



## Rapport

Rapportnummer NV Rapport 2023-10      Diarienummer NV2023-207

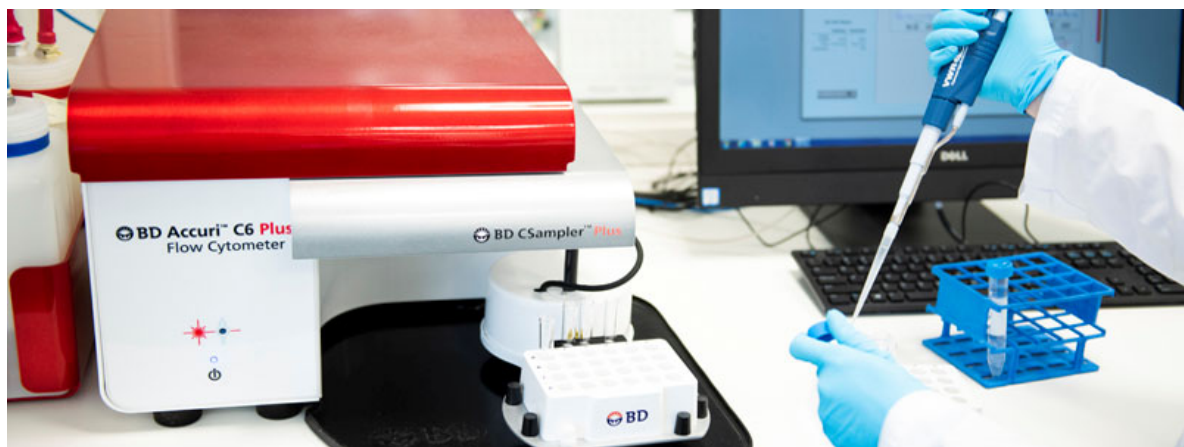
Att bestämma onormal förändring med avseende på odlingsbara mikroorganismer (3 dygn, 22°C)

---

Riktlinjer för Norrvatten

Linda Holmer och Mikael Danielsson  
Norrvatten

2023-09-06



Dessa riktlinjer anger rekommendationer för hur Norrvatten ska förhålla sig till kravet på ingen onormal förändring med avseende på odlingsbara mikroorganismer:

- I aCurve, ett web-baserat redskap för sammanställning av data, anges larmgränser för 3 dygns odlingsbara mikroorganismer för respektive pumpstation och reservoar. Larmgräns beräknad med 2 standardavvikelser från medelvärdet på analyser från 2015. Överskridande av larmgräns följs upp och behov av åtgärd bedöms. Vid återkommande extremt högt antal cfu/ml bör alltid orsaken utredas.
- Flödescytometriska baslinjer för bakterieantal på distributionsnätet kommer att skapas. Norrvattens pumpstationer och eventuellt reservoarer är tänkta att användas som referenser till nya ledningar och efter ledningsarbeten samt till punkter som ingår i samordnad provtagning för de kommuner som är med i kommunalförbundet Norrvatten.
- Driftsättning av nya ledningar eller efter underhållsarbete stäms av mot flödescytometriska värden i närliggande område, alltså tryckzon och kommun. Prover kan med fördel tas av inkommande och utgående vatten från ledningen för bästa jämförelse.

## Innehållsförteckning

<b>1. Bakgrund</b>	<b>4</b>
<b>2. Lägesbild Norrvatten</b>	<b>5</b>
<b>3. Nya ledningar</b>	<b>8</b>
<b>4. Framtida arbete</b>	<b>10</b>
<b>5. Slutsatser</b>	<b>11</b>
<b>6. Referenser</b>	<b>12</b>

