

NORVID

Risikanalys med MRA och GDP baserad på långtidsundersökning av norovirusförekomst i svenska ytvattentäkter

Johanna Ansker

Elisabet Athley

Per Ericsson

Peder Häggström

Per-Eric Lindgren

Fredrik Nyström

Britt-Marie Pott



Svenskt Vatten Utveckling

Svenskt Vatten Utveckling (SVU) är kommunernas eget FoU-program om kommunal VA-teknik. Programmet finansieras i sin helhet av kommunerna. Programmet lägger tonvikten på tillämpad forskning och utveckling inom det kommunala VA-området. Projekt bedrivs inom hela det VA-tekniska fältet under huvudrubrikerna:

Dricksvatten
Rörsnät & Klimat
Avlopp & Miljö
Management

SVU styrs av en kommitté, som utses av styrelsen för Svenskt Vatten AB. För närvarande har kommittén följande sammansättning:

Agneta Granberg (m), ordförande	Göteborgs Stad
Daniel Hellström, sekreterare	Svenskt Vatten
Henrik Aspegren	VA SYD
Per Ericsson	Norrsvatten
Tove Göthner	Sveriges Kommuner och Landsting
Per Johansson (s)	Gävle kommun
Stefan Johansson	Skellefteå kommun
Henrik Kant	Göteborg Vatten
Lisa Osterman	Örebro kommun
Kenneth M. Persson	Sydvatten AB
Lars-Gunnar Reinius	Stockholm Vatten AB
Lena Söderberg	Svenskt Vatten

Författarna är ensamma ansvariga för rapportens innehåll, varför detta ej kan återopas såsom representerande Svenskt Vattens ståndpunkt.

Svenskt Vatten Utveckling
Svenskt Vatten AB
Box 47607
117 94 Stockholm
Tfn 08-506 002 00
Fax 08-506 002 10
svensktvatten@svensktvatten.se
www.svensktvatten.se
Svenskt Vatten AB är servicebolag till föreningen Svenskt Vatten.

Rapportens titel:	NORVID – Riskanalys med MRA och GDP baserad på långtidsundersökning av norovirusförekomst i svenska ytvattentäkter
Title of the report:	NORVID – Risk Assessment With MRA and GDP Based on a Long-term Study of Norovirus Occurrence in Swedish Surface Waters
Författare:	Johanna Ansker, Stockholm Vatten; Elisabet Athley, Göteborgs Stad, Kretslopp och Vatten; Per Ericsson, Norrvatten; Peder Häggström, Stockholm Vatten; Per-Eric Lindgren och Fredrik Nyström, Linköpings universitet och Länssjukhuset Ryhov; Britt-Marie Pott, Sydsvatten
Rapportnummer:	2013-20
Antal sidor:	56
Sammandrag:	Riskvärdering med hjälp av GDP och MRA baserad på en årslång provtagning av norovirus i svenska ytvatten. Analysmetoden som använts har utvecklats och verifierats inom projektet. Även prover på avloppsvatten har analyserats och riskvärderats ur ett vattenreningsperspektiv.
Abstract:	Risk assessment with GDP and MRA based on a long-term study of norovirus occurrence in Swedish surface waters. The analytical method used has been developed and verified within the project. Samples from wastewater have also been analysed and risk assessed from a drinking water perspective.
Sökord:	Riskvärdering, GDP-verktyget, MRA-modellen, Norovirus, Molekylärbiologisk analys
Keywords:	Risk assesment, GDP-tool, MRA-model, Norovirus, Molecular Analysis
Målgrupper:	VA-ansvariga, utvecklingsingenjörer, tillsynsmyndigheter, VA-konsulter, forskare
Omslagsbild:	Vy över Bornsjön, Peder Häggström, Stockholm Vatten
Rapport:	Finns att hämta hem som PDF-fil från Svenskt Vattens hemsida www.svensktvatten.se
Utgivningsår:	2013
Utgivare:	Svenskt Vatten AB © Svenskt Vatten AB
Om projektet	
Projektnummer:	29-125
Projektets namn:	Humanpatogena virus i svenska vattentäkter – del 2
Projektets finansiering:	Svenskt Vatten Utveckling, Stockholm Vatten, Norrvatten, Göteborg Stad, Kretslopp och Vatten, Linköpings universitet och Länssjukhuset i Ryhov

Förord

Projektet *Humanpatogena virus i svenska vattentäkter – NORVID* startades år 2009. Projektet är uppdelat i två delar, fas 1 och fas 2, där fas 1 avslutades 2010 med rapporten *Analysmetod för norovirus i ytvatten* SVU 2010-09 (Dalin, o.a., 2010). Föreliggande rapport beskriver det arbete som utförts inom fas 2 som inleddes 2010 och som tog vid där fas 1 avslutades. Fas 1 syftade till att utarbeta en analysmetod för norovirus i ytvatten medan syftet med fas 2 har varit att vidareutveckla och optimera den framtagna metoden samt att applicera denna på ytvatten. Fas 2 syftade även till att utvärdera analysresultaten utifrån mikrobiologisk riskanalys. Första delen i denna rapport beskriver analysmetod och provtagning medan den andra delen beskriver riskvärderingen av resultaten från provtagningarna. Ansatsen har varit att göra rapporten så tillgänglig som möjligt varför vissa bitar lyfts ut och lagts som bilagor. En sammanfattande diskussionsdel och slutsatser återfinns i rapportens slutkapitel.

Projektet initierades av Görvälgruppen (en samarbetsgrupp mellan de fyra största vattenproducenterna i Sverige), vars representanter i detta projekt har varit: Johanna Ansker (Stockholm Vatten), Peder Häggström (Stockholm Vatten), Per Ericsson (Norrvatten), Britt-Marie Pott (Sydvatten) och Elisabet Athley (Göteborgs Stad, Kretslopp och Vatten), i samverkan med Per-Eric Lindgren vid Avdelningen för medicinsk mikrobiologi (Linköpings universitet). Projektets praktiska delar har till största delen utförts på Avdelningen för medicinsk mikrobiologi vid Linköpings universitet samt vid Länssjukhuset i Ryhov (Jönköping). Under projektets första del (fas 1) medverkade Erik Dalin som utvecklade analysmetoden. Under projektets andra del (fas 2) tog Fredrik Nyström över det praktiska arbetet och var med och utvecklade metoder för internkontroll och inhiberingskontroll.

Projektet har haft en referensgrupp bestående av representanter från SMI, SLV, DRICKS (Chalmers Tekniska Högskola) samt Norsk Vann.

Projektet har finansierats av Svenskt Vatten Utveckling samt de ingående samarbetsparterna; Görvälgruppen, Linköpings universitet samt Länssjukhuset Ryhov. Referensgruppen har bidragit med sin tid och sitt kunskande.

Ett stort tack riktas till alla de personer som deltagit i projektet! Ett särskilt tack riktas till Svenskt Vatten Utveckling som gjort detta möjligt samt till referensgruppen för dess ovärderliga kunskap som de delat med sig av.

Stockholm, juni 2013

Johanna Ansker och Peder Häggström, redaktörer

Innehåll

Förord.....	3
Sammanfattning	6
Summary.....	7
1 Inledning	8
2 Syfte och mål	9
3 Bakgrund	10
4 Projektupplägg	12
4.1 Projektplan.....	12
4.2 Beskrivning av arbetspaketen och deras innehåll.....	12
4.3 Avgränsningar och angränsande projekt	14
4.4 Rapportens struktur och läsanvisningar	15
5 Del 1 – metodutveckling och användning av metoden	17
5.1 Analys av norovirus i ytvatten – metodutveckling	17
5.2 Metoden som använts i fas 2 – schematisk genomgång	19
5.3 Användning av metoden – provtagning	21
5.4 Resultat och diskussion	26
5.5 Slutsats – del 1.....	30
6 Del 2 – Användning av resultaten	32
6.1 Syfte	32
6.2 Kvantitativ mikrobiologisk riskvärdering.....	32
6.3 Beskrivning av log-begreppet	34
6.4 Indata	35
6.5 Beräkning med hjälp av GDP-verktyget	38
6.6 Modellkörning i MRA.....	41
6.7 Beräknad avloppsvattenpåverkan	42
6.8 Resultat och diskussion	43
6.9 Slutsats – del 2.....	47
7 Sammanfattande diskussion och slutsatser	48
8 Framtiden – fortsatt forskning	50
9 Referenser.....	51

Sammanfattning

Projektet *Humanpatogena virus i svenska ytvattentäkter – NORVID* startades år 2009 med målet att med en känslig, robust, snabb och kostnadseffektiv analysmetod ta fram underlag för att möjliggöra säkrare riskanalyser avseende humanpatogena virus i svenska ytvatten. I projektets första fas, fas 1, (Dalin, o.a., 2010), utvecklades en analysmetod för anrikning, detektion och kvantifiering av viruspartiklar. Fas 2 av projektet, som redovisas i denna rapport, innefattar verifiering av metoden, analys av norovirusförekomst i ytvatten och avloppsvatten samt riskbedömning av de framtagna resultaten.

Vi kan konstatera att den analysmetod som vi tagit fram är bättre än de som tidigare publicerats. Den är känsligare, robustare, snabbare och mer kostnadseffektiv än tidigare. Ur molekylärbiologisk synvinkel uppnår metoden ett bra utbyte men för genomförande av riskanalyser är det önskvärt att öka detta ytterligare. Förutom detta tillkommer att metoden detekterar genom, dvs. den kan inte avgöra om de virus som detekteras är infektiösa eller inte, vilket har stor betydelse för riskvärderingen. Antagandena blir många och osäkerheten stor.

Tre olika typer av ytvattentäkter (Mälaren, Ringsjön och Göta Älv) har analyserats för norovirus under en ettårsperiod med två provtagningar i månaden. Analyserna visar att norovirus återfinns i dessa täkter i detekterbara halter under vinterhalvåret med snarlika resultat från respektive takt. Analys av in- och utgående avloppsvatten har skett från tre avloppsreningsverk. Resultaten visar att relativt höga halter kan påvisas både i inkommande och utgående avloppsvatten, avskiljningen genom verken har inte studerats närmare.

Med hjälp av de två riskvärderingsmetoderna GDP-verktyget och MRA-modellen har en bedömning gjorts av vilken betydelse de erhållna analysresultaten skulle kunna ha för svensk dricksvattenproduktion. Riskvärderingsmetoderna ger en uppskattning av vilken reningseffekt som kan uppnås för olika reningsprocesser som sedan kan ställas i relation till de halter som kan förväntas i råvattnet. Med hänsyn tagen till processförluster i analysmetoden och antaganden om andelen infektiösa viruspartiklar blir bedömningen att det krävs i storleksordningen 5–7 logs reduktion, motsvarande två till tre välfungerande barriärer, för att dricksvattnet ska anses rimligt säkert. Riskanalysen visar även på vikten av att barriärverkan upprätthålls då renings-effekten kan gå ned drastiskt vid driftstörningar som lämnas utan åtgärd.

Innan det här projektet var underlaget avseende norovirusförekomst i svenska ytvatten i det närmaste obefintlig. Trots osäkerheterna som nämns ovan ger ändå analysresultaten en bättre bild än tidigare av vilka halter som kan förväntas i svenska ytvattentäkter. Vid riskbedömning av den egna tåkten och vattenverket rekommenderas starkt att en utförlig risk- och sårbarhetsanalys genomförs.

Summary

The Project *Human Pathogenic Viruses in Swedish Water Sources – NORVID* started in 2009 with the aim that; with a sensitive, robust, rapid and cost effective analysis method provide data to enable more accurate risk assessment for human pathogenic viruses in Swedish surface waters. In the first phase, (Dalin, o.a., 2010), an analysis method was developed for enrichment, detection and quantification of viral particles. Phase 2 of the project, as presented in this report; includes validation of the method, analysis of norovirus in surface water and wastewater as well as risk assessment of the derived results.

One may therefore conclude that the developed analysis method is more sensitive, robust, rapid and cost-effective, than those previously published. From a molecular point of view, the method achieves a good exchange but for carrying out risk assessments, it is desirable to increase this further. Further on the method only detects the virus genome, which means that it cannot determine whether the detected virus is infectious or not. This has important implications for risk assessment. The assumptions are many, which in turn leads to rather great uncertainty.

