i vandfasen, men ved forsøgets afslutning var koncentrationerne af begge bakterier ca. 10 gange højere i kontrolflasker uden materialer end i flasker med materialer.



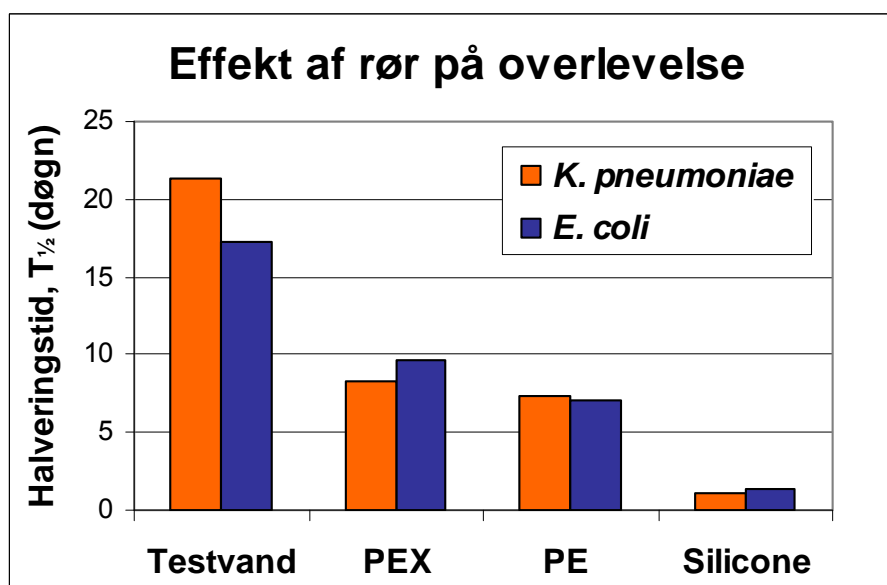
Figur 30: Sammenligning af *K. pneumoniae* henfald i vand fra Lyngby Vandværk podet med *K. pneumoniae* og *E. coli* (kontrol) samt vand podet med både *K.*

pneumoniae og *E. coli* i kontakt med plastmaterierne PE, PEX og silicone. Inkuberet ved 15 °C. Åbent punkt illustrerer, at påvisning var under detektionsgrænsen.



Figur 31: Sammenligning af *E. coli* henfald i vand fra Lyngby Vandværk podet med *K. pneumoniae* og *E. coli* uden plastmaterialer (kontrol) samt vand podet med både *K. pneumoniae* og *E. coli* i kontakt med plastmaterierne PE, PEX og silicone. Inkuberet ved 15 °C. Åbent punkt illustrerer, at påvisning var under detektionsgrænsen.

K. pneumoniae og *E. coli* henfaldt i vandfasen i et tofaset forløb: langsomt de første 2-3 uger efterfulgt af et hurtigere henfald i resten af forsøgsperioden (op til 41 døgn). Under antagelse af 1. ordens henfald, var halveringstider ($T_{1/2}$) for *E. coli* og *K. pneumoniae* i vand med silicone hhv. 2,4 og 5,3 og døgn, hhv. 1,2 og 3,7 døgn for PE og hhv. 3,5 og 2,5 døgn for PEX (Figur 32).



Figur 32: Halveringstider for *E. coli* ATCC 25922 og *K. pneumoniae* M&R nr. 1 i drikkevand alene og i kontakt med PE, PEX og silicone.

5.2 *E. coli* og *K. pneumoniae* kolonisering af biofilm på PE-, PEX- og silicone-materiale

Både *K. pneumoniae* og *E. coli* blev påvist i biofilmen på PE, PEX og silicone efter 5 og 19 dage, og i nogle tilfælde også efter 4 uger. Generelt var der flere *K.*

pneumoniae og *E. coli* i biofilm på silicone end på PE og PEX – og i de fleste tilfælde flere *K. pneumoniae* end *E. coli*. I de andre tilfælde var *K. pneumoniae* på niveau med antallet af *E. coli* i biofilmen. Ved sidste biofilmprøvetagning (dag 28) var koncentrationen i biofilmen for alle tre plastmaterialer på samme niveau, dvs. typen af plastmateriale ikke påvirkede indikatororganismernes kolonisering af biofilmen eller overlevelsen i systemet.

Plastmaterialer gav generelt anledning til forhøjet eftervækst af den naturlige vandflora (HPC_{R2A;20°C;14dg.}) i vandfasen ($2 \times 10^4 - 1 \times 10^6$ CFU/ml) i forhold til kontrolflaske ($1 \times 10^4 - 1 \times 10^5$ CFU/ml). Biofilmdensiteten på plastmaterialerne var også højest på silicone med 10^5 CFU/cm², mens densiteten var ca. 10^4 CFU/cm² for PE og PEX. Størstedelen af biomassen var altid i vandfasen; biofilmen udgjorde kun 1-36 % af den totale biomasse - afhængigt af plastmateriale. Biofilmdensiteten (86 døgn efter forsøgsstart) var størst for silicone – 100-200 gange større end den laveste densitet på PE-rørmateriale. Biofilmdensiteten for PE og PEX lå i samme størrelsesorden, dvs. $11-65 \times 10^2$ CFU/cm². Den høje koncentration af HPC-bakterier i vandfase og i biofilm, hvor vandet var i kontakt med silicone, kan være en af årsagerne til, at *E. coli* og *K. pneumoniae* overlevede kortere i det system i forhold til PE og PEX, f.eks. på grund af en større konkurrence om næringsstoffer og større græsning af protozoer på bakterier.

5.3 Delkonklusion

Vandfase

- PE nedsatte overlevelsen af samtlige *E. coli* og *K. pneumoniae* stammer.
- Samme hæmmende effekt kunne ikke ses for *C. jejuni* stammerne. Sandsynligvis pga. af den korte periode hvor *C. jejuni* kunne påvises i både kontrol og i flasker med rørstykker af PE.
- Påvisning af *E. coli* og *K. pneumoniae* i vandfase afhang af materialetype. Silicone havde størst effekt på overlevelsen efterfulgt af henholdsvis PE og PEX (silicone >> PE > PEX).

Biofilm

- Begge indikatororganismer kunne påvises i biofilm på alle tre plastmaterialer, uden tydelig forskel i koncentration mellem materialer
- Silicone havde dog en højere biofilmdensitet sammenlignet med PE og PEX.

6 Overlevelse af *E. coli*, *K. pneumoniae* og *C. jejuni* i drikkevandsrør fra ledningsnettet

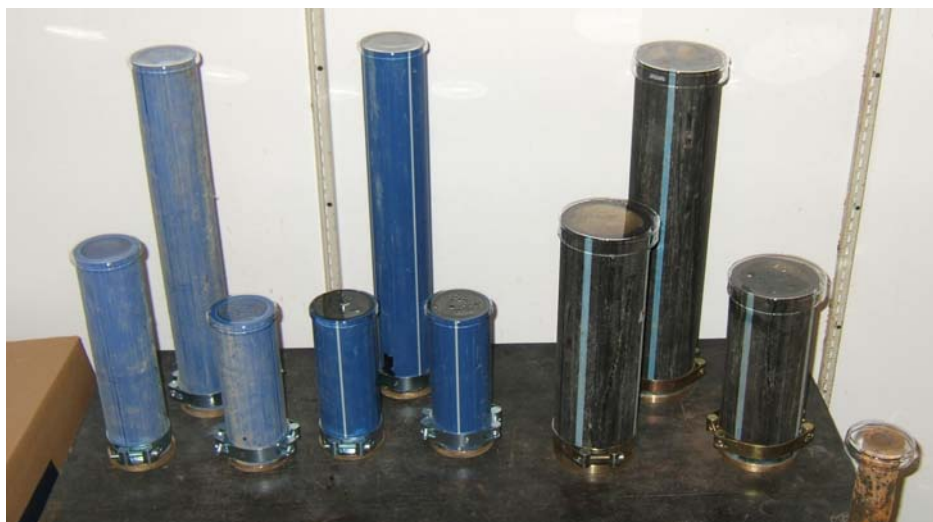
I forbindelse med en række større forureningssager kan indikatororganismerne (coliforme, *E. coli*, *enterokokker*) være til stede i ledningsnettet i lang tid, selv om ledningsnettet udskylles grundigt. For at kunne vurdere alvorligheden af denne forekomst af coliforme, er det afgørende at have kendskab til, i hvilket omfang og under hvilke betingelser de overlever – og om de eventuelt ligefrem vokser i ledningsnettet. Selv om der foreligger en del undersøgelser af, hvorledes forskellige indikatororganismer og patogener overlever i drikkevand under laboratorieforhold (dvs. forsøg udført i glasflasker), er der ringe viden om, hvorledes patogener overlever under realistiske forhold i rør med kalkudfældninger, rust og biofilm.

Plast- og støbejernsrør blev udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S i vinteren 2009. Plastrørene var forsyningsledninger, mens støbejernsrørene var stikledninger og var af forskellig alder og dimensioner (Tabel 8).

Tabel 8: Oversigt over rør udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S.

Lokalitet	År (ca.)	Materiale	Ø (mm)	Rørtype	Dato for udtagelse
Hyldegårds Tværvej	1918	Støbejern	40	Stikledning	04.03.2009
Soløsevej	1931	Støbejern	40	Stikledning	04.03.2009
Strandvejen	1996	PE	125	Forsyningsledning	20.02.2009
Springbanen	2003	PE	90	Forsyningsledning	19.02.2009
Nymosehuse	2008	PE	90	Forsyningsledning	27.02.2009

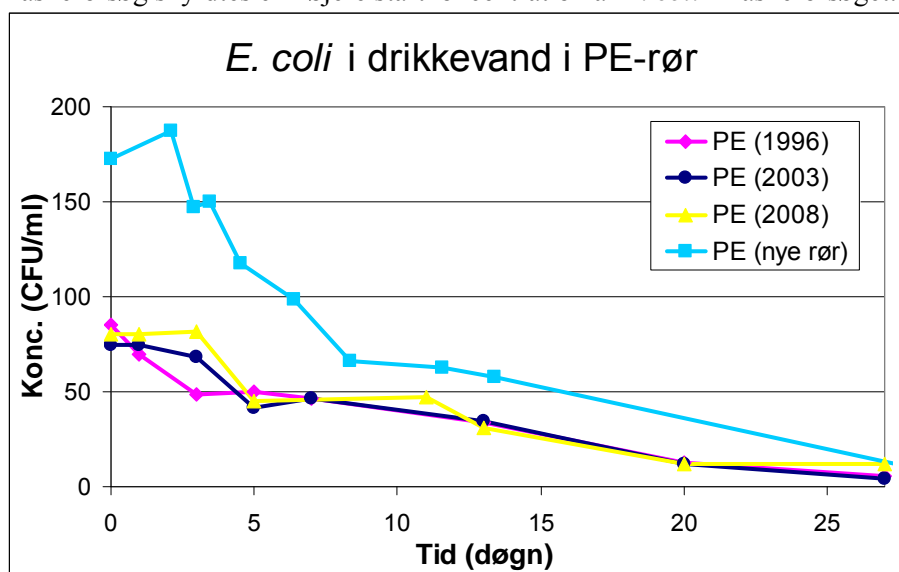
Plast- og støbejernsrør blev skåret i to til tre længder, hvor den ene rørende på alle stykker blev lukket tæt. Rør blev anbragt lodret, og prøvetagning af både vandfase og biofilm blev foretaget fra oven. Plastrør blev lukket med messingpropper (Figur 33), mens støbejernsrør blev lukket med slutmuffer i galvaniseret stål. En samlet portion af testvand med *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* M&R nr.1 og *C. jejuni* 11168 blev forberedt og overført til samtlige rør. Derudover bestod forsøgsopsætningen også af to kontrolflasker med testvand (uden materialer). Startkoncentrationerne var ca. 100 celler/ml for *E. coli* og *K. pneumoniae* og ca. 1000 celler/ml for *C. jejuni* 1116. Forsøget blev udført ved 10 °C (Figur 33). Vandfase og biofilm blev analyseret for de udvalgte bakterier i en periode af 4 uger.



