

- IRIS Energi
- IRIS Samfunnsforskning
- IRIS Biomiljø
- ULLRIGG bore- og brønnsenter



Legionella i kommunale dusjanlegg

- Undersøkelse av utbredelse, typer og virulens med tanke på risikostyring


Anne Vatland Krøvel, Ole Andreas H. Engen, Eva Bernhoff, Ingvild M. Nilsen, Kjell Rangnes,
Ragnhild Wiik og Olav B. Nataas

RAPPORT – 2017/282



Prosjektnummer: 720 2082
Prosjektets tittel: RFF Legionella
Oppdragsgiver(e): Regionale forskningsfond Vestlandet, Stavanger kommune
Forskningsprogram: 794 Mikrobiologi og bioteknologi
ISBN: 978-82-490-0899-5
Gradering: Åpen

Stavanger, 28.11.2017


Anne V. Krøvel
Prosjektleder


Arild Johannessen
Kvalitetssikrer


Susanne Gitlesen
Avdelingsdirektør

©Kopiering er kun tillatt etter avtale med IRIS eller oppdragsgiver.

Vår forskning er sertifisert etter et kvalitetssystem basert på NS-EN ISO 9001 og NS-EN ISO 14001:2004

Innhold

Liste over figurer:.....	4	
Liste over tabeller:.....	4	
Sammendrag.....	5	
1	BAKGRUNN	7
1.1	Kort om <i>Legionella</i>	7
1.2	<i>Legionella</i> er ikke bare <i>Legionella</i> !.....	8
1.3	Sykdomsfremkallende evne hos <i>L. pneumophila</i>	9
1.4	Livssyklus og livsformer hos <i>Legionella</i>	10
1.5	Viktige faktorer for vekst av <i>Legionella</i> i dusjanlegg.....	13
1.6	Metoder for påvisning av <i>Legionella</i> i vann.....	14
1.7	<i>Legionella</i> og amøber.....	15
1.8	Risikoklassifisering av <i>Legionella</i>	16
1.8.1	Risiko.....	16
1.8.2	Ulike former for risiko.....	18
1.8.3	Risikokommunikasjon i lys av ulike risiko perspektiver.....	21
1.9	Utgangspunkt og målsetting for prosjektet.....	23
2	METODE	25
2.1	Overvåkingsprosjektet.....	25
2.2	Prøvetaking og analyse av dyrkbar <i>Legionella</i>	26
2.3	Sanntidskvantifisering av <i>Legionella</i>	27
2.4	Serotyping.....	28
2.5	Genotyping.....	29
2.6	Påvisning av <i>Legionella</i> i aerosoler.....	29
2.7	Testtrigg for <i>Legionella</i>	30
2.8	Virulensstudier av <i>L. pneumophila</i>	31
2.8.1	Dyrking i kultur.....	31
2.8.2	Amøbeplate-test (APT).....	32
2.8.3	Interne vekstkurver.....	32
2.9	Intervjuer.....	33
2.9.1	Fokusgruppeintervjuer Stavanger kommune.....	33
2.9.2	Oppfølgingsintervjuer.....	33
2.9.3	Workshop.....	34
2.9.4	Intervjuer av brukere.....	34
3	RESULTATER	36

3.1	<i>Legionella</i> -bakterien: Undersøkelse av utbredelse, typer og virulens	36
3.1.1	Fordeling av <i>L. pneumophila</i> i ulike typer kommunale bygg.....	36
3.1.2	Serotyper og genotyper i anlegg kulturpositive for <i>L. pneumophila</i>	37
3.1.3	Kvantifisering av <i>Legionella</i> i et utvalg kommunale bygg	39
3.1.4	Betydning av rørmateriale for vekst av <i>Legionella</i>	42
3.1.5	Sammenheng mellom <i>L. pneumophila</i> i vann og i aerosol	45
3.1.6	Undersøkelse av virulens hos ulike <i>Legionella</i> -stammer i amøbekultur	47
3.1.7	Resultat av APT-analysene	47
3.1.8	Resultat intracellulær vekstkurve.....	50
3.2	Risikostyring og risikokommunikasjon	52
3.2.1	Modell for analyse av risikohåndtering av <i>Legionella</i> i Stavanger kommune.....	52
3.2.2	Hva slags risiko er <i>Legionella</i> ?	52
3.2.3	<i>Legionella</i> : Kunnskap og risikopersepsjon	53
3.2.4	Intern håndtering av <i>Legionella</i>	54
3.2.5	Intern kommunikasjon om <i>Legionella</i>	55
3.2.6	Ekstern håndtering av <i>Legionella</i>	56
3.2.7	Ekstern kommunikasjon av <i>Legionella</i>	57
3.2.8	Troverdighet, tillit og omdømme	59
3.2.9	Oppfatning og kunnskap hos brukere	59
4	DISKUSJON	60
4.1	Utbredelse av <i>Legionella</i> i Stavanger kommune.....	60
4.1.1	<i>Legionella</i> fordelt på byggtyper	60
4.1.2	Fordeling av ulike former/typer av <i>Legionella</i> i et anlegg	60
4.1.3	Samlokalisering av ulike <i>Legionella</i> typer?.....	61
4.1.4	Geografiske klynger av <i>L. pneumophila</i>	62
4.2	Fra vann til aerosol	62
4.3	Måling av virulens.....	63
4.4	Betydningen av amøber	64
4.5	Nytte av overvåkning?.....	65
4.6	Risikohåndtering- teori og praksis.....	66
5	KONKLUSJON OG ANBEFALINGER	68
5.1	Anbefalinger til forebyggende rutine	69
5.2	Anbefalinger til risikokommunikasjonsstrategi.....	70
6	REFERANSER	71

Liste over figurer:

Figur 1.1: Overføring av smitte fra dusjvann via aerosol til mennesker.	8
Figur 1.2: Livssyklus <i>Legionella</i>	11
Figur 1.3: Nettverk av ulike 14 ulike utviklingsformer av <i>Legionella</i>	12
Figur 1.4: <i>Legionella</i> -risikostyring.	24
Figur 2.1: Prøvetaking av luft med aerosoler.	30
Figur 2.2: Testtrigg for rørmateriale.	31
Figur 3.1: Relativ fordeling av <i>L.pneumophila</i> i ulike typer kommunale bygg.	36
Figur 3.2: Geografisk utbredelse av sekvenstyper.	39
Figur 3.3: Eksempelkurve for <i>Legionella</i> tilsatt testtrigg.	43
Figur 3.4: Forekomst av dyrkbar <i>Legionella</i> i testtrigg over tid.	44
Figur 3.5: <i>Legionella</i> målt i aerosol og i dusjvann ved skole 1.	46
Figur 3.6: <i>L. pneumophila</i> målt i aerosol og i dusjvann ved Idrettsbygg 6.	46
Figur 3.7: APT av stasjonær fase kulturer fra tre ulike <i>L. pneumophila</i> stammer.	48
Figur 3.8: APT sammenligning SPF og MIF fra samme <i>Legionella</i> -stamme.	49
Figur 3.9: Intracellulær vekstkurve <i>L. pneumophila</i> i <i>A. castellanii</i>	50
Figur 3.10: Intracellulær vekstkurve <i>L. pneumophila</i> i <i>A. castellanii</i>	51
Figur 3.11: Modell for analyse av <i>Legionella</i> -risikohåndtering i Stavanger kommune.	52
Figur 5.1: Flytskjema forebyggende rutine.	69

Liste over tabeller:

Tabell 1.1: Ulike utviklingsformer av <i>L. pneumophila</i>	12
Tabell 1.2: Klassifisering og inndeling av risiko.	18
Tabell 2.1: Primere og prober brukt i qPCR.	27
Tabell 2.2: Oversikt over informanter.	35
Tabell 3.1: Forekomst av <i>L.pneumophila</i> fordelt på ulike byggtypen.	37
Tabell 3.2: Sero- og geno-typing av isolerte <i>L. pneumophila</i> stammer.	38
Tabell 3.3: Utvalgte bygg til 2-årig studie.	40
Tabell 3.4: Resultat qPCR 2-årig studie.	41
Tabell 3.5: <i>L. pneumophila</i> stammer undersøkt i testtriggen.	43

Sammendrag

En viktig oppgave i offentlig sektor er å sikre at det er helsemessig forsvarlig for befolkningen å benytte offentlige bygg og tilhørende tilbud. Stavanger kommune har i flere år benyttet forskningsbasert kunnskap for å utvikle stadig bedre rutiner for å hindre spredning av *Legionella*-bakterier via aerosoler. Dette er et arbeid som involverer flere kommunale avdelinger og lover, deriblant kommunehelsetjenesteloven med forskrift for miljørettet helsevern og plan og bygningsloven. Dette prosjektet har vært et tverrfaglig samarbeid mellom avdelingene for Oppvekst og levekår og Bymiljø og utbygging/Stavanger eiendom i Stavanger kommune, IRIS, SUS, University of Michigan Medical School og SEROS/UiS. Hovedmålet har vært å kombinere kunnskap om *Legionella*-bakterien med metoder for risikokommunikasjon og risikohåndtering for å utvikle rutiner for mer nyansert risikovurdering av *Legionella*-smitte.

Data samlet inn i prosjektet viser at av 256 kommunale dusjanlegg som har blitt undersøkt i Stavanger er det påvist *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) i 28 anlegg (ca. 11%). Kommunen deler sine bygg inn i 9 hovedgrupper (helsebygg, skolebygg, boliger, idrettsbygg, bydel og fritidsbygg, barnehager, OSK, kontorbygg og beredskapsbygg). Den relative fordelingen av *Legionella*-forekomst mellom kommunens byggtypen varierer mellom 0-36 %. De store komplekse anleggene og/eller anlegg med garderober og blanding av varmt og kaldt vann sentralt eller i tak i garderobe synes å være overrepresentert. Det var i all hovedsak *L. pneumophila* som ble påvist og det var en jevn fordeling mellom serogruppe 1 og serogruppe 2-14. Fire sekvenstyper går igjen i 81% av anleggene og 3 av disse er lokalisert i geografiske klynger. Det har vist seg utfordrende å finne en robust og enkel metode for virulenstesting av *Legionella*. Det er kun påvist én *L. pneumophila* stamme i hvert anlegg og det er samme stamme som påvises over tid. Resultatene fra prosjektet viser at amøber ser ut til å spille en viktig rolle i etableringen av *Legionella* i et anlegg. Noe som gjør at amøbene også bør tas med i betraktning i det forebyggende arbeidet.

Analysene viser at risikoen forbundet med *Legionella* er preget av usikkerhet, kompleksitet og tvetydighet. Det gjør både risikohåndtering og -kommunikasjon utfordrende. Identifisering og analyse av kommunikasjonsrelasjoner både mellom grupper internt i kommunen og eksterne aktører viser at relasjoner og synet på risiko

knyttet til *Legionella* har endret seg i løpet av prosjektets levetid. Erfaringsbasert læring har endret risikoperspektivet fra risiko=risikopersepsjon mot et mer kunnskapsbasert risikosyn.

Resultatene fra dette prosjektet vil bidra til utforming av en mer robust og målrettet strategi for det forebyggende arbeidet mot *Legionella*-smitte i Stavanger kommune. Selv om det finnes mange arter og stammer av *Legionella* med ulik grad av sykdomsfremkallende evne, behandles i dag all *Legionella* likt i lovverket. Ved å implementere kunnskap om de ulike *L. pneumophila*-stammer isolert fra offentlige bygg i risikostyringen, vil kommunen kunne sette inn ressurser der effekten av tiltak er størst. Videre har analyser av risikokommunikasjon og -håndtering av *Legionella* i Stavanger kommune gitt en mer nyansert forståelse av *Legionella* som risiko i dusjanlegg. Dette gjør at man har gode forutsetninger for å håndtere og kommunisere risikoen internt og eksternt. Prosjektet viser at det så langt ikke er mulig å tallfeste risiko for å bli syk av *Legionella* i dusjanlegg, men vår vurdering er at risiko er lav. Endringen i risikosyn har lagt grunnlag for en mer kunnskapsbasert risikokommunikasjon og dermed en bedre risikostyring og -håndtering i kommunal regi. På den måten ivaretas innbyggernes helse på best mulig måte med én mer effektiv bruk av ressurser. Frigitte ressurser kan som følge av denne strategien dermed allokeres til andre offentlige oppgaver.

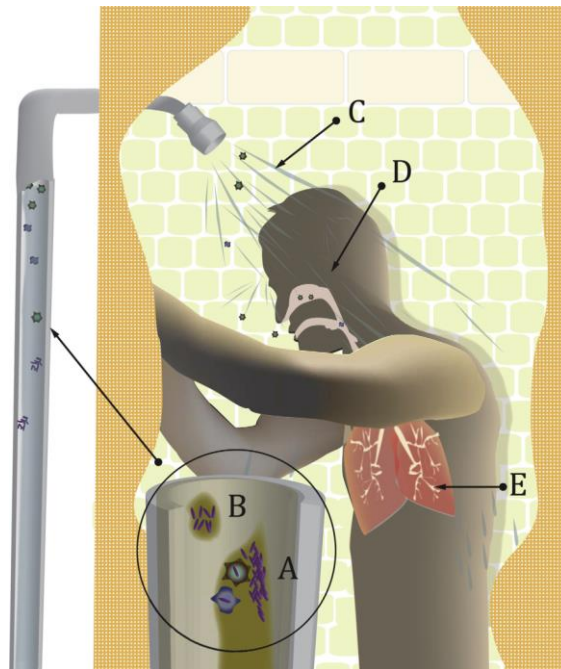
1 Bakgrunn

1.1 Kort om *Legionella*

Legionella-bakterier finnes naturlig i små mengder i ferskvann. Grunnen at det er fokus på denne bakterien er fordi den kan føre til en alvorlig form for lungebetennelse kalt legionærsyken (WHO 2007, Edelstein 2008). *Legionella* formerer seg ved temperaturer mellom 20 og 55 grader med optimal veksttemperatur omkring 37 grader (WHO 2007). Menneskeskapte innretninger som VVS-anlegg, aircondition-anlegg og luftskrubbere har gjerne forhold som legger til rette for at bakterien kan øke i antall og utgjøre en potensiell smitterisiko. *Legionella* overføres hovedsakelig til mennesker via små luftbårne vandrdåper (aerosoler) som dras ned i lungene hvor *Legionella*-bakteriene kan infisere en bestemt celletype, såkalte makrofager, se figur 1.1. (WHO 2007, Schoen og Ashbolt 2011). Det er først og fremst eldre mennesker eller mennesker med nedsatt immunitet som blir syke, mens normalt friske mennesker vanligvis ikke blir syke av *Legionella*. Når en person først er blitt smittet, er dødeligheten relativt høy (WHO 2016). Det er lite som tyder på at *Legionella* smitter mellom mennesker (Gardūno 2008, Uzel og Hames-Kocabas 2010).

Etter at *Legionella*-bakterien ble oppdaget og identifisert i 1976 har man forsket mye på denne bakterien (Heuner og Swanson 2008). Vi vet i dag mye om livssyklusen til *Legionella* og hva som skjer når *Legionella* invaderer makrofager i lungene og formerer seg i disse (Gardūno 2008, Robertson, Abdelhady og Gardūno 2014, Cunha, Burillo og Bouza 2016). Årlig blir det ført statistikk i Europa over hvem som har blitt smittet og hvor de har blitt smittet (ECDC 2016b). Det vi imidlertid har manglende kunnskap om er hvordan vi i best mulig grad kan omsette det vi vet om bakteriens biologi i et risikoperspektiv.

Som eier av mange offentlige bygg har kommuner i Norge et lovpålagt ansvar å gjennomføre risikovurdering og drive forebyggende arbeid for å hindre smitte av *Legionella* fra aerosol (Forskrift for miljørettet helsevern 2003). Dette er krevende for kommunene, både i form av personalressurser og rene kostnader.



Figur 1.1: Overføring av smitte fra dusjvann via aerosol til mennesker.

A) *Legionella* formerer seg inne i amøber i biofilm i rørene. B) Bakterier frigjøres fra amøbene og ut i vannmassene. C) I dusjhodet dannes det små luftbårne vanndråper (aerosoler) som inneholder *Legionella*. D) Kontaminerte aerosoler pustes ned i lungene. E) I lungene finner man amøbelignende celler kalt makrofager som *Legionella* kan infisere. Ved en infeksjon kan det utvikle seg en alvorlig lungebetennelse kalt Legionærsyken. Figur hentet fra Schoen og Ashbolt, 2011.

1.2 *Legionella* er ikke bare *Legionella*!

Legionella er ikke bare én enkelt bakterieart, men er en bakterieslekt som består av minst 50 ulike arter som igjen kan deles inn i undergrupper enten basert på bakteriens ulike overflateprotein (serotyping) eller DNA innhold (genotyping). (Lück et al. 1992, Fields 1996, Joseph 2002, WHO 2007, Lück 2008). Omtrent halvparten av disse artene har blitt knyttet til sykdom hos mennesker, men det er *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) som er årsaken til over 90 % av de rapporterte sykdomstilfellene i Europa (ECDC 2016a).

Serotyping er en viktig screening-metode for å differensiere *Legionella* stammer men brukes også for å vurdere bakteriens sykdomsfremkallende evne. *L. pneumophila* har minst 15 ulike serogrupper (sg) der *L. pneumophila* sg 1 er den mest

sykdomsfremkallende typen hos mennesker (81 % av de rapporterte tilfellene) (ECDC 2016a). Blant serogruppene 2-14 er sg 2, 3, 4, 6 og 10 de som oftest er assosiert med sykdom (ECDC 2016b). Videre er de undergruppene blant *L. pneumophila* sg 1 som har overflatemolekylet mAb 3/1 (mAb3/1 positive stammer) ansett for å være mer virulente enn de undergruppene som mangler dette (Helbig et al. 2002).

I dagens risikoanalyser blir det gjort vurderinger av tekniske installasjoner og av brukergrupper i de enkelte byggene, mens alle typer *Legionella* behandles likt i henhold til lovverket (Forskrift for miljørettet helsevern 2003).

1.3 Sykdomsfremkallende evne hos *L. pneumophila*

Både *L. pneumophila* og andre *Legionella*-arter som fører til legionærsyken, er det vi kaller «opportunistisk patogene bakterier». Dette betyr at de vanligvis er harmløse selv om man er smittet, men at de kan framkalle sykdom hos mennesker med redusert immunitet (Madigan et al. 2009).

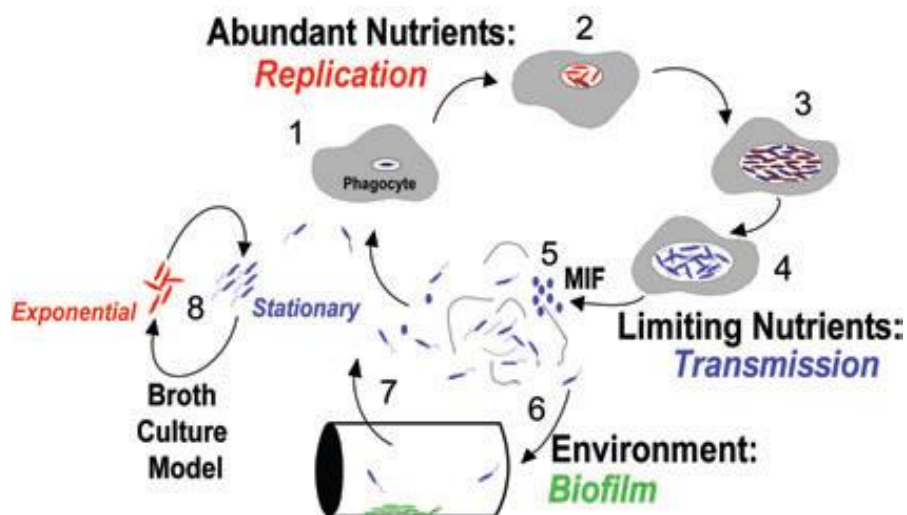
Utrykkene *infeksiøs*, *patogen* og *virulens* brukes ofte om hverandre i litteraturen for å beskrive sykdomsfremkallende evne. Dette kan virke litt forvirrende. I denne rapporten følger vi definisjonene til Madigan (2009). **Infeksjon** oppstår når en mikroorganisme invaderer og formerer seg i en vert. Du kan være infisert uten å være syk. De fleste mikroorganismer er harmløse og kan til og med være nyttige for verten sin. En mikroorganisme som lever i eller på en vertsorganisme og som gir skade/sykdom kalles **patogener**. Patogenitet angir altså om en mikroorganisme medfører sykdom eller ikke. Patogenitet kan sies å dreie seg om enten eller. Begrepet **virulens** beskriver graden av sykdomsfremkallende evne. Eksempelvis kan et veldig virulent influensavirus slå deg helt ut og nesten ta livet av deg. Eller du kan bli smittet av en stamme som bare gjør deg litt ute av form. I det sistnevnte tilfellet vil organismen beskrives som *infeksiøs* og *patogen* men ikke veldig virulent. En annen viktig faktor er hvor mottagelig/motstandsdyktig en vert er mot en patogen mikrobe. Et opportunistisk patogen vil bare forårsake sykdom i fravær av et normalt immunforsvar.

Fordi immunstatus hos oss mennesker er en avgjørende faktor for *Legionella* sin virulens er det vanskelig å gi et konkret måletall for risiko for mennesker. Hvor virulente de ulike stammene rapporteres til å være, varierer i tillegg veldig. Det er noen *Legionella*-stammer som stadig dukker opp i forbindelse med sykdomstilfeller, mens andre kun isoleres fra miljøet (Doleans et al. 2004, Harrison et al. 2009, Olsen et al. 2009) Dette betyr at det ikke nødvendigvis indikerer sykdomsrisiko dersom vi isolerer *Legionella* fra et vannsystem som f. eks. et dusjanlegg.

Til tross for denne kunnskapen blir det altså ikke lovmessig differensiert mellom ulike typer *Legionella* når det gjelder valg av tiltak (Forskrift for miljørettet helsevern, kap 3a). Når dette prosjektet startet ble prosedyrer i offentlige dusjanlegg anbefalt gjennomført uavhengig av mengde bakterier og sykdomsfremkallende evne. Resultatet av dette er at samfunnet bruker store ressurser for å beskytte seg mot mulig smitte uten at risiko er tilstrekkelig vurdert. Derfor synes det nødvendig å inkludere mer kunnskap om selve *Legionella*-bakteriene i risikovurderingen for å få en mer helhetlig risikovurdering av *Legionella* i offentlige dusjanlegg.

1.4 Livssyklus og livsformer hos *Legionella*

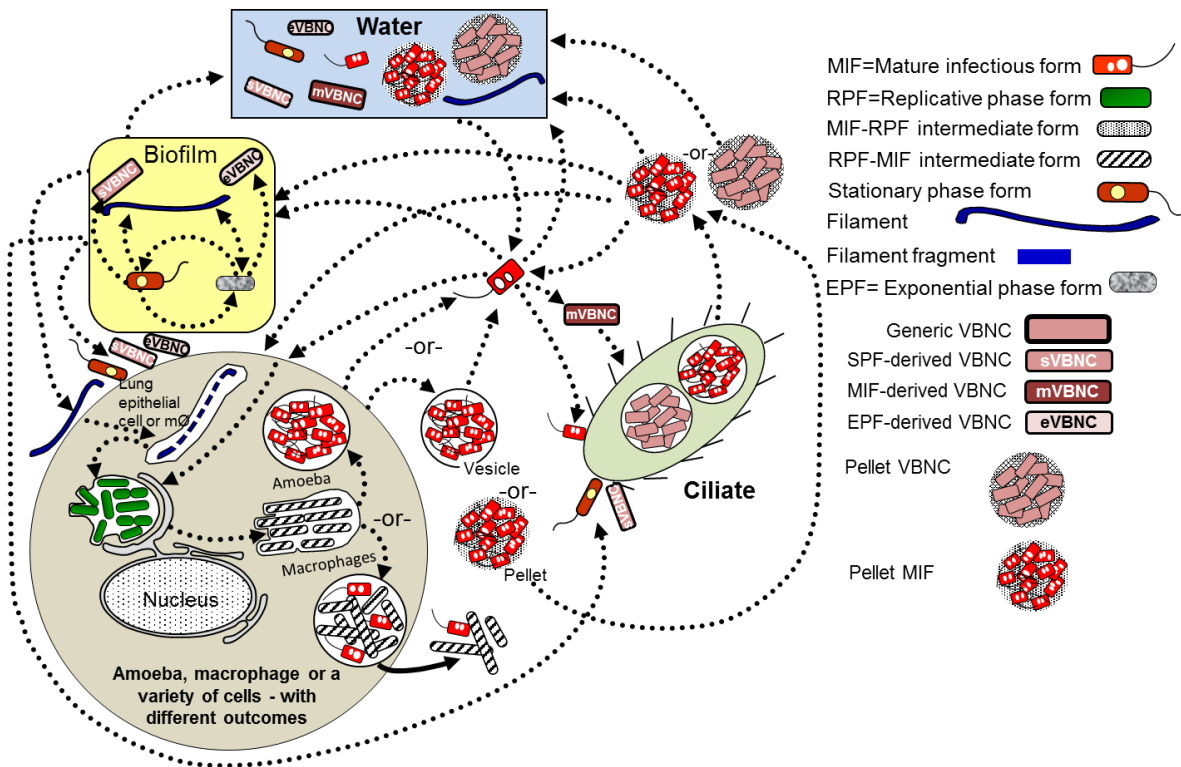
Tradisjonelt har man sett på livssyklusen til *Legionella* som en to-fase prosess hvor bakterien enten er i en overførbar infeksjons form, eller i en fase hvor den formerer seg inne i en vert og er mindre infeksjons (Molowsky og Swanson, 2004), se figur 1.2.