Three different types of surface water sources (Lake Mälaren, Ringsjön and the Göta River) have been analysed for norovirus during a one year period with two samples taken per month. The analysis show that norovirus is found in these water sources in detectable levels during the winter months with similar results from each source. Analysis of in- and outgoing wastewater have been carried out from three wastewater treatment plants. The results show that relatively high concentrations can be detected in both incoming and outgoing wastewater

The two risk assessment methods, the GDP tool and the MRA model, have been used in order to evaluate the significance of the norovirus findings for Swedish drinking water production. The risk assessments give an estimate of the effect that can be achieved for different treatment processes which then can be compared to the norovirus levels expected in the raw water. Considering losses in the analytical method and assumptions about the proportion of infectious virus particles our conclusion is that; the reduction needed for producing a reasonably safe drinking water is in the order of 5–7 log, equivalent to two to three efficient barriers. The risk assessment also show the importance of maintaining the barriers as the treatment efficiency may decrease drastically if malfunctions are left unattended.

Prior to this project the knowledge of norovirus incidence in Swedish surface waters was almost nonexistent. Despite the uncertainties mentioned above the analytical results still provide a better picture of what levels can be expected in Swedish surface waters. When performing a microbiological risk assessment of a water source and a waterworks it is strongly recommended that a detailed and site specific risk and vulnerability analysis is carried out.

1 Inledning

I Livsmedelsverkets föreskrifter står det att *Dricksvatten ska vara hälsosamt och rent* (Livsmedelsverket, 2011). Hälsosamt och rent innebär att dricksvattnet ska vara fritt från bakterier, parasiter och virus samt kemiska ämnen som kan vara farliga för människans hälsa. Kunskapen kring förekomst av patogena mikroorganismer i svenska ytvattentäkter är dock begränsad vilket försvårar bedömningen av reningsbehovet vid ytvattenverk. Kunskapen kring virusförekomst har varit särskilt bristfällig då det saknats lämpliga analysmetoder. Norovirus är en av de vanligaste orsakerna till magsjuka utbrott (gastroenterit utbrott) i världen. Klimat- och sårbarhetsutredningen (SOU, 2007:60) slår fast att risken för vattenburna sjukdoms utbrott kommer att öka vid klimatförändringar, och norovirus är det virus som tros utgöra den största risken. Även som virus sällan kan kopplas till vattenburna utbrott misstänks en stor andel av de fall då ingen orsak kunnat identifierats vara orsakade av virus. De senaste åren har ett antal vattenburna norovirus utbrott ägt rum i Sverige där det i Lilla Edet hösten 2008 kanske är det mest kända. (Hallin, 2012)

2 Syfte och mål

Syftet med projektet är att möjliggöra bättre och säkrare mikrobiologiska riskanalyser avseende norovirus i svenska ytvattentäkter. Projektets övergripande mål har därmed formulerats så här: att med en känslig, robust, snabb och kostnadseffektiv analysmetod ta fram underlag för att möjliggöra säkrare riskanalyser avseende humanpatogena norovirus i svenska ytvatten.

För att uppnå det övergripande målet finns följande delmål uppsatta:

- A. *Verifiering av metod:* Den i projektets första fas (fas 1) framtagna analysmetoden för virusförekomst i råvatten ska vara optimerad och utvärderad.
- B. *Långtidsprovtagning:* Provtagningarna ska ha genererat planerad mängd analysdata, dels i form av normalhalter och dels halter i riskpunkter. Analysdata ska täcka samtliga vattentäkter som ingår i projektet.
- C. *Riskanalys:* Resultaten från långtidsprovtagningen ska ha tillämpats och vara använda i riskmodeller, däribland MRA. Rekommendationer på ny, lämplig indata och utvärdering ska finnas dokumenterade.
- D. *Informationsspridning:* Utöver dokumentation i form av slutrapport ska innehållet finnas lätt tillgängligt för potentiella intressenter. Dessutom ska informationen delges genom seminarier eller motsvarande.

3 Bakgrund

Norovirus är en av de vanligaste orsakerna till magsjukesutbrott (gastroenteritutbrott) i världen. Klimat- och sårbarhetsutredningen (SOU, 2007:60) slår fast att risken för vattenburna sjukdomsutbrott kommer att öka vid klimatförändringar, och norovirus är det virus som misstänks utgöra den största risken. Även WHO pekar ut norovirus som det potentiellt största hotet mot ett hälsosamt dricksvatten (WHO, 2004).

Vanligen bedöms dricksvattnets mikrobiologiska kvalitet genom analys av så kallade indikatororganismer som *E. coli*, koliforma bakterier eller intestinala enterokocker. Indikatororganismerna är dock inte alltid representativa för patogener. Indikatororganismerna är t.ex. ofta känsligare för desinfektion och har lägre överlevnad i vatten än patogenerna. Vid flera utbrott har virus påvisats, däribland norovirus, i vatten som inte innehållit några indikatorbakterier. I den industrialiserade delen av världen är norovirus det virus som orsakar de flesta magsjukesutbrotten i alla åldrar, och det är också vanligt förekommande i sporadiska fall utan känd koppling till större utbrott av gastroenterit (Estes et al., 2006).

Under perioden 1980–2004 rapporterades 142 vattenburna sjukdomsutbrott i Sverige med totalt 63 000 sjukdomsfall (SMI). *Campylobacter* har varit det mikrobiella agens (smittämne) man funnit flest gånger, följt av norovirus (orsakar vinterkräksjukan) och parasiten *Giardia lamblia*. I merparten av de vattenburna utbrotten har man inte lyckats identifiera smittan men i de flesta av dessa fall misstänks virus vara orsaken. Förutom det obehag som ett vattenburet utbrott för med sig för den enskilda individen innebär det även stora samhällskostnader. I en utredning av VAS-rådet (Rådet för Vatten- och Avloppssamverkan inom Stockholms län), "Samhällskostnader vid störningar i dricksvattenförsörjningen", har kostnaden för ett vattenburet sjukdomsutbrott bedömts till 136 Mkr i en kommun med 20 000 invånare och 415 Mkr i en kommun med 60 000 invånare (VAS-rådet, 2009).

När projektet *Humanpatogena virus i svenska ytvattentäkter – NORVID* startades år 2009 var kunskapsläget mycket begränsat kring vilka virushalter som kan förväntas i svenska vattentäkter. Avsaknad av välutvecklad metod för analys för virus gjorde att den kunskap som fanns istället främst baserades på studier av organismer som i viss mån skulle kunna indikera virusförekomst såsom koliformer, *Escherichia coli*, och i vissa fall även kolifager. Stora osäkerheter kring korrelationen mellan förekomst av dessa mikroorganismer och virus gör dock dessa studier inte kan anses utgöra tillräckligt god grund för bedömning av vilka virushalter vi kan förvänta oss i svenska vattentäkter. Eftersom virus främst bedöms vara ett problem för ytvatten har projektet valt att fokusera på ytvattentäkter. Resultaten kan dock användas och vara av intresse även för bedömning av ytvattenpåverkat grundvatten.

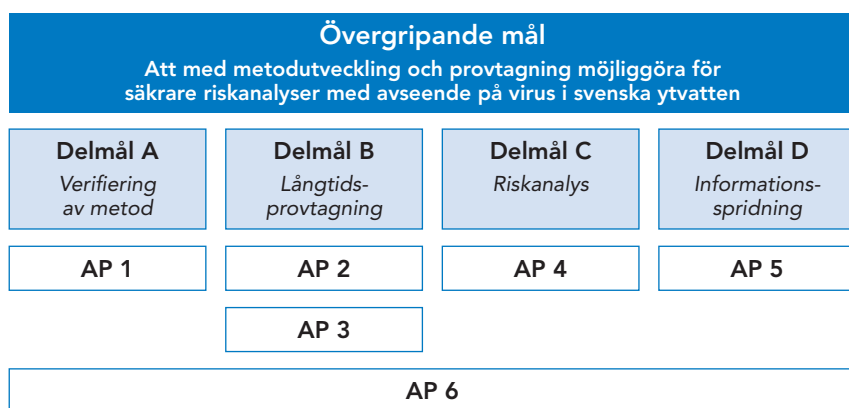
Med anledning av ovanstående utvecklades därför i fas 1 av NORVID en känslig metod med syftet att kunna anrika, detektera och kvantifiera noroviruspartiklar från ytvattenprov. Metoden utvecklades vid Linköpings

universitet utgående från råvattenprover från de tre olika råvattentäkter som ingick i projektet. Metodens främsta utmaning låg i optimering av filtrerings- och koncentrationsstegen. Under arbetet konstaterades det att virusnivåerna i de undersökta ytvattentäkterna är förhållandevis låga vilket medför att provvolymen skulle behöva ökas ytterligare. Detta innebär i sin tur att fas 2 behöver inledas med en förfining och optimering av metoden inför långtidsstudien. En litteraturstudie över olika möjliga analysmetoder samt utveckling av den valda metoden finns beskrivet i rapporten Analysmetoder för norovirus i ytvatten (Dalin, o.a., 2010). Här återfinns även en fördjupning kring norovirus i dricksvatten och miljö.

4 Projektupplägg

4.1 Projektplan

Detta projekt är en direkt fortsättning av fas 1 av *Humanpatogena virus i svenska vattentäkter – NORVID* som avslutades 2009, i vilket en metod för analys av norovirus i råvatten utarbetades (Dalin, o.a., 2010). Fas 2 löper över tre år med start i januari 2010 och slut i december 2012. Det delas in i sex arbetspaket (AP) för att uppnå de olika delmålen, Figur 4-1. Mellan AP1 och AP2, samt mellan AP3 och AP4, hålls referensgruppsmöten i syfte att säkerställa att projektet löper planenligt.



Figur 4-1 Schematisk skiss på projektstrukturen.

4.2 Beskrivning av arbetspaketen och deras innehåll

4.2.1 Arbetspaket 1 – Slutlig optimering och verifiering av analysmetod

Målet med arbetspaket 1 är att verifiera analysmetoden som togs fram i fas 1 (delmål A).

Under fas 1 utvecklades en upparbetsningsmetod för att erhålla tillräcklig mängd virus för att vidare kunna detektera och analysera dessa. Metoden visade sig fungera bra på råvattenprover med tillsatts av olika halter av humant norovirus. Med denna metod och dess utbyte i analysstegen krävs åtminstone 1 000 viruspartiklar per liter råvatten för detektion. Dessa halter är sannolikt högre än normalhalterna i råvattentäkter, men genom analys av större provvolymmer bör tillräcklig detektionsnivå kunna uppnås.

Inom arbetspaket 1 kommer därför metoden att verifieras så att metoden även fungerar för större provvolymmer. Genom att lägga till ett förfiltreringssteg för partikelrika vatten bedöms detta vara möjligt att uppnå. För att erhålla en bedömning av effektiviteten av filtreringen bör en processkontroll införas. Analysmetodens senare steg (RNA-extraktion, cDNA-syntes samt detektion/kvantifiering) är optimerade, såväl gällande kostnadseffektivitet som utbyte.

4.2.2 Arbetspaket 2 – Kartläggning av normalförekomst av norovirus i råvattentäkter

Målet med arbetspaket 2 är att genomföra en långtidsprovtagning för att kartlägga normalhalterna av norovirus i de tre råvattentäkterna. (Delmål B)

De tre vattentäkterna Ringsjön (sjö i odlings- och skogslandskap), Mälaren (stor sjö med allmän påverkan från jord- och skogsbruk, kommunala och enskilda avlopp mm) och Göta älv (vattendrag med avlopps- och ytavrinningspåverkan med snabb variation i halter av mikroorganismer) representerar vanligt förekommande ytvattentäkter i Sverige. En långtidsstudie av norovirusförekomsten i dessa täkter bedöms därför ge en god uppskattning av normalhalter och normalvariationer giltiga för stora delar av Sverige.

För att fånga in säsongsbundna variationer och för att få en användbar mängd data kommer undersökningen sträcka sig över ett år med provtagning 2 gånger/månad.

Under fas 1 utvecklades även en metod för att analysera virus i vattenverksslam. Metoden är dock inte använd eller testad i någon större omfattning. Eftersom fällning är ett effektivt sätt att avskilja virus i vattenreningsprocessen bör viruspartiklarna anrikas i slammet. Som komplement till att analysera virus direkt i råvattnet bör analys av viruspartiklar i slammet kunna ge ytterligare information om virusförekomst i råvatten över tid. I fas 2 kommer en examensarbetare att testa analysmetoden på slam från ett av vattenverken under en längre tidsperiod.