Figur 33: Forsøgsopsætning for tre plastrør af PE udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S i februar-marts 2009.

6.1 Vandfase

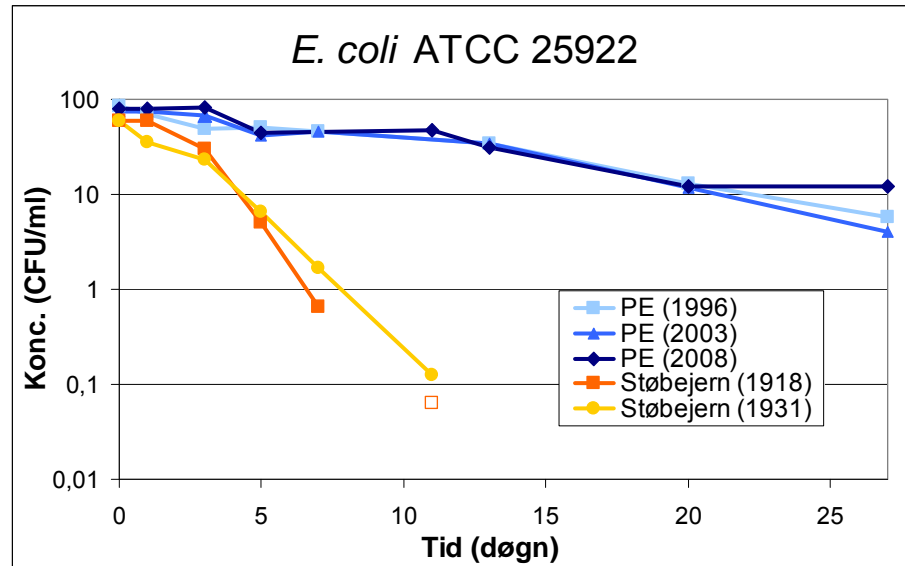
Både *E. coli* og *K. pneumoniae* overlevede i mere end fire uger i plastrørene fra ledningsnettet, hvor rørenes alder i ledningsnettet ikke havde indflydelse på overlevelsen i vandfasen (Figur 34). Koncentrationerne af *E. coli* i rørforsøg og flaskeforsøg var efter 4 uger på samme niveau (ca. 5-10 CFU/ml), så en moden biofilm har næppe nogen signifikant indflydelse på overlevelsen af *E. coli* i vandfasen. Forskel i *E. coli* ATCC 25922 koncentrationen i rørforsøg og flaskeforsøg skyldtes en højere startkoncentration af *E. coli* i flaskeforsøget.



Figur 34: Overlevelse af *E. coli* ATCC 25922 i vandfasen i tre rør af forskellig alder udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S samt overlevelse i flaskeforsøg i tilstedeværelsen af PE-rørstykker.

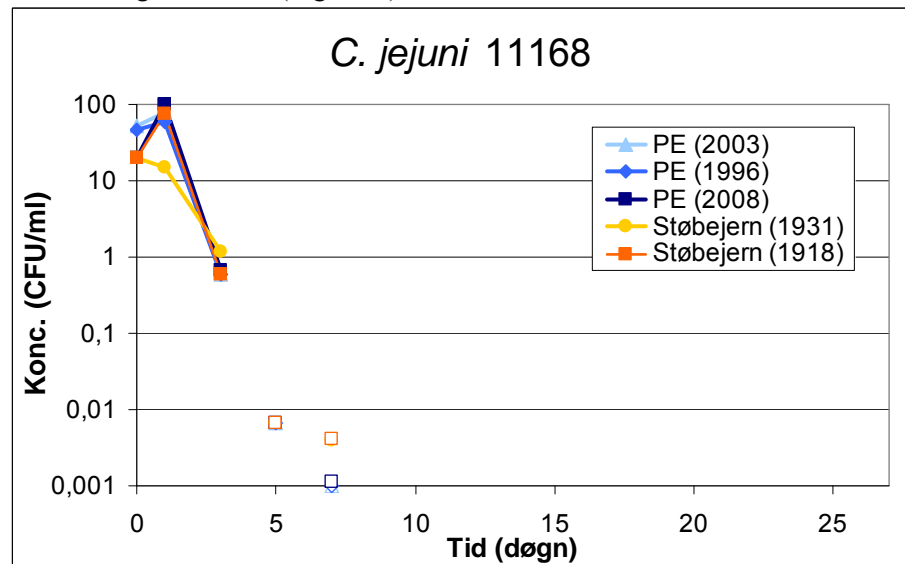
E. coli og *K. pneumoniae* koncentrationerne var betydeligt lavere i støbejernsrør end i PE-rør. Mens *E. coli* ATCC 25922 og *K. pneumoniae* M&R nr.1 overlevede i mere end fire uger i PE-rør fra ledningsnettet, var det kun muligt at detektere de to organismer i to uger i vandfasen i støbejernsrørene (Figur 35). Allerede efter syv døgn i støbejernsrør var koncentrationen omkring 1 CFU/ml i forhold til ~50 CFU/ml i PE-rør. Der kan være flere årsager til denne forskel mellem plast- og støbejernsrør, for eksempel at

- en større andel af *E. coli* og *K. pneumoniae* koloniserede den porøse overflade (biofilmen) i støbejernsrør end den glatte overflade i PE-rør (jf. afsnit 6.2).
- støbejernsrør havde en højere koncentration af den naturlige drikkevandsflora (jf. afsnit 6.1.1) med protozoer, dvs. der var større konkurrence om næringsstoffer og græsning af protozoer på bakterierne, hvilket bevirker en ringere overlevelse af *E. coli* og *K. pneumoniae* i støbejernsrør.



Figur 35: Overlevelse af *E. coli* ATCC 25922 i vandfasen i tre PE-rør med forskellig alder udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S og i to støbejernsrør af forskellig alder.

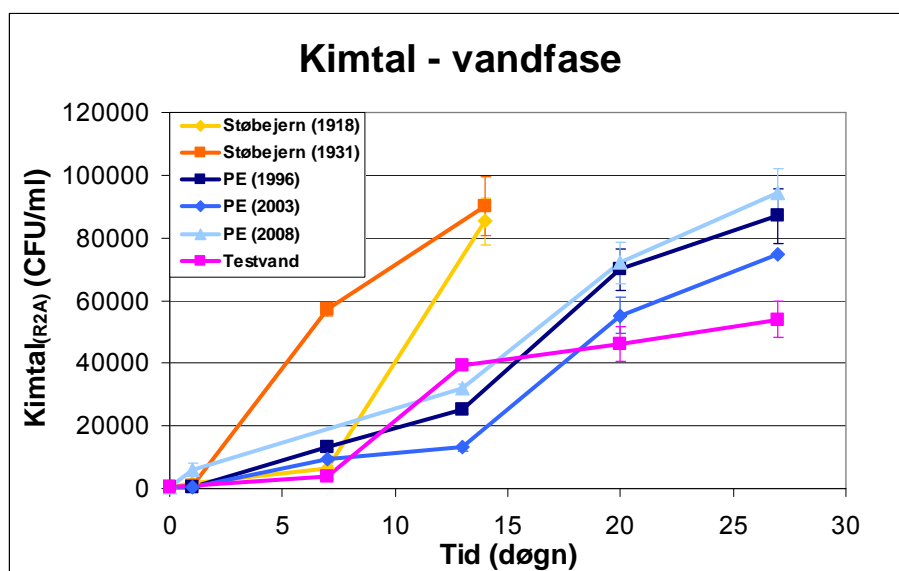
C. jejuni 11168 kunne højst påvises i 3 døgn vandfasen i både PE- og støbejernsrør (Figur 36). Der var således ikke samme effekt af rørtype som for indikatororganismene (Figur 33).



Figur 36: Overlevelse af *C. jejuni* 11168 i vandfasen i tre PE-rør af forskellig alder udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S og i to støbejernsrør af forskellig alder.

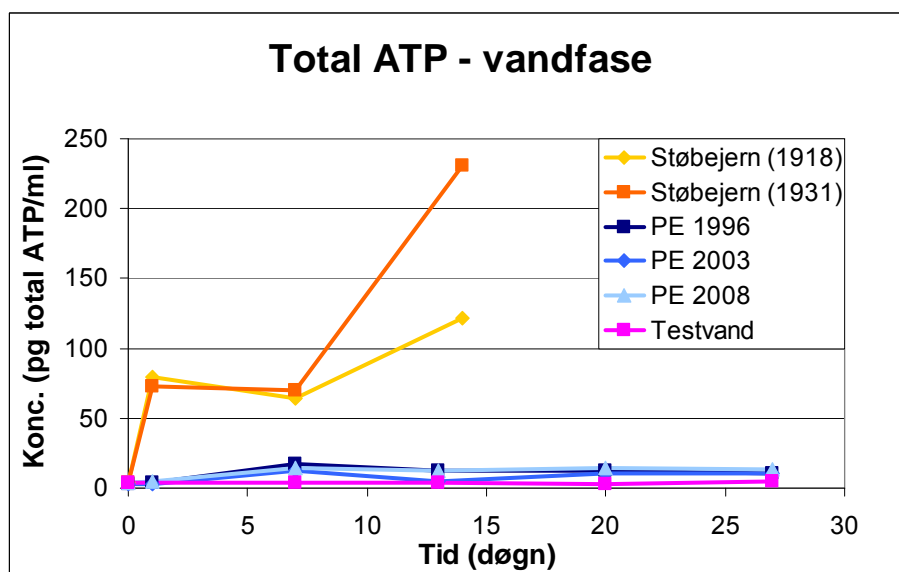
6.1.1 Eftervækst af den naturlige drikkevandsflora

Antallet af bakterier (Heterotrophic Plate Counts – HPC) (målt på R₂A-medie) steg i vandfasen i både PE- og støbejernsrør i løbet af forsøgsperioden på 14 døgn for støbejernsrør og 28 døgn for PE-rør (Figur 37). På dag 14 var der signifikant flere bakterier i støbejernsrørene ($\sim 9 \times 10^4$ CFU/ml) end i PE-rørene ($\sim 2 \times 10^4$ CFU/ml) og kontrolflasker (4×10^4 CFU/ml). Dette kan være en årsag til, at indikatororganismerne blev påvist i en kortere periode i vandfasen i støbejernsrørene end i PE-rørene, dvs. konkurrence om næringsstoffer og/eller græsning af protozoer.



Figur 37: Kimentalsbestemmelse på R₂A-medie for vandfase i PE-rør, støbejernsrør og kontrolflasker (kun podet testvand).

Efter fire uger var bakterieantallet $7,5-9,5 \times 10^4$ CFU/ml i vandfasen i PE-rør, svarende til koncentrationen i vandfasen i støbejernsrørene allerede på dag 14 (Figur 37). Totalbestemmelser (total ATP-målinger) viste, at koncentrationen af drikkevandsfloraen i støbejernsrørene til enhver tid var signifikant højere end i vandfasen i PE-rørene (Figur 38).



Figur 38: Totaltællinger baseret på ATP-målinger for vandfase i PE-rør, støbejernsrør og kontrolflasker (kun inokuleret testvand).

Ydermere var ATP-koncentrationen højere i vandfasen i PE-rørene end i kontrolflaskerne. Det vil sige, at PE-rørene gav anledning til eftervækst.