Figur 1.2: Livssyklus *Legionella*.

1) Fritt-svømmende *Legionella*-bakterier, såkalt overførbare, tas opp av fagocyterende celler (amøber eller makrofager i lungene) og ligger beskyttet i en vakuole i cellen. 2) Når nærings- og andre forhold er gunstige deler bakteriene seg og øker i antall, de replikerer. 3) Når forholdene begynner å bli dårlige, stopper delingen og bakteriene begynner å uttrykke egenskaper som fremmer overlevelse i miljøet og overføring til en ny vert. 4) Etter en tid utvikler mikroben seg til en moden infeksjons form (MIF). 5) Verten går i oppløsning og mikroben frigjøres til miljøet (vannet). 6) *Legionella* som ikke umiddelbart blir fagocyttert av en ny vert etablerer seg i biofilmer i vannsystemer og dammer, hvor de er beskyttet mot ulike typer behandlinger. 7) Når frittlevende amøber møter en ny vert begynner syklusen på ny. 8) Mikrober dyrket i kultur til enten eksponentiell eller stasjonær fase viser mange av de samme egenskapene som de fritt-svømmende *Legionella*-bakteriene i miljøet og *Legionella*-bakterier i aktiv delingsfase i celler (amøber eller makrofager) (Fra Molowsky og Swanson, 2004).

Men nyere forskning har vist at bildet man har hatt av *Legionella* livssyklusen som en to-fase prosess, er for enkel. Robertson et al (2014), viser til at det har blitt identifisert minst 14 ulike utviklingsformer av *Legionella* så langt, se figur 1.3. Mange av disse formene kan gå over i hverandre slik at det i realiteten er et nettverk (Rafael A. Gardūno personlig kommunikasjon; (Robertson, Abdelhady og Gardūno 2014).



Figur 1.3: Nettverk av ulike 14 ulike utviklingsformer av *Legionella*.

Formene som finnes i vann er indikert i den blå boksen. (Figur fra Professor Rafael A. Gardūno, Department of Microbiology and Immunology Dalhousie University, Nova Scotia, Canada).

Tabell 1.1: Ulike utviklingsformer av *L. pneumophila* identifisert og rapportert så langt. Hentet fra Robertson et al (2014).

Table 1 | The *Lp* developmental forms that have been identified and reported to date.

Name used (abbreviation)	Main characteristics	Primary references
Exponential phase form (EPF)	Produced extracellularly, non-infectious to host cells, sensitive to stress, replicates actively	Byrne and Swanson, 1998
Stationary phase form (SPF)	Produced extracellularly, infectious to host cells, resistant to stress	Byrne and Swanson, 1998
Filamentous form (FF)	Produced extra- and intra-cellularly, infectious to host cells, forms dense biofilms	Rodgers et al., 1978; Piao et al., 2006
Mature infectious form (MIF)	Produced intracellularly, infectious to host cells, resistant to stress	Garduño et al., 2002
Immature intracellular form (IIF)	Produced in cultured macrophages, morphologically undifferentiated, less infectious and less resistant to stress than MIFs, elongated	Abdelhady and Garduño, 2013
Replicative phase form (RPF)	Produced intracellularly, replicates actively	Faulkner and Garduño, 2002
MIF-EPF intermediate	Produced extracellularly upon germination of mature infectious forms in BYE, shows intraperiplasmic vesicles	Faulkner and Garduño, 2002
MIF-RPF intermediate	Produced intracellularly in response to the presence of amino acids, a precursor to the initiation of replication in the LCV ^a	Sauer et al., 2005a
RPF-MIF intermediates	Produced intracellularly in the late stages of the infection cycle, display unique envelope profiles. Might be similar to IIFs	Faulkner and Garduño, 2002
VBNC ^a derived from a SPF	Produced extracellularly in response to sustained stress, resuscitates in the presence of amoeba	Steinert et al., 1997; Al-Bana et al., 2014
VBNC derived from a MIF	Produced extracellularly in response to stress, shows an intact cell ultrastructure, does not resuscitate in amoeba	Al-Bana et al., 2014
VBNC derived from an EPF	Apparently more fragile than the other VBNCs mentioned above	Ohno et al., 2003
Pelleted MIFs	Produced by ciliates and amoeba, show unique developmental traits	Berk et al., 1998, 2008
Pelleted VBNCs	Produced by ciliates, may show unique developmental traits	Al-Bana et al., 2014

^aAbbreviations used: LCV, Legionella-containing vacuole; VBNC, viable but non-culturable cell.

Disse ulike utviklingsformene er vist å ha ulik evne til å infisere amøber og makrofager og dermed mest sannsynlig også oss mennesker, se tabell 1.1. Dermed er det ikke bare serotype/genotype som har betydning når man skal forutsi risiko for sykdom.

1.5 Viktige faktorer for vekst av *Legionella* i dusjanlegg

Faktorer som temperatur, tilgang på næringsstoffer, sirkulasjon, rørmateriale, tilstedeværelse av andre mikroorganismer og beskyttelse i form av biofilm, synes å være viktige i forbindelse med vekst/oppblomstring av *Legionella* i et anlegg (WHO 2007, Waines 2011).

Temperatur er kanskje den enkeltfaktoren som har størst påvirkning på *Legionella*-kontroll. *Legionella*-bakterier liker seg best i temperaturer omkring 37 °C. Er det for kaldt, under 15 °C vil ikke bakteriene formere seg (Arvand, Jungkind og Hack 2011). Ved temperaturer over 55 °C dør bakteriene ganske raskt, med mindre de er beskyttet inne i amøber eller i en biofilm, da kan de tåle mye høyere temperaturer over betydelig lengre tid (Farhat et al. 2010, Allegra et al. 2011). Biofilm fremmer utveksling av næringsstoffer og gasser mellom organismene, og beskytter dem mot ytre påvirkninger. Biofilm er vist å fungere som potensielle reservoarer for *Legionella* og er komplekse økosystemer hvor blant annet bakterier, alger og amøber lever sammen (Kuiper 2006). Dannelse av biofilm skjer overalt både i naturen og i menneskeskapt miljø som rørsystemer, varme, ventilasjon- og air-condition utstyr. Biofilmen er, som navnet tilsier, en film på overflater og kan oppleves både som slimete eller tørr (Uzel og Hames-Kocabas 2010, Wiik og Krøvel 2011). I et røranlegg vil mesteparten av mikrobiell vekst skje på innsiden av rørveggene (Camper et al. 1999) Hvilket rørmaterialet som er benyttet i et anlegg kan også ha betydning for vekst av *Legionella* og andre mikroorganismer (van der Kooij, Veenendaal og Scheffer 2005). Kobberrør har i noen studier vist seg å ha antimikrobiell effekt på *L. pneumophila* (Rogers et al. 1994, van der Kooij, Veenendaal og Scheffer 2005). Det er også vist at plastmaterialer som kryssbundet polyetylen (PEX) har mindre vekst enn jern og rustfritt stål (Rogers et al. 1994, Kerr et al. 1998). Men det er også studier som har vist at antall bakterier på kobber og plast-rør er det samme og at PEX har høyere nivå av bakterier enn kobber og rustfritt stål (Van

der Kooij et al. 2002, Lehtola et al. 2004, van der Kooij, Veenendaal og Scheffer 2005). Med andre ord er ikke konklusjonene entydige på dette området.

I tillegg til temperatur, biofilm og materialvalg har design av vannsystemene stor betydning for vekst av *Legionella*. I store kompliserte anlegg er det lange avstander hvor det kan være vanskelig å holde temperaturen kald nok eller varm nok. I tillegg kan man få soner hvor man får stillestående vann eller redusert sirkulasjon som kan gi gode vekstforhold for *Legionella* i deler av anlegget, hvor bakteriene klarer å etablere seg og fungerer som reservoar for resten av anlegget. Mye godt forebyggende arbeid kan derfor gjøres ved å tenke nøye gjennom designet for nybygg og ved å unngå blindrør (dead legs) ved ombygging/rehabilitering.

1.6 Metoder for påvisning av *Legionella* i vann

For å kunne si noe om forekomsten av *Legionella* i de ulike vannsystemene/dusjanleggene er det nødvendig å analysere vannet mhp. *Legionella*. Å bruke kimtall, som er et mål på generelt bakterieinnhold, som indikator for *Legionella* er ikke hensiktsmessig (Wiik og Krøvel, 2014). Av utviklingsformene som finnes i vann er hovedformene moden infeksjons form (MIF), filament, stasjonær fase form (SPF), VBNC (Viable But Not Culturable) og pelletter med MIF eller VBNC, se figur 1.3.

Alle disse formene, med unntak av VBNC-relaterte former, vil kunne påvises vha. dyrkningsteknikk som så langt har vært gullstandard når det gjelder analyse av *Legionella* (Collins et al. 2015). I noen forsøk er det funnet at så lite som 0,1 – 1 % av *Legionella*-bakteriene er dyrkbare, resten er på VBNC-stadiet (Howard og Inglis 2005, Oliver 2005, Allegra et al. 2008, Giao et al. 2009, Farhat et al. 2010, Allegra et al. 2011).

Det finnes imidlertid flere metoder for å påvise *Legionella* i vann. I tillegg til dyrkningsanalyser, kan man f.eks gjøre genetisk identifikasjon gjennom polymerasekjedereaksjon (PCR)- analyser som påviser tilstedeværelse av arvestoff (DNA)(Lee et al. 2011, Merault et al. 2011) eller flow cytometri for å påvise og overvåke *Legionella* (Allegra et al. 2008, Fuchslin et al. 2010). Flow cytometri er en analyse der man bruker laser for å analysere fysiske eller kjemiske egenskaper til bakteriene i en væskestrøm. I dette prosjektet har vi brukt dyrkningsanalyse og ulike PCR-teknikker for å påvise *L.*

pneumophila i vann fra dusjanlegg. Ulike teknikker har gjerne fordeler og ulemper knyttet til seg. Fordelene med dyrkningsanalyser er at man kan amplifisere opp materialet og gjøre videre analyser som serotyping/genotyping. Ulempen er at det tar lang tid (opptil 10 dager), at sensitiviteten er lav og at det fortsatt kan være levende bakterier i prøven selv om vi ikke klarer å dyrke dem (Whiley og Taylor 2016). Fordelen med PCR er at det er en rask måte å få påvist om det er *Legionella* i systemet eller ikke, inkludert VBNC-formen, men at metoden gir begrenset informasjon om serotyper. Metoden er veldig sensitiv, den påviser også døde bakterier og det er høyere risiko for bakgrunnsaktivitet og falske positive funn (Whiley og Taylor 2016). En ulempe med begge disse metodene er at vi ikke vil kunne skille mellom de ulike utviklingsformene i figur 1.3, men får analysert dem som en samlet pott.

1.7 Legionella og amøber

Amøber er den naturlige verten til *Legionella* (Wadowsky et al. 1988, Kuiper 2006). I dusjanleggene vil det i hovedsak være de *Legionella*-formene som produseres av amøber (MIFs) som er tilstede, og ikke de vi dyrker i vanlig kultur på laboratoriet (SPFs), se seksjon 1.4. Det har for eksempel blitt vist at *Legionella*-bakterier som har blitt frigjort fra amøber, såkalte MIF's, er opptil 10 ganger mer infeksjøs enn *Legionella*-bakterier dyrket i laboratoriekultur (Gardūno et al. 2002). Det er denne formen som ser ut til å spille en sentral rolle ved infeksjon av både amøber og mennesker (Gardūno 2008). Det er også vist at levende, men ikke dyrkbare (VBNC) bakterier, kan gå over til å bli dyrkbare etter at de har blitt tatt opp i og frigjort fra amøber (Steinert et al. 1997, Garcia et al. 2007). Fordi menneskers immunstatus er så avgjørende for patogenisitet og virulens i forhold til *Legionella* er det som tidligere nevnt vanskelig å gi noe konkret mål på risiko i forhold til mennesker. Men, det er mulig å prøve å si noe om infiseringspotensialet til den enkelte *Legionella*-stammen sammenlignet med andre stammer. Videre har det blitt antydnet at amøber og *L. pneumophila* påvirker og øker hverandres patogenisitet og at det dermed er viktig å studere disse sammen i en risikosammenheng (Berjeaud et al. 2016). Derfor har det i dette prosjektet vært fokus på å forsøke å finne metoder for å analysere virulens av ulike stammer og utviklingsformer av *L. pneumophila* i sammenheng med amøber.

1.8 Risikoklassifisering av *Legionella*

Vi anser dette prosjektet for å være et pionér-prosjekt fordi det benyttes avansert samfunnsvitenskapelig risikotenking på det komplekse mikrobiologiske fenomenet som *Legionella*-bakterien representerer. Frem til nå er det blitt gjort mest karakteriserende og epidemiologiske studier av *Legionella*. Statistisk sett er det lav risiko for å bli syk av *Legionella* (ECDC 2016b, Wiik og Krøvel 2014). Ved å vurdere risikoen ut fra anerkjente risikoteorier, vil man påvirkes til å tenke på en mer rasjonell måte og i et større perspektiv. I dette prosjektet har vi konsentrert oss om *Legionella*, men denne måten å tenke på vil også kunne overføres til andre typer patogene organismer.

Først vil vi presentere en del definisjoner og teori som grunnlag for *Legionella*-orientert risikotenking. Ifølge Aven og Renn (2010) refererer risiko til usikkerhet om og alvorlighet av hendelser og konsekvenser av disse med hensyn til noe mennesker verdsetter. Usikkerheten er knyttet til realisering av hendelser, konsekvenser av en eventuell hendelse og alvorligheten av hendelsen og konsekvensene. Alvorlighetsgraden viser til intensitet, størrelse, utbredelse og omfang satt i sammenheng med forringelse av konkrete ting, sosiale forhold og verdier mennesker verdsetter – det kan være arbeid, status, hus, eiendom, miljø, menneskeliv. Målestokker på tap og gevinst uttrykkes kvantitativt gjennom, for eksempel penger eller antall dødsfall, slik at det faktisk er mulig å definere alvorlighetsgraden av utfall og konsekvenser av risikoer.

1.8.1 Risiko

Avens og Renns hovedpoeng er at risikobegrepet må basere seg på usikkerheten utover en tallfestet sannsynlighet. Tallfesting av sannsynligheter kan være effektive verktøy, men det vil alltid være usikkerhet knyttet til de sannsynlighetene man regner seg fram til. Dersom vi bruker studenten som studerer et fag i dag som eksempel, kan vi regne ut sannsynligheten for at studenten vil få jobb etter endt utdanning. Beregningen vil imidlertid inneholde så mange usikre faktorer og mangelfull informasjon at nytteverdien vil være begrenset. Samtidig er det slik at jo mer relevant informasjon man legger inn i beregningene, desto mer informativ kan risikoanalysen bli for beslutningstakeren.

Risikoanalyser basert på sannsynlighetsberegninger er derfor nyttige. Nytteverdien er avhengig av hvorvidt risikoanalysene er basert på gode og realistiske forutsetninger og på god informasjon og kunnskap.

Risikovurderinger er påvirket av hvilke verdier, holdninger, erfaringer og egenskaper vi har som mennesker. Spørsmålet er om det er slike sosiale relasjoner som egentlig avgjør hvordan vi oppfatter verden, og som former våre oppfatninger og tanker om risiko og som avgjør hvordan vi handler. Teoriretninger innen psykologi og sosiologi vurderer personlige og samfunnsmessige faktorer som viktigere enn rasjonelle vurderinger og kalkulasjoner når vi mennesker fatter beslutninger. Den amerikanske forskeren Sheila Jasanoff hevder for eksempel, at risiko er det samme som risikopersepsjon (Jasanoff 1986), det vil si hvordan vi som enkeltindivider oppfatter risiko. Risikovurderinger og risikooppfatninger blir dermed utelukkende bestemt av samfunnsmessige og kulturelle faktorer.

Definisjonen på risiko som vi har introdusert, legger bare delvis opp til en slik forståelse. Risikoen eller usikkerheten vil alltid bli vurdert av noen. De sannsynlighetene som blir beregnet, er som nevnt basert på kunnskap sett «gjennom øynene» til den som regner. I vår sammenheng vil det være forskerne/ekspertene som foretar målingene av *Legionella*, og risikoanalytikerne som transformerer denne kunnskapen til risikoanalyser og beslutningsgrunnlag for myndighetene. De subjektive sannsynlighetene eller kunnskapsdimensjonene er ikke uttrykk for en objektiv virkelighet, men menneskelige konstruksjoner og prognoser om mulige utfall i framtiden. Vi kan imidlertid skille risiko fra risikopersepsjon ved å si at risikopersepsjon baserer seg på enkeltpersoners kognitive egenskaper, personlige erfaringer, individuelle verdier og dermed er isolert i en personlig virkelighetsoppfatning. Beregning av risiko innebærer kalkulasjoner og verdsettinger som det i noen grad kan være gjengs enighet om. Det krever en mental konstruksjon av en usikkerhetsdimensjon (kunnskapsdimensjon), men også at denne konstruksjonen kan vurderes av andre. Risikoen er ikke uavhengig av den som vurderer, men vurderingen er heller ikke uavhengig av felles kunnskap om teorier og metoder. Risiko og risikopersepsjon griper inn i hverandre, men kan også holdes adskilt dersom vi klarer å skille mellom risiko- og usikkerhetsdefinisjoner basert på allment aksepterte gode metoder og egne personlige oppfatninger og verddivurderinger.

Utfordringen er at vi har mange usikkerheter og verdivurderinger knyttet til risikoene, og at risikoene har forskjellige karaktertrekk. Mange aktiviteter, hendelser og konsekvenser vet vi som sagt mye om og har mye data på. Andre vet vi knapt at eksisterer. Risikoanalyse og risikostyring handler derfor om å beskrive og systematisere hva slags type aktiviteter og risikofenomener vi har med å gjøre. Dersom vi klarer å beskrive og kategorisere risikofenomenene vi står overfor, kan vi også lettere finne ut hvordan vi skal beregne og vurdere risikoene, og eventuelt komme med anbefalinger om hvordan vi skal håndtere dem. Overvåkingsprosjektet av *Legionella* i Stavanger kommune er et godt eksempel på kunnskapsakkumulasjon for å kunne beskrive og kategorisere risiko.

1.8.2 Ulike former for risiko

En utfordring blir dermed å lage gode klassifikasjoner for å evaluere risikoene. Renn (2008) viser en klassifisering som knytter sammen skadepotensiale og sannsynlighetene for at hendelser kan inntreffe, med tilhørende risikobeskrivelser. Til sammen utgjør dette ni ulike inndelinger:

Tabell 1.2: Klassifisering og inndeling av risiko etter vurderingskriterier og risikobeskrivelse.

Vurderingskriterier av risikoer	Risikobeskrivelser
Skadeomfang	Hva er tilhørende effekter, fysisk skade, sårede, produksjonstap, osv?
Sannsynlighet for hendelse	Hva er estimerte sannsynlighetsfordelinger, frekvensfordelinger av risikoene?
Usikkerhet	Hva er den konstruerte og overordnede og generelle indikatoren for usikkerhet?
Utstrekning	Hva er geografisk utstrekning av mulig skade, også på tvers av nasjoner?
Utholdenhet, varighet	Hva er varighet i tid av skadeomfang, også på tvers av generasjoner?
Reversibilitet	Er det mulighet for å reversere, det vil si bringe tilbake tilstanden før hendelsen?
Forsinket effekt	Hva er avstanden i tid mellom hendelsen og synlige effekter?
Ødeleggelse av egen-kapital	Er det uoverensstemmelse mellom de som har nytte av risikoene, og de som bærer omkostningene?
Mobiliseringspotensialet	Vil hendelsen generere sosiale konflikter og/eller psykologiske reaksjoner?

Risiko og usikkerhet forekommer altså på forskjellige nivåer i samfunnet: usikkerheten knyttet til dagliglivets hendelser og usikkerheten knyttet til komplekse

samfunnsfenomener. Samtidig kan usikkerheten knyttet til konsekvenser være meget omfattende. Syv av klassifiseringene kan knyttes til første del av Avens og Renns definisjon, der risiko referer «til usikkerhet om og alvorligheten av hendelser og konsekvenser (eller resultater) av en aktivitet». De to siste omhandler «noe som mennesket verdsetter», men der risikoen også kan føre til reaksjoner fra publikum og dermed kan forsterke skadeomfanget.

Klassifiseringen i tabell 1.2 viser til forholdet mellom risiko og risikobeskrivelse, der hensikten er å komme fram til hvilke metoder som bør benyttes i risikoanalysen. For å komme videre i prosessen foretar Renn en ytterligere kategorisering, der han skiller mellom lineære, komplekse, usikre og tvetydige risikoer. Mens vurderingskriterier og risikobeskrivelser hjelper oss med å evaluere risikoene, benytter han lineære, komplekse, usikre og tvetydige risikoer til å angi når ulike metoder for risikoanalyse kommer til anvendelse.

Lineære risikoer viser til hendelser og situasjoner som er relativt kjente, og hvor det eksisterer mye data som kan analyseres ved hjelp av allment aksepterte metoder innenfor risikoanalyse. Gode eksempler kan være effekter av røyking, trafikkatferd og værphenomener (meteorologi). For eksempel er værvarsling et resultat av mange års erfaringer og kunnskaper om sammenhengene mellom værphenomener (høytrykk og lavtrykk). Varslene vi får hver dag gjennom radio, TV eller Internett, viser til statistiske modeller og prognoser utviklet fra denne kunnskapen. Hvis vi benytter tabell 1.2. vil lineære risikoer være beskrevet ved at skadeomfanget er relativt lite, og at usikkerheten er lav, slik at det kan beregnes en sannsynlighetsfordeling. Når det gjelder utstrekning og varighet, er disse begrenset, og skadene er ikke av en slik karakter at det blir vanskelig å gjenopprette. Det er heller ikke knyttet usikkerheter til årsak-virkningssammenhenger, og hendelsene vil trolig heller ikke føre til store reaksjoner blant publikum.

Komplekse risikoer viser til vanskelighetene med å avgjøre sammenhengene mellom mange mulige årsaker og observerte effekter. Dette er risikofenomener hvor årsak-virkningssammenhengene er kompliserte. For det første kan flere ting skje samtidig, og det kan være vanskelig å avgjøre hvilken årsak man skal knytte effekten til. For det andre kan det gå lang tid mellom årsaken til hendelsen og effekten av den. For det tredje kan

flere faktorer virke inn på samme tid, samt at det kan forekomme påvirkning fra andre utenforliggende faktorer. Skadeomfanget, sannsynligheter knyttet til hendelser og konsekvenser, utstrekning og utholdenhet vil være vanskelig å forutse. Det vil også være vanskelig å avgjøre i hvilken grad man kan vende tilbake til statusen fra før hendelsen. I enkelte situasjoner vil det også være en forsinkelse mellom hendelse og effekten av den, noe som også kan påvirke neste generasjon. Hos personer som arbeider innenfor industrien, vil kompleks risiko være assosiert med kartlegging av årsak-virkningssammenhenger i store teknologiske systemer og årsak-virkningssammenhenger knyttet til utslipp og forurensning. Komplekse risikoer mobiliser gjerne til reaksjoner og aksjoner hos befolkningen. Et relevant eksempel er den økende motstanden mot kjernekraften som i en årrekke har pågått i de fleste land.