4.2.3 Arbetspaket 3 – Provtagning på riskpunkter

Målet med arbetspaket 3 är att provta och analysera halter av norovirus i riskpunkter (delmål B).

Som ett komplement till långtidsprovtagningen i de tre vattentäkterna kommer riskpunkter att identifieras för de olika vattentäkterna för att sedan genomföra en provtagning i dessa. Tänkbara riskpunkter är exempelvis vid dagvattendiken, betesmark, områden med många enskilda avlopp, bräddavlopp, och vid utsläppspunkter för kommunalt avlopp.

Syftet är att erhålla bättre ingångsdata för riskanalyser i de fall där vattentäkten misstänks vara akut mikrobiologiskt förorenad, till exempel i samband med extremväder.

4.2.4 Arbetspaket 4 – Riskanalys

Målet med arbetspaket 4 är att utföra mikrobiologisk riskanalys utifrån de resultat som erhålls från arbetspaket 2 och 3 (delmål C).

I arbetspaket 4 används resultaten från arbetspaketen 2 och 3 för riskvärdering med hjälp av de två riskvärderingsmetoderna GDP (God desinfektionspraxis) och MRA (Mikrobiologisk riskanalys) (Ødegaard, Fiksdal, & Østerhus, 147-2009, 2006) (Lundberg Abrahamsson, Ansker, & Heinicke, 2009). De vanligast förekommande processkombinationerna i svenska ytvattenverk analyseras utifrån ett mikrobiologiskt riskperspektiv. Avskiljningsgraden för norovirus i de olika processerna redovisas dels under normala driftförhållanden och dels under olika situationer med försämrad drift. Resultat från de båda metoderna ställs mot varandra för att visa på samstäm-

mighet eller olikheter mellan metoderna. Data från arbetspaket 2 och 3 jämförs med den avskiljning som erhålls över olika processkombinationer och under olika driftbetingelser. Riskanalysen ska ge en vägledning till vilka krav som bör ställas på avskiljningen i svenska ytvattenverk utgående från de norovirushalter som påvisats i arbetspaket 2 och 3.

Information om vilka ingångsdata som kan användas och hur resultaten kan användas kommer både GDP- och MRA-användare tillgodo, bland annat genom arbetspaket 5.

4.2.5 Arbetspaket 5 – Informationsspridning

Målet med arbetspaket 5 är att sprida kunskap och lärdomar från projektet till andra intressenter (delmål D)

En SVU-rapport (denna rapport) ges ut inom ramen för projektet. Analysmetoden, analysresultaten och riskvärderingen bedöms vara av intresse för verksamma inom VA-branschen i Sverige. Målsättningen är att samarbetsparterna skall presentera materialet såväl i skrift som genom direkt kommunikation, för att sprida informationen så brett som möjligt. Tankbara vägar för detta är att medverka vid olika konferenser så som Nordiska dricksvattenkonferensen, virusworkshops anordnade av Svenskt Vatten, Tidningen Vatten mm.

4.2.6 Arbetspaket 6 – Projektstruktur, projektorganisation och projektgenomförande

Arbetspaketen drivs av arbetsgruppen med en ansvarig för vart och ett av dessa. Det övergripande arbetet hålls ihop av projektledaren.

Arbetsgruppen består av representanter från vart och ett av de ingående vattenverken i Görvålgruppen samt Linköpings Universitet.

- Projektledare: Johanna Ansker (Stockholm Vatten)
- Forskningsledare: Professor Per-Eric Lindgren (Linköpings universitet och Länssjukhuset Ryhov)
- Fredrik Nyström (Linköpings universitet och Länssjukhuset Ryhov)
- Peder Häggström (Stockholm Vatten)
- Per Ericsson (Norrvatten)
- Elisabet Athley (Göteborgs Stad, Kretslopp och Vatten)
- Britt-Marie Pott (Sydvatten)

Referensgruppen är vald utifrån att spegla en så bred grupp av intressenter som möjligt samt utifrån deras kompetensområde.

- Tomas Pettersson (DRICKS vid Chalmers tekniska högskola)
- Görel Allestam och Elisabeth Hallin (Smittskyddsinstitutet)
- Magnus Simonsson (Livsmedelsverket)
- Kjetil Furuberg (Norsk Vann)

4.3 Avgränsningar och angränsande projekt

Målet i NORVID är att genom en tillförlitlig analysmetod erhålla information om vilka halter av norovirus som kan förväntas i svenska ytvattentäkter för att därigenom möjliggöra för svenska dricksvattenproducenter att

genomföra säkrare riskvärderingar. Även om det är intressant att titta på andra virus ryms inte detta inom NORVID. Norovirus har valts ut eftersom kunskapen om det i vattenreningssammanhang är liten samt att det jämfört med övriga virus bedöms utgöra den största risken. Någon provtagning av dricksvatten eller från delar av processen ingår inte heller i detta projekt då provtagning och analysmetod inte är optimerad för dessa typer av vatten. Kartläggningen av risker kring de tre ytvattentäkterna och deras tillrinningsområden kommer att göras på ett översiktligt plan. För att ge en bild av hur ytvatten kan påverkas av avloppspåverkat vatten kommer en mindre mängd prover att tas på några av de potentiella riskpunkterna.

Flera angränsande projekt som handlar om gastroenterovirus (magtarm-sjukevirus) och dricksvattenberedning pågår parallellt med NORVID. Ett av dessa, VISK (Virus i vatten – skandinavisk kunskapsbank), är ett regionalt nordiskt projekt som löper från april 2010 till mars 2013. Det delfinansieras av EU Interreg IVA, Skagerrak-Kattegatt-Öresundsregionen och omfattar 18 samarbetspartners i Sverige, Norge och Danmark, med en totalbudget på ca 40 milj. kr. Projektet leds av Lena Blom, Kretsloppskontoret, Göteborgs stad. Den övergripande målsättningen är I) att öka medvetenheten om riskerna för vattenburen virussmitta och II) att ta fram bättre underlag för kostnadseffektiva riskreduktionsåtgärder.

Per-Eric Lindgren är ledare för ett av arbetspaketen i VISK och Britt-Marie Pott ingår i referensgruppen för VISK. Arbetet inom VISK infattar bl. a. Göta älvsregionen och delar av de resultat som tas fram inom VISK skapar möjligheter till intressanta jämförelser i relation till resultat från Göteborg Vattens provtagningar inom NORVID.

4.4 Rapportens struktur och läsanvisningar

Denna rapport är en avslutande rapport för SVU-projektet *Humanpatogena virus i svenska vattentäkter* (NORVID) och sammanfattar tre års utveckling av analysmetod, användande av metod samt användande av analysresultat i riskvärderingsmodeller. För att underlätta för läsaren har rapporten delats upp i två huvuddelar *Del 1 – metodutveckling och användning av metoden* samt *Del 2 – Användning av resultaten*. Där Del 1 behandlar Delmål A och B (verifiering av metod samt långtidsprovtagning) och Del 2 behandlar Delmål C (riskanalys).

I del 1 beskrivs den slutliga metoden som använts samt den genomförda provtagningen (långtidsprovtagning samt provtagning på riskpunkter). Även resultat från provtagningarna samt diskussion kring dessa återfinns här. För att inte tynga ned rapporten har en utförligare beskrivning och protokoll för provtagningen placerats i en bilaga, Appendix A. För utförligare beskrivning kring metodval, utveckling av metoden samt mer ingående bakgrund varför vi valt att studera norovirus och dess förekomst i råvatten hänvisas till rapporten från fas 1 *Analysmetoder för norovirus i ytvatten* (Dalin, o.a., 2010) och som finns att hämta på SVU:s hemsida.

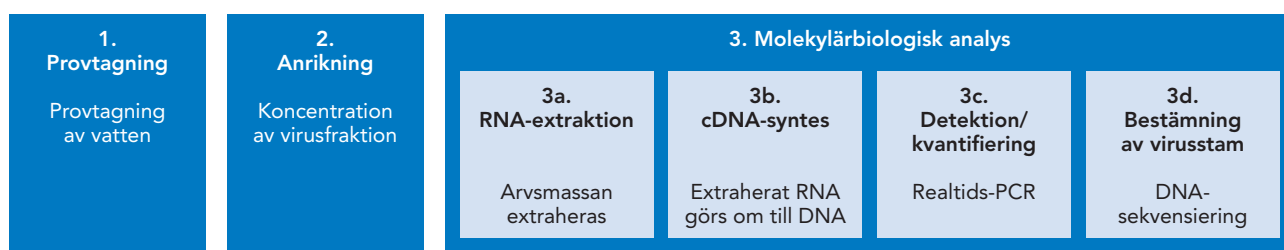
I del 2 beskrivs användningen av resultaten utifrån ett riskvärderingsperspektiv. Resultaten från provtagningen har använts som underlag i de

två riskvärderingsmetoderna GDP-verktyget och MRA-modellen. Här återfinns även en värdering och diskussion kring resultaten utifrån dessa.

Rapporten avslutas med en övergripande diskussion och slutsatser kring resultaten i de två delarna. Här ges även författarnas syn på framtida forskningsbehov.

5 Del 1 – metodutveckling och användning av metoden

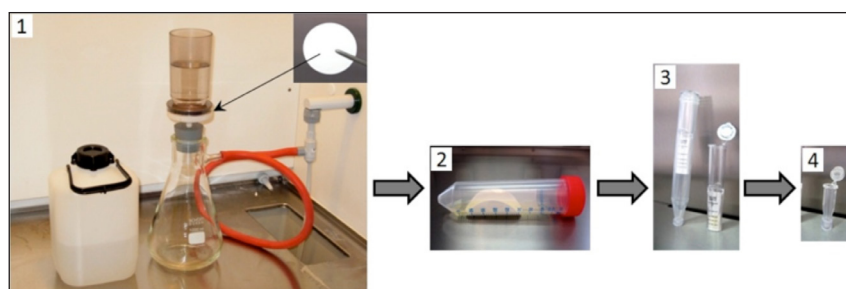
Virus, i synnerhet virus av humant/fekalt ursprung, kan förväntas förekomma i alla vattentäkter som påverkas av humant avloppsvatten. Analyskedjan för att analysera ytvatten med avseende på virus består av tre steg 1) Provtagning, 2) Anrikning och 3) Molekylärbiologisk analys, se Figur 5-1. De detektions- och kvantifieringsmetoder (steg 3c) som finns tillgängliga kräver höga virushalter, vilket gör att val och utformning av anrikningsteknik (steg 2) är av avgörande betydelse. Utmaningen i att ta fram en stabil och användbar metod för analys av norovirus i ytvatten ligger således framförallt i utformning och optimering av anrikningsmetoden.



Figur 5-1 Översiktlig beskrivning av analyskedjan för molekylär detektion av RNA-virus i vattenprov med realtids-PCR.

5.1 Analys av norovirus i ytvatten – metodutveckling

I den tidigare rapporten inom NORVID (fas 1) (Dalin, o.a., 2010), utvecklades en anrikningsmetod för norovirus baserad på en trestegs adsorberings- och elueringsmetod likt de tidigare metoderna publicerade av Gilgen et al (1997) samt Hamza et al (2009). En schematisk bild av den under fas 1 utvecklade metoden återfinns i Figur 5-2, för detaljerad beskrivning hänvisas till (Dalin, o.a., 2010). Denna valdes som en utgångspunkt och olika ansatser att optimera känsligheten utprövades under kontrollerade former. Alla optimeringsexperiment gjordes med hjälp av kranvatten eller vatten från Göta Älv med tillsats av humant norovirus. Vid tillsats av en känd mängd norovirus till ett enliters vattenprov kunde 8 % av de tillsatta viru-



- 1) En liter vatten pH-justeras till 5,5, förfiltreras och filtreras därefter med ett nylonfilter.
- 2) Filtret förs över till ett nytt rör och viruspartiklarna elueras med en elueringsbuffert.
- 3) Provet koncentreras med en mikrokonzentrator och koncentratet förs sedan över till ett nytt rör (4) inför molekylärbiologisk analys.