## 1. Bakgrund

Odlingsbara mikroorganismer (heterotrophic plate count, HPC) är en traditionell analys för dricksvattenkvalitet som går ut på att gjuta in en milliliter vattenprov i näringsagar på odlingsplattor. Den internationella standarden för metoden heter ISO 6222:1999. Metoden är huvudsakligen en kvalitetsparameter som visar på den generella förutsättningen för mikrobiologisk tillväxt samt indikerar hur effektiv en viss beredningsprocess är. Metoden har använts som en kvalitetsindikator för att påvisa bakteriell närvaro med ursprung från markvatten eller jord. Analyssvaret redovisas i form av antal bakteriekolonier som växt på dessa odlingsplattor (colony forming units/ml eller cfu/ml). Detta kan variera avsevärt beroende på provtagningsplats, uppehållstid och tid på året. Antalet odlingsbara mikroorganismer kan också öka markant i kommunernas och hushållens rörledningar. De mest avgörande faktorerna för bakteriell tillväxt är temperatur, näring i vattnet och avsaknad av desinfektion. Förhöjt antal odlingsbara mikroorganismer är alltså ett bevis på tillväxt men kan inte indikera orsak eller detaljerad risk med avseende på sjukdom.

Livsmedelsverket har tidigare tillämpat gränsvärdet 100 cfu/ml för 3-dygnsodlingar och 5000 cfu/ml för 7-dygnsodlingar. Om dessa överskreds fick vattenprovet anmärkning på kvalitet. Ur ett internationellt perspektiv varierar gränsvärden och riktlinjer. USA:s motsvarighet till Folkhälsomyndigheten (CDC) ger råd om att <500 cfu/ml heterotrofa bakterier är en god mikrobiell kvalitet. Enstaka prover över 500 är godkänt framför allt under varma perioder men provtagningar som är konstant över 500 indikerar försämrad kvalitet. USA:s miljöskyddsmyndighet (US EPA) har tillämpat 5-10 gånger förhöjt antal cfu/ml som motivering för en utredning om kvalitén. Andra producenter har använt sig av fasta gränsvärden på >10, >20, >50, >100, >200, >300, >500, >1000 cfu/ml. En annan metod har varit att relativa förändringar med 10 gånger högre antal cfu/ml än vanligt kan anses vara en onormal förändring. Koloniräkning ger ett uppskattat värde så allt under en ökning med faktor 10 kan anses vara normala fluktuationer. Storbritannien har i stället följt EU-direktiv som formulerades redan år 1989 som bland annat lyder: "Kontinuerlig uppföljning av antal kolonier krävs". "Undersökning krävs om det sker en oväntad och plötslig ökning i cfu/ml". Direktivet anger dock inte vad som är en "onormal förändring".

Det är sedan tidigare känt att en del opportunistiska patogener som till exempel *Pseudomonas sp.* och *Aeromonas sp.* kan tillväxa på 3 dygns-metodens odlingsplattor. En viktig fråga är därför om det finns någon koppling mellan förhöjt antal kolonibildande bakterier och hälsorisk. Enligt litteraturen och forskning som gjorts på området så är metoden inte specifik för dessa opportunistiska patogener. Tvärtemot så är metoden odlingsbara mikroorganismer väldigt ospecifik då endast en något odefinierad fraktion (<1 %) av den bakteriella sammansättningen kan tillväxa under dessa förhållanden. Förhöjt antal 3-dygnsbakterier ensamt har inte bevisats utgöra någon hälsorisk men har i vissa fall sammanfallit med fekal kontaminering vilket kräver en riktad analys för att detektera. Odlingsbara mikroorganismer som analys kan vid en händelse då det skett ett utsläpp eller en kontamination sannolikt resultera i förhöjt antal kolonier. Men förhöjt antal bakterier på HPC kan inte definiera att det är ett utsläpp eller kontamination som skett. Förhållandet är inte vändbart eftersom förhöjt antal kan bero på olika anledningar.