Usikre risikoer er knyttet til problemet med å forutse en hendelse og de tilhørende konsekvensene. Grunnene er mange. For det første kan det være en genuin mangel på kunnskap, med andre ord uvitenhet. Eksempler på risikoer som inneholder høy usikkerhet, er store naturkatastrofer (tsunamier), ulike nye virus og bakterier, samt terrorisme. Graden av usikkerhet kan også variere. Det er noen risikofenomener vi vet at vi ikke vet noe om. Og det er noen risikoer vi faktisk ikke vet at vi ikke vet noe om. Det siste omtales gjerne som «svarte svaner». Terrorhandlinger eller andre typer ondsinnede handlinger som tar sikte på å skade samfunnet, faller gjerne innenfor de to siste risikokategoriene. Det er svært vanskelig å forutse og beregne en terrorhandling. En av årsakene er at dersom man antar at noen vil angripe et mål, og man prøver å sikre dette målet, vil angriperen eller terroristen sannsynligvis revurdere sine planer og enten la være å angripe eller rette søkelyset mot et annet mål. Usikkerheten i denne sammenhengen omfatter imidlertid to viktige dimensjoner: usikkerheten knyttet til om en gitt hendelse vil inntreffe, og tilhørende konsekvenser, og usikkerheten knyttet til tallfesting av denne risikoen. Usikkerheten er også knyttet til utstrekning, utholdenhet og forsinket effekt samt effektene av eventuelle sosiale konsekvenser (jf. tabell 1.2).

Tvetydige risikoer viser til hvordan vi tenker om, mener om og vurderer de risikoene vi står overfor. De fleste vitenskapelige debatter innenfor risikohåndtering handler ikke bare om uenighet knyttet til metodebruk eller hvordan man skal måle fenomener og sammenhenger, men også om hva risikoene betyr for helsen, miljøet og samfunnet generelt sett. Det er derfor vanlig å skille mellom fortolkende og normativ tvetydighet.

Fortolkende tvetydighet viser til uenighet om risiko, knyttet til sammenhengen mellom årsak og virkning og hvilke metoder som skal anvendes for å kartlegge disse. Ulike fortolkninger om metode og kunnskapsgrunnlag i det vitenskapelige miljøet fører altså til at forskerne kommer fram til forskjellige resultater. *Normativ tvetydighet* viser til uenighet om hvilke verdier vi faktisk ønsker skal ivaretas. I vår studie har vi gjort rede for betydelige uenigheter om hvilke tiltak som bør iverksettes med hensyn til *Legionella*. For eksempel er det uenighet ekspertene imellom om effekten av varmtvannsspyling. Derimot finner vi liten grad av normativ tvetydighet blant interessentene. Alle er enige om at *Legionella* bør bekjempes og at det bør anlegges strategier som både er forebyggende og proaktive dersom det skulle vise seg at utbrudd er nært forestående eller har forekommet. Et sentralt spørsmål er hvordan disse håndteringsstrategiene blir koblet mot risikooppfatningene hos beslutningstakerne, risikoanalytikerne, ekspertene og befolkningen (lay people).

1.8.3 Risikokommunikasjon i lys av ulike risiko perspektiver

Veland og Aven (2013) viser hvordan ulike risiko perspektiver kan påvirke kommunikasjonen mellom ulike interessenter i en kommunikasjonsprosess. Studien tar utgangspunkt i fem ulike risiko perspektiver:

- a) At aktørene tror at det eksisterer en ekte objektiv risiko, og at risikoanalytikere og eksperter er i stand til å frambringe gode estimater av denne risikoen
- b) At aktørene mener at usikkerhet er hovedkomponenten av all risiko og sannsynlighet er en nyttig måte å beskrive denne usikkerheten på. Interessentene tilkjenner at denne metoden har betydelige begrensninger
- c) At aktørene tror at det eksisterer en ekte objektiv risiko som kan måles ved hjelp av frekvenssannsynligheter, men tilkjenner at «non-probabilistiske» metoder også kan være nyttige for å beskrive kunnskapsbaserte usikkerheter
- d) At aktørene har et «kaotisk» syn på risiko, som vil si at han/hun mangler forståelse av fundamentale konsepter som risiko, sannsynlighet og usikkerhet, og/eller blander sammen disse konseptene
- e) Aktørene oppfatter risiko som det samme som risikopersepsjon

(Veland og Aven 2013) behandler grundig ulike risikoperspektiver hvor risiko blir definert som sannsynligheter, frekvenser og/eller usikkerhet. Deretter presenterer de fire ulike kommunikasjon- observasjoner hvor:

1. Risikoanalytiker presenterer resultater av en kvantitativ risikoanalyse til beslutningstaker
2. En ekspert presenterer data for en risikoanalytiker
3. En risikoanalytiker presenterer resultatene fra en kvantitativ risikoanalyse til lekfolk
4. En beslutningstaker kommuniserer med lekfolk om en risikosituasjon

Av dette utledes følgende matrise:

	Observasjon 1	Observasjon 2	Observasjon 3	Observasjon 4
Scenario 1	Dersom begge har et «kaotisk» syn på risiko, er kommunikasjon meningsløst	Dersom beslutningstaker har et kaotisk syn, mens risikoanalytiker har perspektiv a)-c) side 21, er risikokommunikasjon mulig gitt at analytiker er i stand til å forklare sannsynligheter og usikkerheter	Dersom beslutningstakeren har et «objektivt risikoperspektiv, men risikoanalytiker har «et usikkerhets» eller et «non-probabilistisk» syn, oppstår problemer fordi beslutningstakeren forventer objektive svar	Dersom risikoanalytiker har et «non-probabilistisk» syn, og beslutningstakeren et usikkerhetssyn, vil beslutningstakeren finne det vanskelig å godta resultatene og det vil oppstå en krevende kommunikasjonsprosess
Scenario 2	Dersom eksperten har et kaotisk syn og risikoanalytiker tror på perspektiv a) vil eksperten mene at risikoanalytiker er «too narrow minded»	Dersom eksperten har et objektivt syn og risikoanalytiker har et «usikkerhetssyn», vil det kunne føre til fundamentale uenigheter om hvordan oppfatte risiko	Dersom eksperten har et objektivt syn og risikoanalytiker har et «non-probabilistisk», vil problemet oppstå fordi eksperten ikke er familiær med metodene	
Scenario 3	Dersom begge har et kaotisk syn vil risikokommunikasjon være meningsløs. Risikoanalytiker vil ikke være i stand til å fortelle noe vettugt!	Dersom risikoanalytiker har et objektivt syn og lekfolk mener risiko = risikopersepsjon, vil lekfolk stille spørsmål ved grunnlaget for hele analysen	Dersom risikoanalytiker har et usikkerhetssyn og lekfolk har et risiko= risikopersepsjon syn, kan et bredt risikobilde bli presentert, noe som kan føre til at lekfolk vil stille spørsmål ved analysen	

Scenario 4	Dersom begge har et kaotisk syn på risiko, er kommunikasjon meningsløs og beslutningstaker vil ikke klare å komme med fruktbare responser på offentlige reaksjoner	Hvis beslutningstaker har et objektivt syn og lekfolk et kaotisk eller risk =risikopersepsjon syn, vil reaksjonene variere fra full tillit til full mistillit	Dersom risikoanalytiker har et usikkerhetssyn og lekfolk har et kaotisk eller et risiko=risikopersepsjon syn, vil for mye fokus på usikkerhet få konklusjonene til å virke svake. Noe beslutningstaker ikke vil like	
------------	--	---	--	--

1.9 Utgangspunkt og målsetting for prosjektet

De siste årene har det vært rettet et spesielt stort fokus på *Legionella* i Rogaland, og særlig i Stavangerregionen. Dette er historisk betinget. Det første registrerte utbruddet i Norge var utbruddet av *Legionella* i forbindelse med kjøletårnet på Atlantic hotell i Stavanger 2001, hvor 7 personer døde (Folkehelseinstituttet 2012). I etterkant har det vært flere mindre utbrudd og smittetilfeller i regionen, blant annet fra dusjanlegget i Tastahallen i 2007 (Wiik og Boccadoro 2008).

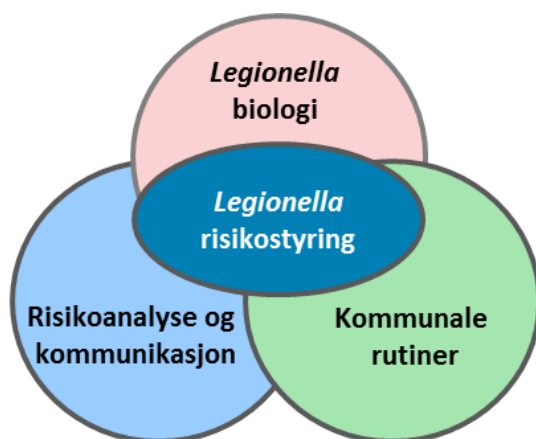
Stavanger kommune og IRIS gjennomførte i perioden 2008-2011 et prosjekt hvor målet var å fremskaffe forskningsbasert kunnskap om nødvendigheten og effekten av tiltak rettet mot *L. pneumophila* i kommunale dusjanlegg (Wiik og Boccadoro 2008, Wiik og Krøvel 2011, Wiik og Krøvel 2014). Som et resultat av dette arbeidet har Stavanger kommune endret sine forebyggende rutiner mot *L. pneumophila*, med en estimert kostnadsbesparelse for kommunen på 10-15 mill NOK årlig. Dette var et prosjekt som også genererte viktige og relevante problemstillinger for videre arbeid.

En problemstilling har vært at det i dagens risikoanalyser blir gjort vurderinger av tekniske installasjoner og av brukergrupper i de enkelte byggene, mens all *Legionella* behandles likt i henhold til lovverket (Forskrift for miljørettet helsevern 2003). Resultatet er at samfunnet bruker store ressurser for å beskytte seg mot mulig smitte uten at risiko er tilstrekkelig vurdert. Mer kunnskap inn i risikovurderingen om selve *Legionella*-bakteriene og hvordan denne kunnskapen bør kommuniseres, synes nødvendig for å få en mer helhetlig risikovurdering av *Legionella* i kommunale dusjanlegg.

Denne problemstillingen har vært grunnlaget for dette 3-årige prosjektet finansiert av Regionale forskningsfond Vestlandet. Prosjektet er et samarbeid mellom Stavanger kommune (avdelingene for Oppvekst og levekår og Bymiljø og utbygging/Stavanger eiendom), International Research Institute of Stavanger (IRIS), Universitetet i Stavanger (UiS)/Senter for risikostyring og samfunnssikkerhet, University of Michigan Medical School og Stavanger Universitetssykehus (SUS).

Målet med prosjektet har vært å utvikle et målrettet og forskningsbasert risikostyringssystem for Legionella i kommunale dusjanlegg.

For å nå dette målet er det benyttet en tverrfaglig tilnærming. Vi har brukt mikrobiologiske og molekylærbiologiske metoder samt cellestudier for å finne ut mer om mengde og hvilke typer *Legionella* vi finner i de kommunale anleggene og vi har brukt kjente samfunnsvitenskapelige metoder innenfor risikostyring og risikokommunikasjon for å analysere *Legionella* som risiko. Ved å kombinere kunnskap om selve *Legionella*-bakteriene og kunnskap om risikostyring og risikokommunikasjon med kommunale rutiner vedrørende *Legionella*-forebyggende arbeid har vi jobbet mot å utvikle mer forskningsbaserte retningslinjer for forebygging og håndtering av *Legionella* når bakterien påvises i ett bygg.



Figur 1.4: Legionella-risikostyring.

Kunnskap fra biologiske eksperimenter og samfunnsfaglig tankegang omkring risiko vil sammen med kommunale rutiner (teknisk og helse) jobbe for en mer målrettet *Legionella* risikostyring.

2 Metode

2.1 Overvåkingsprosjektet

Datagrunnlag for å analysere forekomst og utbredelse av *Legionella* kommer fra overvåkingsprosjektet for *Legionella* i Stavanger kommune. Gjennom en 5-års periode (2011-2015) har alle bygg som tilhører Stavanger kommune og som inneholder dusjer blitt kartlagt og vannprøver fra disse anleggene har blitt undersøkt for dyrkbar *Legionella*. Metoden som har blitt benyttet påviser i hovedsak *L. pneumophila* (Wiik og Krøvel, 2014). Stavanger kommune deler sine bygningstyper opp i følgende kategorier; helsebygg, skolebygg, boliger, idrettsbygg, bydel og fritidsbygg, barnehager, OSK, kontorbygg og beredskapsbygg. Totalt ble 256 anlegg fordelt på de ulike bygningskategoriene undersøkt.

I henhold til Stavanger kommune sin internkontrollrutine for *Legionella* skal byggene plasseres i en risikokategori ut fra prøveresultater, type tekniske anlegg og eksponeringspotensial knyttet til brukerne av byggene. Hver risikokategori har sin frekvens for prøvetaking og mikrobiell analyse.

En mikrobiologisk analyse gir et øyeblikksbilde av situasjonen i ett anlegg. Variasjoner forekommer, men erfaring fra egne bygg har vist at de enkelte anlegg har sitt nivå av bakterier når anlegget har fått stabilisert seg over litt tid (Wiik og Krøvel, 2011). For å få et best mulig bilde av reel situasjon i ett anlegg bør man ha en serie på minimum 3-4 målinger for å etablere hva som er «normal situasjon» og 3-4 målinger dersom det har blitt gjort endringer, f.eks. i etterkant av en behandling/tiltak.

Risikokategori 1

- *L. pneumophila* sg 1 er påvist
- Utsatte grupper med nedsatt immunforsvar

Dersom en eller begge av ovennevnte faktorer er til stede plasseres bygget i risikogruppe 1.

Risikokategori 2

- *L. pneumophila* sg 2-14 eller *Legionella* spp påvist
- Dusjanlegg som er åpne for publikum
- Anlegg med en utforming som tilsier større sannsynlighet for legionellavekst

Risikokategori 3

- Dusjanlegg som er åpne for avgrensede grupper
- Anlegg med en utforming som tilsier liten risiko for legionellavekst

I første omgang ble det satt følgende tidsfrekvens for prøvetaking:

- Risikokategori 1 - 2 ganger pr år. Kan reduseres til årlig når stabile målinger oppnås
- Risikokategori 2 – Årlig til stabil status er målt, deretter hvert 2 år
- Risikokategori 3 – Hvert 5 år

Dersom *Legionella*-bakterier påvises i et anlegg iverksettes egen rutine for oppfølging.

2.2 Prøvetaking og analyse av dyrkbar *Legionella*

Prøvetaking og bakteriell analyse har blitt gjennomført som beskrevet av Wiik og Krøvel (2014). To vannprøver tas fra hvert prøvepunkt. Første 40 ml av vannet og en ny 40 ml prøve etter ca. 30 sekunders tapping for vanlige dusjer eller fra starten av neste puls for automatdusjer. Dette for å få et bilde av både situasjonen i dusjhode/armatur og i systemvann.

Prøvene ble analysert for dyrkbar *Legionella* i henhold til en forenklet versjon basert på (11731:1998(E), 1998) standarden. Forenklingen består i at prøven analyseres direkte på skål uten et sentrifugerings- eller filtreringstrinn. Samme medium som i standarden ble benyttet for å lage GVPC-dyrkningsskåler (Glycin, Vancomycin, Polymyxin B og Cycloheximidine) selektive for *Legionella*. Tre paralleller á 200 µl vannprøve ble sådd ut på skåler under sterile forhold og inkubert ved 37 °C i 3-5 dager for deteksjon av *L. pneumophila*. For å påvise andre *Legionella*-arter anbefales det at skålene inkuberes i inntil 10 dager.

2.3 Sanntidskvantifisering av *Legionella*

Selv om det er mest vanlig å analysere vannprøver ved hjelp av dyrkningsteknikker, se 2.1, har denne analysen en begrensning ved at den kun påviser den andelen av *Legionella*-populasjonen som er dyrkbar. *Legionella* kan, som tidligere nevnt, forekomme i levende og dyrkbar form eller i levende, men ikke-dyrkbar form (Viable but not cultivatable - VBNC).

For å få et mål på begge disse formene ble sanntids kvantitativ polymerase kjedereaksjon (qPCR) benyttet. I denne analysen påviser vi tilstedeværelse av *Legionella* DNA ved hjelp av *Legionella*-spesifikke primere og dermed har det ikke betydning om det er dyrkbar eller ikke dyrkbar form som er tilstede i prøven.

Oppkonsentrering av materiale: 1 liter vann fra prøvepunkt ble filtrert gjennom et 0,22 µM filter. Genomisk DNA (gDNA) ble ekstrahert fra filter i henhold til protokollen i PowerSoil DNA isolation kit fra MoBIO. Renset gDNA ble lagret ved -20 °C frem til videre analyse.

Sanntids qPCR analyse ble utført som følger: gDNA ble analysert for tilstedeværelse av *Legionella* DNA. Det ble benyttet primere og prober spesifikke for 3 ulike gener. Det første settet er spesifikt for en DNA-sekvens som er felles for alle *Legionella*-arter (23S), sett nr. 2 for en DNA sekvens som finnes i *L. pneumophila (mip)* og det tredje settet påviser DNA som kun er tilstede hos *L. pneumophila sg 1 (wzm)*.

Tabell 2.1: Primere og prober brukt i qPCR.

Gen	Primere	Probe	Referanse
23S	5'CCCATGAAGCCCGTTGAA-3' 5'GCTAACTCGTACTAATTGGCT GATTGT-3'	5'-ACTACGACGTTGATAGGCGAGGTG-TGGA-3', VIC-TAMRA-merket	Nazarian et al, 2008
<i>mip</i>	5'AAAGGCATGCAAGACGCTATG-3' 5'CAAATGAAAGACGTTCTTAACAAGTTTC-3'	5'-TGGCGCTCAATTGGCTTTAACCGA-3', FAM- TAMRA-merket	Nazarian et al, 2008
<i>wzm</i>	5'GGTTTGACTGTAACGCCCTTG-3' 5'CAAACACCCCAACCGTAATCA-3'	5'-AGGAGTTAAATAACCCAACCCAA-TCCCAAGA- 3', FAM-BHQ merket	Merault et al, 2011

Genomisk DNA (2µl) ble overført til en 96 brønners plate og qPCR kjørt i 25 µl reaksjoner på et StepOne Real-Time PCR instrument fra Applied Biosystems. Samtidig PCR ble gjennomført ved å bruke TaqMan Fast Universal PCR Master mix (2x) og de genspesifikke primerene og probene (tabell 2.1). Analysene med kontroller ble gjennomført i henhold til publisert litteratur og Applied Biosystems sine anbefalinger.

Absolutt kvantifisering ble gjort ved hjelp av en standardkurve med kjent konsentrasjon. Genomisk DNA fra *L. pneumophila* sg 1, tpestamme ATCC 33152 ble fortynnet til en konsentrasjon på 5 ng/µl og brukt som utgangspunkt for standardkurve (std 0). Alikvoter av std 0 ble lagret ved -20 °C og samme gDNA ble brukt til standardkurve gjennom hele prosjektet. Det ble laget nye fortyninger til standardkurve hver dag.

Resultatene fra sanntids qPCR ble analysert ved hjelp av StepOnePlus Software. Effektiviteten for alle analyser var mellom 95% og 105%.

2.4 Serotyping

Serotyping deler inn *Legionella*-bakterier i subtyper basert på tilstedeværelsen av ulike overflatemolekyler (såkalte LipoPolySakkarider, LPS) på bakteriens ytre cellemembran. For *Legionella* slekten er det påvist mer enn 70 ulike serotyper (Fields, Benson og Besser 2002). Arten *L. pneumophila* kan deles inn i minst 15 serotyper, som navngis serogruppe (sg) 1-15. Videre kan *L. pneumophila* serogruppe 1 deles inn i 9 subgrupper som navngis etter det stedet de først ble påvist; eksemplvis Oxford, Knoxville ol.

Serotyping brukes som en screeningmetode for *L. pneumophila* sg 1 isolater. Når Avdeling for medisinsk mikrobiologi på SUS mottar en dyrkningsprøve med et *Legionella*-isolat som skal serotypes, ble stammen i forkant av serotypingen alltid dyrket på selektivt medie for *Legionella* (BCYE) og *Legionella* arten bestemt vha massespektrometri (MALDI-TOF). Serotyping ble kun utført på *L. pneumophila* isolater. Som en førstehånds test ble en latex agglutinasjonstest (Oxoid *Legionella* Latex Test, Thermofischer scientific) som skiller serogruppe 1 fra serogruppe 2-14 utført. Videre ble den enkelte serotype mellom 2-14 påvist med en indirekte immunofluoresence test med bruk av serotype spesifikke antistoff (Dresden panel-non-sg1,(Helbig et al. 1997). I tillegg ble *L. pneumophila* sg1 isolater også subtypes med samme indirekte

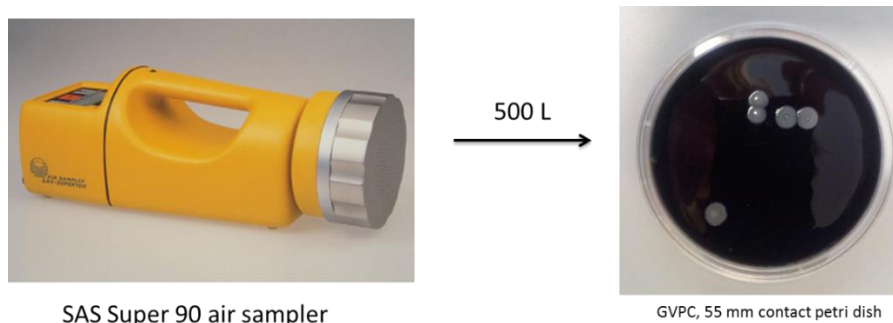
immunofluoresence test, men nå med subtypespesifikke antistoff (Dresden panel sg1, (Lück et al. 1992). Ett av disse subtypespesifikke antistoffene detekterer det virulens assosierte overflatemolekylet mAb 3/1.

2.5 Genotyping

Genotyping deler *L. pneumophila* isolat inn i ulike sekvenstyper basert på sekvensforskjeller i syv utvalgte gener. Fra hvert isolat bestemmes sekvensen til de syv husholdningsgenene *flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, and *neuA/neuAh*. Innenfor *L. pneumophila* arten finnes hvert av disse syv genene i mange sekvensvarianter (allel) og hver variant gis et nummer. Kombinasjonen av de syv allelnummerne gir en sekvenstype (også angitt som et nummer). Metoden som brukes til genotyping kalles sekvens basert typing (SBT) (Gaia et al. 2005, Ratzow et al. 2007). Den er godkjent av ESCMID Study Group for Legionella Infections (ESGLI), og brukes til genotyping av både kliniske isolater og miljøisolater i hele Europa. Alle land som bruker metoden registrerer de typede isolater i en felles database som leveres av The European Working Group for *Legionella* Infections (EWGLI) i samarbeid med Public Health England og The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Gjennom denne databasen kan fordelingen og forekomsten av de ulike sekvenstypene over hele verden spores. Sekvenstyping betegnes som «gull standard» for differensiering av *Legionella* isolater og er det viktigste verktøyene i bruk til smitteoppsporing.

2.6 Påvisning av *Legionella* i aerosoler

Luftprøver ble tatt i dusjrom for å undersøke mengde aerosol-bundet *L. pneumophila* fra dusjer hvor det var blitt påvist *L. pneumophila* i vannsystemet. SAS Super 90 luftsamplere kombinert med GVPC-dyrkningsskåler ble brukt til å ta prøver av aerosolene (Wiik og Krøvel 2014). Prøvevolum ble standardisert til 500 l. Det ble tatt prøve før dusjene ble skrudd på, mens vannet rant, etter at vannet var skrudd av samt utendørs. Luftprøvene ble tatt i pustesonen til en person med høyde på ca. 165 cm.



Figur 2.1: Prøvetaking av luft med aerosoler.