Figur 5-2 Anrikning av norovirus med metoden från fas 1. (Foto Erik Dalin).

sen påvisas efter anrikning vilket är en högre känslighet än vad som erhållits med tidigare metoder.

Från det att föregående rapport publicerats har några ändringar gjorts till metoden, se nedan. För en fullständig beskrivning se 5.2.

Metod fas 1	Metod fas 2
I. Konditionering av vattenprov: Justering av pH till 5,5	Det sker numera ingen pH-justering av vattenprovet för anrikning.
II. Förfiltrering: Provet filtreras genom ett neutralt glasfiberfilter, med porstorlek 1 µm.	Förfiltreringen sker med en större porstorlek än tidigare (2 µm jämfört med 1 µm). Uppskalning av metoden för filtrering av 4,5 liter jämfört med 1 liter under metodutvecklingen i fas 1. Tillägg: Flockning med hjälp av magnesiumklorid efter förfiltreringen.
III. Anrikningssteg ett: Filtratet från förfiltreringen filtreras med ett positivt laddat nylonfilter med porstorlek 0,45 µm.	I samband med att det inte längre sker en pH-justering av provet är filtret i anrikningssteg inte längre ett positivt laddat nylonfilter utan ett hydrofilt filter av MCE typ (mixed cellulose ester).
IV. Eluering: Viruspartiklarna elueras från nylonfiltret med 50 mM glycinbuffert, pH 9,5 med 1 % köttextrakt i två steg: 1. Filtret skakas kraftigt i 30 sekunder i 2 ml buffert och eluatet tas tillvara. 2. Filtret inkuberas i ytterligare 2 ml buffert i 5 min under lätt skakning, eluatet tas tillvara.	Före eluering av viruspartiklarna från filtret, tvättas det med en låg koncentration av svavelsyra. Eluering sker sedan med en basisk Triton-X tvättlösning med backspolning av systemet.
V. Konditionering av eluat: Eluaten förs samman men utan att konditionering görs.	Eluatet pH-neutraliseras med svavelsyra.
VI. Anrikningssteg två: Eluaten koncentreras till 200 µl i mikrokonzentrator.	

Processmässigt har metoden behållit sin effektivitet; under metodoptimering kunde påvisning av ca 10 % (7–13 % för genogrupp ett, GI; 9–22 % för genogrupp två, GII) av tillsatt humant norovirus göras. Största fördelen med de ändringar som gjorts är att pH-justeringssteget är borttaget, det sparar mycket tid då provvattenvolymer i långtidsprovtagningsstudien har varit 4,5 liter (varav 0,5 liter används som en buffertvolymer för att luft inte skall penetrera filtreringssystemet).

En processkontroll har också lagts till för att vid varje anrikning uppskatta effektiviteten av filtreringen. Kontrollen som används är musnorovirus (murint norovirus, MNV-1), som orsakar diarré hos möss. Musnorovirus är ett vanligt surrogatvirus som används vid studier av humant norovirus för att det är odlingsbart till skillnad från humant norovirus. Musnorovirus ingår i genogrupp fem (GV). Anledning till att vi använder det som processkontroll är att det är närmare besläktat med humant norovirus än de andra virus som används som processkontroller (vanligtvis kattcalicivirus eller mengovirus). Humant norovirus och musnorovirus ingår i samma genus, medan kattcalicivirus ingår i ett annat genus under samma virusfamilj (*Caliciviridae*). Mengovirus tillhör en helt annan virusfamilj (*Picornaviridae*). Musnorovirus är icke patogent för människor och kan således hanteras lättare på laboratoriet. De molekylärbiologiska analyserna är så specifika att musnorovirus kan detekteras samtidigt som human norovirus utan växelverkan sinsemellan.

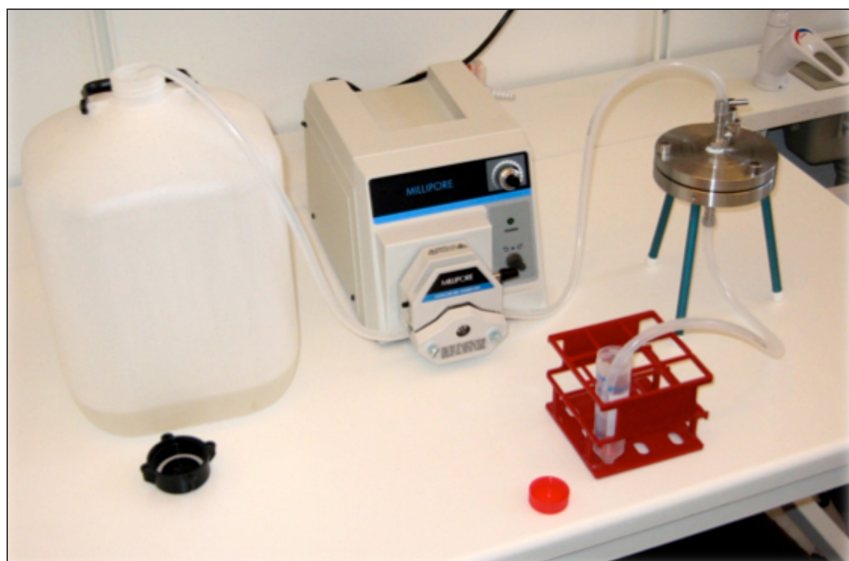
Vårt antagande är att musnorovirus är så nära besläktat human norovirus att det uppför sig på ett liknande sätt både fysiskt och kemiskt under filtreringen så att det ger en bättre uppskattning av processförlust för humant

norovirus jämfört med andra val av processkontroller. Musnoroviruset tillsätts i en känd mängd till vattenprovet samt till ett kranvattenprov som går parallellt. Skillnaden i detektionsnivå mellan provet och kranvattenkontrollen blir ett mått på förlusten över filtreringssteget. Det ursprungliga syftet var att använda denna förlustkoefficient till att räkna upp värdena på humant norovirus för att få ett mått på vad det ursprungliga vattenprovet innehåller per liter. Detta uppräknade värde skulle i så fall stämma bättre överens med vad som faktiskt finns i våra ytvattentäkter och ge ett bättre ingångsvärde för riskanalyser. I riskanalyserna är man dock intresserad av antalet infektiösa partiklar och detta motsvarar inte det uppräknade värdet då förmodligen endast en bråkdel av viruspartiklarna är infektiösa. På grund av riskerna med felfortplantning har förlustkoefficienten därför endast använts som ett mått på hur bra filtreringen fungerat och för att generera kvalitativ data om filtreringssteget.

Metoden har under 2011 satts upp vid det diagnostiska laboratoriet vid Länssjukhuset Ryhov i Jönköping för att användas inom VISK-projektet. Metoden kommer där att användas för analys av råvatten från Göta Älv.

5.2 *Metoden som använts i fas 2 – schematisk genomgång*

Den slutgiltiga metoden för anrikning av noroviruspartiklar från vattenprover har tre huvudsteg där det första steget avskiljer större partiklar och de två nästkommande är de primära anrikningsstegen. Principen i anrikningsmetoden är att reducera vattenvolymen och samtidigt bibehålla så många viruspartiklar som möjligt. Det ger då en koncentrationsökning till de nivåer som krävs för molekylärbiologiska analyser. I NORVID-metoden reduceras vattenprovet 20 000 gånger (från 4 liter ner till 200 mikroliter). Figur 5-3 visar hur en uppställning av metoden kan se ut på laboratoriet.



Figur 5-3 Bilden visar utrustningen som använts för anrikningsmetoden. En peristaltisk pump pressar vattnet igenom ett filter som är förspänt i ett filterhus.

En överskådlig beskrivning av den slutgiltiga metoden som använts i långtidsprovtagningen i NORVID följer nedan. Ett mera detaljerat protokoll återfinns i Appendix A.

5.2.1 Förfiltrering

Till ett 4,5-liters vattenprov tillsätts en känd mängd av musnorovirus (processkontroll). Vattenprovet skakas för att fördela de tillsatta viruspartiklarna jämt i hela volymen. Vattenprovet filtreras över ett glasfiberfilter med maxflöde på 450 ml per minut. Porstorleken på filtret är 2 µm och används för att avskilja större partikelaggregat från vattenprovet. Till filtratet tillsätts magnesiumklorid till en slutkoncentration av 25 mM och flockning startar likt den flockningsprocess som sker i dricksvattenverk.

Syftet med förfiltreringssteget är framförallt att avskilja större partiklar. I och med detta avskiljs troligen en hel del virus som är aggregerade till partiklar men utan denna avskiljning kan inte en tillräckligt stor volymreducering åstadkommas. Flockningen liknar den process som används i vattenverken. Syftet med denna process är att magnesiumjonerna skall hjälpa till att aggregera de negativt laddade noroviruspartiklarna till större partikelaggregat som kan fångas upp vid filtreringen i nästa steg.

5.2.2 Filtrering

Av 4,5 liter vatten filtreras 4 liter igenom ett MCE (mixed cellulose ester) filter med ett maxflöde på 200 ml per minut. MCE filtret är ett sterilt hydrofilt filter som används som ett standardmembran vid dricksvattenanalyser av fekala koliforma bakterier. Filtret har porstorlek 0,45 µm. När 4 liter av vattenprovet passerat filtret, tvättas det med 200 ml av 0,5 mM svavelsyra för att ta bort magnesiumjoner. Filtratet kasseras och 15 ml tvättlösning med ett högt pH recirkuleras i pumpsystemet i motsatt riktning för att eluera de adsorberade viruspartiklarna. Efter två minuter töms systemet och eluatet neutraliseras.

5.2.3 Ultrafiltrering

Återstående vattenvolym sätts till en mikrokonzentrator, vilket är ett litet ultrafilter som vätskan centrifugeras igenom. Mikrokonzentratorn har en avskiljningsgräns på 50 kDa¹. 50 kDa motsvarar ett kapsidprotein hos norovirus. En hel noroviruspartikels kapsid består av 180 stycken kapsidproteiner. Mikrokonzentratorn kylcentrifugeras i 35 min vid 4 000 g. Retentatet efter ultrafiltreringen är max 200 µl. Hela anrikningsprocessen är nu klar och nedanstående molekylärbiologiska analys används för att analysera provet för virusförekomst.

5.2.4 Molekylärbiologisk analys

Från den återstående vattenvolymen kan nu virusarvsmassan renas fram, i ett steg som kallas extraktion. Detta görs genom att tillsätta ett enzym som bryter ner kapsidstrukturen hos viruspartikeln som skyddar arvsmassan, för

¹ Dalton (1 Da $\approx$ 1,66 $\times$ 10⁻²⁷ kg), är en enhet som används för att beskriva storleken hos molekylära entiteter.

att sedan fälla ut arvsmassan ur vätskefasen med hjälp av alkohol. På laboratoriet är detta helt automatiserat och sker med hjälp av en kassett i en programmerad robot. Från extraktionen erhålls en volym på 60 µl som innehåller den koncentrerade virusarvsmassan från det ursprungliga vattenprovet.

Därefter syntetiseras komplementärt DNA (cDNA) från RNA, erhållet från den ovan nämnda extraktionen. cDNA är stabilare än RNA och går att detektera med en PCR-reaktion. PCR (polymerase chain reaction) är en molekylärbiologisk metod för att mycket specifikt mångfaldiga en liten del av arvsmassan som är intressant att detektera. I detta fall betyder det detektion av norovirus av genogrupp ett och två samt musnorovirus. Resultatet jämförs med en standardkurva med kända koncentrationer, och koncentrationen av viruspartiklar i provet kan beräknas utifrån de volymreduceringar som gjorts i anrikningen.

5.2.5 Resultatberäkning

PCR-metoden ger svar på antalet virusgenom per reaktion och måste räknas om till virusgenom per liter för att kunna användas i andra sammanhang (ex. MRA). Nedan följer en redogörelse för de volymberäkningar som använts för att räkna fram antalet virusgenom per liter.