6.2 Biofilm kolonisering

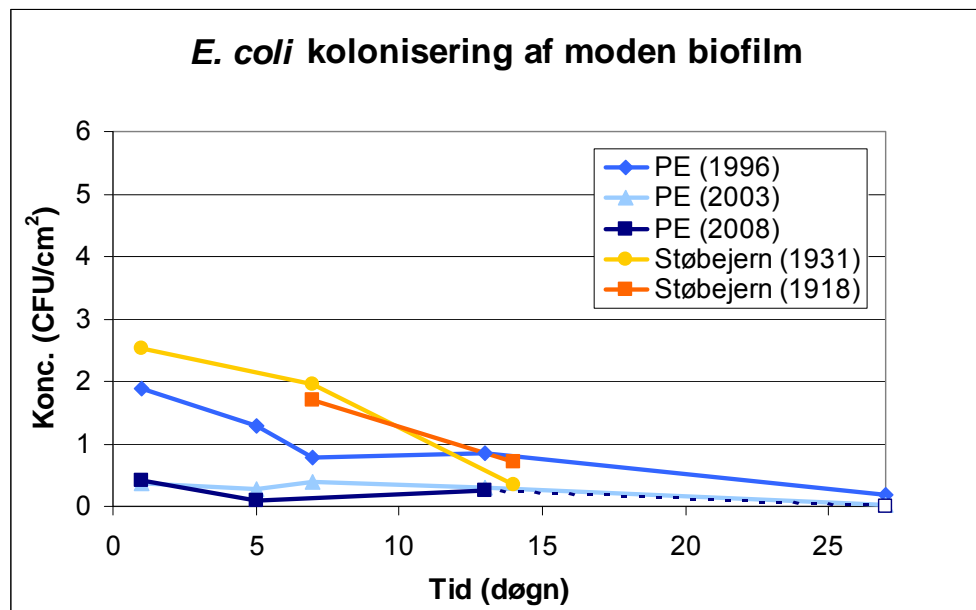
Biofilm i rør fra ledningsnettet blev undersøgt for kolonisering af *E. coli* 25922, *K. pneumoniae* M&R nr.1 og *C. jejuni* 11168. Biofilmprøver blev udtaget ved afskrabning på et areal på 50-100 cm² af rørenes inderside med sterile vatpinde.

Biofilmen i støbejernsrør og PE-rør var meget forskellige. I plastør var biofilmen en slimhinde, glat på overfladen. Indersiden i støbejernsrør var derimod meget ru, med mange rusttuberkler på overfladen (Figur 39).

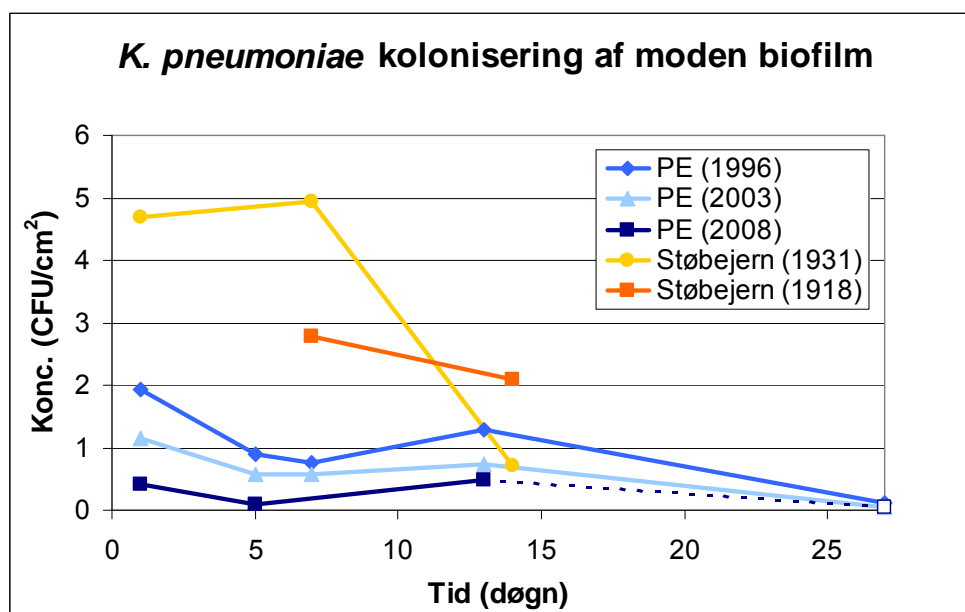


Figur 39: Illustration af indersiden i ét af PE-rørene (t.v.) og ét af støbejernsrørene (t.h.) udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S.

Under forsøgene kunne både *E. coli* ATCC 25922 og *K. pneumoniae* M&R nr.1 påvises i biofilmen i samtlige PE-rør og støbejernsrør udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S (Figur 40; Figur 41). I løbet af den første uge var biofilmkoncentrationerne af begge bakterier højere i støbejernsrør end i PE-rørene, men kunne påvises i biofilmen i PE-rør i hele forsøgsperioden af fire uger, og kun 14 dage i støbejernsrør.



Figur 40: Koncentration af *E. coli* ATCC 25922 i biofilm i PE- og støbejernsrør fra ledningsnettet i Nordvand A/S.

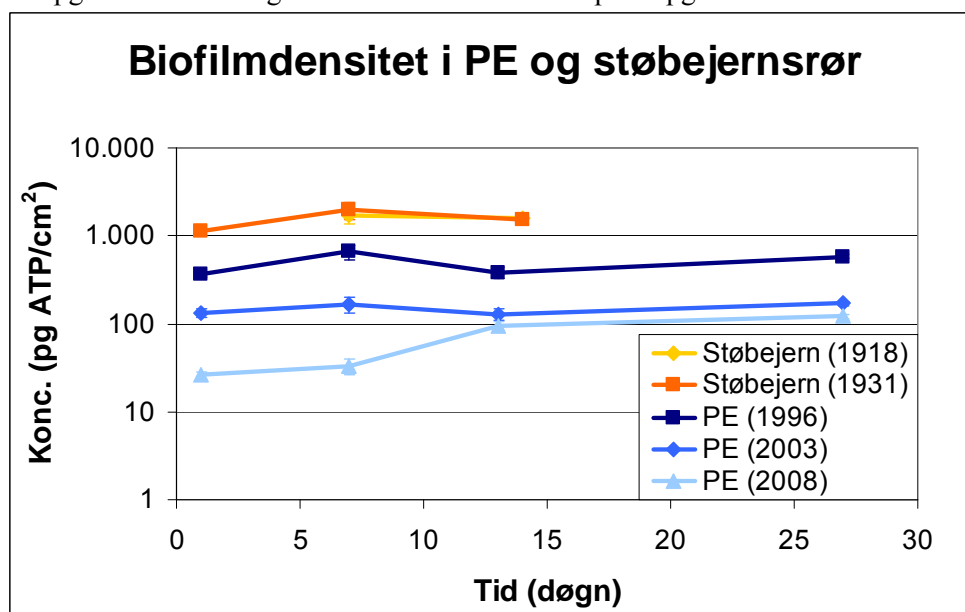


Figur 41: Koncentration af *K. pneumoniae* M&R nr.1 i biofilm i PE- og støbejernsrør fra ledningsnettet i Nordvand A/S.

En anden iøjnefaldende observation ved biofilmanalyserne var, at koncentration af både *E. coli* og *K. pneumoniae* i biofilmen var højere jo længere PE-røret havde været i ledningsnettet. Det vil sige, at jo mere moden biofilmen er, desto højere kolonisering af indikatororganismerne (1996 > 2003 > 2008).

6.2.1 Biofilmdensitet (total ATP)

ATP-målinger af resuspenderet biofilm var signifikant højere i støbejernsrør (1580 pg total ATP/ml) end i PE-rør (96-380 pg total ATP/ml). Derudover var der en tydelig højere densitet i PE-rør fra 1996 end i rør fra 2008. PE-rør fra 1996 havde en densitet på 380 pg total ATP/ml efterfulgt af PE-rør fra 2003 med en densitet på 130 pg total ATP/ml og til sidst PE-røret fra 2008 på 96 pg total ATP/ml.



Figur 42: ATP-målinger af biofilm høstet fra PE-rør og støbejernsrør udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S i vinteren 2009.

6.3 Delkonklusion

Vandfase:

- Overlevelse af *E. coli* og *K. pneumoniae* i vandfasen var den samme i nye rør (flaskeforsøg) og rør fra ledningsnettet.
- *C. jejuni* kunne påvises i op til tre døgn i rør fra ledningsnettet, uden forskel mellem nye rør og rør med moden biofilm.
- Der var ingen forskel i overlevelsen af *E. coli* og *K. pneumoniae* i tre PE-rør af forskellig alder, dvs. tid i ledningsnettet.
- *E. coli* og *K. pneumoniae* kunne påvises i signifikant kortere i vandfasen i støbejernsrør (14 døgn) end i PE-rør (28 døgn).
- Signifikant højere totalbestemmelse (total ATP) i støbejernsrør end i med PE-rør.
- Større forskel mellem støbejernsrør og PE-rør ved totalbestemmelse (total ATP) end ved HPC (R₂A).

Biofilm:

- Der var højere biofilmkoncentrationer af *E. coli* og *K. pneumoniae* i støbejernsrør end i PE-rør. Totalbestemmelser(ATP) viste også signifikant højere koncentration for biofilm i støbejernsrør end biofilm i PE-rør.
- Jo ældre biofilm på PE-rør jo større biofilmkolonisering af *E. coli* og *K. pneumoniae* og jo højere var biofilmdensiteten målt som total ATP.
- *E. coli* og *K. pneumoniae* koncentrationer i biofilm var lavere i rør fra ledningsnettet end i flaskeforsøg (nye plastrør).

7 Diskussion

7.1 Risici ved ledningsrenovering og anbefalinger

Den indledenderisikoidentifikation i forbindelse med ledningsrenovering viste flere risici mht. mikrobiologisk drikkevandskvalitet både før, under og efter renovering af vandledninger. Et af risikoelementerne i ledningsrenoveringen var rør, der ikke var lukkede under opbevaring, indtrængen af vand/jord ved styret underboring/relining og afgivelse af organiske forbindelser fra nye plastrør efter renoveringen. Den mikrobiologiske kvalitet af vandet i udgravede huller til styret underboring viste, at det er yderst vigtigt at undgå at dette vand kommer i kontakt med indersiden af nye rør. Vandet var karakteriseret af høje kimtal og et væsentligt indhold af indikatororganismer (coliforme, *E. coli* og *enterokokker*). Det er derfor vigtigt at gennemgå procedurerne ved ledningsrenoveringen og grundigt planlægge selve renoveringen for at reducere risikoen for at rør og vand bliver forurenede.

Det har ikke været muligt at identificere de konkrete årsager til Nordvands A/S observationer af forhøjede kimtal 22 og kimtal 37 i 2006 og 2007. Disse observationer kan næppe tilskrives et bestemt fejltrin i ledningsrenoveringen, men skyldes snarere samspillet af en række parametre og procedurer, herunder opbevaring af rør inden renoveringen, temperatur, utilstrækkelig skylning af rør (ikke-standardiseret procedure), utæt prop ved rørføring.