Validiteten til metoden ble evaluert ved å analysere en aerosolisert prøve på 0,9 ml med en kjent konsentrasjon av *L. pneumophila* (Wiik og Krøvel 2014). En plastiksylinder på 30 cm ble montert på lokket på luftsampleren. Prøven ble sprayet inn i cylinderen ved hjelp av en sprøyteflaske like etter at instrumentet ble skrudd på. Mengden av *L. pneumophila* ble beregnet ved å sammenligne resultatet fra 100 og 500 l luftprøve. En dose på 0,9 ml ble brukt for hver individuelle måling som ble gjennomført i triplikater. Bakterieløsningen brukt til å lage aerosoler ble laget ved å overføre 1 koloni fra en GVPC-plate til sterilt vann. Platene fra luftsampleren ble inkubert i 4 dager ved 37°C.

2.7 Testtrigg for *Legionella*

Ved IRIS er det tilgjengelig en testtrigg for *Legionella*. Den består av 3 rørsløyfer á 30 l med tilhørende varmtvannsbereder med ekspansjonstank, dusjarmatur og sirkulasjonspumpe. Forskjellen mellom de tre rørsløyfene er rørmaterialet som er henholdsvis kobber, stål og kryssbundet polyetylen (PEX).



Figur 2.2: Testrigg for rørmateriale.

2.8 Virulensstudier av *L. pneumophila*

Konsentrasjonen av *L. pneumophila*-bakterier ute i anleggene er vanligvis lav og derfor var det nødvendig å dyrke dem i laboratoriet for å få nok prøvemateriale til de ulike analysene. Amøber er den naturlige verten til *Legionella*. Det er de *Legionella*-formene som produseres av amøber som vil være de vi finner ute i byggene og ikke de vi dyrker i vanlig kultur på laboratoriet. Derfor har det i dette prosjektet vært fokus på å finne metoder for å analysere virulens i sammenheng med amøber.

2.8.1 Dyrking i kultur

Legionella ble dyrket i AYE-medium pH 6,9 v/37 °C og kontinuerlig risting.

Amøben, *Acanthamoeba castellanii* (*A. castellanii*), ATCC 50374 ble dyrket i romtemperatur i PYG-medium pH 6,5 i enten 5 ml eller 50 ml dyrkningsflasker i henhold

til leverandøren sine instruksjoner. Etter 10-14 dager er cellene konfluente (danner et sammenhengende lag) og amøbene ble overført til nytt medium i forholdet 1:20.

2.8.2 Amøbeplate-test (APT)

Testen går ut på at man legger et lag med amøber på toppen av en agarskål. Deretter dryppes spotter med fortyninger av en løsning som inneholder *Legionella*-bakterier på amøbelaget. For at bakteriene skal kunne komme ned til agarlaget og danne kolonier må de først infisere amøbene, formere seg inne i dem og lysere amøbene slik at agaren blir tilgjengelig. Dess mer virulent, dess raskere går dette og til raskere ses koloniene.

Kvadratiske CYE-agar-skåler (15x15cm) ble dekket med $2 \cdot 10^6$ amøber pr skål. Skålene ble tørket litt og satt over natten ved rom temperatur.

Det ble satt opp over natt kulturer av *Legionella*-stammene som skulle testes. Når kulturene var i post eksponentiell-fase ble konsentrasjonen justert vha PYG-medium slik at den er lik for all kulturene. Deretter ble det laget fortynningsrekker fra 10^0 - 10^7 vha ddH₂O. 3 µl av hver fortykning ble dryppet i serie enten på skål coated med amøber eller ubehandlet CYE-skål (kontroll). Når dråpen var tørket inn ble skålene satt til inkubering ved 37 °C i 2-5 dager. Skålene ble avlest etter 2 og 5 dager.

2.8.3 Interne vekstkurver

Amøber ble platet ut i en konsentrasjon på $2,5 \cdot 10^6$ /brønn i 24 brønners brett (Fisher scientific).

Neste dag ble det laget ferskt AC-medium, pH 6,5. AC-medium er det samme som PYG men uten pepton, gjær og glukose.

Over natt kulturer av *Legionella*-stammene som skulle testes ble dyrket i AYE-medium til de var i post eksponentiell fase. Fortyninger tilsvarende MOI (multiplicity of infection, dvs ratio bakterier:amøber) 1, 5 eller 10 ble laget i AC-medium. Amøber ble tilsatt *Legionella*-fortyninger og inkubert i 2 timer ved 37 °C. Etter inkubering ble amøbene vasket 3 ganger med AC-medium, behandlet med gentamicin (25 µg/brønn) i

1 time før de ble vasket på ny og platene satt til videre inkubering ved 37 °C. Det ble tatt ut prøver for å bestemme titer, ved T_{2t}, T_{24t}, T_{48t} og T_{5d}.

Cellene ble lysert ved å tilsette 2% saponin-løsning i 5 minutter ved romtemperatur. Passende fortyninger ble plattet ut på CYE-skåler og dyrket ved 37°C i 3-5 dager.

2.9 Intervjuer

2.9.1 Fokusgruppeintervjuer Stavanger kommune

Fokusgruppeintervjuene ble gjennomført i november og desember 2013. Det ble gjennomført seks fokusgruppeintervjuer. Ett med det som her blir definert som 'faggruppe' (smittevernlege, tidligere helsesjef, kommunikasjonsrådgiver og to fra Stavanger Eiendom), tre grupper med driftsoperatører, ett med virksomhetsledere på skoler og ett gruppeintervju med utførende (de utfører tiltak på bygget om nødvendig). En intervjuguide tilpasset de ulike gruppene var utarbeidet i forkant. På hvert av intervjuene var det én forsker som fungerte som fasilitator og én som observerte/noterte. I tillegg ble intervjuene tatt opp på bånd og transkribert i sin helhet.

2.9.2 Oppfølgingsintervjuer

I etterkant av fokusgruppeintervjuene ble det som en del av en masteroppgave gjennomført seks individuelle intervjuer. Disse personene ble valgt ut med grunnlag i fokusgruppeintervjuene. Det ble intervjuet to personer i kommunens kommunikasjonsavdeling, tre virksomhetsledere på sykehjem i Stavanger, samt en virksomhetsleder i et idrettslag tilknyttet kommunen. Ved å inkludere virksomhetslederne ved sykehjemmene og idrettslaget fikk man et bedre og mer utfyllende bilde av hvordan risikostyring av *Legionella* arter seg i praksis i kommunen. De er i den 'skarpe', utførende enden, på lik linje med virksomhetslederne i skolene som ble intervjuet i fokusgruppene tidligere. De to kommunikasjonsansatte er både med på å utarbeide planene og strategiene for kommunen, men er i tillegg i den 'skarpe' enden når det trengs pressemeldinger eller faglige råd. Disse seks informantene ble valgt for å

et mer utfyllende og helhetlig bilde av håndteringen av *Legionella* i kommunen. Det ble benyttet en halvstrukturert intervjuguide under disse intervjuene (Thagaard 2009).

2.9.3 Workshop

I mai 2014 ble det gjennomført en workshop med tittelen: «*Legionella*-risikohåndtering i Stavanger kommune- kunnskap, praksis og kommunikasjon».

Workshopen fungerte som et arbeidsmøte med en del av informantene fra fokusgruppeintervjuene. I tillegg var det med et par nye deltakere. I workshopen ble det presentert foreløpige funn og resultater fra forskningsprosjektet. Dette ga gode diskusjoner underveis. Møtet var en mulighet til å få bekreftet, avkreftet eller utdypet tolkninger, og var dermed med på å øke validiteten og reliabiliteten til de innsamlede dataene. Det ble brukt båndopptaker under deler av møtet, samt tatt notater av flere underveis.

Intervjuene samt workshopen gav store mengder data. Disse er tidligere publisert i en masteroppgave gjennomført som en del av prosjektet (Nilsen 2014). For enkelthetsskyld oppsummerer vi derfor kun resultatene fra intervjuene i denne rapporten og henviser leseren til masteroppgaven for mer utfyllende detaljer.

2.9.4 Intervjuer av brukere

Høsten 2015 ble det sendt ut forespørsel til FAU ved 12 skoler i Stavanger kommune om å delta i prosjektet i egenskap av å være brukere av Stavanger kommune sine bygg og dermed mottagere av informasjon fra Stavanger kommune. Skolene ble valgt ut på basis av at de enten hadde hatt *L. pneumophila* i sine dusjanlegg på skolene eller var knyttet til idrettshaller som hadde fått påvist *L. pneumophila*. Blant disse utvalgte skolene var det skoler hvor det var lenge siden det hadde vært påvist *Legionella* og andre hvor hendelsen var av nyere tid. I tillegg var det tatt med noen skoler som aldri hadde hatt *Legionella* som kontrollgruppe. På basis av tilbakemeldingene vi fikk ble det valgt ut 5 skoler hvor det ble gjennomført fokusgruppeintervjuer med FAU. To personer fra Kommunalt Foreldreutvalg (KFU) som representerer alle FAU i Stavanger kommune og

som skal være et bindeledd mellom foreldre og skolen ble også inkludert i undersøkelsen.

Tabell 2.2: Oversikt over informanter.

	Nov/Des 2013	Mars/April 2014	Mai 2014	Sep-Nov 2015
Kommunikasjons-avdeling: *	kommunikasjons-rådgiver (1)	Ansatte kommunikasjonsavdelingen (2)	kommunikasjons-rådgiver (1)	
Helse (Oppvekst og levekår) *	Smittevernlege (1). Helsesjef (1)		Smittevernlege (1), 1 rep for helsesjefen	
Stavanger Eiendom*	Ulike ledelsesnivå (3)		Ulike ledelsesnivå (3)	
Natur- og idrettsservice**:	Driftsoperatører idrettshaller (6)			
Stavanger byggdrift**:	Driftsoperatører (12)			
Helse (Oppvekst og levekår)*	Virksomhetsledere skoler (5)	Virksomhetsleder sykehjem (3)		
Ekstern (virksomhets-leder)		Virksomhetsleder idrettslag (1)		
Eksterne (utførende):				
Midbøe/Epsco/ Shelbyteknikk	6 rørleggere o.l			
IRIS			2 forskere på <i>Legionella</i>	
Brukere				
FAU***				12 skoler, 5 valgt ut til videre intervju
KFU				To medlemmer fra styret

*Intervjuene i november/desember ble gjennomført som fokusgruppeintervjuer. Informantene fra kommunikasjonsavdelingen, Stavanger eiendom og helse utgjør det som senere vil refereres til som 'faggruppen'.

**Driftsoperatørene ble intervjuet i fokusgrupper á 6 informanter pr intervju.

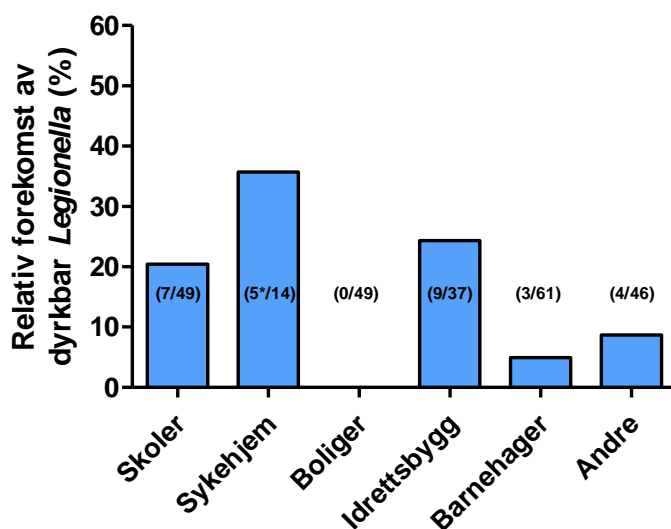
*** FAU ble intervjuet i fokusgrupper på 8-10 informanter pr intervju.

3 Resultater

3.1 *Legionella*-bakterien: Undersøkelse av utbredelse, typer og virulens

3.1.1 Fordeling av *L. pneumophila* i ulike typer kommunale bygg

Gjennom overvåkingsprogrammet for *Legionella* i Stavanger kommune ble det påvist dyrkbar *L. pneumophila* i 28 av 256 (11 %) av de kommunale dusjanleggene. Kommunale bygg deles inn etter type bruk. Disse er helsebygg, skolebygg, boliger, idrettsbygg, bydel- og fritidsbygg, barnehager, Offentlig servicekontor (OSK)/kontorbygg og beredskapsbygg. Forekomsten av *L. pneumophila* varierer mellom 0% og 36 % blant de ulike bygg-gruppene (figur 3.1).



Figur 3.1: Relativ fordeling av *L.pneumophila* i ulike typer kommunale bygg.

I gruppen andre er bygg-gruppene bydel og fritidsbygg, kontorbygg og beredskapsbygg slått sammen. * 2 av de 5 kulturpositive sykehjemmene er ikke eid av kommunen, men har driftsavtale med Stavanger kommune for bruk av kommunenes innbyggere.

Tabell 3.1: Forekomst av *L.pneumophila* fordelt på ulike byggtyper.

Type bygg (totalt antall)	System positive for <i>Legionella</i> (%)				System negative for <i>Legionella</i> (%)
	Totalt	<i>L.pn</i> sg 1	<i>L.pn</i> sg 2-14	Ikke <i>L.pn</i>	
Helsebygg (14)	5 (36)	3 (60)	2 (40)	1(20)	9 (64)
Idrettsbygg (37)	9 (24)	5 (56)	4 (44)	2 (22)	28 (76)
Skoler (49)	7 (14)	3 (43)	4 (57)	0 (0)	42 (86)
Barnehager (61)	3 (5)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	58 (95)
Boliger (49)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	49 (100)
Andre (46)	4 (9)	1(25)	3 (75)	0 (0)	42 (91)

* Prosentvis fordeling for helsebygg og idrettsbygg summerer opp til mer enn 100 %. Det skyldes at det i noen anlegg er påvist både *L. pneumophila* og *Legionella anisa*.

Innenfor de ulike typene kommunale byggene er det variasjon i størrelse, alder og teknisk løsning. Blant de kommunale bygg med påvist dyrkbar *Legionella*, er det høyest relativ forekomst i sykehjem, skoler og idrettsbygg. Det vil si store komplekse bygg og/eller bygg som gjerne har garderobefasiliteter med blanding sentralt i teknisk rom slik at vanntemperaturen ute i anlegget ligger på 38 °C. Dermed er ikke fordelingen på bygg-grupper i figur 3.1 spesielt oppsiktsvekkende eller uventet.

3.1.2 Serotyper og genotyper i anlegg kulturpositive for *L. pneumophila*

Isolat fra alle de 28 kulturpositive dusjanleggene til Stavanger kommune ble karakterisert videre ved hjelp av serotyping og genotyping. Serotyping viste en jevn fordeling mellom serogruppe 1 og serogruppe 2-14. Når serogruppe 2-14 isolatene ble karakterisert videre var de fordelt på serogruppe 3, 4 og 6, se tabell 3.2. I hovedsak fant vi subtypene OLDA og Oxford for sg 1. Som en del av subtypingen ble det også slått fast at alle serogruppe 1- isolatene fra de kommunale dusjanleggene i Stavanger kommune er negative for det virulensassosierte overflateproteinet mAb3/1.

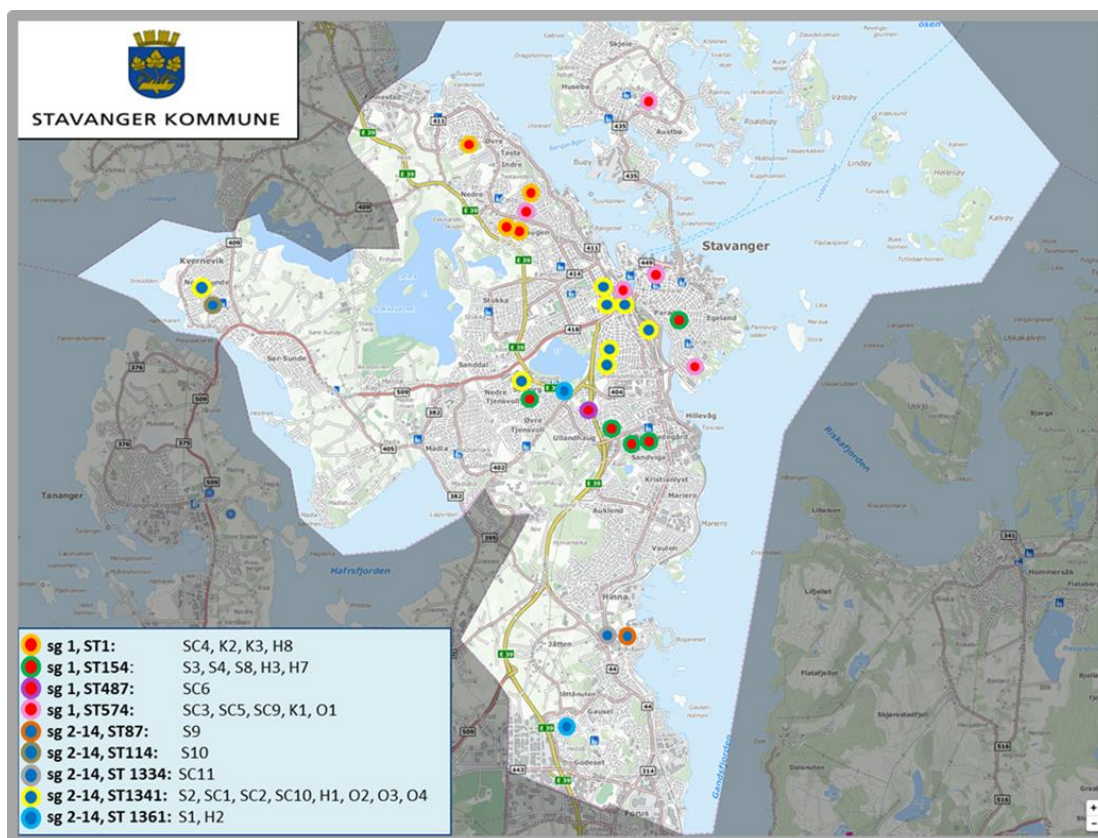
De kulturpositive byggene ble fulgt over flere år. Minimum 3 isolat fra hvert bygg har blitt sero- og genotypet. Ett isolat fra førstegangs påvisning, ett isolat i 2015 og ett isolat fra tidsrommet mellom førstegangs påvisning og 2015. Kun én *L. pneumophila* stamme ble påvist i hvert dusjanlegg og det var samme stamme som ble påvist over tid. Noen av

byggene har i tillegg forekomst av en annen *Legionella* art, da i hovedsak *Legionella anisa*.

Tabell 3.2: Sero- og geno-typing av isolerte *L. pneumophila* stammer. Når en *L. pneumophila* stamme karakteriseres blir den oftest først klassifisert som enten serogruppe 1 eller i sekkeposten serogruppe 2-14, her vist ved henholdsvis rød og blå fargekode. I tillegg har hver sekvenstype fått sin egen fargekode.

Kommunalt dusjanlegg	Kode	Serogruppe (sg)	Subtype	Sekvenstype (ST)
Idrettsbygg 4	SC4	1	OLDA	1
Barnehage 3	K3	1	OLDA	1
Barnehage 2	K2	1	OLDA	1
Sykehjem 8	H8	1	OLDA	1
Skole 3	S3	1	Oxford	154
Skole 4	S4	1	Oxford	154
Skole 8	S8	1	Oxford	154
Sykehjem 3	H3	1	Oxford	154
Sykehjem 7	H7	1	Oxford	154
Idrettsbygg 6	SC6	1	Bellingham 1	487
Idrettsbygg 3	SC3	1	OLDA	574
Idrettsbygg 5	SC5	1	OLDA	574
Idrettsbygg 9	SC9	1	OLDA	574
Barnehage 1	K1	1	OLDA	574
Andre 1	O1	1	OLDA	574
Skole 9	S9	3	-	87
Skole 10	S10	6	-	114
Idrettsbygg 11	SC11	4	-	1334
Idrettsbygg 2	SC2	3	-	1341
Idrettsbygg 11	SC1	6	-	1341
Idrettsbygg 10	SC10	6	-	1341
Skole 2	S2	6	-	1341
Andre 2	O2	6	-	1341
Andre 3	O3	6	-	1341
Andre 4	O4	6	-	1341
Sykehjem 1	H1	6	-	1341
Skole 1	S1	10	-	1361
Sykehjem 2	H2	4	-	1361

Genotypingen viste at det kun er noen få sekvenstyper representert. I 81 % av tilfellene finner vi én av de fire sekvenstypene ST1, ST154, ST574 og ST1341, se tabell 3.2. Tre av disse fire sekvenstypene danner geografiske klynger, se figur 3.2.



Figur 3.2: Geografisk utbredelse av sekvenstyper.

3.1.3 Kvantifisering av *Legionella* i et utvalg kommunale bygg

Én av problemstillingene i prosjektet har vært å undersøke hvilke former for *Legionella* som finnes i ulike typer dusjanlegg kulturpositive for *Legionella*.

Vi ønsket å se på:

- 1) Hva er ratio av dyrkbar/ikke dyrkbar form av *L. pneumophila* og har type teknisk anlegg påvirkning på ratio?
- 2) Kan tilstedeværelse av *L. pneumophila* sg 2-14 kamuflere tilstedeværelse av *L. pneumophila* sg 1?

Ut fra resultatene fra overvåkningsprosjektet ble det gjort et utvalg av bygninger som skulle følges nærmere over en periode på 2 år.

Det ble valgt ut anlegg fra de tre gruppene med høyest relativ forekomst av dyrkbar *L. pneumophila*, dvs. skoler, sykehjem og idrettsbygg, se figur 3.1. Systemene ble valgt ut fra:

1) *Legionella*-status

2) Teknisk løsning

I studien ble både anlegg hvor det har vært påvist *L. pneumophila* sg 1 eller sg 2-14 og bygg hvor det ved prosjektstart aldri har vært påvist dyrkbar *Legionella* (kontroll) inkludert. Utvalget inkluderer en blanding av anlegg hvor man blander varmt og kaldt vann sentralt i teknisk rom for så å sende temperert vann ut i anlegget (sentralt) og anlegg hvor varmt og kaldt vann går separat ut i anlegget og først blandes i tappepunkt (distalt).

Tabell 3.3: Utvalgte bygg til 2-årig studie.

Type bygg	Navn	<i>Legionella</i>	Blanding
Skolebygg	Tjensvoll skole	<i>L.pn</i> sg 1	Distalt
	Nylund skole	<i>L.pn</i> sg 1	Sentralt
	Godeset skole	<i>L.pn</i> sg 2-14	Sentralt
	Kannik skole	<i>L.pn</i> sg 2-14	Sentralt
	Hundvåg skole	Ikke påvist	Distalt
	Gosen skole	Ikke påvist	Sentralt
	Madlamark skole	Ikke påvist	Sentralt
Sykehjem	Bergåstjern	<i>L.pn</i> sg 1	Distalt
	Vålandstunet	<i>L.pn</i> sg 2-14	Distalt
	Mosheim	<i>L.pn</i> sg 2-14 + <i>L. anisa</i>	Distalt
	Vågedalen	Ikke påvist	Distalt
	Sunde	Ikke påvist	Distalt
	Rosendal	Ikke påvist	Distalt
Idrettsbygg	Tastahallen	<i>L.pn</i> sg 1	Distalt
	Hundvåghallen	<i>L.pn</i> sg 1	Distalt/sentralt
	Tasta bydelsanlegg	<i>L.pn</i> sg 1	Sentralt
	SIF bydelsanlegg	<i>L.pn</i> sg 1	Sentralt
	Stavanger idrettshall	<i>L.pn</i> sg 2-14	Sentralt
	Kvernevikhallen	<i>L.pn</i> sg 2-14	Sentralt
	Gautesetehallen	Ikke påvist	Sentralt
	Vaulen banen	Ikke påvist	Sentralt
	Stavanger svømmehall	Ikke påvist	Sentralt

Vannprøver fra alle byggene har blitt tatt 2 ganger pr år i to år, dvs. totalt 4 ganger. I hvert bygg var det 3 prøvepunkter.

Hver prøve har blitt analysert for 3 ulike assay:

- 1) Tilstedeværelse av *Legionella* uansett art (*Legionella spp*)
- 2) Tilstedeværelse av *L. pneumophila*, sg 1 og 2-14 samlet (*L. pn*)
- 3) Tilstedeværelse av *L. pneumophila* sg 1 (*L. pn sg 1*)

Resultatet fra disse tre analysene sammen med data fra dyrkningsanalysene skal i utgangspunktet kunne gi svar på ratioen mellom ulike former for *Legionella*.