Efter filtreringsstegen och RNA-extraktionen har den ursprungliga vattenvolymen på X (4 liter enligt protokollet, lägre för vatten med hög turbiditet) liter reducerats till 60 µl. Av 60 µl RNA konverteras 8 µl till 30 µl cDNA. Av cDNA används 2 µl till en reaktion. Totalt antal virusgenom per liter beräknas enligt:

$$\left\{ \frac{\text{virusgenom}}{\text{liter}} \right\} = \frac{\left\{ \frac{\text{virusgenom}}{\text{reaktion}} \right\} \times \frac{30}{2} \times \frac{60}{8}}{\left\{ \text{filtrerad vattenvolym} \right\}} = 112,5 \times \frac{\left\{ \frac{\text{virusgenom}}{\text{reaktion}} \right\}}{\left\{ \text{filtrerad vattenvolym} \right\}}$$

Så för ett prov där 4 liter vatten filtrerades och 57 virusgenom per reaktion kvantifierades fås:

$$\frac{57 \times 112,5}{4} \approx 1600 \text{ virusgenom per liter}$$

5.3 Användning av metoden – provtagning

Arbetspaket 2 (AP2) syftade främst till att genomföra en långtidsprovtagning av råvattentäkterna men det ingick även att vidareutveckla den analys av slam som påbörjades under fas 1. För slamanalysen togs ett begränsat antal slamprover ut vid några av vattenverken. Arbetet med slamanalyserna har utförts som ett examensarbete (Johansson, 2011) och i föreliggande rapport återges bara en kort beskrivning av examensarbetet då det inte varit en central del av NORVID-projektet. I AP3 (Provtagning på riskpunkter) valdes att fokusera på avloppsvatten då många sjöar och vattendrag är recipienter för renat avloppsvatten och avloppsbräddningar.

5.3.1 Provtagning av ytvatten

Då ambitionen var att kartlägga normalförekomst av norovirus i svenska ytvattentäkter utfördes råvattenprovtagningen i form av en långtidsstudie

med provtagning av tre svenska ytvattentäkter; Ringsjön (Sydvatten), Göta älv (Göteborg Vatten) och Mälaren (Norrsvatten och Stockholm Vatten) Figur 5-4.

Vattentäkterna

Ringsjön

Ringsjön är Skånes näst största sjö och är belägen mitt i Skåne. Sjön är indelad i tre delar som skiljs åt av smala sund. Ringsjön utgör reservvattentäkt för Sydvattens vattenverk Ringsjöverket. Ringsjöverket har tre olika intag i sjön, där djupen på samtliga varierar något med sjönivån. I medeltal ligger intagsdjupet på ett par meter. Vattenverket ligger i västra Ringsjön, där också utloppet från sjön är beläget. Ringsjön är, och har under lång tid varit, hårt belastad av näringsämnestillförsel från jordbruk och avlopp. Ringsjön räknas därför till de övergödda sjöarna i vårt land och det förekommer regelbundet kraftiga algbloomingar. Omsättningstiden i sjön är ca 1 år. Den ordinarie vattentäkten för Sydvattens vattenverk är Bolmen, som är belägen i sydvästra Småland. Under 2009/2010 renoverades Bolmentunneln, som leder vattnet de 10 milerna mellan sjön och verket. Ringsjön användes då till ordinarie vattendistribution och valdes därför också för provtagning i NORVID-projektet.

Göta älv

Göta älv är Sveriges största vattendrag, vattnet kommer via Vänern och Klarälven ända uppifrån Trysilfjället i Norge innan det når Nordsjön vid Göteborg. Flödet varierar från 80–900 m³/s med ett medelflöde på 550 m³/s. Göteborg Vatten tar vatten från Göta älv till sina två vattenverk Alelyckan och Lackarebäck. Intagsdjupet varierar med flödet i älven. Vatten pumpas till vattenverket vid Alelyckan och genom en råvattentunnel till Delsjöarna, där Lackarebäck tar sitt råvatten. Älven är recipient för ett antal reningsverk och industrier i kommuner uppströms Göteborg. I tillrinningsområdet finns också mycket jordbruksmark som påverkar vattenkvaliteten. Eftersom flödet är högt i älven är uppehållstiden mycket kort och man talar om så kallat pluggflöde där föroreningar snabbt passerar. Göteborg Vatten har mätstationer längs älven som hela tiden kontrollerar vattenkvaliteten. Vid exempelvis för höga bakteriehalter stängs intaget och vatten tas istället från Delsjöarna till båda vattenverken. Provtagning i NORVID har dock hela tiden skett på älvvattnet.

Mälaren

Mälaren är Sveriges tredje största sjö och är belägen i mellersta Sverige i landskapen Västmanland, Uppland och Södermanland. Stockholm Vatten och Norrsvatten tar båda vatten från Mälaren till sina vattenverk. Intagsdjupet till Görvälnverket (Norrsvatten) är beroende på vattenkvalitet och ligger antingen på 4 meter (isbelagda delen av året) eller 22 meter (övriga delar av året). Norsborgs vattenverk (Stockholm Vatten) har sitt intag på 11 meters djup. Vattenverken ligger i den östra delen av sjön medan det största tillflödet sker i nordvästra delen av sjön. Tillrinningsområdet omfattar ca 60 kommuner och sjön är recipient för en stor volym av olika typer av utsläpp, så som kommunala avloppsreningsverk, dagvatten och industrier. Omsättningstiden i Mälaren är ca 2 år. Den befolkningstillväxt som förutses

i Mälärregionen innebär en ökad tillförsel av föroreningar, inklusive norovirus, i en redan intensivt recipientutnyttjad sjö. Sjön är förutom vattentäkt åt Stockholm även vattentäkt åt kringliggande kommuner.

Långtidsprovtagning – utförande

Prover om 2x10 liter togs ut två gånger i månaden vid fyra ytvattenverk; Ringsjöverket (Ringsjön), Alelyckan (Göta älv), Görvälns vattenverk (Mälaren) och Norsborgs Vattenverk (Mälaren). Proven skickades omgående med kylfrakt till Linköping för vidare hantering och analys. Provtagningen av råvatten startade i augusti 2010 och avslutades i september 2011. Provtagningen hade då pågått drygt ett år med ett överlapp på ca 1 månad.

I samband med provtagningarna analyseras även andra parametrar som antogs vara relevanta inom projektet, så som temperatur, pH, turbiditet, Pres. Clostridier, E. coli (colilert), Koliformer (colilert), TOC och COD.

5.3.2 Slamanalyser

Anledningen till att analys av slam från dricksvattenberedningen skulle vara intressant är en hypotes om att mycket viruspartiklar skulle återfinnas här då det skulle sedimentera efter flockningsprocessen och anrikas. Förhoppningen var att halterna skulle vara relativt höga då avskiljningen av virus bedöms till 2–3 log. Det skulle dessutom teoretiskt motsvara hela tidsperioden mellan två slamtappningar.

Vid Linköpings Universitet utförde en teknologstudent ett examensarbete för att avgöra huruvida det skulle vara möjligt att analysera slammet, och utforma en metod som skulle vara tillräckligt känslig. Slamproven spikades med musnorovirus och olika metoder jämfördes för att se vad som fungerade bäst. Huvudmetoden bestod av avvattning av proverna för att sedan ”lösgöra” viruspartiklarna från slammet med olika angreppsätt. Metoden förbättrades och fungerade bra för musnorovirus på laboratoriet.

I slutet applicerades metoden på en kort tidsserie slamprover för att analysera dem för humant norovirus. Dock påträffades inget humant norovirus. Huruvida det var på grund av att det inte anrikats i större mängder i slammet eller om metoden inte var tillräckligt känslig är inte ännu klarlagt. (Johansson, 2011)

5.3.3 Riskpunkter

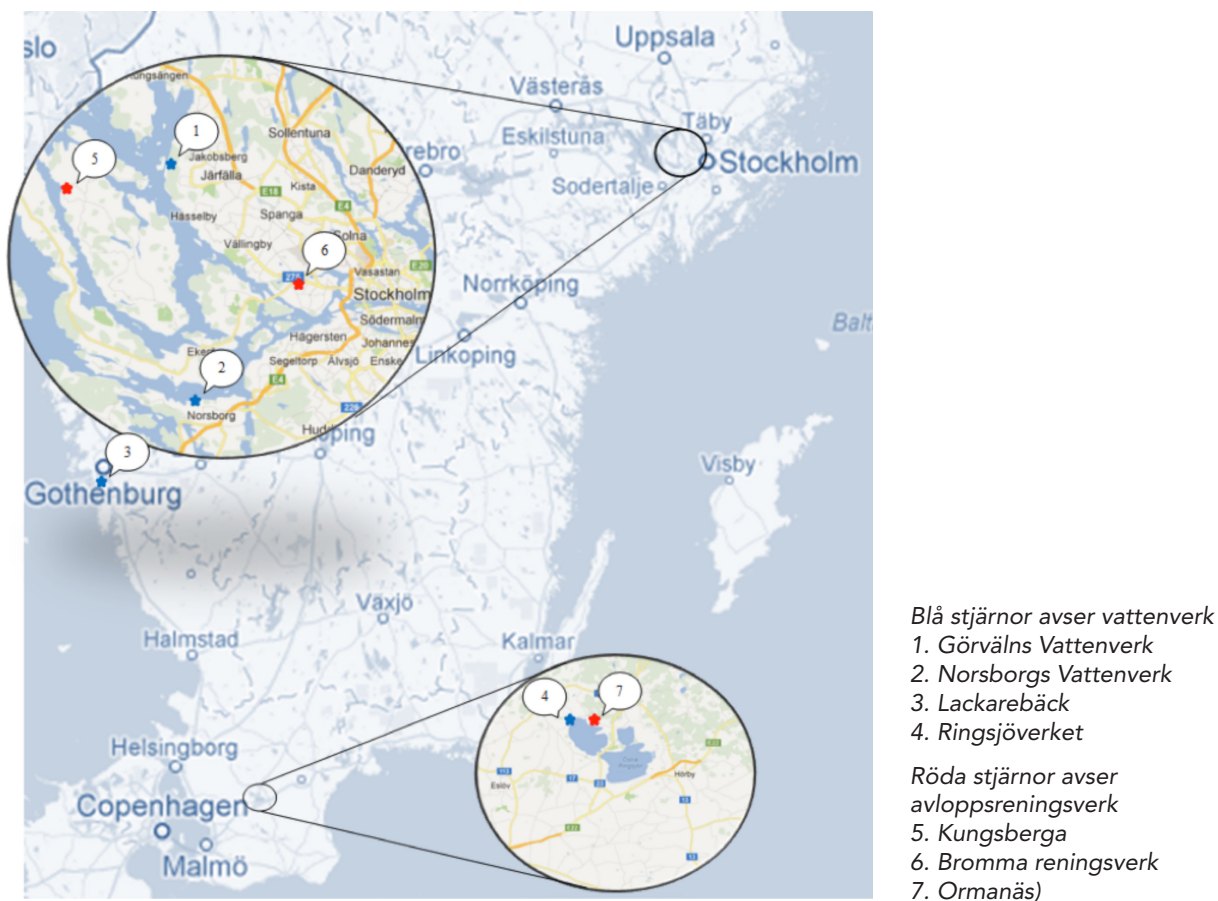
Vid långtidsprovtagningen i AP2 påvisades norovirus i samtliga vattentäkter, Mälaren, Göta älv och Ringsjön. Norovirus kan tillföras till vattentäkterna via

- a. utsläpp av renat avloppsvatten
- b. bräddning av orenat avloppsvatten
- c. spillvattenpåverkade dagvattenutsläpp
- d. utsläpp från enskilda avloppsanläggningar inom täktens tillrinningsområde samt från fritidsbåtar i samband med tömning av toalettavfall

Av ovanstående föroreningskällor bedömdes de till halt och volym största riskpunkterna för norovirusutsläpp vara renat, resp. orenat avloppsvatten (bräddavloppsvatten). Samtliga undersökta vattentäkter är recipienter för avloppsvatten. Kunskapen om norovirus kopplat till dessa riskpunkter är

dock bristfällig. Syftet med AP3 var att närmare studera virushalter i inkommande och utgående avloppsvatten vid några avloppsverk vid Mälaren resp. Ringsjön. Motsvarande studier när det gäller påverkan på Göta älv genomförs inom ramen för VISK varför NORVID fokuserat på övriga vattentäkter.