Der er ingen faste, fælles procedurer for renovering af ledningsnettet, dvs. at hver enkelt vandforsyning har sine egne metoder og procedurer. For eksempel foretager alle vandforsyninger ikke nødvendigvis kvalitetskontrol af drikkevandet efter en renovering af ledningsnettet, som er en af Nordvand's A/S procedurer. Efter præcisering af procedurerne for ledningsrenovering i Nordvand A/S var der færre tilfælde med forhøjede mikrobiologiske værdier. Især øget bevidsthed om risici ved renovering af ledningsnettet hos personalet, der udfører selve renoveringen, samt standardisering af procedurer har formodentlig bidraget til dette. De fleste efterfølgende mikrobiologiske problemer har især forekommet, når eksterne entreprenører har udført renoveringen, hvor metoder og procedurer er ukendte. Derudover menes den opdaterede skylningsprocedure, dvs. kraftigere skylning og frit afløb for enden af ledningen samt monteringen af ny prop vha. svejsning ved styret underboring at have bidraget til risikominimeringen. På baggrund af dette projekt er der udarbejdet en række anbefalinger til vandforsyninger om ledningsrenovering (Boks 1).

Boks 1: Anbefalinger til vandforsyninger

- At rør ikke forurenes under opbevaring
- At ledningsreoveringen foregår så kontrolleret som muligt
- At der foreligger faste procedurer ved reovering af vandledninger
- At der foreligger procedurer, for hvorledes der skal ageres, når de mikrobiologiske kvalitetskrav ikke opfyldes, eller når proceduren for ledningsreovering ikke går som planlagt
- At den mikrobiologiske drikkevandskvalitet i ny ledning analyseres og godkendes inden kobling til ledningsnettet
- At personalet er trænet i hygiejne: At procedurer jævnligt gennemgås med personalet samt med nyansat personale
- At personalet er bevidst om følgerne (for borgere) og de økonomiske konsekvenser for vandforsyningen, hvis drikkevandet ikke opfylder de mikrobiologiske krav

7.2 Overlevelse af indikatororganismer og patogener i drikkevand

De *E. coli*- og *K. pneumoniae*-stammer, der blev undersøgt i dette projekt, kunne påvises i mere end 4 uger i drikkevand, uanset om stammen var isoleret fra miljøet eller fra patienter. Derimod kunne de undersøgte *C. jejuni* stammer kun påvises i op til fem døgn i drikkevand under de definerede forsøgsforhold med den anvendte analysemetode.

Campylobacter har en lav ilttolerance og har det derfor ikke godt ved iltkoncentrationer højere end ca. 5%. Samtidig er *Campylobacter* følsom overfor temperaturer over 15°C (Thomas et al., 1998). Ifølge Rollins & Colwell (1986) kan *Campylobacter* overleve i drikkevand i flere uger ved ca. 4°C. Der er endda observeret overlevelse af *Campylobacter* i vand i op til fire måneder ved lave temperaturer. Lehtola et al. (2006) kunne kun påvise *C. jejuni* i drikkevandsbiofilm i 1 døgn efter inokulering med en dyrkningsbaseret metode med opformeringstrin, men med fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) kunne de fortsat detektere *C. jejuni* efter 1 uge i biofilmen og efter 3 uger i vandfasen.

I dette projekt er alle forsøg med *Campylobacter* udført ved 10°C, som svarer til vandets gennemsnitlige temperatur i ledningsnettet i Danmark. *Campylobacter* vil tit befinde sig i en levedygtig, men ikke-dyrkbar tilstand (viable but non-culturable), hvis den f.eks. sultes. Det vil sige, at selvom cellerne stadig er metabolisk aktive, vil de ikke danne kolonier på dyrkningsmedie, som sædvanligvis understøtter deres vækst (Cools et al., 2003). Ved påvisning af *Campylobacter* inkluderes sædvanligvis et opformeringstrin, hvilket forbedrer mulighederne for at detektere *Campylobacter* celler, som er i et ikke-dyrkbart stadie. Dette opformeringstrin er undladt i dette projekt, da en af målsætningerne med forsøgene var at udføre kvantitative analyser af *Campylobacter*. Det betyder, at *Campylobacter* koncentrationer i dette projekt muligvis er underestimeret.

Med molekylære metoder er det muligt at påvise ikke-dyrkbare *Campylobacter* celler, men det vides ikke med sikkerhed, hvorvidt celler er infektiøse i en ikke-dyrkbar tilstand. Drikkevandskontrol for *Campylobacter* baseres normalvis på en dyrkningsbaseret metode, hvorfor der i dette projekt er anvendt en dyrkningsbaseret metode til påvisning af *Campylobacter*. Derudover vides det med sikkerhed, at *Campylobacter* celler er infektiøse, når de er dyrkbare. Med disse realistiske forsøgsomstændigheder (temperatur, metode) var det muligt at påvise de human patogener *C. jejuni* stammer i drikkevand op til 5 døgn.

7.3 Effekt af rørmaterialer på overlevelsen af indikatororganismer og patogener

Tilstedeværelsen af plastmaterialerne PE, PEX og silicone gav anledning til eftervækst, med størst vækst af den generelle bakteriepopulation i vand i kontakt med silicone (10^4 - 10^6 CFU/ml). Under disse forhold var henfald af *E. coli* og *K. pneumoniae* væsentligt hurtigere end i vand med de to andre plastmaterialer - PE og PEX. Henfaldet af *E. coli* og *K. pneumoniae* kan skyldes konkurrence om vandets næringsstoffer, hvor *E. coli* og *K. pneumoniae* kun udgør en lille andel af den totale biomasse i vandet. Men den øgede vækst af den naturlige bakteriepopulation kan også give anledning til en forøget vækst af protozoer i vandet, som græsser på de øvrige bakterier (Hahn & Höfle, 2001), hvilket understøttes af andre undersøgelser (Camper et al. (1985), Sibille et al. (1998), hvor *E. coli* overlevede længere, når der ikke var protozoer tilstede.

Der var stor forskel i overlevelsen af indikatororganismer i plastrør i forhold til støbejernsrør udtaget fra ledningsnettet. Både *E. coli* og *K. pneumoniae* kunne påvises i støbejernsrørene op til 14 døgn, mens begge bakterier kunne påvises i både vandfase og biofilm i PE-rørene på dag 28. Den forholdsvis korte påvisning af *E. coli* og *K. pneumoniae* i støbejernsrørene kan skyldes, at der ligefrem er en kortere overlevelse i støbejernsrør, eller at de i højere grad befinder sig i en ikke-dyrkbar tilstand i forhold til PE-rørene pga. ufavorable forhold. Derudover var der en signifikant højere total ATP koncentration – og dermed en meget større mikrobiel population i vandet i støbejernsrør end i PE-rør – dette svarer til situationen med tilstedeværelse af silicone, hvor der også var en stor mikrobiel population og kortere overlevelsestid.

Startkoncentrationen i alle forsøg i dette projekt var 100-200 celler/ml af *E. coli* og *K. pneumoniae*, hvilket er et lavt koncentrationsniveau og tæt på et realistisk niveau. Der er ikke fundet frem til andre laboratorieforsøg, hvor startkoncentrationen har været i samme lave niveau, men fra 10^3 til 10^6 CFU/ml. I andre lignende undersøgelser, hvor startkoncentrationen har været flere dekader højere end i dette projekt, henfaldt *E. coli* rimeligt hurtigt, dvs. vandfasekoncentrationen hurtigt nåede ned på samme niveau som startkoncentrationer i dette forsøg (100-200 CFU/ml), hvilket kan skyldes en skærpet konkurrence om næringsstofferne. Således kan forsøgsomstændighederne i mange af andre tidligere undersøgelser have ført til underestimering af overlevelsen af *E. coli* i drikkevand.

7.4 Overlevelse af indikatororganismer og patogener i biofilm

Både *E. coli* og *K. pneumoniae* kunne påvises i biofilm på både plastrør og støbejernsrør, dog i signifikant lavere omfang end i vandfasen. Hvor vandfasekoncentrationen faldt signifikant over tid, var biofilmkoncentrationen derimod forholdsvis stabil, dvs. at biofilmandelen af *E. coli* og *K. pneumoniae* i systemet voksede i løbet af forsøgsperioden. Dette tyder på, at bakterierne er mere dyrkbare eller overlever bedre i biofilmen.

Den naturlige mikrobielle population i vandfasen og biofilmdensiteten var signifikant større i støbejernsrør end i PE-rør udtaget fra ledningsnettet. Biofilmprøver fra støbejernsrørene havde en højere biofilmkolonisering af *E. coli* og *K. pneumoniae* end i PE-rørene. Dette kan skyldes, at overfladen i støbejernsrørene var meget porøs, og dermed var overfladearealet til kolonisering større end i PE-rørene.

Alle forsøg til dette projekt er udført med stillestående (stagnant) vand, hvilket udgør en væsentlig forskel i forhold til de virkelige forhold i ledningsnettet, som overvejende har flow, om end vandet i husinstallationer ofte er stillestående. Når der ikke er flow igennem systemet udvaskes *E. coli*, *K. pneumoniae* og *C. jejuni* ikke, så på denne måde er de udførte forsøg udtryk for den maksimale overlevelse i drikkevand. Desuden vil biofilmdannelsen formentlig have en anden udvikling under stillestående forhold end i ledningsnettet, idet andre forsøg (Manuel et al., 2007) har vist, at biofilm groede i et mindre omfang under stagnante forhold, knap 10^6 CFU/cm² ved dyrkning på R₂A efter ca. 56 døgn for både PE og PEX, mens der var ca. 10^7 - 10^8 CFU/cm² under flowforhold. I nærværende projekt nåede biofilmdensiteten op på 2×10^4 CFU/cm² for PE og PEX og 2×10^5 CFU/cm² for silicone efter 140 døgn. For rør fra ledningsnettet var densiteten $\sim 1,6 \times 10^4$ CFU/cm² i støbejernsrør efter 14 døgn og $1,1$ - $1,7 \times 10^4$ CFU/cm² efter 28 døgn for PE-rør fra ledningsnettet. I ledningsnettet er der for det meste flow, hvilket giver andre betingelser end ved stagnante forsøg, herunder en konstant tilførsel af bakterier og næringsstoffer. Dvs. at densiteten sandsynligvis vil være større under flowforhold, da der hele tiden bliver tilført nye næringsstoffer.

Der var ikke forskel i overlevelsen i vandfasen uanset om forsøgsopstillingen bestod af plastrør fra ledningsnettet eller nye stykker af plastrør i drikkevand (flaskeforsøg) – dette gjaldt for både indikatororganismene og *C. jejuni*. Der var større biofilmkolonisering af indikatororganismer jo ældre eller jo længere plastrørene havde været i ledningsnettet. Derimod var der højere koncentration af indikatororganismene i biofilmen i flaskeforsøg ('nye rør') sammenlignet med plastrør fra ledningsnettet. Dette kan skyldes, at bakterierne har nemmere ved at kolonisere en overflade, der ikke i forvejen er dækket af en moden biofilm.

7.5 Konklusioner

Dette projekt har vist, at høje kimtal som følge af reovering af vandledninger kan forhindres ved at indføre god hygiejne og standardiserede procedurer ved ledningsreoveringer. Standardiserede procedurer for ledningsreovering kan dermed bidrage til en øget forsyningsikkerhed.

Derudover er det vigtigt at 'muddervand' fra stikledningshuller, som indeholder både høje kimtal og fækale indikatororganismer, ikke kommer i kontakt med indersiden af rør ved rørføring. Dette kan give problemer i ledningsnettet, hvor undersøgte indikatororganismer kan overleve i flere uger i biofilmen, og hvor laboratorieforsøg viste, at indikatororganismene i højere grad koloniserede nye plastrør end rør udtaget fra ledningsnettet med en moden biofilm.

Laboratorieforsøg med nye plastrør (PE, PEX) og PE-rør udtaget fra ledningsnettet viste, at indikatororganismer kan overleve i mere end 4 uger i drikkevand. Hvorimod overlevelsen 'kun' var 2 uger i støbejernsrør udtaget fra ledningsnettet. Dvs. at rørmaterialer har indflydelse på overlevelsen af indikatororganismer og sandsynligvis også patogener i drikkevandssystemer.