En kompliserende faktor i denne analysen var at vi fulgte anlegg som var i daglig bruk og som derfor ved påvisning av *L. pneumophila*, spesielt sg 1, ble risikovurdert og tiltak iverksatt. Det resulterte i at de aller fleste byggene med påvist dyrkbar *Legionella* har etter vurdering og gjennomgang, fått utført tekniske utbedringer eller behandling.

Resultatene presenteres derfor som et gjennomsnitt av prøvetakinger før og etter behandling.

Tabell 3.4: Resultat qPCR 2-årig studie.

Gjennomsnitt av prøvetakinger før og etter eventuell behandling eller i begynnelsen og slutten av perioden for byggene som ikke har fått påvist *Legionella*. U=utskifting av rør og/eller beredere. DL=blindrør (dead legs) fjernet, T=varmebehandling, KD=kontinuerlig desinfeksjon, BD= behandling desinfektant, , Dyrkning (cfu/ml): +=10, +=10-1000, +++>1000. qPCR (GU/ml): +<100, +=100-1000, +++ >1000.

Stammer			Før tiltak (T)				Ettet tiltak (T)				Tiltak (T)	
Lokalitet	Kode	Serogruppe	Dyrkning (cfu/ml)	qPCR (GU/l)			Dyrkning (cfu/ml)	qPCR (GU/l)				
					Leg spp	L. pn	Lpn sg 1			Leg spp	L. pn	Lpn sg 1
Tastahallen	SC5	1	++	+++	++	++	+	+++	++	-		T, U, DL, BD, KD
Tasta bydelanlegg	SC4	1	++	+++	+++	+++	-	-	-	-		T, U, DL, BD,
SIF*	SC6	1	++	++	++	+	-	+++	++	-		T, U, DL, BD,
Hundvåghallen*	SC3	1	+	++	++	+	-	++	++	-		T, U, DL, BD,
Nylund skole*	S3	1	+	++	++	++	-	++	+++	-		T, U, DL, BD,
Tjensvoll skole*	S4	1	+	++	++	++	-	++	++	-		T, U, DL, BD,
Bergstjern sykehjem	H3	1	+	++	++	+	+	++	++	+		DL, T
Stavanger idrettshall	SC1	2-14	++	++	++	-	++	+++	+++	-		DL, T
Godeset skole	S1	2-14	++	++	++	-	+	++	++	-		T, DL, BD,
Kannik skole	S2	2-14	+	++	++	-	+	+++	++	-		DL
Kvernevikhallen	SC2	2-14	+	+	+	-	-	+	+	-		Ingen
Vålandstunet sykehjem	H1	2-14	+	++	++	-	-	++	++	-		Ingen
Mosheim sykehjem**	H2	2-14 + spp	+	+++	++	-	+	+++	++	-		Ingen
Vaulenbanen	SC7	-	-	+	+	-	-	++	++	-		Ingen
Gautesetehallen	SC8	-	-	+	+	-	-	++	++	-		Ingen
Stavanger svømmehall	SC9	-	-	+	+	-	-	++	++	-		Ingen
Gosen skole	S5	-	-	+	+	-	-	++	+++	-		Ingen
Hundvåg skole	S6	-	-	+	+	-	-	++	++	-		Ingen
Madlamark skole	S7	-	-	+	+	-	-	++	++	-		Ingen
Vågedalen sykehjem	H4	-	-	++	++	-	-	++	++	-		Ingen
Sunde sykehjem	H5	-	-	++	++	-	-	++	++	-		Ingen
Rosendal sykehjem	H6	-	-	++	++	-	-	++	++	-		Ingen

Resultatene viser at det er en bakgrunnsmengde av *Legionella spp* og *Legionella pneumophila* i alle systemene. *Legionella* finnes naturlig i lave konsentrasjoner i ferskvann og dette er en kjent utfordring for PCR-metoden er så sensitiv (Dr. Christian Lück, Det nasjonale referanse laboratoriet for *Legionella* i Tyskland, personlig kommunikasjon). Det blir dermed vanskelig å beregne ratio dyrkbar/ikke dyrkbar form ved hjelp av de utvalgte assayene. Andre assay er tilgjengelige og vil bli vurdert.

Det er godt samsvar mellom resultatene for kvantitativ PCR og dyrkningsanalysene for *L. pneumophila* sg 1. Alle bygg hvor det var positive dyrkningsprøver for *L.pneumophila* sg 1 viste også positive PCR resultater. Unntaket er Tastahallen etter at kontinuerlig behandling med klordioksid ble startet. Der påviser vi fortsatt noen få cfu/ml med dyrkbar *Legionella*, men ingenting i PCR analysen. Ingen av byggene som var dyrkningspositive for *L.pn* sg 2-14 eller kontrollbygg viste positive resultater for *L.pn* sg 1.

Det ser ikke ut til å ha noen betydning om blandingen er sentral eller distal når man først har fått *Legionella* i systemet.

Resultatene tyder også på at *L. pneumophila* sg 2-14 ikke ser ut til å kamuflere tilstedeværelse av *L. pneumophila* sg 1.

3.1.4 Betydning av rørmateriale for vekst av *Legionella*

Ved hjelp av testrigger for *Legionella* ønsket vi å undersøke om rørmaterialet har betydning for hvilke serogrupper/genotyper som etablerer seg i et system.

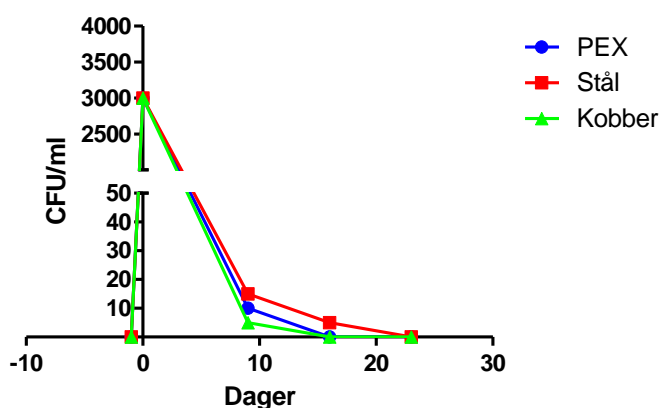
Dette ble først testet ved at kjent mengde *L. pneumophila*, enten sg 1 eller 2-14, ble tilsatt vanlig springvann og inkubert ved 37 °C. Deretter ble det tatt ut prøver som ble analysert ved dyrkning ukjentlig, se figur 3.3.

Fire ulike stammer ble testet, se tabell 3.5

Tabell 3.5: *L. pneumophila* stammer undersøkt i testriggen.

Bygg	Type <i>Legionella</i>	Serogruppe	Genotype
Godeset skole	<i>L. pneumophila</i>	2-14	ST 1361
Stavanger idrettshall	<i>L. pneumophila</i>	2-14	ST 1341
Tastahallen	<i>L. pneumophila</i>	1	ST 574
Tasta bydelsanlegg	<i>L. pneumophila</i>	1	ST 1

Resultatet viste det samme for alle stammene som ble testet. Rett etter at det ble tilsatt *Legionella* til testriggen påvises det høye konsentrasjoner i vannet i dusjen. Etter en uke er mengden betydelig redusert, for så å forsvinne helt i løpet av det neste 1-2 ukene. Det var ingen signifikant forskjell mellom de tre rørmaterialene, men det er en trend mot at dyrkbar *Legionella* forsvinner fortere i kobber og senest i stål. Spørsmålet er da om dyrkbar *Legionella* går over til en levende men ikke dyrkbar form (VBNC) eller om de dør. Det var ikke mulig å påvise *Legionella* DNA i vannet etter 4 uker (data ikke vist) noe som tyder på at bakteriene dør i testriggen.

**Figur 3.3: Eksempelkurve for *Legionella* tilsatt testrigg.**

Denne kurven representerer stammen i Tastahallen, men det så likt ut for alle stammer testet i springvann.

Basert på disse resultatene ønsket vi å teste effekten og funksjonen av at det er amøber tilstede i vannet, som et beskyttende reservoar for *Legionella*-bakteriene, når de skal etablere seg i et nytt rørsystem.

Tre ulike oppsett ble testet:

En kjent mengde *L. pneumophila* (1×10^6 cfu/L, final konsentrasjon) ble tilsatt til testrigg fylt med:

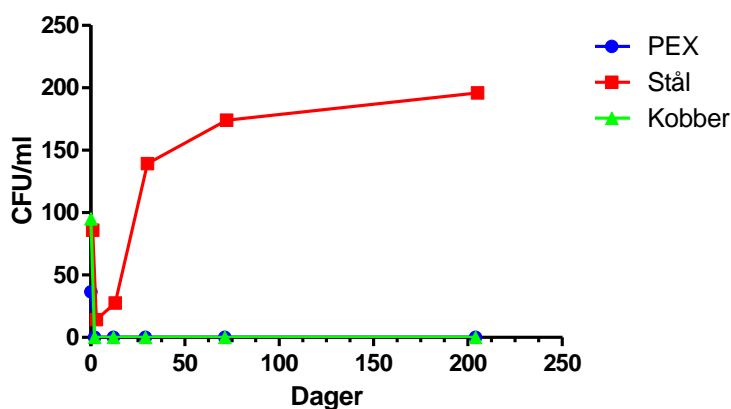
- 1) Springvann tilsatt en kjent mengde amøber (*A. castellanii*, ca $5 \cdot 10^5$ amøber/L final konsentrasjon)
- 2) Vann fra lokal ferskvannskilde (Stokkavannet; inneholder naturlige amøber)

eller

- 3) Vann fra kommunalt bygg kolonisert med *L. pneumophila*, dvs både *Legionella* og amøber man vanligvis finner sammen

Førsøkene fra oppsett 1 og 2 viste samme profil som figur 3.3. Høy konsentrasjon av *L.pneumophila* ble målt like etter at *Legionella*-bakteriene ble tilsatt, men etter 2-4 uker er alle *Legionella*-bakteriene borte fra riggen uavhengig om det er *L. pneumophila* sg 1 eller sg 2-14.

I det siste oppsettet ble det ikke tilsatt en kjent mengde *Legionella* som har blitt dyrket i laboratoriet, men det ble hentet vann fra et av de kommunale byggene som er kolonisert med *Legionella*.



Figur 3.4: Forekomst av dyrkbar *Legionella* i testrigg over tid etter at riggen har blitt fylt med vann fra anlegg med påvist *L. pneumophila* sg 2-14.

Resultatet fra denne testen viste at i stålsløyfen var det først et fall i konsentrasjon før konsentrasjonen økte. Deretter observerte vi en kolonisering av stålsløyfen som var stabil over lang tid (måleperiode ca. 200 dager). Den samme stammen har blitt forsøkt sammen med springvann og springvann tilsatt amøber uten å få kolonisering.

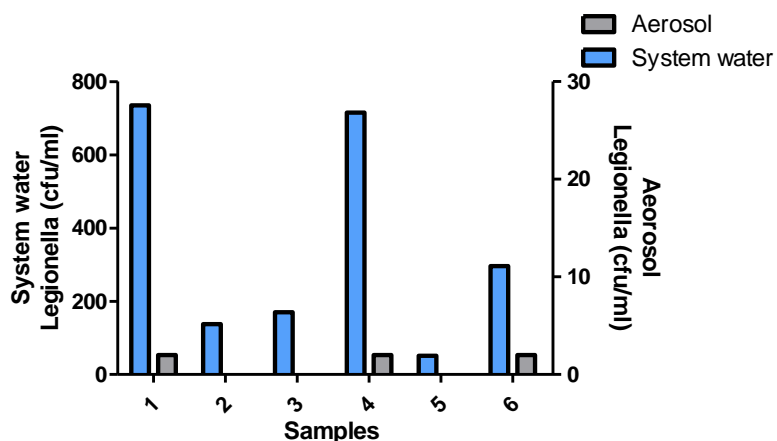
Konklusjon er at *Legionella* ser ut til å trenge de rette «vennene» for å kunne etablere seg i et anlegg. Kan dette være en medvirkende faktor når ett av to tilsynelatende like anlegg får påvist *Legionella* og det andre ikke?

Dette forsøket er kun gjort én gang med vann fra et kolonisert anlegg. Det er derfor ikke mulig å konkludere mhp på rørmaterialet, men trenden er at stål gir mest vekst og kobber minst av *Legionella*. *Legionella* forsvinner noe saktere fra PEX-sløyfen enn kobber-sløyfen, men det er ikke statistisk signifikant forskjell mellom de to materialene.

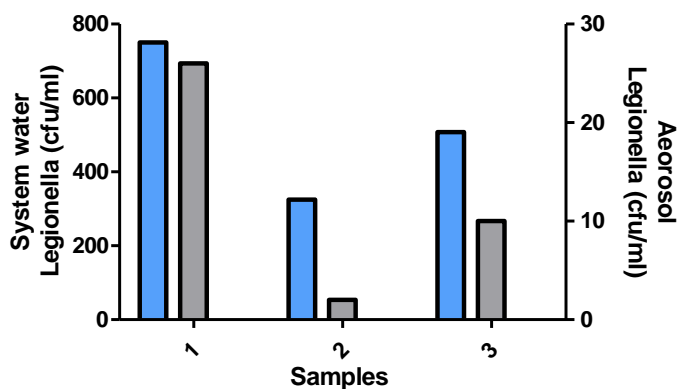
3.1.5 Sammenheng mellom *L. pneumophila* i vann og i aerosol

Et viktig punkt i smitteveien er overføring av smitte fra vannet til aerosol i et system. I prosjektet ønsket vi å undersøke sammenhengen mellom konsentrasjon av dyrkbar *L. pneumophila* i vann (venstre y-akse, figur 3.5) og aerosol (høyre y-akse, figur 3.5) og om det er noen forskjell på i hvor stor grad *L. pneumophila* sg 1 og sg 2-14 i overføres til aerosol.

Sammenhengen mellom *L. pneumophila* i vann og i aerosol i et system ble derfor undersøkt i de 6 kultur-positive anleggene med høyest konsentrasjon (cfu/ml).



Figur 3.5: Legionella målt i aerosol og i dusjvann ved skole 1.
Systemet har *L. pneumophila* sg 2-14. Flow rate for dusjanlegget er 8,8 L/min.



Figur 3.6: *L. pneumophila* målt i aerosol og i dusjvann ved Idrettsbygg 6.
Systemet har *L. pneumophila* sg 1. Flow rate for dusjanlegget er 8,0 L/min.

Resultatene viser at det er en sammenheng mellom *L. pneumophila*-konsentrasjonen i vann og forekomst i aerosoler. Videre ser vi at det er en nedre grense for hvor mye *L.pneumophila* det må være i vannet før det påvises i aerosoler. *L. pneumophila* kunne bare påvises i aerosol i systemer hvor konsentrasjonen av bakterien er 300 cfu/ml eller høyere. I 4 av de 6 systemene oversteg ikke konsentrasjonen denne grensen. Det ser ikke ut til å være noen forskjell i overføring fra vann til aerosol mellom serogruppe 1 eller 2-14 i de undersøkte anleggene.

3.1.6 Undersøkelse av virulens hos ulike *Legionella*-stammer i amøbekultur

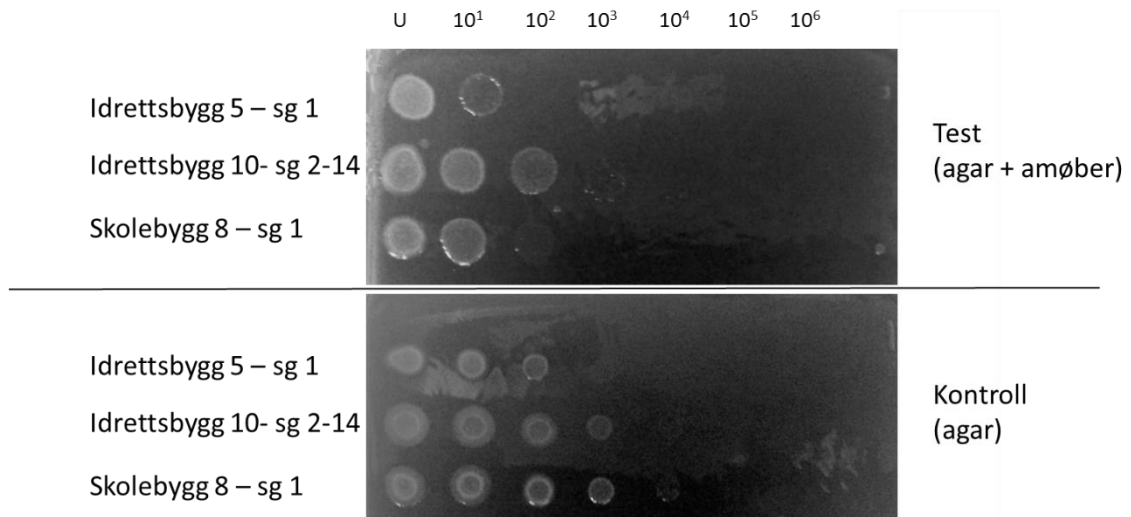
Virulens er et sentralt tema når risiko for smitte skal evalueres. Her er det relevant å undersøke serogruppe/genotype og sammenligne med kjent informasjon fra EWGLI-databasene. I tillegg vil det være nyttig om man kunne få et mål på hvor infeksjøs en stamme er. Her er det viktig å sammenligne samme form av *Legionella*, jmf kap 1.4. Det finnes flere ulike former i vann, og disse har ulik virulens, se tabell 1.1. I dette prosjektet har vi valgt å fokusere på to former av *Legionella*; den som produseres i laboratoriet, stasjonærfase form (SPF) og den som produseres av amøber, moden infeksjøs form (MIF), og som dermed er en relevant form ute i systemene.

I samarbeid med Professor Michele Swanson ved University of Michigan Medical School i USA ble to ulike tilnæringer valgt. Kriteriet var at det skulle være metoder som var enkle å utføre og som kunne si noe om virulens i forhold til amøber. Begge metodene er velkjente metoder som ikke krever spesialutstyr, men har så vidt vi vet ikke blitt benyttet som input til risikovurdering tidligere (Moffat og Tompkins 1992, Albers et al. 2005). Den ene metoden er en såkalt amøbe plate test (APT) og den andre er å sammenligne interne vekstkurver for ulike stammer i amøber.

3.1.7 Resultat av APT-analysene

I APT-analysene har vi sett på både stasjonærfase form (SPF) og moden infeksjøs form (MIF), se kap 1.4 og vi har sammenlignet sg 1 og sg 2-14.

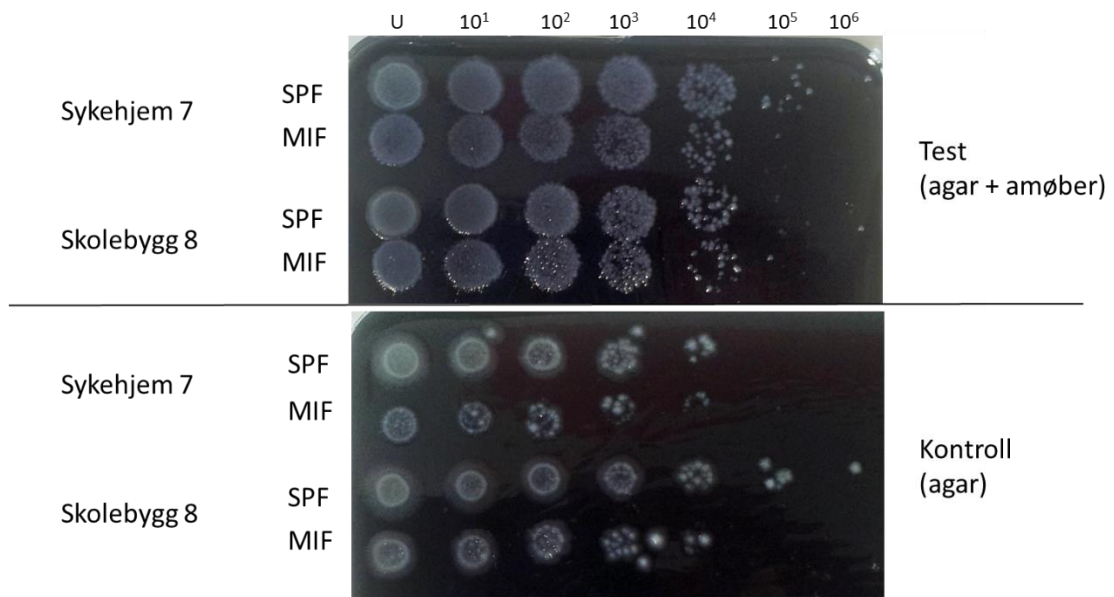
Når vi sammenligner SPF-formen fra ulike stammer ser vi noe variasjon mellom stammene men ikke et utpreget mønster, se eksempel i figur 3.7. I dette tilfellet ser det ut som om stammen som ble isolert fra idrettsbygg (idrettsbygg 10- sg 2-14) kommer opp raskere enn stammen fra skolebygg (skolebygg 8- sg1) selv om kontrolldråpene er relativt like. Bakteriekulturene ble standardisert i konsentrasjon, men det viste seg noe utfordrende å dyrke alle kulturene til stasjonær fase på samme tidspunkt, noe som kan forklare litt av variasjonen.



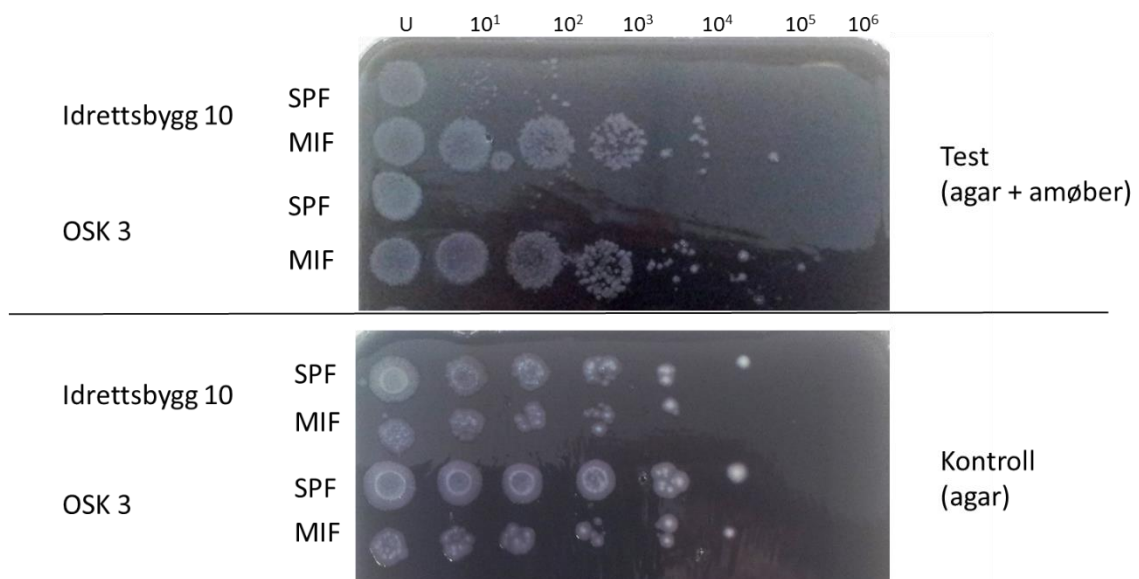
Figur 3.7: APT av stasjonær fase kulturer fra tre ulike *L. pneumophila* stammer.

Øverste panel viser *Legionella*-spotter på et lag av amøber, mens nederste panel viser spotter på ren agar (kontroll).

A



B



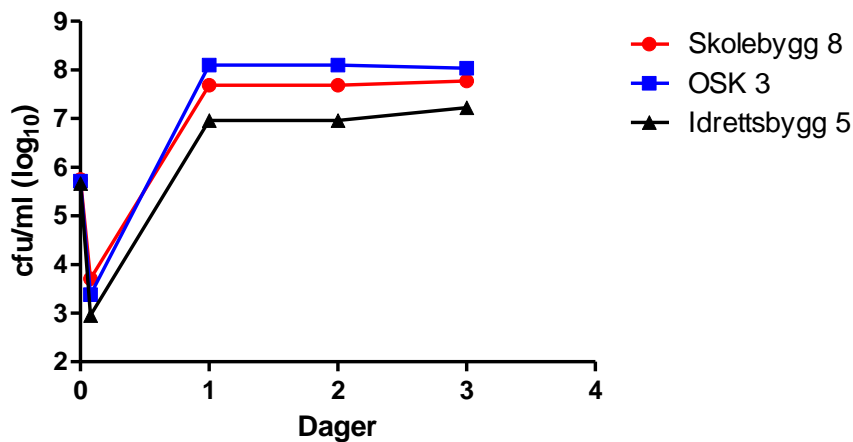
Figur 3.8: Eksempel på en APT der man sammenligner SPF og MIF fra samme *Legionella*-stamme.