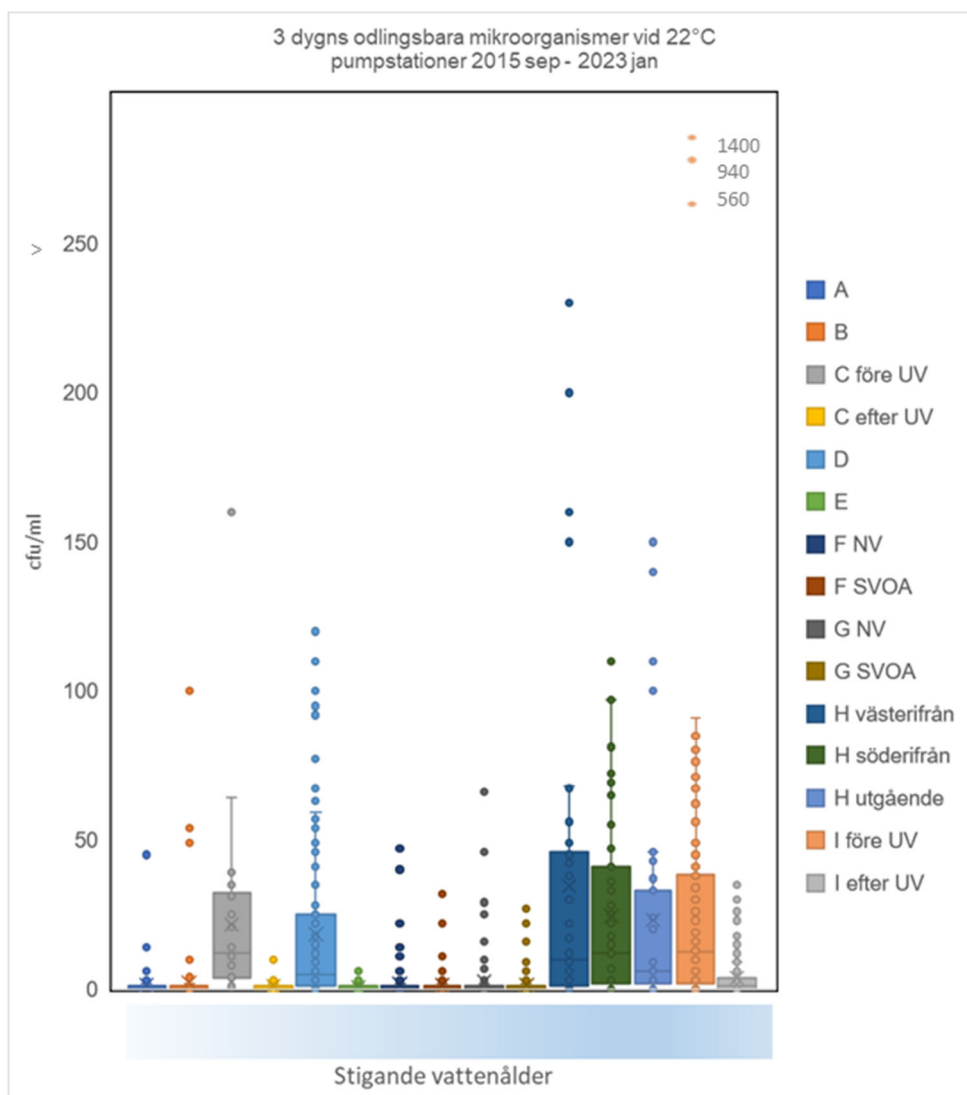
I ett internationellt expertmöte med 31 stycken mikrobiologi- och folkhälsoexperter (med medicinsk expertis) i Genève (Schweiz, 25-26 april 2002) fastställdes att heterotrofa bakterier i dricksvatten inte är ett hälsoproblem för allmänheten. Men det skulle kunna vara ett bekymmer för individer med nedsatt immunförsvar (Bartram *et al.* 2004). Betyggande är dock att flertal studier visar att heterotrofa bakterier från vatten sällan bär på virulensfaktorer. I januari 2023 trädde Livsmedelsverkets nya föreskrifter om dricksvatten i kraft (LIVSFS 2022:12). En av många förändringar var borttagandet av gränsvärden för analysmetoden odlingsbara mikroorganismer vilket tidigare var 100 cfu/ml. I stället innehåller föreskrifterna information om att man ska granska dricksvattenprover baserat på att ”ingen onormal förändring” skett. Därav behövs nya sätt för att tolka och avgöra huruvida antalet kolonier på prover är en onormal förändring eller inte. Denna rapport syftar till att ge förslag på hur Norrvatten kan hantera tolkningen av odlingsresultat.