8 Referencer

Barwick, R.S.; Levy, D.A.; Craun, G.F.; Beach, M.J.; Calderon, R.L. (2000) Risk factors for waterborne enteric infections. *Mor. Mortal. Wkly. Rep. CDC Surveill. Summ.* 48, 1-35.

BEK nr. 1449 (2007) BEK nr. 1449 af 11/12/2007, Bekendtgørelse om vandkvalitet og tilsyn med vandforsyningsanlæg, Miljøministeriet.

Camper, A.K., LeChevallier, M.W.; Broadaway, S.C. og McFeters G.A. (1985) Growth and Persistence of Pathogens on Granular Activated Carbon Filters, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol 50, No 6, pp 1378-1382.

Clark, C.G., Price, L.; Ahmed, R.; Woodward, D.L.; Melito, P.L., Rodgers, F.G.; Jamieson, F.; Ciebin, B.; Li, A.; Ellis, A. (2003) Characterization of Waterborne Outbreak-associated *Campylobacter jejuni*, Walkerton, Ontario. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 9, No. 10, pp. 1232-1241.

Cools, I.; Uyttendaele, C.; Caro, C.; D'Haese, E.; Nelis, H.J.; Debevere, J. (2003) Survival of *Campylobacter jejuni* strains of different origin in drinking water, *Journal of Applied Microbiology*, 94: 886-892.

Corfitzen, C.B. (2004) Investigation of aftergrowth potential of polymers for use in drinking water distribution – factors affecting migration of bioavailable compounds investigated by batch set-ups and continuous flow model systems. PhD-afhandling, Environment & Resources, Technical University of Denmark.

Corfitzen, C.B.; Albrechtsen, H.-J.; Arvin, E.; Jørgensen, C.; Boe-Hansen, R. (2002) Afgivelse af organisk stof fra polymere materialer - mikrobiel vækst, Miljøprojekt nr. 718, Miljøstyrelsen.

Corfitzen, C.B.; Albrechtsen, H.-J.; Arvin, E.; Jørgensen, C. og Boe-Hansen, R. (2003) Polymerer kan få bakterier til at vokse i drikkevand; Ny viden fra Miljøstyrelsen, s.69-74; Miljøstyrelsen.

Corfitzen, C.B.; Vang, Ó.K.; Albrechtsen, H.-J. (2009) Risikovurdering og risikoprofil af forekomst af coliforme bakterier i drikkevand, Naturstyrelsen, 2010.

EPI-NYT (2007) Uge 10 Vandforurening i Køge, januar, Statens Serum Institut.

Guldbæk, I. & L. Bagge (2007) Vurdering af metodeskifte for coliforme bakterier i drikkevand. Miljøprojekt nr. 1162, Miljøstyrelsen.

Hahn, M.W.; Höfle, M.G. (2001) Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria, *MiniReview, FEMS Microbiology Ecology* 35, pp 113-121.

Hänninen, M.-L. & Kärenlampi, R. (2004) *Campylobacter* in waterborne epidemics in Finland. *Water Science and Technology: water Supply* Vol. 4, No. 2, pp. 39-45, IWA Publishing.

ISO 17995; Water quality – Detection and enumeration of thermotolerant *Campylobacter* species. reference number ISO 17995:2005(E)

Krogfelt, K.A.(2007) Statens Serums Institut, personlig kommentar via mail 27 marts 2007.

Lehtola, M.J.; Pitkänen, T.; Miebach, L.; Miettinen, I.T. (2006) Survival of *Campylobacter jejuni* in potable water biofilms: a comparative study with different detection methods, *Water Science & Technology*, Vol 54, No 3, pp 57-61.

Lindhardt, B.(2008) Kontrol af vandkvalitet ved ledningsrenovering, Nordvand A/S; 14. januar 2008.

Lyngby-Taarbæk Forsyning A/S (2009) Lyngby-Taarbæk Forsynings A/S hjemmeside, 4. december 2009.

Manuel, C.M.; Nunes, O.C. og Melo, L.F. (2007) Dynamics of drinking water biofilm in flow/non-flow conditions; *Water Research* 41, pp 551-562.

Nielsen, G.; Thomsen, T.; Lind, S.; Lindhardt, B.; Arvin, E.; Hansen, K.M.; Westphal, H. (2004) Afsmitning til drikkevand fra plastrør anvendt til vandforsyningsformål – Identifikation af potentielle stoffer, udarbejdet for Vandpanelet, 2004.

Nielsen, S.C.; Petersen, K.; Helsingreen, H.; Faldager, I.; Møller, M.; Ohlsen, B.; Villadsen, I. (2001) Udvikling af pakkøløsninger til etablering af faskiner ved hjælp af no-dig teknik, *Økologisk Byfornyelse og Spildevandsrensning* Nr. 8, Miljø- og Energiministeriet.

NMKL (2007) Nordiske Metodikkomité for levnedsmidler, Nr. 119, 3. udgave: Termotolerante *Campylobacter*. Påvisning, semi-kvantitativ og kvantitativ bestemmelse i levnedsmidler og drikkevand.

Oppenhagen, R. (2001) Styret underboring - en problemknuser; *Dansk Vejtidskrift* nr. 2, p. 16-17.

Pedersen, M.B. (2008) Nordvand A/S, personlig kommentar.

Philbert, M.A.; Kupferle, M.J.; Buchberger, S.G.; Revetta, R.P.; Rodgers, M.; Meckes, M.C. (2006) Biofilm: A Shelter or Barrier in Drinking Water Distribution Systems? 8th Annual Water distribution Systems Analysis Symposium, Cincinnati, Ohio, USA, August 27-30, 2006.

Reul, L.; Johannsen, J.S.; Arvin, E. & Albrechtsen, H.-J. (2002) Overlevelse af coliforme bakterier i tidligere forurenede husinstallationer, *danskVAND*, 70, 262-266.

Rollins, D.M. & Colwell, R.R. (1986) Viable but non-culturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the aquatic environment; *Applied and Environmental Microbiology* 52: 531-538.

Roslev, P.; Bjergbæk, L. A.; Hesselsoe, M. (2003) Effect of oxygen on survival of faecal pollution indicators in drinking water, *Journal of Applied Microbiology*. 96:938-945.

Sibille, I.; Sime-Ngando, T.; Mathieu, L. og Block, J.C. (1998) Protozoan Bacterivory and *Escherichia coli* survival in Drinking Water Distribution Systems, Applied and Environmental Microbiology, Vol 64, No 1, pp 197-202.

Silhan, J.; Corfitzen, C.B.; Albrechtsen, H.-J. (2006) Effect of temperature and pipe material on biofilm formation and survival of *Escherichia coli* in used drinking water pipes: a laboratory-based study, Water Science & Technology Vol 54 No 3 pp 49–56.

SSI (2007) Oplysninger af Statens Serum Institut (SSI) angående *Escherichia coli* og *Klebsiella pneumoniae* stammer fra SSI.

SSI (2008) Oplysninger af Statens Serum Institut (SSI) angående *Campylobacter jejuni* stammer fra SSI.

SSI (2009) Smitsomme sygdomme i 2008, EPI-NYT, Uge ½ 2009, Epidemiologisk afdeling, Statens Serum Institut (SSI).

Stenström, T.A.; Boisen, F.; Georgsson, F.; Lahti, K.; Lund, V.; Andersson, Y.; Ormerod, K. (1994) Waterborne infections in Nordic countries (Vattenburna infektiner i Norden). Tema Nord 1994:585, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, Denmark.

Thomas, C.; Hill, D.J.; Mabey, M. (1998) Evaluation of the effect of temperature and nutrients on the survival of *Campylobacter* ssp. in water microcosms, Journal of Applied Microbiology, 86, pp. 1024-1032, 1999.

van der Kooij, D.; Albrechtsen, H.-J.; Corfitzen, C.B.; Ashworth, J.; Parry, I.; Enkiri, F.; Hambsch, B.; Hametner, C. Kloiber, R.; Veenendaal, H.R.; Verhamme, D.; Hoekstra, E.J. (2003) Assessment of the microbial growth support potential of construction product in contact with drinking water (CPDW) – Development of a harmonised test to be used in the European Acceptance Scheme concerning CPDW – EVK1-CT2000-00052.

van der Kooij, D.; Baggelaar, P.K.; Veenendaal, H.R.; Moulin, L.; Corfitzen, C.B.; Albrechtsen, H.-J.; Holt, D.; Hambsch, B. (2006) Standardising the biomass production potential for determining the enhancement of microbial growth by construction materials in contact with drinking water; EC Grant Agreement nbr. S12.403889.

Vang, Ó.K. (2007) Mediebestemmelse til kvantificering af *Klebsiella pneumoniae* og *Escherichia coli* i drikkevand; forprojekt til eksamensprojekt ved Institut for Miljø & Ressourcer, DTU.

Wessels, S.; Corfitzen, C.B.; Albrechtsen, H.-J. (2005) Bakterievækst og tilsætningsstoffer, Miljøprojekt Nr. 991, Miljøministeriet.

www.fvd.dk (3. marts 2008).

www.ing.dk (6. oktober, 2009). Seruminstitut skærer igennem: Vandet er årsag til 100 syge i Tune. Torben R. Simonsen, Ingeniøren Nyheder, 1. jul 2009.

www.umn.dk (3. marts 2008).

Zoonose Nyt (1997) 4 udg., nr. 2.

Østergaard, E.-M. (2006) *På sporet af en optimal vandkvalitet, foredrag v. IDAmiljø møde om 'Drikkevand – nye og hurtige metoder i jagten på bakterieforurening i drikkevand. 28. september, 2006, Ingeniørhuset, København.*

Bilag A: Oversigt over ledningsrenoveringer i Nordvand A/S 2006-2008

Oversigt over ledningsrenovering i Nordvand A/S – herunder anvendt metode, antal prøver m.m. I de tilfælde hvor 1. kontrolprøve ikke er godkendt er der tale om overskridelser på krav til kim22 og kim37 på ledningsnet. hverken coliforme eller *E. coli* blev påvist.