Avloppsverk kan se väldigt olika ut och reningsgraden för virus varierar beroende på vilka reningsprocesser som används och hur noggrant processerna övervakas. För att få en uppfattning om skillnaden i virushalter i inkommande och utgående vatten valdes tre olika avloppsverk ut. De är tänkta att representera tre olika storlekar på typiska kommunala reningsverk; ett litet med ett par hundra anslutna, ett mellanstort med ett par tusen anslutna och ett stort med några hundra tusen anslutna. De tre avloppsreningsverken (Kungsberga, Ormanäs och Bromma) Figur 5-4 valdes ut baserat på dess storlek samt att logistiken skulle bli hanterbar. Bromma reningsverk släpper visserligen inte ut sitt renade avloppsvatten till Mälaren utan till Östersjön men får ses som en modell för stora reningsverk.



Figur 5-4 Ytvattenverk och avloppsreningsverk som ingår i projektet.

Kungsberga ARV

Kungsberga reningsverk är beläget på Färingsö i Mälaren och utsläpp av renat avloppsvatten sker till Långtarmen strax väster om Färingsö. Anläggningen är dimensionerad för 500 pe. I nuläget är 410 pe anslutna.

Reningsprocessen består av:

- silning genom Rotostrainer
- behandling i biobädd
- kemisk fällning med AVR
- sedimentering och snabbfiltrering

Under de senaste åren har problem uppstått i biosteget och utbyte har skett av bl.a. bärarmaterial i biobädden.

Ormanäs

Ormanäs avloppsverk är beläget vid Ringsjön, vars västra del utgör recipient. Antalet anslutna personer motsvarar 5 000 pe.

Reningsprocessen består av:

- rensgaller
- sedimentation i sandfång
- försedimentering
- biosteg -aktiv slamprocess (inklusive kvävereduktion)
- mellansedimentering,
- fällning (PAX) samt snabbfiltrering

Bromma reningsverk

Bromma reningsverk renar avloppsvatten från cirka 290 000 människor i Stockholms norra och västra delar, Sundbyberg samt delar av kommunerna Järfälla och Ekerö. Det renade avloppsvattnet leds ut till Saltsjön. Bräddavloppspunkter finns till östra Mälaren.

Reningsprocessen består av:

- rensgaller
- sandfång
- fällning (järnsulfat)
- biologisk rening inklusive kvävereduktion
- eftersedimentering och filtrering (genom en bädd av lecakulor)

5.3.4 Provtagningsförfarande

I AP3 kunde bara en begränsad mängd prover analyseras. Då halterna troligast är högst under den period då vinterkräksjukan cirkulerar i samhället valdes att ta prover under denna period. Stickprover på inkommande- och utgående avloppsvatten togs ut 1 ggr/vecka under perioden vecka 3–10, 2012. Från Bromma och Kungsberga saknas dock prov från vecka 4 p.g.a. miss med provtransporten till Linköping. Provvolymer var 1 liter/provtagningsstillfälle.

5.3.5 Analysmetod

Analysmetoden för avloppsvatten skiljer sig från metoden för råvatten. För avloppsvatten används en precipiteringsteknik baserad på långa polymerkedjor av polyetylenglykol (PEG), med molekylmassa på 8 000 g/mol (PEG-8 000). Det är en välbeprövad teknik för avloppsvatten, och flertalet olika varianter har använts av andra (Huang, Laborde, Land, Matson, Smith, & Jiang, 2000). PEG sänker lösligheten för proteiner och kan användas för att sedimentera viruspartiklarna i avloppsvattnet (Atha & Ingham, 1981).

Praktiskt så grovcentrifugeras ett 40 ml avloppsvattenprov först i 4 300 g i 30 minuter vid 4° C, och supernatanten tas tillvara. Provet pH-justeras till 7,3 med 5 M NaOH, och NaCl (17,5 g/liter) och PEG-8 000 (80 g/liter) tillsätts. Provet för skakas sakta i kylrum över natten. Därefter centrifugeras provet vid 10 000 g i 90 minuter vid 4° C och supernatanten tas bort och den geléliknande pellet som är kvar återsuspenderas i 700 µl PBS. Provet är därefter klart för vidare nukleinsyraextraktion och molekylärbiologiska analyser. Fördelarna med metoden är att det är relativt få steg och turbiditeten har ingen inverkan på metoden såsom den har vid en filtrering. Detektionsgränsen för metoden är runt 100 kopior per liter avloppsvatten.

5.4 Resultat och diskussion

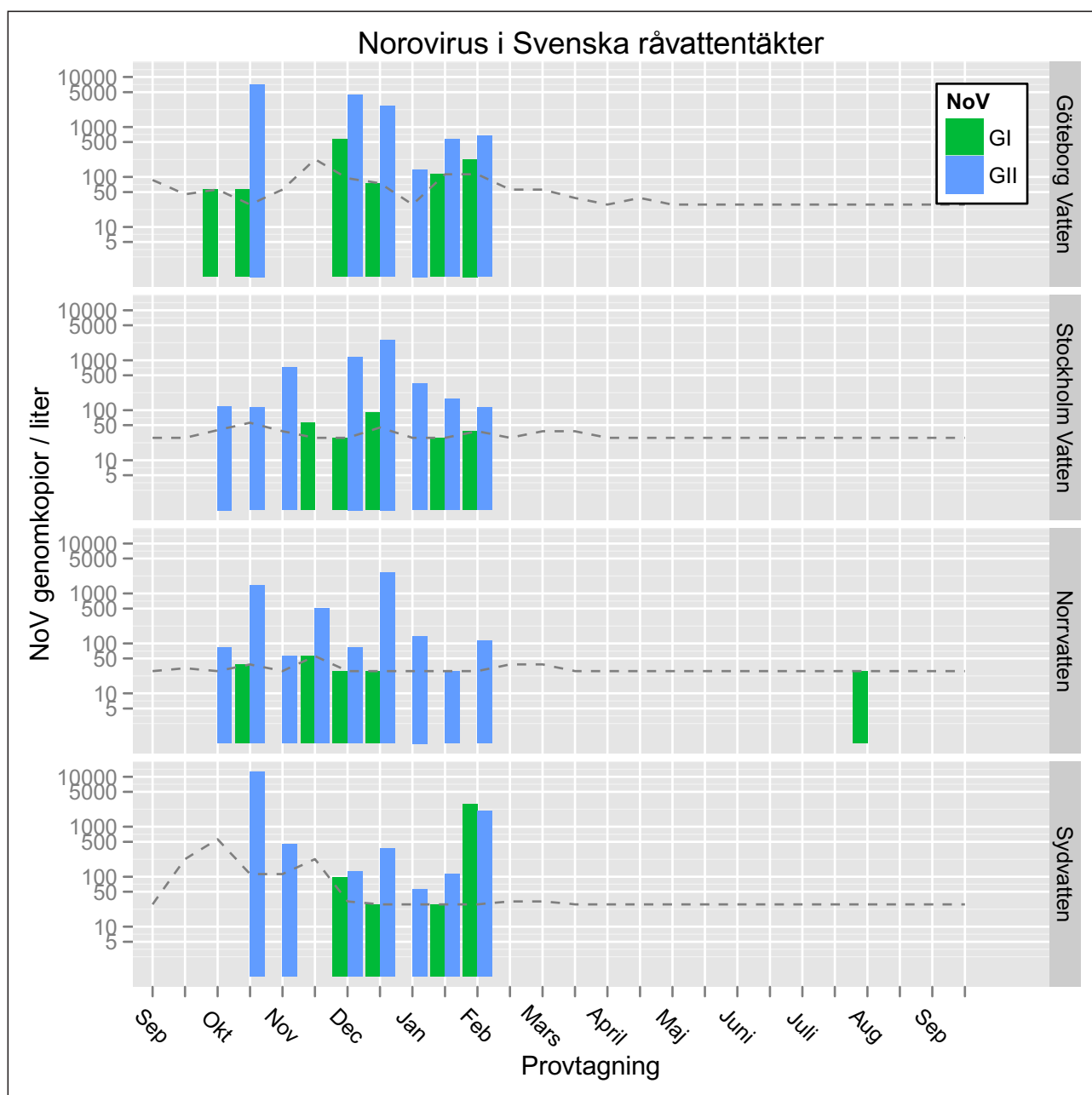
5.4.1 Långtidsprovtagning av ytvatten

Den i NORVID framtagna metoden för anrikning av norovirus i råvatten (se 5.2) har applicerats på en serie om totalt 104 vattenprover tagna från råvattenintaget till fyra olika ytvattenverk under en ettårsperiod från augusti 2010 till september 2011. Proverna har sedan analyserats för norovirus av genogrupp ett och två (GI och GII) med molekylärbiologisk metod.

Med metoden har norovirus detekterats och kvantifierats i prover från samtliga vattenverk (Figur 5-5). Uppmätta maxvärden är 3 000 virusgenom per liter råvatten (februari 2011, Sydvatten) för GI, samt 10 000 virusgenom per liter råvatten (oktober 2010, Sydvatten) för GII. Halten virusgenom av GII har visat sig vara signifikant högre än halten GI (Welch's t-test, $p < 0,05$). De positiva fynd som gjorts kommer främst från de kallare månaderna på året, vilket också bekräftades genom Fischer's exakta test ($p < 0,05$). Det gjordes även ett sporadiskt fynd av GI i augusti 2011 från Norrvatten.

För dessa statistiska test har ingen detektion tolkats som nolla, för t.ex. MRA kan det vara av intresse att räkna fram en fördelningsfunktion för norovirus i råvattentäkterna och då måste nollvärdena behandlas. Antingen brukar de anges som halva detektionsgränsen eller med hjälp av statistiska metoder som skiljer på "sanna" nollor och nollor som kommer från artefakter från metoden. Exempelvis på sådan statistisk metod är zero-inflated modeller, såsom zero-inflated Poisson regression. Dessa metoder är inte vanliga eller triviala och är ej möjlig som inmatningsfunktion i den MRA-modell som använts.

Att det är främst under vintermånaderna vi hittar norovirus i råvattentäkterna skulle kunna förklaras med hur stabila viruspartiklarna är vid olika vattentemperaturer. Både vårt resultat (Tabell 5-1) och litteraturen (Greer, Drews, & Fisman, 2010) visar på ett omvänt förhållande mellan vattentemperatur och förekomst av noroviruspartiklar. Norovirus GI verkar vara stabilare i miljön (Maunula, Miettinen, & von Bonsdorff, 2005) än GII och har hittats i stort sätt året runt, detta kan förklara det ensamma fyndet av GI som gjordes i Mälaren i augusti 2011. En spekulation är att vid högre vattentemperatur är mikroorganismer mer aktiva och bidrar med proteinnedbrytande ämnen som inaktiverar och förstör viruspartiklar, medan aktiviteten hos dem sänks när vattentemperaturen sjunker. Vattenmatrisen förändras



Figur 5-5 Koncentrationer av norovirus från genogrupp ett och två (GI och GII) under en ettårsperiod från september 2010 till september 2011. Den streckade linjen markerar var detektionsgräns ligger för varje prov. Ingen hänsyn till processförlust är tagen i värdena. Positiva fynd har verifierats med smältkurvsanalys och storlek på PCR-produkten.

även under året vilket kan göra att virus under vissa förhållanden lättare aggregerar till andra partiklar som filtreras bort i förfiltreringen. Detta skulle kunna förklara att processförlusterna var större under den varmare delen av året vilket i sin tur kan till del dölja en del träffar. Tillförseln kan misstänkas minska under sommarhalvåret då vinterkräksjukan inte cirkulerar i samhället i samma utsträckning som under vinterhalvåret. Vattnet kan vara skiktat vilket under sommaren minskar påverkan från ytliga utsläpp av dag- och avloppsvatten då råvatten om möjligt tas under språngskiktet.

Det är viktigt att poängtera att PCR-metoden endast detekterar antalet kopior av arvsmassan, vilket inte speglar antalet infektiösa viruspartik-

lar. Detta faktum i kombination med att det finns en betydande förlust över filtreringssteget gör det svårt att diskutera kring den verkliga halten av infektiöst norovirus i råvattentäkterna. Till exempel, om processkontrollen används som en förlustfaktor och utnyttjas för att räkna upp norovirus-halterna hamnar maxvärdet på $2,6 \times 10^7$ virusgenom per liter. Förhållandet mellan infektiösa partiklar och total mängd arvsmassa tros bero på karaktären på vattnet, och kan variera från en infektiös viruspartikel per 20 till 10^4 kopior arvsmassa (Lodder W. , van den Berg, Rutjes, & de Roda Husman, 2010). Dessa beräkningar skulle omvandla tidigare nämnda maxvärde till mellan $2,6 \times 10^4$ och $1,3 \times 10^6$ infektiösa viruspartiklar per liter, ett helt klart icke obetydande intervall.