A) Viser to ulike stammer av *L. pneumophila* serogruppe 1 isolert fra henholdsvis Sykehjem 7 og Skole 8. B) Viser to ulike stammer av *L. pneumophila* serogruppe 2-14 isolert fra henholdsvis Idrettsbygg 10 og OSK 3. Øverste panel viser i hvert tilfelle *Legionella*-spotter på et lag av amøber, mens nederste panel viser spotter på ren agar (kontroll).

Når MIF-formen fra ulike stammer ble sammenlignet i APT-test tyder resultatene på at det er en forskjell mellom sg 1 og sg 2-14, se figur 3.8. For serogruppe 1 stammene er det liten forskjell mellom SPF og MIF, mens det for serogruppe 2-14 er klar forskjell. MIF'ene kommer opp mye raskere enn SPF, og dette kan oversettes til at MIF'er er mer infeksjøs enn SPF. Grunnen til dette er muligens at serogruppe 2-14 i SPF-kultur ofte er mye mer filamentøs enn serogruppe 1 som generelt har mye kortere staver. Det kan tenkes at kortere staver vil ha lettere for å bevege seg og invadere cellene enn de lange filament-trådene.

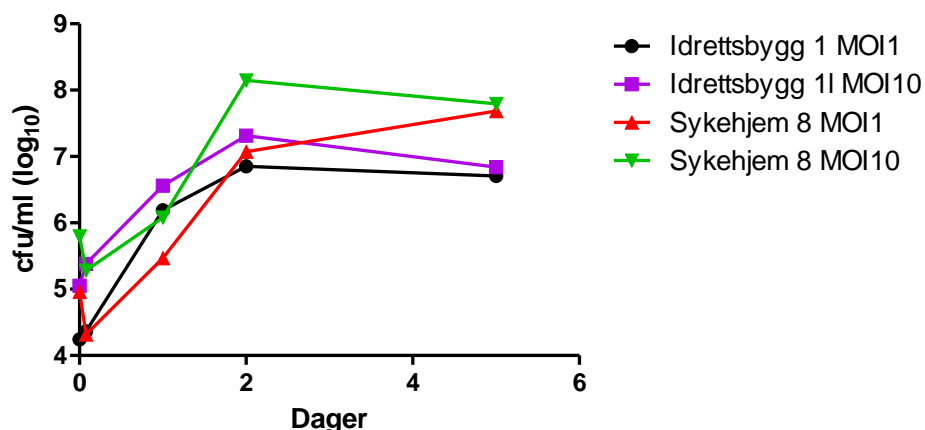
3.1.8 Resultat intracellulær vekstkurve

Intracellulær vekstkurve gir et mål på infeksjon og replikasjon av *Legionella* inne i amøber (Moffat og Tompkins 1992). Vi har testet ut ulike typer stammer og ulike konsentrasjoner av bakterier i forhold til amøber (MOI), se eksempel figur 3.9 og figur 3.10.



Figur 3.9: Intracellulær vekstkurve *L. pneumophila* i *A. castellanii*.

To ulike *L. pneumophila* sg 1 og en *L. pneumophila* sg 2-14 stamme er sammenlignet.



Figur 3.10: Intracellulær vekstkurve *L. pneumophila* i *A. castellanii*.

Intracellulær vekstkurve for en *L.pneumophila* sg 2-14 stamme (Idrettsbygg 1) og en *L. pneumophila* sg 1 stamme (Sykehjem 8).

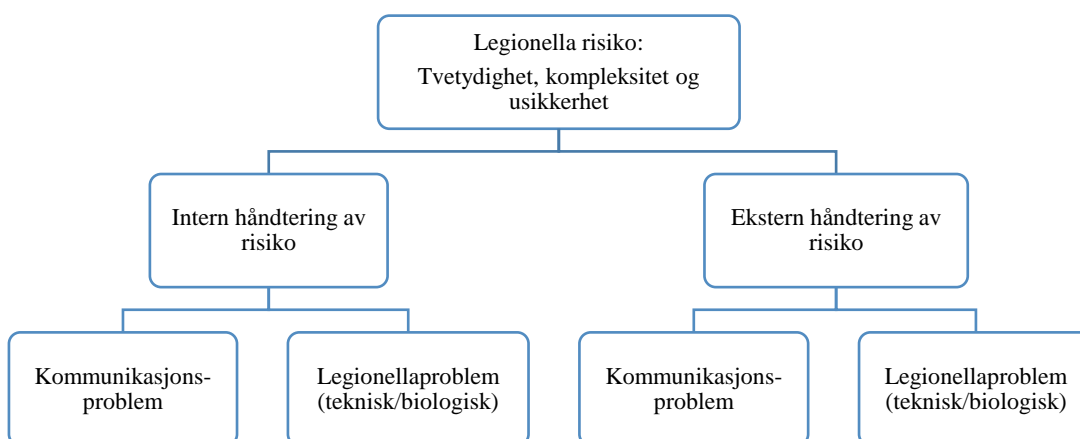
Resultatene fra vekstkurvene viser at det er noe variasjon mellom stammene, men at det ikke er klart om variasjonen skyldes variasjon i egenskapene til utgangskultur eller om det er faktisk variasjon i virulens vi ser. Når *Legionella* dyrkes i kultur i laboratoriet er det ikke alltid veksten er like god og noen ganger er det utfordrende å få en god stasjonær fase-kultur som utgangspunkt. Dette blir en vurderingssak av den som utfører analysen og det synes som om resultatet avhenger litt for mye av denne vurderingen.

Konklusjonen er at det er utfordrende å finne en enkel metode for å analysere virulens. Resultatene varierer og metodene vi har testet fremstår som lite robuste fordi de er for avhengige av vurderingene til den som utfører analysen. Noe av denne variasjonen kan kanskje også tilskrives de ulike utviklingsformene av *Legionella* og at det kan være vanskelig å sikre at man sammenligner samme form. Det er nødvendig med mer standardisering av metodene vi har testet før de eventuelt vil kunne brukes.

3.2 Risikostyring og risikokommunikasjon

3.2.1 Modell for analyse av risikohåndtering av *Legionella* i Stavanger kommune

Stavanger kommune er en kompleks organisasjon med mange ulike avdelinger og oppgaver. Kommunen som virksomhet har ansvar for internorganiseringen av sine avdelinger og underlagte virksomheter. Samtidig må kommunen forholde seg til en rekke eksterne aktører, alt fra brukere av tjenestene til statlige krav, media og eksperter på ulike felt. I analysen har vi skilt mellom intern og ekstern risikohåndtering. I tillegg har det blitt skilt mellom to problemer som kommunen som organisasjon må håndtere, 1) selve *Legionella*-problematikken og 2) kommunikasjon.



Figur 3.11: Modell for analyse av *Legionella*-risikohåndtering i Stavanger kommune.

3.2.2 Hva slags risiko er *Legionella*?

Risikoens kjennetegn kan gi en pekepinn på hvorfor *Legionella* er så vanskelig å håndtere for kommunen. I henhold til Aven og Renns (2010) risikoklassifisering kan man hevde at *Legionella* ikke er en enkel risiko å forholde seg til. Bakterien er heller det motsatte – den er *kompleks*. Det er vanskelig å definere og/eller identifisere årsakssammenhengene. For eksempel er det noen bygg som stadig får påvist *Legionella*, mens andre lignende bygg unngår det. Selv om man til en viss grad er kjent med hvilke forhold bakterien trives i, er det likevel vanskelig å avgjøre hvilke bygg som er mest utsatt. Årsakssammenhengene mellom anlegg og utbrudd er ikke åpenbare. *Legionella*

preges også av *usikkerhet*. Det er vanskelig å forutsi forekomsten av *Legionella* i anleggene. Likevel er ekspertene relativt enige om hva som er risikoen for å bli smittet, og hvem som tilhører de mest utsatte gruppene. Til sist kan man også definere *Legionella* som en *tvetydig* risiko. Det er vanskelig å avklare beslutningsgrunnlaget, siden ulike eksperter tolker faktaene ulikt. For eksempel er det faglig uenighet mellom IRIS og FHI om hvorvidt varmtvannsspyling er et nyttig tiltak i offentlige anlegg.

Kommunen skal altså håndtere kompleks, usikker og tvetydig risiko. Å håndtere slike risikoer gir risikokommunikasjonsutfordringer. Utfordringene har blant annet hatt opphav i at de forskjellige gruppene har hatt ulike risikoperspektiver. Med gruppene menes her ulike nivå i Stavanger kommune, IRIS, risikoanalysemiljøer, lekfolk/publikum.

3.2.3 *Legionella*: Kunnskap og risikopersepsjon

Risikopersepsjon dreier seg om vår subjektive oppfattelse av risikoen (Aven og Renn, 2010). I kommuneorganisasjonen er det varierende syn på, og oppfattelser om *Legionella*. Det viser seg at kunnskapen og oppfattelsene er svært spredt i Stavanger kommune. Dette kan skape problemer på flere nivåer, for eksempel når man skal utarbeide passende strategier mht. risikokommunikasjon og risikohåndtering. Det kan føre til at ikke alle oppfatter tiltak som like nødvendige, eventuelt tilstrekkelige. Ulik risikooppfattelse er også problematisk når man skal drive intern eller ekstern kommunikasjon.

Risikopersepsjonen (holdningen) danner grunnlaget for handlingene knyttet til *Legionella*.

Fokusgruppeintervjuene viser at selv om mange av gruppene har forholdsvis god kunnskap og tilgang på informasjon om *Legionella* er det fortsatt ulikheter i oppfattelsen av risikoen. De som vet minst og er mest usikre er driftsoperatørene. De andre gruppene er i større grad klar over innholdet i nyere forskning på *Legionella*, selv om det fortsatt er en del av informantene som uttrykker usikkerhet og tvil rundt risikoen for *Legionella*. Aven og Renn (2010) skiller mellom to typer usikkerhet. Det er kjente usikkerheter, altså at vi vet hva vi ikke vet, og ukjente usikkerheter, altså vi vet ikke hva vi ikke vet.

Faggruppen har større kunnskap om hvilken kunnskap som mangler enn det driftsoperatørene har. De har en viss oversikt over feltet, som gir dem en større trygghet. Driftsoperatørene preges av frykt knyttet til utføringen av arbeidet. De opplever en større usikkerhet, og *vet ikke hva man ikke vet* om **Legionella**. De ulike persepsjonene skyldes altså ulike former for usikkerhet. Faggruppen opplever *kjente usikkerheter*, mens driftsoperatørene opplever *ukjente usikkerheter* (jf Aven og Renn, 2010).

Både de utførende (f.eks rørleggerne) og driftsoperatørene er «nær» smittekildene i sitt daglige arbeid. Likevel er det store ulikheter i gruppenes risikopersepsjoner. De utførende har fått mer kunnskap om *Legionella* gjennom jobben. Driftsoperatørene har i større grad vært overlatt til seg selv når det kommer til kunnskapsinnhenting. En forklaring kan være at de har ulike roller i risikostyringssystemet. Den ene gruppen, driftsoperatørene, skal «bare» delta i prøvetaking og drive varmtvannspyling. Det kan tenkes at man tidligere har antatt at denne gruppen ikke trenger inngående kunnskap om *Legionella* for å utføre sine arbeidsoppgaver. Den andre gruppen, rørleggerne, skal reparere, fjerne og forbedre anlegget, og er derfor mer avhengig av å vite hva kjernen i problemet er.

Risikopersepsjonene knyttet til *Legionella* er i stor grad bestemt av frykt, usikkerhet og opplevelse av manglende kontroll. Noen opplever også at de ikke utsetter seg frivillig for risikoen. De som ikke er redde, er de som har tilegnet seg mer kunnskap og fått god informasjon om *Legionella*. For dem er usikkerheten redusert. Virksomhetslederne vet for eksempel en del om farlighetsgrad, smittepotensial og utsatte grupper. For dem er det de tidligere erfaringene som påvirker i negativ retning.

3.2.4 Intern håndtering av *Legionella*

Resultatene fra intervjuene viser at det er flere forhold som vanskeliggjør den interne risikostyringen av *Legionella* i Stavanger kommune. Risikostyringen springer ut av et mål om å minske kostnader og angst, altså både et sosialt og et økonomisk perspektiv. Det reviderte (men på intervjutidspunktet enda ikke implementerte) internkontroll-dokumentet danner et godt grunnlag for risikostyring av *Legionella*. Flere forhold

vanskeliggjør imidlertid internkontrollen av *Legionella*. En første utfordring er at ulike nivåer i organisasjonen forholder seg til ulike rutiner. Nytt og gammelt internkontroll dokument synes å brukes om hverandre.

Funnene viser mangelfull ledelse og samhandling i *Legionella*-håndteringen. Det er viktig å avklare lederansvaret for risikostyringen. Dessuten er kommunen opptatt av å fordele ansvar (eller skyld) internt og fremstår som mindre opptatt av samvirke og samarbeid. Kommunens øverste ledelse bør ha en tydeligere rolle i risikostyringen. Det bør sørges for at risikostyringssystemene er samordnet og integrert videre nedover i organisasjonen. Det er flere kommunale avdelinger involvert men det mangler et samordnende organ for å håndtere *Legionella* på en god måte. Dessuten er det nødvendig at roller og ansvar knyttes til funksjon, heller enn person. For noen av informantene er også usikkerhet rundt hva som faktisk er skadereduserende tiltak. Resultatet er at *Legionella*-håndteringen til dels kan være tilfeldig og avhengig av den enkeltes oppfatning av risikoen. *Legionella*-håndteringen må klargjøres og videre bekreftes gjennom oppdaterte og godkjente internkontrolldokumenter. I forhold til definisjonen av de fem ulike risikostrategiene i kapitell 1.8.3 har vi en situasjon der risikopersepsjon blant de ulike gruppene er hovedutfordringen.

3.2.5 Intern kommunikasjon om *Legionella*

Kommunen har en plan for informasjon og kommunikasjon. Strategien er imidlertid svært generell, og påpeker kun at ansvar, oppgaver og roller skal fordeles tydelig, men ikke hvordan. Intern kommunikasjon av *Legionella* kan hovedsakelig deles i tre faser; kommunikasjon om risikostyringssystemet som helhet, varsling ved positiv *Legionella*-prøve samt oppfølging og informasjon. I kommunikasjonsstrategien pekes det på ulike utfordringer. De største utfordringene ligger i første og siste fase. Interne utfordringer er blant annet riktig og tilstrekkelig kompetanse hos ansatte, å sikre samhandling, og å klargjøre roller og ansvar. Det er i stor grad disse utfordringene som er tilstede i intern kommunikasjon om *Legionella*. Dette kan tyde på at kommunikasjonsstrategien ikke er tilstrekkelig implementert i organisasjonen.

Linjeprinsippet kan sees som både et problem og en løsning ut i fra informantenes utsagn. Dersom man skal følge linjeprinsippet er det viktig at informasjon og kommunikasjon kommer helt ned til sluttbrukerne, og gjennom virksomhetsledere og driftsoperatører. At kommunen er en sterkt hierarkisk organisasjon er problematisk. For det første gjør det at man er ugyldig som avsender av informasjon om man ikke kommer ovenfra. Linjeprinsippet blir på denne måten en hindring for god kommunikasjon. Hierarki er ikke alltid forenlig med samvirkeprinsippet, slik som beskrevet av for eksempel Fimreite et al. (2011). Linjeprinsippet fungerer altså ikke godt i en spesialisert organisasjon med stort fokus på ansvarsfordeling. Igjen er det viktig med et større fokus på samarbeid og samvirke.

I analysene av risikokommunikasjonsprosessen har det vært fokus på å identifisere og vurdere de ulike gruppene/nivåene involvert i *Legionella*-arbeidet i Stavanger kommune sitt perspektiv på risiko i henhold til Veland og Aven (2013).

I starten av prosjektperioden hadde deler av organisasjonen (faggruppen) et kaotisk syn på risiko der det manglet forståelse for mikrobiologi og for fundamentale konsepter om risiko, sannsynlighet og usikkerhet og at disse konseptene blandes sammen. Dette kombinert med at førstelinje, virksomhetsleder og brukerne hadde et perspektiv knyttet mot risk=risikopersepsjon gjorde at det var et kaotisk syn på risiko. Kommunikasjon var med andre ord vanskelig. Etter hvert som kunnskap og erfaring øker ser vi at det har skjedd en endring i organisasjonen der spesielt faggruppen har beveget seg fra et kaotisk syn på risiko knyttet til *Legionella* til et mer vitenskapelig basert risikosyn. Det vil si at det fortsatt er usikkerhet knyttet til risiko, men at denne usikkerheten har blitt redusert i og med at kunnskapen har økt.

3.2.6 Ekstern håndtering av *Legionella*

Oppmerksomheten rettet mot *Legionella* har ført til økte krav om risikostyring, både fra myndighetenes side og fra befolkningens side. Dette samsvarer med det Kaspersen et al. (2003) kaller sekundære og tertiære effekter som følge av forstørring av risiko. Både forskrift for miljørettet helsevern, utredningen «Om kjærlighet og kjøletårn» (NOU 2012) og «Legionellaveilederen» fra Folkehelseinstituttet kan sees på som eksempler på

dette. Det er vanskelig for Stavanger kommune å styre risiko når lover, forskrifter, veiledninger og NOU'er er tvetydige i de krav som settes. Usikkerheten, kompleksiteten og tvetydigheten rundt *Legionella* går igjen på nasjonalt nivå. Kommersielle aktører forsøker å tjene penger på denne usikkerheten, hvilket fører til et enda mer komplisert landskap å navigere i for kommunen. Dette bidrar til å øke stigma og signalverdien knyttet til *Legionella*, hvilket igjen fører til ringvirkninger i det sosiale systemet gjennom nye krav til tiltak.

Stavanger kommune har i liten grad direkte påvirkning på forholdene omtalt over. På denne måten er lovverket, forskriftene osv., utenforliggende rammebetingelser som kommunen må forholde seg til når de skal drive risikostyring. Det at lovverket er uklart, trenger imidlertid ikke bety at risikostyringen skal være uklar. Intern forbedring bør være første mål.

3.2.7 Ekstern kommunikasjon av *Legionella*

Kommunen har en uformell rutine på hvordan man håndterer *Legionella* ut mot publikum. Fokuset har vært rundt mediehåndtering, hvor man per i dag har forholdsvis gode rutiner og samarbeid om dette. Det er en klar fordel at kommunen har «media» med på laget når de skal sende ut pressemeldinger knyttet til *Legionella*. Dette er en faktor som kan bidra til å redusere negative risikooppfattelser knyttet til *Legionella*. En utfordring er at den nøkterne og saklige informasjonen om *Legionella* er forholdsvis forenklet og ikke har rom for doble budskap (vi stenger dusjanlegget, men det er ikke farlig). Flere ansatte bør også læres opp i kommunikasjonsteknologi slik som nettpublisering. Det vil gjøre kommunikasjonssystemet mindre sårbart og personavhengig.

Funnene tyder også på at det er lite diskusjon eller toveis dialog med befolkningen om *Legionella*, selv om kommunen ønsker å øke innsikten slik at folk kan ta sine egne beslutninger basert på tilgjengelig kunnskap. (Aven og Renn 2010). Kommunikasjon er i hovedsak en sluttaktivitet, hvor publikum informeres når et bygg eller dusjanlegg må stenges. For fremtiden er det mulig å utnytte potensialet i sosiale medier til å skape dialog med befolkningen om *Legionella*. Det må imidlertid tenkes nøye gjennom

hvordan man gjør dette. Publikumsdeltakelse kan være vanskelig i denne saken på grunn av tidligere negative erfaringer med *Legionella* i Stavangerregionen. Samtidig kan det være nyttig for å øke forståelsen for kommunens risikohåndteringsstrategier.

Varsling av alle nødvendige grupper er vanskelig. I tråd med SARF (Kasperson, Pidgeon og Slovic 2003) har Stavanger kommune mulighet til å mildne risikoopplevelsen basert på hvordan de håndterer *Legionella*. For Stavanger kommune er det avgjørende å få til gode ansvarsdelinger i forbindelse med varsling og videreformidling av informasjon, samtidig som man fokuserer på å jobbe sammen. Man må balansere ansvars- og samvirkeprinsippet. *Legionella* må håndteres av flere avdelinger på samme tid. Informantene ønsker større deltagelse fra helsesiden. Det kan øke troverdigheten, samt at kommunen fremstår som mer samlet.

Det er også viktig at alle involverte aktører fra kommunen sin side (spesielt driftsoperatører og virksomhetsledere) har tilgang på nødvendig, oppdatert informasjon. Dersom man kan unngå å videresende publikum sine spørsmål «opp i systemet» kan man minske oppfattelsen av *Legionella* som farlig (Kasperson, Pidgeon og Slovic 2003). En generell kommunikasjonsstrategi, uformelle rutiner og lite samordning gjør det vanskelig å minske stigma og signalverdien til *Legionella*. Det bør sikres at kommunikasjonen samordnes og integreres nedover i systemet for å styrke den fremtidige risikohåndteringen.

Etter hvert som faggruppen har fått økt kunnskap har det blitt stilt større krav til dokumentasjon fra kommersielle aktører. Men fordi kommunen forventer objektive svar på risiko har det oppstått problemer i risikokommunikasjonen. Gjennomslagsevnen til de kommersielle aktørene har blitt redusert.

Fordi faggruppen har fått et mer kunnskapsbasert syn på *Legionella* som risiko har risikokommunikasjon blitt mulig. utfordringen er å skape en felles forståelse for begreper, analyser og metoder.

3.2.8 Troverdighet, tillit og omdømme

Resultatene fra intervjuene tyder på at Stavanger kommune har tillit hos befolkningen. Fremover er det viktig at man er ærlig og åpen om den risikostyringen som drives, og på hvilket grunnlag. At kommunen i noen tilfeller fremstår som fragmentert og gir doble budskap kan være med på å redusere tilliten til kommunen. Samvirke og samordning er altså ikke bare viktig for å forenkle risikostyringen men også for å opprettholde/skape tillit til kommunen som institusjon og ekspertsystem. Dessuten peker funnene i retning av at fagkompetanse er viktig – både som grunnlag for beslutninger og informasjon.

3.2.9 Oppfatning og kunnskap hos brukere

Intervjuene med brukerne viser at de i stor grad har tillitt til kommunen. De er i stor grad enige om at Stavanger kommune gjør det som er nødvendig for å sikre at det er trygt å dusje i deres bygg. I tillegg har brukerne vi snakket med stor evne til å finne kunnskap selv og er klar over at *Legionella* ikke har lik risiko for alle. Tidsaksen er viktig. De som har vært direkte involvert som brukere av bygg med påvist *Legionella* i nyere tid er mer opptatt av *Legionella*. Funnene tyder på at skoler som har fått påvist *Legionella* de senere årene er mer fornøyd med informasjonen de får fra kommunen enn de som var først ut. Frustrasjonen er ikke alltid knyttet til sykdom, noen ganger er frustrasjonen mer rundt at barna ikke får svømmeundervisning eller mulighet til å trene enn at det er en risiko for å bli syk.

4 Diskusjon

4.1 Utbredelse av *Legionella* i Stavanger kommune.

4.1.1 *Legionella* fordelt på byggtyper

Dette studiet viser at av de kommunale dusjanleggene i Stavanger kommune er relativ forekomst av dyrkbar *Legionella* høyest i helsebygg, idrettsbygg og skolebygg. Dette er byggtyper som gjerne har store, kompliserte bygg, eller bygg med garderober som ofte har blanding av varmt og kaldt vann i teknisk rom og temperert vann ut i anlegget. Disse relative frekvenser stemmer bra med en rapport fra Nederland (Den Boer et al. 2015). Der er også helsebygg og idrettsbygg på toppen av listen med bygg som har høyest frekvens av *Legionella*, mens boliger har lav frekvens.