Lokalitet	År	Måned	Entreprenør	Metode	Kravværdier opfyldt	Problem-parameter	Max kim22 [CFU/ml]	Max kim37 [CFU/ml]	Antal prøve-tagninger	Temperatur [°C]	Varighed [døgn]	Ø [mm]	Rørtype ⁵	Flow ved skylning ⁴ [m ³ /døgn]	Svamp [døgn/antal pr.]
Sønderegen	2006	Juni	NV	S. ub.	Nej	Kim22 Kim37	6500	785	9	18	41	125	Profuse pp; PN10 ⁷ SDR ⁶ 17	7,6	21/5
Bernstorffsvej ²	2006	Juni	NV	S. ub.	Nej	Kim22 Kim37	2800	880	18	14,5	87	250	PE 100; PN16 SDR 17	≥24,7	31/10
Vesterdalen	2006	Juli	NV	S. ub.	Nej	Kim22 Kim37	2400	760	10	18	48	90	Profuse pp, PN10 SDR 17	3,9/4	21/4 28/5
Mindevej	2006	August	NV	S. ub.	Nej	Kim22 Kim37	>3000	164	6	16,5	18	63	PE 80; PN10 SDR 11	2,0	14/4
Mylius Erichsens Alle, 1. etape	2006	Oktober-november	NV	S. ub.	Ja/nej	Kim22 Kim37	>3000	128	4	11	17	90	Profuse pp; PN10 SDR 17	3,9	-

Lokalitet	År	Måned	Entreprenør	Metode	Kravværdier opfyldt	Problem-parameter	Max kim22 [CFU/ml]	Max kim37 [CFU/ml]	Antal prøve-tagninger	Temperatur [°C]	Varighed [døgn]	Ø [mm]	Rørtype ⁵	Flow ved skylning ⁴ [m ³ /døgn]	Svamp [døgn/antal pr.]
Mylius Erichsens Alle, 2. etape	2006	December	NV	S. ub.	Ja	-	95	>1	2	10	-	90	Profuse pp; PN10 SDR 17	3,9	-
Tuborg	2006	November	NV	S. ub.	Ja	-	2	>1	2	9,5	-	225	PE 100; PN16 SDR 17	24,7	-
Hagens Alle 1. etape	2007	Januar-marts	NV	S. ub.	Ja	-	26	>1	1	7	-	90	Profuse pp; PN10 SDR 17	3,9	-
Hagens Alle 2. etape	2007	Januar-marts	NV	S. ub.	Ja	-	2	>1	1	6,2	-	90	Profuse pp; PN10 SDR 17	3,9	-
Brøndlunds Alle	2007	Marts	NV	S. ub.	Ja	-	110	2	2	7,5	-	90	Profuse pp; PN10 SDR 17	3,9	-
Tuborg Boulevard	2007	Marts	NV	S. ub.	Ja	-	41	3	1	9,5	-	280	PE 100; PN16 pp kappe; SDR 17	≥24,7	-
Høeghsminde-vej 1. etape	2007	Maj-juni	NV	S. ub.	Nej	Kim22 Kim37	830	290	6	12,5	13	90	Profuse pp; PN10 SDR 17	3,9	-
Jægersvinget	2007	Juni	Ekstern	Relining	Nej	Kim37	180	30	2	-	4	50	PE 80; PN10 SDR 11	≤ 2,0	-
Gammellose-vej	2007	Juni	Ekstern	Relining	Ja	-	29	1	1	18,2	-	50	PE 80; PN10 SDR 11	≤ 2,0	-
Ermelundsvej	2007	Maj	Ekstern	S. ub.	Nej	Kim22 Kim37	8	1	3	-	33	90	Egeplast slm; PN10 SDR 17	3,9	-
Høeghsminde-vej 2. etape	2007	Maj-juni	NV	S. ub.	-	-	91	2	1	12,5	-	90	Egeplast slm; PN10 SDR 17	3,9	-
Dahlenstræde	2007	September	NV	S. ub.	Ja/nej	Kim37	160	130	6 ³	14	18	90	Egeplast slm; PN10	3,9	-

Lokalitet	År	Måned	Entreprenør	Metode	Kravværdier opfyldt	Problem-parameter	Max kim22 [CFU/ml]	Max kim37 [CFU/ml]	Antal prøve-tagninger	Temperatur [°C]	Varighed [døgn]	Ø [mm]	Rørtype ⁵	Flow ved skylning ⁴ [m ³ /døgn]	Svamp [døgn/antal pr.]
Høeghsminde-vej 3. etape	2007	Juli	NV	S. ub.	Ja	-	26	7	2	15	-	90	SDR 17 Egeplast slm; PN10	3,9	-
Niels Andersensvej	2007	August-september	Ekstern	S. ub.	Nej	Kim22 Kim37	450	1500	6	15	21	110	SDR 17 PE 100; PN16	5,9	-
Bernstorffs-vænget	2007	September	NV	Relining	Ja	-	58	38	2	14,5	-	50	SDR 17 PE 80; PN10	≤ 2,0	-
Maltevangen	2007	Oktober	NV	Relining	Ja	-	20	1	2	13	-	50	SDR11 PE 80; PN10	≤ 2,0	-
Ridehusvej	2007	Marts	NV	Relining	Ja	-	-	-	-	10,5	-	50	SDR11 PE 80; PN10	≤ 2,0	-
Solsiden	2007	Oktober-november	NV	Relining	Ja	-	20	<1	2	11	-	50	SDR11 PE 80; PN10	≤ 2,0	-
Solbakkevej 1. etape	2007	November	NV	S. ub.	Ja	-	10	1	1	8,5	-	90	SDR11 Egeplast slm; PN10	3,9	-
Solbakkevej/Skovvej	2008	Januar	NV	S. ub.	Ja	-	9	1	1	-	-	-	SDR 17		
Dalvej	2008	Januar	NV	S. ub.	Ja	-	10	3	1	-	-	-			
Dyssegårdsvej	2008	Januar	-	-	Ja	-	24	<1	1	-	-	-			
Solbakkevej/Dalvej	2008	Februar	NV	S. ub.	Ja	-	65	11	1	-	-	-			
Rosenvvej	2008	Februar	NV	S. ub.	Ja	-	7	2	1	-	-	-			
Solbakkevej/Bern	2008	Februar	NV	S. ub.	Ja	-	10	<1	1	-	-	-			

Lokalitet	År	Måned	Entreprenør	Metode	Kravværdier opfyldt	Problem-parameter	Max kim22 [CFU/ml]	Max kim37 [CFU/ml]	Antal prøve-tagninger	Temperatur [°C]	Varighed [døgn]	Ø [mm]	Rørtype ⁵	Flow ved skylning ⁴ [m ³ /døgn]	Svamp [døgn/antal pr.]
stofslund Allé															
Liljevej	2008	Februar	NV	S. ub.	Ja	-	44	8	1	-	-				
1 Hagendornsvej	2008	April	NV	S. ub.	Ja	-	32	<1	1	-	-				
2 Hagendornsvej	2008	April	NV	S. ub.	Ja	-	23	<1	1	-	-				
Ørnekuksvej	2008	April	NV	S. ub.	Ja	-	15	<1	1	-	-				
Søgårdsvej 30	2008	April	NV	S. ub.	Ja	-	11	2	1	-	-				
Holmegårdsvej	2008	Maj	NV	Relining	Ja	-	13	5	1	-	-				
Rørsøvej	2008	Maj	NV	S. ub.	Ja	-	90	<1	1	11,5	-				
Ørnegårdsvej 17	2008	Maj	-	-	Ja	-	1	1	1	-	-				
Fiskebakken	2008	Maj	NV	S. ub.	Ja	-	11	5	1	-	-				
Skovrankevej	2008	Juni	NV	S. ub.	Ja	-	9	2	1	15,9	-				
Henriettevej	2008	Juni	NV	Relining	Ja	-	24	6	1	-	-				
Ordruphøjvej	2008	Juli	NV	S. ub.	Ja	-	9	2	1	-	-				
Henriettevej	2008	September	NV	S. ub.	Nej	Kim37	48	29	2	15	4				
Ordruphøjvej	2008	September	NV	S. ub.	Ja	-	3	1	1	12,9	-				
Ordrupdalvej - etape nord	2008	September	NV	S. ub.	Nej	Kim22 Kim37	210	42	4	16	11				
Ordrupdalvej - etape syd	2008	Oktober	NV	S. ub.	Ja	-	48	5	1	12,4	-				
Frisersvej - etape 1	2008	Oktober	NV	Relining	Ja	-	2	<1	1	12,6	-				
Frisersvej - etape 2	2008	Oktober	NV	Relining	Ja	-	41	13	1	14	-				

Lokalitet	År	Måned	Entreprenør	Metode	Kravværdier opfyldt	Problem-parameter	Max kim22 [CFU/ml]	Max kim37 [CFU/ml]	Antal prøvetagninger	Temperatur [°C]	Varighed [døgn]	Ø [mm]	Rørtype ⁵	Flow ved skylning ⁴ [m ³ /døgn]	Svamp [døgn/antal pr.]
Frisersvej - etape 3	2008	Oktober	NV	Relining	Ja	-	80	<1	1	10,7	-				
Hyldegårdsvej	2008	Oktober	NV	Rørspr.	Ja	-	3	<1	1	-	-				

NV: Nordvand A/S; S. ub.: styret underboring; Rørspr.: rørsprængning; ¹ Godkendt på første prøve, men efterfølgende prøvetagning viste forhøjede kimtal

² Råvandsledning som havde stået tom i et år, som ny ledning på tilkoblet til. Ledningen blev først skyllet med vand fra brandhane, men først når der kom anaerobt vand, opfyldte vandet i ledningen de mikrobiologiske kvalitetskrav.

³ 6 prøvetagningsdage fordelt over 9 lokaliteter i nærheden af den nyrenoverede ledning på Dahlenstræde

⁴ Flow er indsat i tabellen ud fra skylningsprocedure opgivet af Nordvand A/S (Tabel 1); ⁵ Ved samtlige renoveringssteder blev der nedlagt PE-rør

⁶ SDR (Standard Dimension Ratio) angiver forholdet mellem rørets ydre diameter og vægtykkelsen, i et SDR17-rør er vægtykkelsen således tyndere end den er i et SDR11-rør i samme dimension.

⁷ PN10 (=10 bar) angiver hvilken trykklasse røret tilhører

Bilag B: Forsøgsopstilling og forsøgsforhold

Flaskeforsøg (rør i drikkevand)

Forsøgsopsætningen bestod af glasflasker (batch set-up) uden flow og uden omrøring. Inden prøvetagning fra vandfasen blev vandfasen dog opblandet ved forsigtige horisontale cirkelbevægelser. Flaskerne blev inkuberet ved 10 eller 15°C i mørke. S/V-forholdet var $0,5 \text{ cm}^{-1}$ i alle forsøg.

Plastmaterialerne (PE, PEX, silicone) blev skåret til, så de havde et areal på 50 cm^2 , dvs. et stykke rørmateriale for hver 100 ml testvand. Plastmaterialerne blev skåret i stykker med et total overfladareal på 50 cm^2 for at gøre dem håndterbare og for at holde Surface/Volume (S/V) forholdet konstant.

Anvendte plastmaterialer og S/V forhold

Plastmaterialerne PE (polyethylen), PEX bliver anvendt i vandforsyningen både i distributionsnettet og i husinstallationer, derfor blev disse anvendt til forsøg. Derudover blev silicone-materiale anvendt som positiv kontrol.

- PE-materialet var fremstillet i Nordisk Wavin A/S, Hammel, Danmark. På ydersiden stod "PEM/M 20×20; PN10 Wavin; 364 DS2119; 379))/25/1; 448680".
- PEX-rørene havde følgende tekst på ydersiden: "Wirsbo-PEX; 15×2,5; 70/95 °C 1MPa/10 bar; SITAC 1422 SB08050315".
- Silicone-materialet var samme testmateriale, som blev anvendt i EU-projektet "Assessment of the microbial growth support potential of construction products in contact with drinking water (CPDW)", (van der Kooij et al., 2003).
- Pro Partner; Vare nr. J4507 1007; Silicone slange 10/7, ordre nr.: 459728

Materialerne havde samme yderside som inderside og kun rør uden tekst blev anvendt.

Forbehandling af tilskårne plastmaterialer:

- skyllet i en time under hanen
- henstand i et døgn i postevand
- igen skyllet i postevand i 1 time

Rør fra ledningsnettet i Nordvand A/S

Rør udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S i februar-marts 2009 (Tabel 9)

Tabel 9: Oversigt over rør udtaget fra ledningsnettet i Nordvand A/S i vinteren 2009.

Rørtype	Lokalitet	År (ca.)	Ø (mm)	S/V (cm⁻¹)
Støbejern	Hyldegårds Tværvej	1918	40	1,08
Støbejern	Soløsevej	1931	40	1,08
PE	Strandvejen	1996	125	0,40
PE	Springbanen	2003	90	0,55
PE	Nymosehuse	2008	90	0,52

Testvand

Vand til laboratorieforsøg blev hentet fra Lyngby Vandværk samme dag som forsøgsstart. Vand blev tappet fra én hane ved afgang vandværk.

Vandkvaliteten overvåges løbende, blandt andet ved analyser foretaget af et akkrediteret laboratorium. Kontrollen foretages i boringer, på vandværket, i vandtårne og på ledningsnettet. Rentvandsanalyse fra Lyngby Vandværk samt analyse fra ledningsnettet for 2008 fremgår af hhv. Tabel 10 og Tabel 11 (Lyngby-Taarbæk forsyning A/S, 2009).