## 2. Lägesbild Norrvatten

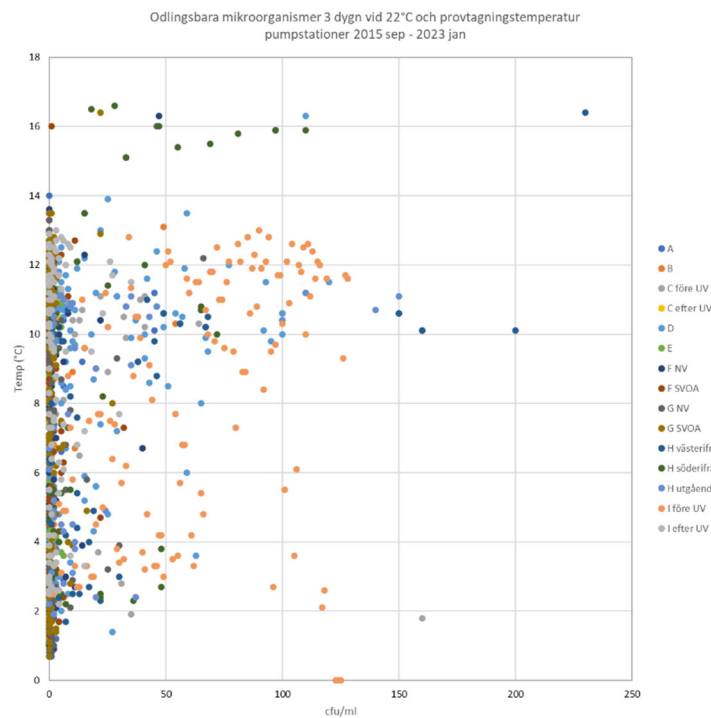
För att få en uppfattning om Norrvattens ledningssystem ses i Figur 1 en sammanställning av analysen 3 dygns odlingsbara mikroorganismer (vid 22°C) för Norrvattens pumpstationer/tryckstegringar. Totalt 1471 analyser från 16 pumpstationer mellan åren 2015 sep - 2023 jan. Prover är tagna med spridning över och säsong. Runt 95% av proverna har resultat under 51 cfu/ml och med 95% sannolikhet skulle ett provresultat hamna under 114 cfu/ml.

Vissa pumpstationer har fler prover med högre koncentration tillväxt, som kan tolkas som en normal variation för den punkten med högre uppehållstid. Och i vissa fall ses en trend kopplat till högre vattentemperatur, dock finns ingen tydlig korrelation mellan högre tillväxt och högre vattentemperatur. Se Figur 2.

Värt att nämna är den relativt nya pumpstation C har höga odlingsresultat om man jämför med andra stationer som har en lägre tillväxt men högre vattenålder. Pumpstation C föranleddes av ny PE ledning. Och dessa typer av ledningar är kända för att ge hög HPC-tillväxt vid drift-start.



Figur 1. Antal odlingsbara mikroorganismer från 16 av Norrvattens pumpstationer mellan åren 2015 - 2023. Dock har inte alla pumpstationer samma historiska data från 2015 pga. tillkomna under senare år. Lådagrammet visar övre- och nedre kvartil av mätvärden, medianen och medelvärdet (i form av ett X) av alla inkomna prover, samt "extremvärden".



Figur 2. Norrvattens 15 pumpstationer resultat odlingsbara mikroorganismer efter 3 dygn vid 22°C enligt standard SS-EN ISO 6222. Analyser är gjorda löpande från år 2015 september till 2023 januari. Dock har inte alla pumpstationer samma historiska data från 2015 pga. tillkomna under senare år. \*3 utliggare är borttagna; provtagningstemp 10-12 °C och provtagningsresultat 560, 940 och 1400 cfu/ml.