För samtliga vattenprover har även kemiska och mikrobiologiska standardparametrar mätts i samband med provtagningen, inklusive indikatororganismer för fekal förorening såsom *E. coli* och *Clostridier*. För att ta reda på huruvida dessa standardparametrar korrelerar med fynd av norovirus beräknades Spearman rank *correlation coefficient* för dem (Tabell 5-1). Ingen korrelation mellan halter av norovirus och någon av de uppmätta kemiska eller mikrobiologiska standardparametrarna kan ses. Det tyder på att det med de vanligen använda analyserna på vattenverk inte går att avgöra om det finns risk för en noroviruskontamination av råvattentäkten, vilket andra studier också visat på (Maunula, o.a., 2012).

Det här är första gången den inom NORVID utvecklade metoden har applicerats på vattenprov från råvattentäkter. Genom att studera hur processkontrollen (det tillsatta musnoroviruset) i de olika råvattenproverna påverkas i jämförelse med kranvattenkontrollen går det att uppskatta effektiviteten hos anrikningsmetoden. Under studiens gång har det framkommit att råvattenparametrar har en betydande inverkan på filtreringen, där framförallt vattnets turbiditet har avgjort hur mycket vatten som har gått att filtrera. Vissa vatten har gått betydligt lättare och haft god anrikningseffektivitet, medan andra har haft sämre. En lärdom som dragits i denna studie är att filtreringsmetod som bygger på "dead-end"-teknik (all volym passerar filtret), d.v.s. ingen återcirkulerande filtrering, bör optimeras för varje typ av

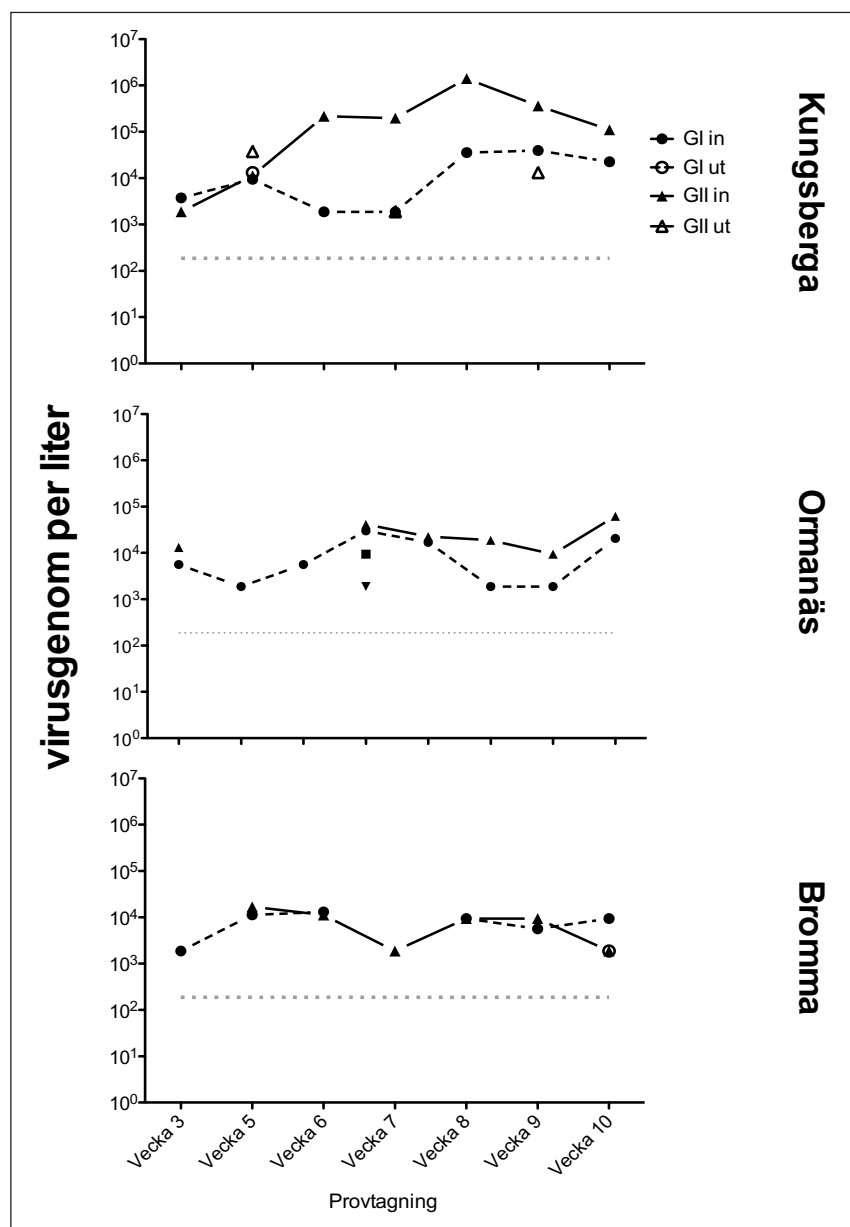
Tabell 5-1 Spearmans rank korrelations koefficient matrix för uppmätta noroviruskoncentrationer och vattenparametrar för proverna. Uträkningen är gjord utan stratifiering på vattenverk. N = 82. Signifikanta korrelationer är utmärkta med fet stil.

	pH	Temp.	FNU	Clostridier	E. coli	Koliforma bakterier	TOC	COD	GI	GII
pH	1,00									
Temperatur	0,16	1,00								
FNU	-0,11	0,44	1,00							
Clostridier	-0,19	0,04	0,61	1,00						
E. coli	-0,23	0,25	0,74	0,71	1,00					
Koliforma bakterier	-0,35	0,36	0,62	0,50	0,72	1,00				
TOC	0,69	0,22	0,07	-0,25	-0,17	-0,18	1,00			
COD	0,71	0,17	0,02	-0,12	-0,10	-0,20	0,82	1,00		
Norovirus GI	-0,07	-0,31	0,02	0,10	0,02	0,12	-0,14	-0,16	1,00	
Norovirus GII	0,06	-0,38	-0,11	-0,04	-0,04	0,09	-0,09	-0,12	0,64	1,00

vatten, en slutsats som även dragits av andra (Rodríguez, Thie, Gibbons, & Sobsey, 2012). Metoder som bör vara mindre känsliga för den inneboende heterogeniteten hos vattenprover skulle exempelvis kunna vara metod som bygger på "crossflow"-teknik d.v.s. återcirkulerande filtrering, eller någon form av precipiteringskemi. Dessa skulle minimera problem med igensättning av filtren pga. partiklar i vattenprovet.

5.4.2 Riskpunkter – avlopp

För de tre undersökta avloppsreningsverken kunde norovirus detekteras och kvantifieras i samtliga prover på inkommande avloppsvatten. I flertalet prover på utgående renat avloppsvatten kunde norovirus däremot inte detekteras. Samtliga avloppsprover analyserades för både GI och GII och analyserna visade att vissa prover innehöll båda genogrupperna medan andra innehöll enbart den ena. Resultaten visas i Figur 5-6. Avskiljningen i de olika avloppsverken är svår att uttala sig om då både in- och utproverna



Figur 5-6

Halter av norovirus från GI och GII i inkommande samt utgående avloppsvatten från högriskprovtagningen i AP3 från avloppsreningsverk.

Norovirus detekteras vid alla provtagningstidpunkter i det inkommande avloppsvattnet men endast vid två tidpunkter för det utgående vattnet. Den prickade linjen motsvarar detektionsgränsen för metoden.

togs i stort sett vid samma tidpunkt utan hänsyn tagen till uppehållstiden i respektive verk. Detta var inte heller syftet med studien. Trots få fynd av detekterbara halter i utgående renat avloppsvatten visar ändå analysresultaten på att norovirus kan tillföras recipienten i relativt höga koncentrationer, dels i form av bräddat orenat avloppsvatten och dels som otillräckligt renat avloppsvatten. Detta har även visats i tidigare studier i Sverige (Nordgren J., Matussek, Mattson, Svensson, & Lindgren, 2009). Vilken betydelse tillförsel av norovirus via avloppsreningsverk eller avloppssystem skulle kunna ha på nedströms belägna dricksvattenverk beror på ett flertal faktorer och har inte studerats närmare med provtagning. Däremot har en riskvärdering gjorts med avseende på detta som återfinns i rapportens senare del (6.7).

Det kan konstateras att halterna av norovirus GII i inkommande avloppsvatten var genomgående högre vid Kungsberga reningsverk (högsta uppmätta halt $1,4 \times 10^6$ virusgenom per liter) jämfört med de vid Ormanäs (högsta uppmätta halt $1,6 \times 10^4$ virusgenom per liter) och Bromma (högsta uppmätta halt $6,1 \times 10^4$ virusgenom per liter). Möjliga orsaker till dessa halt-skillnader har inte vidare utretts i denna studie.

5.5 Slutsats – del 1

Metoden som utvecklades i fas 1 med vidare utveckling i fas 2 har applicerats på en långtidsprovtagning och genererat data om norovirusförekomst och halter i svenska ytvattentäkter. Detta är enligt författarnas kännedom första gången norovirus direkt har påvisats i svenska ytvattentäkter utan utbrottsmisstanke.

Vattenprover från fyra ytvattentäkter har under ett år analyserats för förekomst av norovirus, GI och GII (GIV kan ge symtom hos människa men har ej inkluderats i analyserna i NORVID). Norovirus påträffades främst under den kallare perioden av året. Halterna av norovirus GII var högre än halterna av GI. Norovirus GII är framförallt den genogrupp som detekteras vid stora person-till-person-utbrott vintertid, vilken ger upphov till den klassiska vinterkräksjukan. Det har inte gått att påvisa någon korrelation mellan förekomst eller halter av norovirus och de konventionella indikator-organismerna, vilket försvårar tidiga varningssystem.

Även om metoden som utvecklats och applicerats i detta projekt visserligen delvis har robotiserats och snabbats upp är den ändå tidskrävande och innehåller flertalet manuella steg. En filtreringsomgång med fyra stycken prov tar ca en och en halv arbetsdag från start till resultat. De flera manuella stegen har möjligen haft en betydelse på robustheten i metoden. Vid framtida studier där flertalet olika råvattentäkter inkluderas bör man välja metod som är mindre känslig för heterogeniteten i vattenproverna (framförallt turbiditeten) för att minska variationen i metoden och underlätta inbördes jämförelse. Den utvecklade anrikningsmetoden är en av fåtalet metoder i dagsläget för att koncentrera virus från vattenprov för detektion och kvantifiering med PCR-teknik. Erfarenheterna från NORVID-projektet kommer kunna bidra till framtida ansatser att utveckla en känsligare och robustare metod då intresset att studera virusförekomst i vatten är relativt nytt och eftertraktat. En av de främsta styrkorna med NORVID-metoden är att det

inte sker några delningar på den analyserade vattenvolymen, dvs. att i varje steg i anrikningsmetoden används hela föregående volym. Detta var en avsiktlig konstruktion i utarbetandet av metoden.

Metoden är baserad på en PCR-metod och mäter koncentrationen av virusgenom och kan därför inte säga något om infektiösiteten hos de viruspartiklar som återfinns i vattenproverna.

Norovirus av båda genogrupperna GI och GII påvisades i inkommande avloppsvatten till avloppsreningsverk. Vid enstaka tillfällen detekterades det även i det utgående avloppsvattnet. Det kan konstateras att det finns en betydande risk för viruskontamination från avloppsvatten till svenska ytvattentäkter.

6 Del 2 – Användning av resultaten

Resultaten från analyserna av råvatten (Arbetspaket 2) och inkommande samt utgående vatten från avloppsreningsverk (Arbetspaket 3) ger en uppfattning om vilka halter som normalt kan förväntas i svenska ytvattentäkter samt hur dessa kan variera. Detta utgör i sin tur en viktig grund i bedömningen av vad vattenverken skall klara av att hantera för att leverera ett dricksvatten som är hälsosamt och rent till konsumenterna. För att exemplifiera hur resultaten kan användas presenteras här två riskvärderingsmetoder, GDP-verktyget samt MRA-modellen, som bägge är fritt tillgängliga via Svenskt Vattens hemsida (www.svensktvatten.se). Med dessa riskvärderingsmetoder som grund diskuteras hur de erhållna analysresultaten från AP2 och AP3 kan bedömas i förhållande till den avskiljning som kan förväntas för olika processkombinationer vid svenska ytvattenverk. Även inverkan av driftstörningar och avloppsbräddning bedöms och diskuteras.