For å vokse, må *Legionella*-bakteriene ha tilgang til vann, luft og næringsstoffer. Det er nok at betingelsene for vekst er tilstede i deler av anlegget. Forekomst av *Legionella*-bakterier her vil kunne spre seg videre ut i anlegget. Temperatur er blitt pekt på som den faktoren med størst betydning for kontroll av vekst av *Legionella* (Codony et al. 2002, Folkehelseinsitutet 2015). I bygg med store komplekse vannsystem er det ofte vanskeligere å opprettholde temperatur ugunstig for vekst i hele anlegget (under 20 eller over 50 °C). Risiko øker dermed i anlegg dersom temperaturen er mellom 20 og 50 °C eller dersom anlegget har områder med dårlig sirkulasjon som gjerne vil ha både temperatur, begroing og desinfeksjonsnivå som er gunstig for vekst (Codony et al. 2002).

4.1.2 Fordeling av ulike former/typer av *Legionella* i et anlegg

Den mest vanlige metoden for å påvise *Legionella* har så langt vært dyrkningsteknikk (Chatfield og Cianciotto 2013). Siden *Legionella* også kan forekomme i en levende men ikke dyrkbar form (VBNC), ønsket vi å undersøke ratio av dyrkbar/levende men ikke dyrkbar *Legionella* i de kommunale anleggene. Ugunstige betingelser kan føre til at dyrkbar *Legionella* går over i VBNC-formen (Hussong et al. 1987, West et al. 1992, Amman, Ludwig og Schleifer 1995, Yamamoto, Hashimoto og Ezaki 1996, Chang et al. 2006, Allegra et al. 2008). VBNC-formen er ikke antatt å være virulent (Alleron et al.

2013, Epalle et al. 2015) men kan gjennom opptak i amøber gå over til den dyrkbare formen igjen (Steinert et al. 1997, Garcia et al. 2007, Epalle et al. 2015) og dermed kan den fungere som et reservoar. Å se på ratio mellom ulike former kan derfor være nyttig i forbindelse med tiltak og forebyggende arbeid. Kvantitativ PCR er en måte å gjøre dette på. Ved å se på flere ulike DNA-sekvenser kan man i tillegg kunne se hvilke typer *Legionella* som dominerer. I dette studiet forsøkte vi å kvantifisere total *Legionella*, *L. pneumophila* samlet (både sg 1 og sg 2-14) og kun *L. pneumophila* sg 1. Sammen vil de tre analysene kunne gi et bilde av hva slags typer *Legionella* som finnes i et anlegg. Vi fant at det var godt samsvar mellom dyrkningsprøver og kvantitativ PCR for *L. pneumophila* sg 1. Dessverre gav PCR-analysen for høy bakgrunn av total *Legionella* og *L. pneumophila* til at det var mulig å beregne ratio mellom dyrkbar og ikke dyrkbar form. Høy bakgrunn har vært nevnt som et problem med denne metoden (Christian Lück, Nasjonalt referanse laboratorium for *Legionella* i Tyskland, personlig kommunikasjon). På bakgrunn av resultatene vurderer vi dyrkningsanalyser som mer informative enn qPCR i overvåkingssammenheng. I smitteoppsporing ved utbrudd vil qPCR derimot kunne være en veldig nyttig analyse, i og med at man kan få et svar i løpet av noen timer, noe som kan være avgjørende for å redusere omfanget av et utbrudd.

4.1.3 Samlokalisering av ulike *Legionella* typer?

Det hevdes at dersom det er gjort funn av *Legionella spp* så er vekstgrunnlaget til stede for at også sykdomsfremkallende arter kan vokse der (Folkehelseinstituttet, 2015). Dette er ikke en usannsynlig antagelse. Det er også kjent fra Borregaard-utbruddet at den dominerende *Legionella*-stammen i biodammen i renseanlegget endret seg over tid (Olsen et al. 2010). For de kommunale dusjanleggene i Stavanger kommune har vi bare funnet én *L. pneumophila* stamme per anlegg, men det var noen tilfeller hvor det også ble påvist en *Legionella spp* variant, da *Legionella anisa*. PCR-analysene viste at det i de kommunale dusjanleggene ikke er slik at forekomst av *L. pneumophila* sg 2-14 dekker over forekomst av *L. pneumophila* sg 1. Det er heller ikke funnet noen tilfeller hvor *L. pneumophila* stammen endres over tid. I et av anleggene, Tastahallen, var det samme ST som ble påvist i 2015 som ble påvist i forbindelse med sykdomstilfellet i 2007. Dersom man ser dette i sammenheng med resultatene i testriggeren, hvor det ser ut som om ulike

Legionella-arter har spesifikke preferanser i forhold til f.eks amøber, kan det tyde på at selv om de generelle forutsetningene for vekst er tilstede, er det ikke nødvendigvis slik at alle *Legionella*-arter vil eller kan etablere seg i et system. Dessuten kan man spekulere i om lav diversitet gir redusert risiko fordi sannsynligheten for å finne en type med relativt høy virulens trolig vil være lavere med færre kandidater.

4.1.4 Geografiske klynger av *L. pneumophila*

Et annet interessant funn i denne studien er at det isoleres relativt få ulike typer *L. pneumophila* fra de kommunale dusjanleggene og flere av dem danner geografiske klynger, se figur 3.2. *Legionella*-bakteriene finnes som nevnt naturlig i ferskvann og kommer inn i anleggene via innløps-vannet. Utløpsvannet ut fra vannverket har blitt undersøkt og det er ikke påvist *Legionella* her (IVAR, personlig kommunikasjon). Men deler av det eksterne ledningsnett, dvs. det som går fra vannverket og frem til husveggen, er gjerne gammelt, har begroing og lekkasjer osv. Det vil derfor være ulike vekstmiljø i disse rørene avhengig av hvor de befinner seg i byen. Dette kan bidra til at vi i deler av ledningsnett har kombinasjoner av faktorer som til sammen gir gunstige betingelser for at *Legionella* skal kunne vokse, men at det er for kaldt til at det blir en oppblomstring (dette vannet har gjerne en temperatur på 8-12 °C). Men, når vannet kommer inn i anleggene øker temperaturen, og dermed også risikoen for etablering og vekst av *Legionella*.

4.2 Fra vann til aerosol

Legionella overføres til mennesker via veldig små vanndråper (aerosoler) eller ved aspirasjon. Ved aspirasjon trekkes væske ned i lungene, f. eks. vann fra forurensede medisinske instrumenter. Dusjanlegg har vært fokus i denne studien og derfor vil vi videre kun ta for oss aerosoler og ikke aspirasjon. Aerosolene må være tilstrekkelig små for at de skal dras ned i lungene, noe som trolig er en forutsetning for å pådra seg legionærsyken. Aerosoler er den vanligste smitteoverføringsmåten når det gjelder luftveisinfeksjoner generelt (Madigan et al. 2009).

I kommunale dusjrom blir relativ luftfuktighet raskt veldig høy. Dette betyr at aerosolene blir forholdsvis store, noe som igjen innebærer at de ikke så lett kan trekkes ned i

lungene (Wiik 2011). I tillegg vil store aerosoler forholdsvis raskt falle ned på gulvet. I uteluft varierer relativ fuktighet (RH (relative humidity) forholdsvis mye gjennom året. I kyststrøk på Vestlandet kan RH være under 30 % i sommerhalvåret, mens RH om vinteren svært ofte er høyere enn 60 %. Dette vil ha betydning for størrelsen på aerosolene fra f. eks. et kjøletårn. Ved lav RH om sommeren, vil aerosoler fra utendørs anlegg raskt tørke inn og bli forholdsvis små. Tid og avstand aerosolene transporteres i luften vil også bidra til å bestemme den størrelsen de etter hvert får. Disse betraktningene stemmer overens med at utbrudd av Legionærsyken i Norge fra utendørs anlegg hovedsakelig har skjedd i sommerhalvåret (Folkehelseinstituttet 2015). Resultatene fra dette prosjektet tyder på at det må være en viss konsentrasjon av *Legionella*-bakterier i vannet før vi klarer å påvise dem i aerosoler fra dusjanlegg. Tallene vi får er i samme størrelsesorden som benyttes i modellen som Schoen og Aschbolt (2010) for å beregne smitteoverføring av *Legionella* fra dusjanlegg. Slik informasjon vil være med på å gi et mer nyansert bilde av risiko og vil dermed være nyttig å ta med inn i en riskoberegning.

4.3 Måling av virulens

Et av delmålene i dette prosjektet har vært å finne en enkel og robust måte for å måle relativ virulens. Så langt har man brukt serotyping, som i utgangspunktet er en viktig screeningmetode for å differensiere *Legionella*-stammer, til også å si noe om sykdomsfremkallende evne, basert på rapporterte sykdomstilfeller.

Ulike serotyper har vist ulik evne til å infisere amøber og cellelinjer i kultur (Messi et al. 2013). Derfor var derfor ønskelig å kunne si noe om hvordan en *Legionella*-stamme isolert fra en miljøprøve infiserer celler i kultur. Tanken i begynnelsen av prosjektet var å etablere en enkel og robust metode som kunne brukes til å si noe om relativ virulens hos stammer isolert fra kommunale dusjanlegg i Stavanger, både ved å sammenligne stammene med hverandre og med tpestammer kjent for å være sykdomsfremkallende. Med stadig mer kunnskap om ulike utviklingsformer og at disse har ulik virulens har det vist seg utfordrende å finne en enkel, robust metode og per i dag foreligger dette ikke. For å kunne gjøre laboratorieforsøk må bakteriene i vannprøver dyrkes opp i laboratoriet. Så snart vi gjør det er det ikke lenger samme form som finnes ute i

vannsystemet og virulensegenskapene er ikke nødvendigvis lenger de samme. Det er også stor grad av usikkerhet og subjektiv vurdering i dagens metoder som gjør at resultatet i for stor grad er avhengig av ekspertisen og den subjektive bedømmingen til personen som gjennomfører analysen. Det er vist at *Legionella pneumophila* kan forekomme i minst 14 ulike former som danner et komplekst nettverk (Robertson, Abdelhady og Gardño 2014). Dette betyr at den tidligere oppfatningen av livssyklusen til *Legionella pneumophila* som en to-fase prosess (vekst, overføring/infeksjon) er altfor enkel (Gardño 2008). Fordi man ikke har tatt hensyn til kompleksiteten i livssyklusen til *Legionella* er det per nå, og som også vist i dette prosjektet, ikke lett å finne en robust metode for å forutsi virulens. Det er spådd at det i nær fremtid vil utvikles nye metoder som vil gjøre det mulig å påvise hovedformene av *Legionella* som finnes i vann (Robertson, Abdelhady og Gardño 2014). Ny kunnskap om andelen av de ulike formene i ulike typer vannmiljø (kjøletårn, dusjsystemer osv.) og deres relative evne til å infisere celler i kultur eller mer ideelt hvor lett dyremodeller lar seg infisere via aerosoler, vil gi uvurderlig input til risikovurdering og kontroll av *Legionella* og ved utbrudd av Legionærsyken.

4.4 Betydningen av amøber

Det er kjent at amøber er *Legionella*-bakteriene sin naturlige vert og at de fungerer både som beskyttelse og reservoar for bakterien (Thomas et al. 2010). Resultatene fra testrigger tyder på at amøber er viktige for etablering og vekst av *Legionella*-bakterier. Våre funn støttes av flere studier. Blant annet av eksperimenter gjort med springvann, hvor det ble vist at amøber er nødvendige for at formering av *L. pneumophila* (Wadowsky et al. 1988, Fields et al. 1989). Videre viser en studie fra Nederland hvor man så på vekst av *L. pneumophila* i et laboratorieoppsett hvor systemvann fra et bygg med påvist *L. pneumophila* enten ble brukt som det var eller ble filtrert slik at amøbene ble fjernet. I filtrert vann fikk man ikke vekst mens det ble påvist høye konsentrasjoner av *L. pneumophila* i vann med amøber (Kuiper 2006). Ahlen et al. (2013) har også vist at amøber er viktig i forbindelse med forekomst av *Legionella* i forhold til bunkret vann på norske marinefartøy. Interaksjon mellom frittlevende amøber og patogene bakterier er generelt vist til å være artsspesifikke, noe som også stemmer med våre resultater

(kapittel 3.1.4), og som vil kunne ha betydning i legionellaforebyggende arbeid (Thomas et al. 2010). Til nå har det vært for lite fokus på rollene til amøber og det er nødvendig å begynne å ta disse med i betraktningen både når man gjør risikovurderingen og i det forebyggende arbeidet. Eksempelvis har det vist seg veldig vanskelig å fjerne *Legionella* helt fra et system ved bruk av ulike klorforbindelser (Wang et al. 2012, Ahlen et al. 2013, erfaringer fra kommunale anlegg i Stavanger 2011-2016), noe som kan antas å skyldes den beskyttende effekten av amøber. Forekomst av *Legionella* holdes nede, men så snart behandling reduseres eller opphører blomstrer *Legionella* opp på ny. I tillegg er det vist at *Legionella*-bakterier som utsettes for biocider mens de er inne i amøber blir mer resistente, slik at studier av ulike behandlingsmetoder bør gjennomføres på *Legionella*-bakterier og amøber sammen (Thomas et al. 2004, Donlan et al. 2005, Dupuy et al. 2011, Cervero-Arago et al. 2015). Det er mulig å analysere amøbe- og *Legionella*-status for et anlegg både ved hjelp av dyrkning og molekylære teknikker og det er vist at det er en sammenheng disse organismene (Ahlen et al. 2013, Lu et al. 2016). I risikovurderingen er det derfor viktig at man begynner å se på *Legionella* og amøber i sammenheng og at man i det forebyggende arbeidet tar sikte på å kontrollere både forekomst av *Legionella* og amøber (Berjeaud et al. 2016).

4.5 Nytte av overvåkning?

Et prøvetakingsresultat gir bare et øyeblikksbilde av forholdene i et system og i teorien kan det skje en oppblomstring i dagene, uken eller månedene etter at det har blitt tatt prøve. Risikoen når det gjelder *Legionella* blir aldri null, men den kan reduseres. Ekspertene har hevdet at overvåkning kan redusere risikoen betydelig ved høyrisikoanlegg som f.eks. sykehus og sykehjem (Stout et al. 2007, Stout og Yu 2010). Ved å jevnlig ta prøver av vannet får man et bilde av hvordan systemet oppfører seg og hva som er normalt for akkurat dette anlegget. Det kan også være med å oppdage tekniske feil mye raskere. Et eksempel på dette er Stavanger svømmehall som var en del av pilotprosjektet for overvåkning (Wiik og Krøvel 2011). Her hadde det over flere år vært tatt prøver uten at det hadde blitt påvist dyrkbar *Legionella*. Plutselig opplevde man at man ved rutinemessig prøvetaking fikk positive prøver for *Legionella* i en bestemt del av anlegget våren 2012. Tekniske undersøkelser viste at det var en ventil i taket som var

defekt. Feilen ble utbedret og ved påfølgende prøvetakinger ble det ikke påvist dyrkbar *Legionella*.

Videre har det i den siste utgaven av Legionellaveilederen fra Folkehelseinstituttet også skjedd en justering i teksten i kapittel 2.2 Smittekilder fra:

«Er det derimot påvist at en innretning hvor man finner en spesiell legionellaart/serotype/genotype, har forårsaket sykdomstilfeller, er et slikt enkeltfunn særlig viktig fordi den aktuelle bakterien faktisk har vært årsak til sykdom. Slike påviste smittekilder bør være gjenstand for skjerpet kontroll også i tiden etter at utbruddet er over» (Folkehelseinstituttet 2012)

til

«På grunn av økt smittefare er det særlig grunn til å skjerpe driftsoppfølgingen dersom man finner *Legionella pneumophila* serogruppe 1. Det samme gjelder dersom det påvises en spesiell legionellaart/serotype/genotype i en innretning som har forårsaket sykdom. Slike innretninger bør være gjenstand for skjerpet kontroll også i tiden etter sykdomstilfellet eller utbruddet» (Folkehelseinstituttet 2015).

Dette er en justering som i større grad tar inn over seg at de ulike artene/serotypene/genotypene har ulik risiko knyttet til seg og som sammenfaller bra med de erfaringene man har og den praksisen man følger i Stavanger kommune.

4.6 Risikohåndtering- teori og praksis

Legionella-problematikken er mer komplisert enn kun sannsynlighet og konsekvens for negativt utfall. Analysene viser at *Legionella* som risiko er preget av usikkerhet, tvetydighet og kompleksitet. Kjente teorier beskriver disse mekanismene og funnene viser at teori og praksis stemmer godt overens (Aven og Renn, 2010). Det gjør at man kan benytte kjente elementer fra risikofeltet inn i risikohåndtering av *Legionella* i kommunale dusjanlegg.

I fokusgruppeintervjuene kommer det frem at det er stor tillitt til at kommunen håndterer *Legionella* på en forsvarlig måte men også at det er et tydelig behov for mer informasjon. Det er viktig å huske at informasjon ikke er farlig! Men for at systemet skal

fungere bra er det nødvendig at offentlig informasjon oppdateres kontinuerlig og at tilgjengelige kommunikasjonsformidlere som f.eks. rektorer og FAU ved skoler eller virksomhetsledere benyttes i større grad.

Internt i kommunen er det tydelig at det kan være nyttig for kommunen å forsøke å redusere usikkerheten hos sine ansatte. En strategi for dette er å øke kunnskapen (Aven og Renn 2010) hos blant annet driftsoperatørene. De ulike gruppenes risikopersepsjon bør tas hensyn til når man skal utarbeide strategier for risikokommunikasjon og risikostyring. I henhold til matrisen i kap 1.8.3 tilordner Veland og Aven anbefalinger for alle kategorier i matrisen. I vår sammenheng kan vi gjenkjenne samtlige kommunikasjonsrelasjoner, kanskje med unntak av at «risikoanalytiker» ikke har kommet på banen før i denne undersøkelsen. I og med at hovedhensikten med prosjektet har vært å utvikle et målrettet og forskningsbasert risikostyringssystem for *Legionella* i kommunale dusjanlegg, har det å identifisere kommunikasjonsrelasjoner mellom interessentene vært svært relevant. Det er åpenbart at relasjonene mellom aktørene og synet på risiko har endret seg i løpet av prosjektets levetid. Det har vært en bevegelse fra kaotiske risikoperspektiver til faglig baserte risikoanalyser og mer kunnskap. Selv om det er tidlig i prosessen og fortsatt rom for ytterligere forbedringer synes det som om endringer i risikosyn faktisk har lagt grunnlaget for en mer kunnskapsbasert risikokommunikasjon og dermed en bedre risikostyring og risikohåndtering i kommunal regi.

Til tross for at det trolig er umulig å tallfeste risikoen for å bli syk av *Legionella* fra kommunale dusjanlegg, anser vi risikoen for å være svært lav for normalt friske mennesker. Dette er i overensstemmelse med vår tidligere konklusjon, hvor vi vurderer det slik at risikoen er så lav at *Legionella* fra dusjanlegg ikke er et folkehelseproblem (Wiik og Krøvel, 2014).

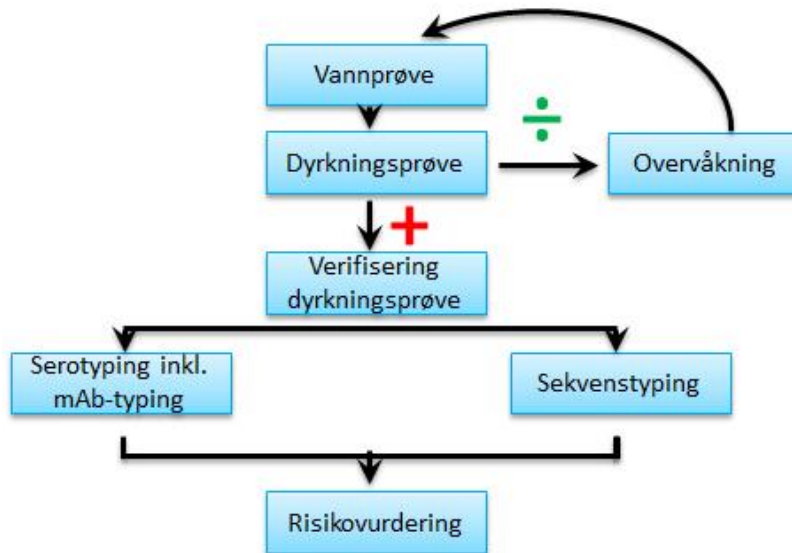
5 Konklusjon og anbefalinger

I løpet av prosjektet har forekomst av *Legionella* i de kommunale dusjanleggene blitt undersøkt og forekomsten kartlagt. De enkelte isolatene har blitt karakterisert og fordelingen av ulike sekvenstyper undersøkt. *Legionella*-stammer som er positive for mAb 3/1 antas å være mer virulente. Denne subtypingen er et eksempel på informasjon som nå anbefales tatt inn i risikovurderingen. Det er også blitt kartlagt hvilke bygg som har *Legionella* og denne kunnskapen er ikke bare å finne tilgjengelig hos Stavanger kommune, men også ved Nasjonalt referanselaboratorium for *Legionella* ved SUS. Skulle det oppstå smittetilfeller, vil slik informasjon kunne være til hjelp i smitteoppsporing og dermed være med på å redusere risikoen for oss mennesker. Ved å overvåke de kommunale dusjanleggene, er normalsituasjonen for de ulike anleggene kartlagt og det vil være lettere og raskere å avdekke/vurdere avvik og eventuell økt risiko for et anlegg. Denne nye kunnskapen om *Legionella*-forekomst og biologiske egenskaper har blitt benyttet i etablering av mer forskningsbaserte rutiner for risikohåndtering hos Stavanger kommune.

Resultatene fra prosjektet viser at *Legionella* som risiko kan beskrives som usikker, tvetydig og kompleks. Årsakene til at vi finner *Legionella* som risiko så vanskelig å håndtere, kan dermed forklares gjennom kjente risikoteorier. Relasjonene mellom aktørene og synet på risiko har endret seg i løpet av prosjektets levetid. Vår vurdering er at relevante aktører i Stavanger kommune opplever en vesentlig større grad av forståelse og kontroll over risikoen forbundet med *Legionella* som følge av forskningen som er gjort. Opplevelse av kontroll er av stor betydning når beslutninger skal tas. Risikokommunikasjon og relasjoner mellom aktørene internt i kommunen og brukerne kan også forklares ut fra kjente risikoteorier. Det synes som om endringer i risikosyn har lagt grunnlag for en mer kunnskapsbasert risikokommunikasjon og derfor en bedre risikostyring og -håndtering i Stavanger kommune.

5.1 Anbefalinger til forebyggende rutine

1. Overvåking av anlegg gjennom dyrkningsanalyse av vannprøver:



Figur 5.1: Flytskjema forebyggende rutine.

De ulike byggtypene har hatt ulik prøvetakingsfrekvens utfra en risikovurdering basert på tekniske detaljer, *Legionella*-historikk og brukergrupper. Anbefalinger for overvåkingsfrekvens gitt i kap 2.1 anbefales opprettholdt.

2. Risikovurdering basert på resultater fra analyser samt type bygg, teknisk befarings og brukergruppe.
3. Anbefaler kartlegging av amøbestatus, spesielt for anlegg som etter gjentatte tiltak ikke blir kvitt *Legionella*.
4. Virulens-test mer sannsynlig på et senere stadium

5.2 Anbefalinger til risikokommunikasjonsstrategi

1. En formell strategi; en risikokommunikasjonsmal!

Hvordan risiko blir beregnet og risikostyring håndtert bør kommuniseres ut i organisasjonen og eksternt til brukerne.

Resultater fra prosjektet i form av kunnskap om risikoer knyttet til *Legionella* er kunnskap som bør komme flere til gode. Det er forskjell på informasjon og kunnskap

Ønsker en kunnskapsstrategi mer enn en informasjonsstrategi

2. Intern og ekstern kommunikasjon

- a. Målgrupp håndtering
- b. Aktiv og planlagt
- c. Avklare roller, ansvar og kompetanse

3. Redusere sårbarhet, og hindre at det oppstår «flaskehals» i kommunikasjonssystemet (og at ingen sitter og venter på noen!).