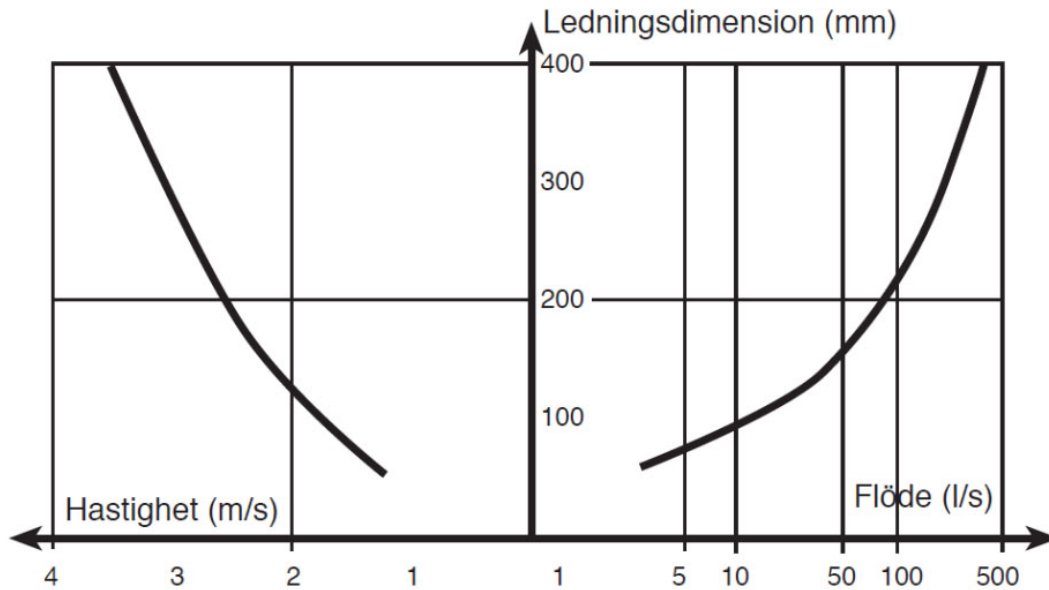
I aCurve (web-baserat redskap för sammanställning av data) finns olika larmvärden inlagda för respektive pumpstationer, beräknat med 95% sannolikhet för att resultat hamnar under ett visst värde, larm genereras alltså när värdet överstiger 95-percentilen. Larm genereras via mejl till Norrvattens mikrobiologer som då kollar upp förändring och tolkar om det finns trend för stigande värde och om så vilken åtgärd som vore lämplig. Utfallet förs vidare till Norrvattens kvalitet och utvecklingsgrupp. På samma sätt finns larmgränser inlagda för Norrvattens reservoarer. Vidare finns dashboards i aCurve för varje provpunkt ute i kommunerna, dock utan larmgränser inlagda.

### 3. Nya ledningar

En annan fråga är vad som kan anses vara normalt och onormalt för odlingsanalys vid arbete med nya ledningar. Norrvatten har två dokumenterade odlingsserier vid tidigare arbeten med nya PE-ledningar. Norrtäljeprojektet 2013–2017 och Upplands-Bro Sigtuna 2019–2021. Vid båda projekten fluktuerade odlingsresultaten mycket och framför allt förekom prover med relativt höga cfu resultat (över 1000 cfu/ml). Vid driftsättning av nya PE-ledningar är det vanligt att antalet odlingsbara mikroorganismer överskrider 100 cfu/ml, det förra gränsvärdet. Det kan dröja flera månader av spolning innan halterna är under 100 cfu/ml. Med anledning forskningsresultat som indikerar att denna odlingsmetod inte indikerar mikrobiell risk så är det önskvärt att reducera spolningstiden innan ledningen kan tas i drift till konsument. Förutom höga kostnader för idrifttagning så innebär omfattande spolning att betydande mängder dricksvatten går förlorat och därmed innebär slöseri med värdefulla resurser. Temperaturen ser ut att påverka tillväxt i viss mån men det är inte hela förklaringen. Det är känt att kolföreningar och organiska kemikalier urlakas från nya rör och blir till lättillgängligt substrat för bakterierna i vattnet. Mer än 160 substanser från olika plaströr har detekterats varav många inte testats för toxicitet. Över 70 av dem är okända och dessa måste kartläggas innan en korrekt riskanalys kan göras (Pizzurro et al. 2018). Ur ett mikrobiologiskt perspektiv tycks det ta tid innan biofilmen stabiliserar sig och bulkvattnet verkar vara instabilt till dess. Men det behöver inte finnas någon mikrobiell hälsorisk med vatten som passerat en ny PE-ledning, även om HPC visar förhöjda halter.