Tabel 10: udvidet drikkevandskontrol med organiske mikroforureninger. Analyserapport Lyngby Vandværk 29. april 2008 (Lyngby-Taarbæk Forsyning A/S, 2009).

Fysisk-kemisk undersøgelse			Resultat	Vandkvalitetskrav 1)	Metode	St
Farvetal	Pt	mg/l	4	5	DS/EN7887	5%
Turbiditet		FTU	0,15	0,3	DS/EN27027	5%
pH		pH	7,65	7,0-8,5	DS287	
Ledningsevne		mS/m	82		DS/EN27888	2%
Inddampningsrest		mg/l	485	1500	DS204	5%
NVOC	C	mg/l	1,8	4	SM5310	5%
Calcium	Ca++	mg/l	111		DS/EN14911	3%
Magnesium	Mg++	mg/l	17	50	DS/EN14911	3,5%
Hårdhed total		°dH	19,4		DS/EN14911	3,5%
Natrium	Na+	mg/l	32	175	DS/EN14911	3%
Kalium	K+	mg/l	4,2	10	DS/EN14911	3%
Ammonium	NH4+	mg/l	<0,05	0,05	SM 418B	4%
Jern	Fe	mg/l	0,02	0,1	DS225	4%
Mangan	Mn	mg/l	<0,005	0,02	DS227	5%
Bicarbonat	HCO3-	mg/l	332		DS/EN9963-1	2%
Klorid	Cl-	mg/l	71	250	DS/EN10304	1,5%
Sulfat	SO4--	mg/l	46	250	DS/EN10304	1,5%
Nitrat	NO3-	mg/l	2,6	50	DS/EN10304	2,5%
Nitrit	NO2-	mg/l	<0,01	0,01	DS6777	1,5%
Fosfor , total	P	mg/l	<0,02	0,15	DS292	5%
Fluorid	F-	mg/l	0,35	1,5	DS/EN10304	3%
Ilt	O2	mg/l	8,5		DS2205	5%
Aggr. Kuldioxid	CO2	mg/l	<2	2	DS236	2%

Tabel 11: Begrænset drikkevandskontrol med uorganiske sporstoffer, august 2008 (Lyngby-Taarbæk Forsyning A/S, 2009).

Direkte undersøgelse *			Ledningsnettet							
Temperatur ved prøvetagning		13,8°C								
Lugt		Ingen lugt								
Smag		Normal								
Farve		Ingen								
Udseende		Klar								
Mikrobiologisk undersøgelse			Resultat	Vandkvalitetskrav 1)	Metode					
Coliforme bakt. v. Colilert-18		pr.100ml	<1	i.m.	SM9223, 20.ed.					
Kimalt v. 22°C		pr. ml	2	200	DS/EN6222					
Fysisk-kemisk undersøgelse			Resultat	Vandkvalitetskrav 1)	Metode	St				
pH		pH	7,7		DS287					
Ledningsevne		mS/m	87		DS/EN27888	2%				
Jern	Fe	mg/l	0,03	0,2	DS225	4%				
Ilt	O2	mg/l	7,8	>5	DS2205	5%				
Antimon	Sb	µg/l	<0,20	2	ICP/MS	15%				
Arsen	As	µg/l	0,07	5	ICP/MS	6%				
Barium *	Ba	µg/l	50	700	SM3113	4%				
Bly	Pb	µg/l	<2	10	DS2211	10%				
Bor	B	µg/l	160	1000	SM4500C	4%				
Cadmium	Cd	µg/l	0,2	5	DS5961	10%				
Krom , total	Cr	µg/l	1,8	50	DS/EN1233	6%				
Kobber	Cu	µg/l	<3	100	DS 263	3%				
Kviksølv	Hg	µg/l	<0,005	1	Atomfluorescens	15%				
Nikkel	Ni	µg/l	<3	20	DS2211	8%				
Selen	Se	µg/l	<0,050	10	ICP/MS	15%				
Zink	Zn	mg/l	3	100	DS2211	3%				

Bilag C: Mikrobiologiske analyser

Vandfasemålinger:

Pladespredning blev foretaget i sterilbænk:

- 0,1 ml af prøve blev af pipetteret på petriskåle med MacConkey_(Fluka) eller Abeyta Hunt Bark- medie.
- 0,05 ml af prøve blev af pipetteret på petriskåle med R2A-medie

Membranfiltrering af vand inokuleret med *K. pneumoniae* og *E. coli* blev foretaget i udsugningsskab. Flaske med filtreringstårn var forbundet med en vakuumpumpe. Membranfilter (porestr. 0,45 µm, 47 mm sterile sorte og hvide nitrocellulose filtre, varenr. SAR13006047ACN, Bie & Berntsen) på filtreringsudstyr blev placeret med pincet steriliseret ved glødning. Efter filtrering blev filteret overført med pincet til agar-plader. Mellem hver membranfiltrering blev filtreringstårn skyllet med autoklaveret postevand.

Biofilmmålinger:

Biofilmen på rør blev afskrabet med 3-4 sterile vatpinde. De sterile vatpinde blev herefter udrystet i 40-80 ml autoklaveret, sterilfiltreret (0,20 µm sterilt Minisart® filter) postevand. Til hver prøve blev anvendt 4 glas med 10-20 ml sterilfiltreret autoklaveret postevand. Vatpindene blev omrystet i hvert glas i ét minut og derefter blev vandet fra alle fire glas hældt sammen.

Biofilmdensitet

Biofilmdensiteten på PE, PEX og silicone blev bestemt ved pladespredning på R₂A-medie. 0,1 ml blev udtaget fra den samlede suspension af biofilmen til fremstilling af 3 fortyndingsrækker (som regel 10⁻¹, 10⁻² og 10⁻³).

Påvisning af *E. coli*, *K. pneumoniae* og *C. jejuni* i biofilmen:

Biofilmsuspensionen (40 ml) blev membranfiltreret på sort filter og overført til det selektive medie MacConkey_(Fluka) eller AHB-plader til påvisning af *K. pneumoniae*, *E. coli* og *C. jejuni* bakterier i biofilmen.

Forberedelse af udstyr til forsøg:

Alt udstyr blev autoklaveret ved 121 °C i 20 minutter inden forsøgsstart. Dette omfatter pipettespidser, Eppendorfrør til fortyndingsrækker, 100 ml kolber til opdyrkning, beholdere til vask af bakterier, filtreringstårn og fortyndingsvand. Podenåle, drigalskispatler og pincetter blev steriliseret ved glødning og afkølet inden brug. Flasker til afhentning af drikkevand (1 L og 5 L flasker), forsøgsflasker (250 ml, 500 ml, 1 L og 2 L PYREX flasker) og ballastmaterialet (glas og metaltråde), der holdt plastmaterialer under vand i løbet af forsøget, blev syrevasket og brændt ved 540 °C for at fjerne alt organisk materiale inden forsøgets start. Alle låg blev syrevasket i vaskemaskine, skyllet med MilliQ vand og glødet ved 180 °C.

Kimtal (R₂A)

Kimtalsbestemmelse af HPC (heterotrophic plate counts) bakterier blev foretaget på R₂A-plader, som blev inkuberet med bunden opad ved 20 °C i 14 døgn. (R-2A Agar 17209 fra Fluka BioChemika).

E. coli og K. pneumoniae (MacConkey agar)

E. coli og *K. pneumoniae* i drikkevand blev kvantificeret ved dyrkning på MacConkey_(Fluka) (Mac Conkey Agar No.1 70143 fra Fluka BioChemika (Lot & Filling code: 1180421 32405242). Mediet blev anvendt til samtidig påvisning af *K. pneumoniae* og *E. coli* (Vang, 2007). MacConkey_(Fluka)-plader, anvendt til påvisning af *K. pneumoniae* og *E. coli*, blev inkuberet med bunden opad i varmeskab ved 37 °C i 21±3 timer.

C. jejuni (Abeyta Hunt Bark agar)

C. jejuni blev kvantificeret AHB-medie (Bilag D). Plader blev inkuberet med bunden opad i varmeskab ved 37 ± 1 °C under mikroaerofile forhold i 44 ± 4 timer.

E. coli og coliforme (Colilert-18)

100 mL vandprøve tilsættes et defineret substrat (IDEXX). Efter opblanding ophældes suspensionen i en QuantiTray/2000 bakke som lukkes. Bakken inkuberes ved 37 ± 1°C i 18 timer. Efter inkubation aflæses antallet af gule (gul i forhold til en referenceplade) og fluorescerende brønde. Ved hjælp af en MPN tabel (statistisk beregning) omregnes antallet af gule brønde til det mest sandsynlige antal coliforme bakterier i prøven, mens fluorescerende brønde angiver antal *E. coli* bakterier i prøven.

Enterokokker (Enterolert-E)

100 mL vandprøve tilsættes et defineret substrat (IDEXX). Efter opblanding ophældes suspensionen i en QuantiTray/2000 bakke som lukkes. Bakken inkuberes ved 41 ± 0,5°C i 24 timer. Efter inkubation aflæses antallet af fluorescerende brønde. Ved hjælp af en MPN tabel (statistisk beregning) omregnes antallet af fluorescerende brønde til det mest sandsynlige antal enterokokker i prøven.

Opdyrkning af K. pneumoniae, E. coli og C. jejuni kulturer:

Stammer var opbevaret ved -80 °C. *K. pneumoniae* og *E. coli* blev opformeret i mediet Trypticase Soy Broth (TSB, 22092 Fluka BioChemika). TSB-medie blev afvejet til 200 ml sterilt vand. *C. jejuni* blev opformeret i Preston Campylobacter Selective Enrichment Broth. Efter autoklaving og nedkøling blev omkring 50 ml medie hældt over i en 100 ml kolbe, som dernæst blev podet med bakteriekulturer. Alt foregik i sterilbænk. Kolber med podet TSB-medie blev inkuberet på rystebord i varmeskab ved 37 °C i ca. 18 timer. Kolber med Preston Broth blev inkuberet mikroaerofilt ved 37 °C i 44 ± 4 timer.

Vaskeprocedure:

E. coli og *K. pneumoniae* høstes i den stationære fase efter 18 timers inkubering. Bakteriekulturerne centrifugeres i to omgange med autoklaveret, sterilfiltreret (0,20 µm sterilt Minisart® filter) postevand og vaskes i 12 minutter ved 12.000 rpm ved 15-25 °C (Sorvall RC-5B Refrigerated Superspeed Centrifuge). Vha. minishaker (200-2500 1/min, MS1, IKA®) resuspenderes bakteriepellet i autoklaveret postevand.

C. jejuni høstes efter 44 ± 4 timer. Kulturer vaskes to gange i peptone natrium klorid opløsning ved 10 000 g (9000 rpm i SM-outer) ved 4 °C i 12 minutter og bakteriepellet resuspenderes efter vask i peptone natrium klorid.

Densitetsbestemmelse af opdyrkede kulturer:

Densiteten af bakterier tælles i et tællekammer under mikroskop, for at finde ud af hvor meget de opdyrkede kulturer skal fortyndes, så den ønskede startkoncentration fås i batchforsøgene. En 10^{-1} fortynding af de opdyrkede bakteriekulturer blev lavet i sterilbænken. 2-3 dråber af fortyndingen blev anbragt på et spritrenset tællekammer (Thomas tællekammer, Blau Brand). Dækglass blev lagt ovenpå. Kammeret er inddelt i store kvadratiske felter, som har et volumen på 0,006250 μ l, samt små kvadrater, som har et volumen på 0,000250 μ l. Hvert lille kvadrat har sidelængden 0,050 mm og dybden 0,10 mm. Under lysmikroskop (Olympus Mikroskop DH-2) tælles antallet af bakterier i 10 små kvadrater. Ud fra gennemsnitstallet for de 10 kvadrater og tællekammerets volumen (0,000250 μ l) bestemmes bakteriekoncentrationen i celler/ml.