6 Referanser

- 11731:1998(E), ISO. 1998. "Water quality- Detection and enumeration of Legionella. ." (First edition 1998-5-01.).
- Ahlen, C., M. Aas, A. Nor, P. I. Wetteland, H. Johansen, T. Sorbo, J. K. Sommerfelt-Pettersen, and O. J. Iversen. 2013. "Legionella pneumophila in Norwegian naval vessels." *Tidsskr Nor Laegeforen* no. 133 (14):1445-8. doi: 10.4045/tidsskr.12.1459.
- Albers, U., K. Reus, H. A. Shuman, and H. Hilbi. 2005. "The amoebae plate test implicates a paralogue of lpxB in the interaction of Legionella pneumophila with Acanthamoeba castellanii." *Microbiology* no. 151 (Pt 1):167-82. doi: 10.1099/mic.0.27563-0.
- Allegra, S., F. Berger, P. Berthelot, F. Grattard, B. Pozzetto, and S. Riffard. 2008. "Use of flow cytometry to monitor Legionella viability." *Appl Environ Microbiol* no. 74 (24):7813-6. doi: 10.1128/AEM.01364-08.
- Allegra, S., F. Grattard, F. Girardot, S. Riffard, B. Pozzetto, and P. Berthelot. 2011. "Longitudinal evaluation of the efficacy of heat treatment procedures against Legionella spp. in hospital water systems by using a flow cytometric assay." *Appl Environ Microbiol* no. 77 (4):1268-75. doi: 10.1128/AEM.02225-10.
- Alleron, L., A. Khemiri, M. Koubar, C. Lacombe, L. Coquet, P. Cosette, T. Jouenne, and J. Frere. 2013. "VBNC Legionella pneumophila cells are still able to produce virulence proteins." *Water Res* no. 47 (17):6606-17. doi: 10.1016/j.watres.2013.08.032.
- Amman, R.I., W. Ludwig, and K-H. Schleifer. 1995. "Comparison of culture methods for monitoring Legionella species in hospital potable water systems and recommendations of such methods." *J Clin Microbiol* no. 33 (8):2118-2123.
- Arvand, M., K. Jungkind, and A. Hack. 2011. "Contamination of the cold water distribution system of health care facilities by Legionella pneumophila: do we know the true dimension?" *Euro Surveill* no. 16 (16).
- Aven, T., and O. Renn. 2010. *Risk Management and Governance. Concepts, Guidelines and Applications*. Berlin Hidelberg: Springer Verlag.
- Berjeaud, J. M., S. Chevalier, M. Schlüsselhuber, E. Portier, C. Loiseau, W. Aucher, O. Lesouhaitier, and J. Verdon. 2016. "Legionella pneumophila: The Paradox of a Highly Sensitive Opportunistic Waterborne Pathogen Able to Persist in the Environment." *Front Microbiol* no. 7:486. doi: 10.3389/fmicb.2016.00486.
- Camper, A., M. Burr, B. Ellis, P. Butterfield, and C. Abernathy. 1999. "Development and structure of drinking water biofilms and techniques for their study." *Journal of Applied Microbiology* no. 85:1S-12S.
- Cervero-Arago, S., S. Rodriguez-Martinez, A. Puertas-Bennasar, and R. M. Araujo. 2015. "Effect of Common Drinking Water Disinfectants, Chlorine and Heat, on Free Legionella and Amoebae-Associated Legionella." *PLoS One* no. 10 (8):e0134726. doi: 10.1371/journal.pone.0134726.
- Chang, C. W., C. C. Hwang, W.Y. Cheng, and C.P. Chang. 2006. "Effects of chlorination and heat disinfection on long-term starved Legionella pneumophila in warm water." *J Appl Microbiol* no. 102:623-34.
- Chatfield, C. H., and N. P. Cianciotto. 2013. "Culturing, media, and handling of legionella." *Methods Mol Biol* no. 954:151-62. doi: 10.1007/978-1-62703-161-5_7.
- Codony, F., J. Alvarez, J. M. Oliva, B. Ciurana, M. Company, N. Camps, J. Torres, S. Minguell, N. Jove, E. Cirera, T. Admetlla, R. Abos, A. Escofet, A. Pedrol, R. Grau, I. Badosa, and G. Vila. 2002. "Factors promoting colonization by legionellae in residential water distribution systems: an environmental case-control survey." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* no. 21 (10):717-21. doi: 10.1007/s10096-002-0789-y.
- Collins, S., F. Jorgensen, C. Willis, and J. Walker. 2015. "Real-time PCR to supplement gold-standard culture-based detection of Legionella in environmental samples." *J Appl Microbiol* no. 119 (4):1158-69. doi: 10.1111/jam.12911.
- Cunha, B. A., A. Burillo, and E. Bouza. 2016. "Legionnaires' disease." *Lancet* no. 387 (10016):376-85. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60078-2.

- Den Boer, J. W., S. M. Euser, P. Brandsema, L. Reijnen, and J. P. Bruin. 2015. "Results from the National Legionella Outbreak Detection Program, the Netherlands, 2002-2012." *Emerg Infect Dis* no. 21 (7):1167-73. doi: 10.3201/eid2107.141130.
- Doleans, A., H. Aurell, M. Reyrolle, G. Lina, J. Freney, F. Vandenesch, J. Etienne, and S. Jarraud. 2004. "Clinical and environmental distributions of Legionella strains in France are different." *J Clin Microbiol* no. 42 (1):458-60.
- Donlan, R. M., T. Forster, R. Murga, E. Brown, C. Lucas, J. Carpenter, and B. Fields. 2005. "Legionella pneumophila associated with the protozoan Hartmannella vermiformis in a model multi-species biofilm has reduced susceptibility to disinfectants." *Biofouling* no. 21 (1):1-7. doi: 10.1080/08927010500044286.
- Dupuy, M., S. Mazoua, F. Berne, C. Bodet, N. Garrec, P. Herbelin, F. Menard-Szczebara, S. Oberti, M. H. Rodier, S. Soreau, F. Wallet, and Y. Hechard. 2011. "Efficiency of water disinfectants against Legionella pneumophila and Acanthamoeba." *Water Res* no. 45 (3):1087-94. doi: 10.1016/j.watres.2010.10.025.
- ECDC, (European Centre for Disease Prevention and Control). *Annual Epidemiological Report 2016* 2016a. Available from http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/legionnaires_disease/surveillance/Pages/annual-epidemiological-report-2016.aspx.
- ECDC, (European Centre for Disease Prevention and Control). 2016b. Legionnaires' disease in Europe 2014.
- Edelstein, P.H. 2008. "Legionnaires' Disease: History and Clinical findings." I *Legionella- Molecular Microbiology*, Red av K and Swanson Heuner, M. Norfolk, UK: Caister Academic Press.
- Epalle, T., F. Girardot, S. Allegra, C. Maurice-Blanc, O. Garraud, and S. Riffard. 2015. "Viable but not culturable forms of Legionella pneumophila generated after heat shock treatment are infectious for macrophage-like and alveolar epithelial cells after resuscitation on Acanthamoeba polyphaga." *Microb Ecol* no. 69 (1):215-24. doi: 10.1007/s00248-014-0470-x.
- Farhat, M., M. C. Trouilhe, E. Briand, M. Moletta-Denat, E. Robine, and J. Frere. 2010. "Development of a pilot-scale 1 for Legionella elimination in biofilm in hot water network: heat shock treatment evaluation." *J Appl Microbiol* no. 108 (3):1073-82. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04541.x.
- Fields, B. S. 1996. "The molecular ecology of legionellae." *Trends Microbiol* no. 4 (7):286-90.
- Fields, B. S., R. F. Benson, and R. E. Besser. 2002. "Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation." *Clin Microbiol Rev* no. 15 (3):506-26.
- Fields, B.S., G.N. Sanden, J.M. Barbaree, W.E. Morill, R.M. Wadowsky, E.H. White, and J.C. Feeley. 1989. "Intracellular multiplication of Legionella pneumophila in amoeba isolated from hospital water tanks." *Curr. Microbiol* no. 18:131-137.
- Fimreite, A.L., P. Langlo, P. Lægreid, and L. Rykkja. 2011. *Organisering, samfunnsikkerhet og krisehåndtering*. Oslo: Universitetsforlaget.
- Folkehelseinsittet. 2012. Vannrapport 118- Forebygging av legionellasmitte- en veiledning.
- Folkehelseinsittet. 2015. Vannrapport 123- Forebygging av legionellasmitte- en veiledning.
- Forskrift for miljørettet helsevern. 2003. Kap 3a. Krav om å hindre spredning av Legionella via aerosol. I *FOR-2003-04-25-486*, red. av Helse og omsorgsdepartementet.
- Fuchslin, H. P., S. Kotzsch, H. A. Keserue, and T. Egli. 2010. "Rapid and quantitative detection of Legionella pneumophila applying immunomagnetic separation and flow cytometry." *Cytometry A* no. 77 (3):264-74. doi: 10.1002/cyto.a.20858.
- Gaia, V., N. K. Fry, B. Afshar, P. C. Luck, H. Meugnier, J. Etienne, R. Peduzzi, and T. G. Harrison. 2005. "Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of Legionella pneumophila." *J Clin Microbiol* no. 43 (5):2047-52. doi: 10.1128/JCM.43.5.2047-2052.2005.
- Garcia, M. T., S. Jones, C. Pelaz, R. D. Millar, and Y. Abu Kwaik. 2007. "Acanthamoeba polyphaga resuscitates viable non-culturable Legionella pneumophila after disinfection." *Environ Microbiol* no. 9 (5):1267-77. doi: 10.1111/j.1462-2920.2007.01245.x.
- Gardūno, R. A. 2008. "Life Cycle, Growth Cycles and Developmental Cycle of Legionella pneumophila." I *Legionella pneumophila: Pathogenesis and Immunity*, Red av P. Hoffmann, Friedman, H., Bendinelli, M.: Springer.
- Gardūno, R. A., E. Gardūno, M. Hiltz, and P. S. Hoffman. 2002. "Intracellular growth of Legionella pneumophila gives rise to a differentiated form dissimilar to stationary-phase forms." *Infect Immun* no. 70 (11):6273-83.

- Giao, M. S., S. Wilks, N. F. Azevedo, M. J. Vieira, and C. W. Keevil. 2009. "Incorporation of natural uncultivable *Legionella pneumophila* into potable water biofilms provides a protective niche against chlorination stress." *Biofouling* no. 25 (4):345-51. doi: 10.1080/08927010902803305.
- Harrison, T. G., B. Afshar, N. Doshi, N. K. Fry, and J. V. Lee. 2009. "Distribution of *Legionella pneumophila* serogroups, monoclonal antibody subgroups and DNA sequence types in recent clinical and environmental isolates from England and Wales (2000-2008)." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* no. 28 (7):781-91. doi: 10.1007/s10096-009-0705-9.
- Helbig, J. H., S. Bernander, M. Castellani Pastoris, J. Etienne, V. Gaia, S. Lauwers, D. Lindsay, P. C. Luck, T. Marques, S. Mentula, M. F. Peeters, C. Pelaz, M. Struelens, S. A. Uldum, G. Wewalka, and T. G. Harrison. 2002. "Pan-European study on culture-proven Legionnaires' disease: distribution of *Legionella pneumophila* serogroups and monoclonal subgroups." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* no. 21 (10):710-6. doi: 10.1007/s10096-002-0820-3.
- Helbig, J. H., J. B. Kurtz, M. C. Pastoris, C. Pelaz, and P. C. Luck. 1997. "Antigenic lipopolysaccharide components of *Legionella pneumophila* recognized by monoclonal antibodies: possibilities and limitations for division of the species into serogroups." *J Clin Microbiol* no. 35 (11):2841-5.
- Heuner, K., and M. S. Swanson. 2008. *Legionella - Molecular Microbiology*. Norfolk, UK: Caister Academic Press.
- Howard, K., and T. J. Inglis. 2005. "Disinfection of *Burkholderia pseudomallei* in potable water." *Water Res* no. 39 (6):1085-92. doi: 10.1016/j.watres.2004.12.028.
- Hussong, D., Colwell. R.R., M. O'Brien, E. Weiss, A.D. Pearson, and R.M. Weiner. 1987. "Viable *Legionella pneumophila* not detectable by culture on agar media." *Nature Biotechnology* no. 5:947-950.
- Jasanoff, S. 1986. *Risk Management and Political Culture, Social Research Perspectives- Occasioanl Reports on Current Topics*: Russel Sage Foundation.
- Joseph, C. 2002. "Surveillance of Legionnaires disease in Europe." I *Legionella*, Red av R Marre, Kwaik, Y.A., Bartlett, C., Cianciotte, N.P., Fields, B.S., Frosch, M., Hacker, J. og Luck, P.C., 311-320. Washington DC: ASM Press.
- Kasperson, R.E., N. Pidgeon, and P. Slovic. 2003. *The Social Amplification of RISK*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Kerr, C. J., K. S. Osborn, G. D. Robson, and P. S. Handley. 1998. "The relationship between pipe material and biofilm formation in a laboratory model system." *J Appl Microbiol* no. 85 Suppl 1:295-38S. doi: 10.1111/j.1365-2672.1998.tb05280.x.
- Kuiper, M. 2006. *Occurrence of Legionella pneumophila and Hartmanella vermiformis in fresh water environments and their interactions in biofilms*, Wageningen Univeriteit.
- Lee, J. V., S. Lai, M. Exner, J. Lenz, V. Gaia, S. Casati, P. Hartemann, C. Luck, B. Pangon, M. L. Ricci, M. Scaturro, S. Fontana, M. Sabria, I. Sanchez, S. Assaf, and S. Surman-Lee. 2011. "An international trial of quantitative PCR for monitoring *Legionella* in artificial water systems." *J Appl Microbiol* no. 110 (4):1032-44. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.04957.x.
- Lehtola, M. J., I. T. Miettinen, M. M. Keinanen, T. K. Kekki, O. Laine, A. Hirvonen, T. Vartiainen, and P. J. Martikainen. 2004. "Microbiology, chemistry and biofilm development in a pilot drinking water distribution system with copper and plastic pipes." *Water Res* no. 38 (17):3769-79. doi: 10.1016/j.watres.2004.06.024.
- Lu, J., I. Struewing, E. Vereen, A. E. Kirby, K. Levy, C. Moe, and N. Ashbolt. 2016. "Molecular Detection of *Legionella* spp. and their associations with *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and amoeba hosts in a drinking water distribution system." *J Appl Microbiol* no. 120 (2):509-21. doi: 10.1111/jam.12996.
- Lück, P. C., J. H. Helbig, W. Ehret, R. Marre, and W. Witzleb. 1992. "Subtyping of *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains isolated in Germany using monoclonal antibodies." *Zentralbl Bakteriol* no. 277 (2):179-87.
- Lück, P.C. 2008. "Diagnostics and clinical treatment." I *Legionella- Molecular Microbiology*, Red av K. Heuner, og Swanson M. . Norfolk, UK: Caister Academic Press.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, Dunlap. P.V., and D.P. Clark. 2009. Brock- Biology of microorganisms.
- Merault, N., C. Rusniok, S. Jarraud, L. Gomez-Valero, C. Cazalet, M. Marin, E. Brachet, P. Aegerter, J. L. Gaillard, J. Etienne, J. L. Herrmann, C. Lawrence, and C. Buchrieser. 2011. "Specific real-time PCR for simultaneous detection and identification of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in water and clinical samples." *Appl Environ Microbiol* no. 77 (5):1708-17. doi: 10.1128/AEM.02261-10.

- Messi, P., A. Bargellini, I. Anacarso, I. Marchesi, S. de Niederhausern, and M. Bondi. 2013. "Protozoa and human macrophages infection by Legionella pneumophila environmental strains belonging to different serogroups." *Arch Microbiol* no. 195 (2):89-96. doi: 10.1007/s00203-012-0851-9.
- Moffat, J.F., and L. S. Tompkins. 1992. "A Quantitative Model of Intracellular Growth of Legionella pneumophila in Acanthamoeba castellanii." *Infection and Immunity* no. 60 (1):296-301.
- Nazarian, E. J., D. J. Bopp, A. Saylor, R. J. Limberger, and K. A. Musser. 2008. "Design and implementation of a protocol for the detection of Legionella in clinical and environmental samples." *Diagn Microbiol Infect Dis* no. 62 (2):125-32. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2008.05.004.
- Nilsen, I.M. 2014. *Risikostyring av Legionella i Stavanger kommune*, Universitet i Stavanger.
- NOU, 17:. 2012. Om kjærlighet og kjøletårn — Strafferettslige spørsmål ved alvorlige smittsomme sykdommer. red. av Helse og Omsorgsdepartementet.
- Oliver, J. D. 2005. "The viable but nonculturable state in bacteria." *J Microbiol* no. 43 Spec No:93-100.
- Olsen, C. W., P. Elverdal, C. S. Jorgensen, and S. A. Uldum. 2009. "Comparison of the sensitivity of the Legionella urinary antigen EIA kits from Binax and Biotest with urine from patients with infections caused by less common serogroups and subgroups of Legionella." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* no. 28 (7):817-20. doi: 10.1007/s10096-008-0697-x.
- Olsen, J. S., T. Aarskaug, I. Thrane, C. Pourcel, E. Ask, G. Johansen, V. Waagen, and J. M. Blatny. 2010. "Alternative routes for dissemination of Legionella pneumophila causing three outbreaks in Norway." *Environ Sci Technol* no. 44 (22):8712-7. doi: 10.1021/es1007774.
- Ratzow, S., V. Gaia, J. H. Helbig, N. K. Fry, and P. C. Luck. 2007. "Addition of neuA, the gene encoding N-acetylneuraminate cytidyl transferase, increases the discriminatory ability of the consensus sequence-based scheme for typing Legionella pneumophila serogroup 1 strains." *J Clin Microbiol* no. 45 (6):1965-8. doi: 10.1128/JCM.00261-07.
- Renn, O. 2008. *Risk Governance: Coping with Uncertainty in a Complex World, Earthscan Risk in Society Series*. London- Sterling, VA: Earthscan.
- Robertson, P., H. Abdelhady, and R. A. Gardūno. 2014. "The many forms of a pleomorphic bacterial pathogen-the developmental network of Legionella pneumophila." *Front Microbiol* no. 5:670. doi: 10.3389/fmicb.2014.00670.
- Rogers, J., A. B. Dowsett, P. J. Dennis, J. V. Lee, and C. W. Keevil. 1994. "Influence of Plumbing Materials on Biofilm Formation and Growth of Legionella pneumophila in Potable Water Systems." *Appl Environ Microbiol* no. 60 (6):1842-51.
- Schoen, M. E., and N. J. Ashbolt. 2011. "An in-premise model for Legionella exposure during showering events." *Water Res* no. 45 (18):5826-36. doi: 10.1016/j.watres.2011.08.031.
- Steinert, M., L. Emody, R. Amann, and J. Hacker. 1997. "Resuscitation of viable but nonculturable Legionella pneumophila Philadelphia JR32 by Acanthamoeba castellanii." *Appl Environ Microbiol* no. 63 (5):2047-53.
- Stout, J. E., R. R. Muder, S. Mietzner, M. M. Wagener, M. B. Perri, K. DeRoos, D. Goodrich, W. Arnold, T. Williamson, O. Ruark, C. Treadway, E. C. Eckstein, D. Marshall, M. E. Rafferty, K. Sarro, J. Page, R. Jenkins, G. Oda, K. J. Shimoda, M. J. Zervos, M. Bittner, S. L. Camhi, A. P. Panwalker, C. J. Donskey, M. H. Nguyen, M. Holodniy, and V. L. Yu. 2007. "Role of environmental surveillance in determining the risk of hospital-acquired legionellosis: a national surveillance study with clinical correlations." *Infect Control Hosp Epidemiol* no. 28 (7):818-24. doi: 10.1086/518754.
- Stout, J. E., and V. L. Yu. 2010. "Environmental culturing for Legionella: can we build a better mouse trap?" *Am J Infect Control* no. 38 (5):341-3. doi: 10.1016/j.ajic.2010.02.002.
- Thagaard, T. 2009. *Systematikk og innlevelse- En innføring i kvalitativ metode*. Bergen: Fagbokforlaget Vigmostaad og Bjørcke AS.
- Thomas, V., T. Bouchez, V. Nicolas, S. Robert, J. F. Loret, and Y. Levi. 2004. "Amoebae in domestic water systems: resistance to disinfection treatments and implication in Legionella persistence." *J Appl Microbiol* no. 97 (5):950-63. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02391.x.
- Thomas, V., G. McDonnell, S. P. Denyer, and J. Y. Maillard. 2010. "Free-living amoebae and their intracellular pathogenic microorganisms: risks for water quality." *FEMS Microbiol Rev* no. 34 (3):231-59. doi: 10.1111/j.1574-6976.2009.00190.x.
- Uzel, A., and E. Hames-Kocabas. 2010. *Legionella pneumophila: From Environment To Disease, Environmental health- physical, chemical and biological factor series*. NY: Nova Biomedical books.
- van der Kooij, D., H. R. Veenendaal, and W. J. Scheffer. 2005. "Biofilm formation and multiplication of Legionella in a model warm water system with pipes of copper, stainless steel and cross-linked polyethylene." *Water Res* no. 39 (13):2789-98. doi: 10.1016/j.watres.2005.04.075.

- Van der Kooij, D., H.R. Veenendaal, N.P.G. Slaats, and D. Vonk. 2002. "Biofilm formation and multiplication of Legionella on synthetic pipe materials in contact with treated water under static and dynamic conditions." I *Legionella*, Red av R Marre, Kwaik, Y.A., Bartlett, C., Cianciotte, N.P., Fields, B.S., Frosch, M., Hacker, J. og Luck, P.C., 176-180. Washington: ASM Press.
- Veland, H., and T. Aven. 2013. "Risk communication in the light of different risk perspectives." *Reliability Engineering and System Safety* no. 110:34-40.
- Wadowsky, R. M., L. J. Butler, M. K. Cook, S. M. Verma, M. A. Paul, B. S. Fields, G. Keleti, J. L. Sykora, and R. B. Yee. 1988. "Growth-supporting activity for Legionella pneumophila in tap water cultures and implication of hartmannellid amoebae as growth factors." *Appl Environ Microbiol* no. 54 (11):2677-82.
- Waines, P.L. 2011. *Biofilm formation and control in a novel warm water distribution system.* , Faculty of Science and Technology, University of Plymouth, School of Biomedical and Biological Sciences.
- Wang, H., S. Masters, Y. Hong, J. Stallings, J. O. Falkinham, 3rd, M. A. Edwards, and A. Pruden. 2012. "Effect of disinfectant, water age, and pipe material on occurrence and persistence of Legionella, mycobacteria, Pseudomonas aeruginosa, and two amoebas." *Environ Sci Technol* no. 46 (21):11566-74. doi: 10.1021/es303212a.
- West, A. A., J. Rogers, J. V. Lee, and C.W. Keevil. 1992. "Lack of dormancy in Legionella pneumophila?" I *Legionella current stated and emerging perspectives*, Red av J.M. Barbaree, R.F. Breimann and A.P. Dufour. Washington: American Society for Microbiology Press.
- Whiley, H., and M. Taylor. 2016. "Legionella detection by culture and qPCR: Comparing apples and oranges." *Crit Rev Microbiol* no. 42 (1):65-74. doi: 10.3109/1040841X.2014.885930.
- WHO. 2007. *Legionella and the prevention of legionellosis*. Geneva.
- WHO. *Legionellosis - fact sheet* 2016. Available from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs285/en/>.
- Wiik, R. 2011. "Indoor productivity measured by common response patterns to physical and psychosocial stimuli." *Indoor Air* no. 21 (4):328-40. doi: 10.1111/j.1600-0668.2011.00708.x.
- Wiik, R., and C. Boccadoro. 2008. Legionella i kommunale dusjanlegg- Vurdering av metoder for å forebygge smitte. I *IRIS rapport*.
- Wiik, R., and A. V. Krøvel. 2014. "Necessity and effect of combating Legionella pneumophila in municipal shower systems." *PLoS One* no. 9 (12):e114331. doi: 10.1371/journal.pone.0114331.
- Wiik, R., and A.V. Krøvel. 2011. Legionella pneumophila i kommunale dusjanlegg -Hvorvidt trengs mottiltak? I *IRIS rapport*.
- Yamamoto, H., Y. Hashimoto, and T. Ezaki. 1996. "Study of non-culturable Legionella pneumophila cells during multiple nutrient starvation." *FEMS Microbiol Ecol* no. 20:149-154.



International Research Institute of Stavanger

Hovedkontor

Postboks 0846
4069 Stavanger
Tlf: 51 87 50 00
Fax: 51 87 52 00

Besøksadresse: Prof. Olav Hanssensvei 15

E-post: firmapost@iris.no

Org. nummer: 988 944 459 MVA

Bergen

Thormøhlensgate 55
5508 Bergen
Tlf: 55 54 38 50
Fax: 55 54 38 60

Mekjarvik

Mekjarvik 12
4070 Randaberg
Tlf: 51 87 55 00
Fax: 51 87 55 30