Att spola nylagd vattenledning är den viktigaste åtgärden för att hålla nere mikrobiell tillväxt. Det är viktigt att spolvattnet håller hög dricksvattenkvalitet (P115, 2021). Vidare bör en hög vattenhastighet eftersträvas vid spolning av ledning (både för befintliga ledningar och nyanlagda). Hastigheten beror på ledningens dimension och spolning ska motsvara minst fyra omsättningar av vattnet i ledningen (pluggrensning kan även vara ett alternativ). Enligt svenskt vatten kan Shields diagram användas för att bestämma vilken hastighet som behövs, se Figur 4.

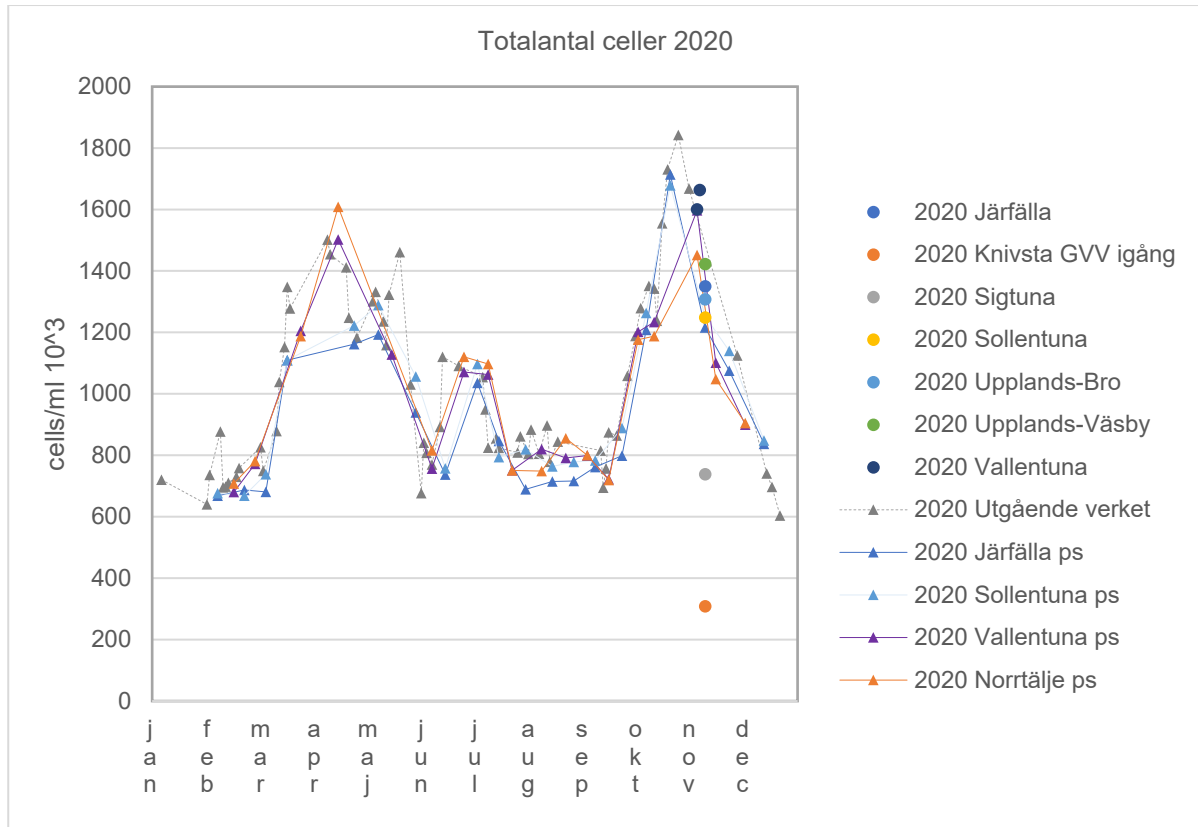




Figur 4. Shields graf hämtad från Svenskt Vatten (P115, 2021). Grafen kan användas som hjälp för att bestämma spolhasighet av ledning (efter ledningsarbete eller nylagd ledning).