Bilag D: Metodeindkøring af bestemmelse af *Campylobacter*

Flere medier og metoder blev afprøvet med henblik på at finde det bedst egnede måde at kvantificere *C. jejuni* vha. pladespredning og filtrering. Abeyta Hunt Bark- (AHB), mCCDA- og blodplader blev afprøvet og sammenlignet.

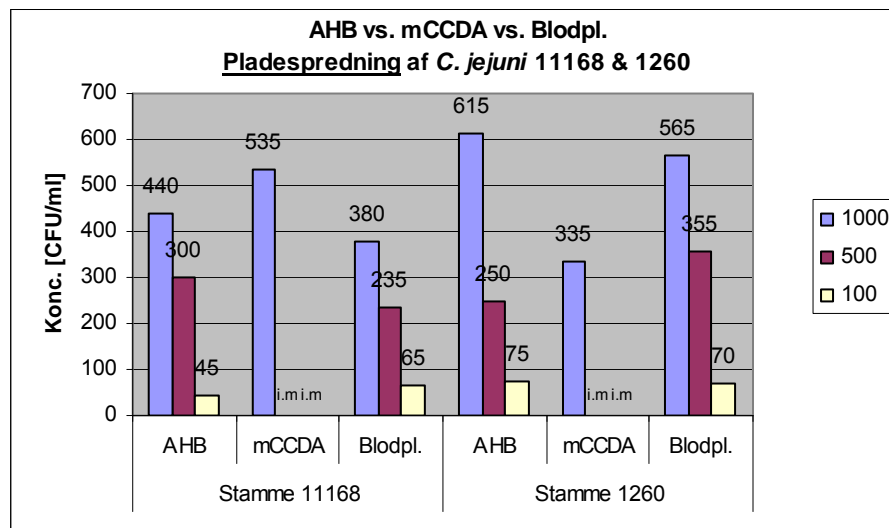
- mCCDA-medie (selektivt) i henhold til ISO 17995 dog uden opdyrkningstrinet for at kunne arbejde kvantitativt
- Blodplader-medie (ikke selektivt) – overfladeudsæd af 0,1 mL eller pålægning af filter
- AHB-medie (selektivt) i henhold i henhold til Nordisk metodikkomité for levnedsmidler (NMKL, 2007) dog uden opdyrkningstrinet for at kunne arbejde kvantitativt

Kolonier af *C. jejuni* 11168 og *C. jejuni* 1260 er meget forskellige i forhold til hinanden på AHB-plader – stamme 11168 giver mørke røde kolonier, som er ca. 1-3 mm i diameter, mens stamme 1260 giver lyse røde kolonier, som er ca. 1 mm i diameter.

Til afprøvningen blev anvendt 3 kulturer af *C. jejuni* stamme 11168 og *C. jejuni* stamme 1260 med celle-koncentrationer optalt i mikroskop til 100, 500 og 1000 celler/mL. Da koncentrationen blev fastlagt ved mikroskop-tælling, kendtes den dyrkbare andel ikke.

Pladespredning

0,1 ml af hver kultur blev i duplikat spredt på de tre medier (mCCDA kun med kulturene med 1000 celler/mL). Resultaterne er illustreret i Figur 43.



Figur 43: Pladespredning af *C. jejuni* 11168 og 1260 (gennemsnit af duplikater) på AHB-, mCCDA- og blodagar-medie fra kulturer med koncentrationer optalt i mikroskop på 100, 500, og 1000 celler/ml.

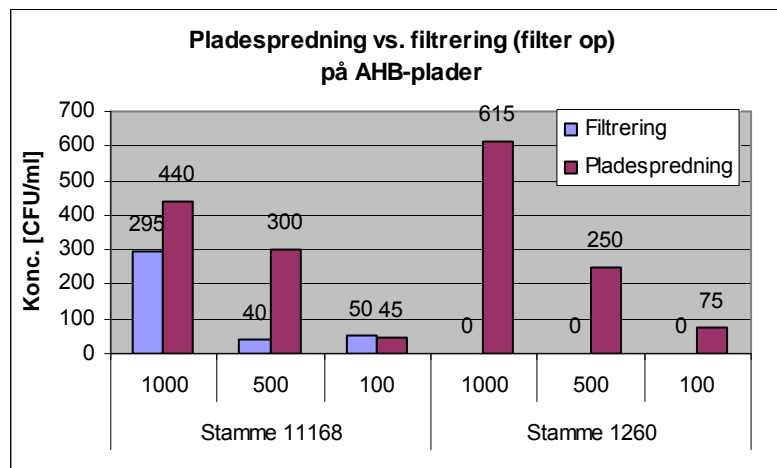
Kvantificeringen af *C. jejuni* kolonier lå i samme niveau med alle 3 medier. Kolonier sværmede på blodpladerne, hvor kolonier af *C. jejuni* 11168 sværmede mere i forhold til kolonier af *C. jejuni* 1260. Koncentrationerne for *C. jejuni* på blodplader blev derfor beregnet ud fra et estimat af antallet af kolonier. På både AHB- og mCCDA-plader blev der dannet små klart afgrænsede kolonier, som var nemme at kvantificere.

Filtrering

0,1 ml af kulturene blev filtreret i duplikat og filtre lagt på de tre medier med oversiden opad. Stamme 1260 dannede ikke kolonier på filtrene på nogle af de tre medier. Stamme 11168 dannede ikke kolonier på mCCDA-medie. På blodagermedie og på mCCDA-medie dannede stamme 11168 kolonier, men kolonierne sværmede hvilket gjorde dem svære at kvantificere. På det ikke-selektive blodagar-mediet besværliggjorde vækst af baggrundsflora desuden aflæsningen. Kvantificeringen var således mest hensigtsmæssig på AHB-medie, hvor kvantificering var mulig, når der var mindre end 20 kolonier på filtrene.

Sammenligning af pladespredning og filtrering med AHB

Der blev udført pladespredning og filtrering i duplikat med 0,1 mL af kulturene. Filtre blev lagt på mediet med oversiden opad. Resultaterne ses i Figur 44.

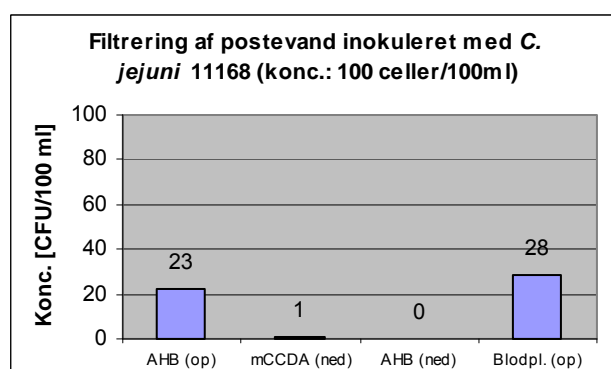


Figur 44: Filtrering og pladespredning af *C. jejuni* 11168 og 1260 (gennemsnit af duplikater) på AHB-medie fra kulturer med koncentrationer optalt i mikroskop på 100, 500, og 1000 celler/ml.

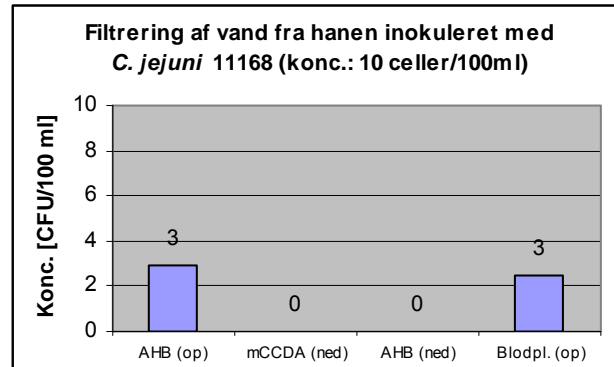
Stamme 1260 kunne kvantificeres ved pladespredning, men ikke ved filtrering. Stamme 11168 gav ved de højere cellekoncentrationer, lavere værdier ved filtrering end ved pladespredning. Ved filtrering af prøven vil der således sandsynligvis opnås en underestimering af *C. jejuni* koncentrationen.

Følsomhed af metode

Infektøs dosis for mennesker er 500 *C. jejuni* celler. Under antagelse af et dagligt drikkevandsindtag på 2 L/person vil den infektøse dosis være opnået ved en koncentration på 25 celler /100 mL drikkevand (Corfitzen et al., 2008). For at undersøge om denne koncentration af *C. jejuni* 11168 kunne detekteres, blev 50 og 100 mL volumener af postevand inokuleret med *C. jejuni* til koncentrationer på 100 celler/100 ml filtreret og 100 og 500 mL volumener af postevand inokuleret med *C. jejuni* til koncentrationer på 10 celler/100 ml filtreret, og filtre lagt på AHB- og blodagar-medie. Derudover blev det afprøvet at lægge filteret nedad i 2 timer på både AHB- og mCCDA-plader, hvor filteret efterfølgende blev fjernet og pladen inkuberet (Figur 45 og Figur 46).



Figur 45: Filtrering af postevand inokuleret med *C. jejuni* stamme 11168 med AHB-, mCCDA- og blodagar-medie (baseret på filtrering af 50 og 100 ml (konc.: 100 *C. jejuni* celler/100 ml)).



Figur 46: Filtrering af postevand inokuleret med *C. jejuni* stamme 11168 med AHB-, mCCDA- og blodagar-medie (baseret på filtrering af 100 og 500 ml postevand (konc.: 10 *C. jejuni* celler/100 ml)).

Ved begge koncentrationer (100 celler/100 ml og 10 celler/100 ml) var det muligt at detektere *C. jejuni* 11168 på AHB- og blodpladerne, hvor filtret blev lagt med oversiden opad. Antallet af dyrkbare kolonier for begge koncentrationer var i samme niveau på begge medier.

At ligge filtret med oversiden nedad og derefter fjerne det forud for inkubering viste sig ikke som en brugbar fremgangsmåde til kvantificering af *C. jejuni* i postevand.

Yderligere viste denne filtreringsøvelse, at det er muligt at detektere *C. jejuni* ved filtrering af 100 ml med en koncentration svarende til infektiøs dosis (25 celler/100 ml), hvor ca. 20-40 % af kolonierne er dyrkbare, dvs. ca. 5-10 CFU/100 mL)

Opsummering

AHB vs. *mCCDA* / *blodpl.*:

- Filtrering på AHB-plader med filter opad virker i modsætning til filtrering på mCCDA.
- Kolonierne sværmer ikke så meget ved filtrering på AHB som ved filtrering på blodplader, hvilket gør det nemmere at kvantificere på AHB. AHB-pladerne er desuden selektive i modsætning til blodpladerne, hvilket vil være en fordel, når biofilmprøver skal filtreres.
- AHB-pladerne har den fordel, at de er klare, dvs. at det er muligt at tælle kolonierne på bagsiden af pladen både ved pladespredning vha. en kolonitæller og ved filtrering, hvor det umiddelbart vurderes, at det er lidt tydeligere at skelne mellem de enkelte kolonier på bagsiden af filteret, selv om de sværmer, end ovenpå filteret.

Følsomhed:

- Det er muligt at detektere *C. jejuni* ved filtrering af 100 ml drikkevand, med en koncentration, hvor infektiøs dosis opnås ved indtagelse af 2 L drikkevand.



Naturstyrelsen
Haraldsgade 53
2100 København Ø
www.nst.dk