För att säkerställa kvaliteten vid driftsättning av ledningar gäller en helhetsbild med hjälp av flödescytometri tillsammans med odlingsresultat. Det bakteriella fingeravtrycket (antalet celler tillsammans med fördelningen mellan bakterier med högre- jämfört bakterieceller med lägre DNA mängd) från flödescytometern kan visa hur nära vattnets bakterieflora är det distribuerade vattnets genom att jämföra inkommande vatten mot utgående vatten.

Ledningen kan godkännas för drift vid liknande bakterieantal eller möjligtvis också vid en nedåtgående trend i antal bakterier. Ett exempel på en flödescytometrisk trend-graf ses i Figur 5. Låga värden på totalantal bakterier har skett historiskt när grundvattenverk driftats.



Figur 5. Flödescytometrisk data för Norrvattens pumpstationer och hos användare (i medlemskommunerna).

## 4. Framtida arbete

Även om odlingsmetod kvarstår och finns kvar i den nationella lagstiftningen så kommer fokus att koncentreras mer på flödescytometrisk analys, mer än tidigare. I skrivande stund planeras att nästan alla vattenprover ska analyseras med flödescytometri (ej vatten från andra producenter, till exempel ledningsarbeten i icke-medlemskommuner). Baslinjer kommer kunna skapas för hela distributionsområdet, inklusive för medlemskommunerna. Analysgranskningen kommer huvudsakligen fokusera på trender och inte halter.

## 5. Slutsatser

I aCurve har larmgränser för 3 dygns odlingsbara mikroorganismer inlagt för respektive pumpstation och reservoar. Larm går via mejl till Norrvattens mikrobiologer. Larmgräns beräknad med 2 standardavvikelser från medelvärdet på analyser från 2015. Tolkning och åtgärdsförslag tas upp med Norrvattens processtöd.

Flödescytometriska baslinjer för bakterieantal på distributionsnätet kommer att skapas. Norrvattens pumpstationer och eventuellt reservoarer är tänkta att användas som referenser. Baslinjerna ska även kunna användas som referens till nya ledningar och efter ledningsarbeten samt till SPAT-punkter.

Driftsättning av nya ledningar eller efter underhållsarbete checkas av mot flödescytometriska värden i närliggande område, alltså tryckzon och kommun. Prover kan med fördel tas av inkommande och utgående vatten från ledningen för bästa jämförelse.

Vid återkommande extremt högt antal cfu/ml bör alltid orsaken utredas.

## 6. Referenser

Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C och Glasmacher A. Heterotrophic plate counts and drinking-water safety – The significance of HPCs for water quality and human health. WHO 2003.

Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C och Glasmacher A. Heterotrophic plate count measurement in drinking water safety management: Report of an Expert Meeting Geneva, 24–25 April 2002. International Journal of Food Microbiology. Volume 92. Issue 3. Maj. 2004. Sidor 241-247.

<https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/environmental/appendix/water.html>. Hämtat 2023-02-01.

[Edberg och Allen](#). Virulence and risk from drinking water of heterotrophic plate count bacteria in human population groups. International Journal of Food Microbiology. Volume 92. Issue 3. Maj. 2004. Sidor 255-263.

<https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/permeationandleaching.pdf>. Hämtat 2023-02-28.

<https://esemag.com/water/specifying-piping-materials-for-water-infrastructure-systems/>. Hämtat 2023-02-28.

Health Canada. Guidance on the Use of Heterotrophic Plate Counts in Canadian Drinking Water Supplies. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/guidance-use-heterotrophic-plate-counts-canadian-drinking-water-supplies.html>. Hämtat 2023-02-01.

Pizzurro, D.M., Bamgbose, I.A & Mayfield, D.B. (2018). Characterization of Leachable Chemical Substances from Common Drinking Water Piping Materials. White Paper. Environmental Science & Engineering Magazine. [https://esemag.com/wp-content/uploads/2018/06/Pizzurro-et-al\\_2018\\_Piping-Review-White-Paper.pdf](https://esemag.com/wp-content/uploads/2018/06/Pizzurro-et-al_2018_Piping-Review-White-Paper.pdf)

Pozzani. [www.drinking-water-testing.co.uk](http://www.drinking-water-testing.co.uk). Hämtat 2023-02-01.

[Svenskt Vatten. P115. Rengöring av vattenledningar och reservoarer. Maj. 2021](#)