6.1 Syfte

Mikrobiologisk riskvärdering är ett viktigt moment i kontrollen av ett vattenverks funktion och säkerhet. Ytterst få vattenproducenter i Sverige har dock analyserat virus och andra patogener, istället värderas riskerna oftast utifrån indikatororganismer eller litteratordata över patogenförekomst. Syftet med detta rapportavsnitt är att visa på hur de norovirushalter som uppmätts kan värderas utifrån ett riskperspektiv samt att ge en vägledning för vilka reduktionskrav som bör ställas och vilken reduktion som man kan förvänta sig att uppnå med olika reningstekniker. Med ambitionen att täcka in de vanligaste processkombinationerna har ett generellt (fiktivt) vattenverk använts liksom en någorlunda typisk svensk ytvattentäkt. Data från verkliga vattenverks olika processteg och från de råvattentäkter som ingått i projektet ligger till grund för valda indata till riskvärderingsmetoderna.

6.2 Kvantitativ mikrobiologisk riskvärdering

Kvantitativ mikrobiologisk riskanalys, på engelska Quantitative Microbial Risk Assessment förkortat QMRA, är användbart för att beskriva ett vattenverks reningsförmåga och risken för att det producerade dricksvattnet ska orsaka mikrobiologisk smitta. Angreppssättet i QMRA grundar sig på statistisk behandling av ingående data. Hänsyn tas exempelvis till spridningen inom varje variabel så att t.ex. barriärverkan i varje enskilt reningssteg kan behandlas som numeriska sannolikheter. QMRA förespråkas bl.a. av WHO (WHO, 2011) och i t.ex. Holland är det ett krav att alla dricksvattenproducenter genomför en QMRA för sin process (Lodder W. J., van den Berg, Rutjes, & de Roda Husman, 2010).

De indata som behövs till en QMRA är råvattenhalter, avskiljnings- och inaktiveringsdata, dosrespons samband, konsumtionsmönster, felfrekvens i

reningsstegen samt en detaljerad processbeskrivning. Eftersom vattenproducenter ibland antingen saknar delar av detta underlag eller har indata som är av bristfällig kvalitet har Norsk Vann och Svenskt Vatten tagit fram varsin metod som underlättar bedömningen, GDP-verktyget respektive MRA-modellen. GDP-verktyget har byggt in en del av QMRA-tankesättet och förenklat hanteringen så att beräkningarna ska gå att genomföra manuellt på ett lättförståeligt sätt. Tanken med MRA-modellen är att den ska tillgängliggöra en mer avancerad QMRA utan att användaren behöver ha någon djupare kunskap om hur de bakomliggande statistiska beräkningarna utförs. GDP-verktyget kan därför ses som mer grundläggande medan MRA-modellen ger utrymme för fler variationer och studier i hur olika processfel i vattenverket påverkar de mikrobiologiska riskerna för konsumenten. MRA ger en kvantifiering av antalet som riskerar att bli infekterade, medan GDP bara ger en kvalitativ uppskattning.

6.2.1 Beskrivning av GDP-verktyget

Grundtanken i GDP, God DesinfektionsPraxis, (Ødegaard, Østerhus, & Melin, 170-2009, 2009) är att utgående från en klassificering av råvattnet ställa krav på vilken rening som krävs. Det finns åtta klassningsnivåer (A, B, Ca, Cb, Cc, Da, Db och Dc) där A motsvarar den minst mikrobiologiskt förorenade tåkten och Dc den mest förorenade. Råvattenklassen beskriver i sin tur, tillsammans med vattenverkets storlek, vilket reningskrav, eller barriärhöjd, som vattenverket måste nå upp till. I råvattenklassningen ingår inte analyser av virus men modellen hanterar reningskrav för virus baserat på andra parametrar (E. coli, Clostridium perfringens och parasiterna Giardia och Cryptosporidium). För att nå upp till barriärhöjden måste tillräckliga åtgärder och reningsprocesser sättas in så att deras sammanlagda barriäreffekt på reduktionen av mikroorganismer överstiger den barriärhöjd som satts upp.

Barriäreffekten bedöms utifrån tre delar; åtgärder som vidtagits i vattentåkten för att säkerställa bibehållen råvattenkvalitet, vattenverkets avskiljande barriärer samt desinfektionens barriäreffekt. Summan av dessa barriärer jämförs sedan mot kravet på barriärhöjd. Resultatet indikerar om den uppnådda barriäreffekten är tillräcklig för att det producerade dricksvattnet ska uppnå en rimlig mikrobiologisk kvalitet.

I GDP beskrivs både barriärhöjden och barriäreffekten som den log-reduktion som krävs för respektive grupp av mikroorganismer; bakterier (b), virus (v) respektive parasiter (p). De skrivs alltid i denna ordning och på formen $X_b + X_v + X_p$, där X anger antal logs reduktion. För beskrivning av begreppet log-reduktion se kapitel 6.3.

Precis som i många andra bedömningar avgör kvaliteten på använd data kvaliteten på resultatet. Resultatet skall därför alltid värderas tillsammans med en risk- och sårbarhetsanalys och datakvalitetsvärdering. Inom detta projekt genomförs bedömningarna utifrån ett fiktivt vattenverk och därför är det inte möjligt att göra dessa kvalitetsvärderingar med samma omfattning som de bör göras i verkligheten. Reduktionen i de olika stegen i vattenverket som erhålls med GDP-verktyget bör med fördel jämföras med resultaten som erhålls från MRA-modellen.

6.2.2 Beskrivning av MRA-modellen

Datormodellen MRA baseras på QMRA-metoden och är framtagen som ett hjälpmedel för att genomföra mikrobiologiska riskvärderingar för vattenverk. MRA-modellen tar hänsyn till patogenhalten i råvattnet, avskiljningen över de olika processtegen vid normaldrift och vid driftstörningar, dos-responssamband för de ingående patogenerna samt konsumtionsmönster. Modellen är uppbyggd kring indata från ett mycket stort antal försök och vetenskapliga artiklar. Finns egna analysdata kan dessa matas in istället. I den tillhörande rapporten från Svenskt Vatten (Lundberg Abrahamsson, Ansker, & Heinicke, 2009) finns anvisningar för lämpliga värden som kan sättas in om egna analysdata saknas. Liksom i många andra sammanhang beror dock kvalitén på utdata (resultatet) på kvalitén i indata, dvs. ju mer platsspecifik och utförlig data som används desto mer relevanta resultat.

Modellen lämpar sig bäst för jämförande studier och kan exempelvis ge svar på hur reningseffekten påverkas av driftstörningar, vilka reningssteg som är viktigast att upprätthålla, vilket reningssteg som ger bäst effekt om man funderar på att utöka sin process och hur risken påverkas om halten av en viss patogen i råvattnet ökar eller minskar. Resultatet av risk- och sårbarhetsanalysen ger information om vilka risker i tåkten som är störst och i modellen kan effekten av om dessa inträffar simuleras.

Resultaten erhålls i form av statistiska fördelningar, antingen som log-reduktion för hela eller delar av processen eller som risk för att det producerade vattnet orsakar infektion. Modellen hanterar olika patogener som bakterier (*Campylobakter*, EHEC och *Salmonella*), virus (norovirus, rotavirus och adenovirus) och parasiter (*Cryptosporidium* och *Giardia*). Ovanstående resultat erhålls för varje enskild patogen. Vid tolkning av resultaten är det viktigt att ta hänsyn till den statistiska fördelningen och att sätta dem i relation till övrig information som finns.

Det är även viktigt att påpeka att MRA-modellen, liksom GDP-verktyget, inte gör anspråk på att återge verkligheten utan ska ses som ett hjälpmedel för att skapa förståelse för hur den egna processen fungerar och i förlängningen kunna användas i mer omfattande risk- och sårbarhetsanalyser. Den kan även hjälpa till i prioriteringen av vilka åtgärder, i både vattenverket och vattentåkten, som har störst effekt.

6.3 Beskrivning av log-begreppet

Det finns ett flertal sätt att beskriva hur mycket av en förorening som reduceras över olika reningsprocesser, såsom hur stor andel som renas bort, som procent eller som det ofta uttrycks i dricksvattensammanhang, som log-reduktion. Log-reduktion beskriver reduktionen uttryckt som exponenten i en logaritmisk skala med basen tio, dvs. underförstått Log₁₀-reduktion.

Låt säga att halten av en viss substans reduceras med 90 % över ett reningssteg, vilket innebär att en tiondel av den ursprungliga halten återstår. Halten har då reducerats med en faktor 10 ($= 10^1$) och reduktionen kan beskrivas av exponenten, d.v.s. som 1 logs reduktion. Motsvarande gäller för högre (och lägre) reduktioner; reduktion med en faktor 100 (en hundradel

återstår) motsvaras av $2 \log (10^2 = 100)$, reduktion med en faktor 1 000 (en tusendel återstår) motsvaras av $3 \log (10^3 = 1\,000)$, o.s.v. En enkel minnesregel blir således att: 1 log = 90 % har avlägsnats, 2 log = 99 % har avlägsnats, 3 log 99,9 % har avlägsnats, 4 log = 99,99 % har avlägsnats. För att beräkna log-reduktionen används följande uttryck: $\log\text{-reduktion} = \log (N_0/N)$ där N_0 är antalet före reningssteget och N är antalet efter.

6.4 Indata

De indata som används vid genomförande av den mikrobiologiska riskanalysen är av avgörande betydelse och resultaten måste alltid sättas i relation till valet av indata. De indata som ligger till grund för riskanalyserna i denna rapport har valts med syftet att riskanalyserna ska bli så överskådliga som möjligt för läsaren. Både vattentäkten och vattenverket med dess processer är fiktiva. Eftersom valet av processlösning varierar bland Sveriges vattenproducenter och för att resultaten ska vara relevanta för så många som möjligt har ambitionen varit att ta med de vanligast förekommande processkombinationerna i denna modellering. Modelleringen utgår därför från ett fiktivt ytvattenverk med en enkel beredningsprocess som successivt byggs på med olika processkombinationer. Alternativet som presenteras i projektplanen, att göra riskvärderingen för de faktiska vattenverk som ingått i studien, hade inte givit lika översiktliga exempel och variationer och kunde ha blivit svårare för läsaren att utnyttja för jämförelse med ett eget vattenverk. Råvattendata har valts med utgångspunkt i de analyser som utförts vid de i projektet ingående råvattentäkterna.

6.4.1 Vattenverk och vattentäkt

Det fiktiva ytvattenverket antas vara välskött och dimensionerat för en produktion på 1 000 l/s ($3\,600\text{ m}^3/\text{h}$), med en medelproduktion på 650 l/s ($2\,340\text{ m}^3/\text{h}$). Vattenverket levererar dricksvatten till 270 000 personer. Processen består av kemisk fällning (flockning, sedimentering och snabbfiltrering) ev. följt av ytterligare avskiljande steg samt desinfektion. Ytvattentäkten utgörs av en sjö på ca 30 km^2 med ett medeldjup av 10 meter. Sjön har flera tillflöden och ett större utflöde. Runt sjön och längs med tillflödena finns bostadsbebyggelse och åkermark. De flesta bostäderna är kopplade till det kommunala avloppsnätet men det finns även ett antal fastigheter med enskilt avlopp som mynnar i sjön. Ett av tillflödena är recipient för ett avloppsreningsverk som tar emot avloppsvatten från 40 000 personer. Längs stränderna finns ett antal båtklubbar för fritidsbåtar. Dagvatten, från bostadsbebyggelse och vägar, som rinner ut i sjön riskerar även de att vara förorenade med avloppsvatten. Några av dagvattentillflödena har en viss rening i form av fördröjningsdammar.

6.4.2 Råvattendata

De mikrobiologiska analyserna av råvattnet visar att halten *E. coli* i medeltal ligger klart över 10 st/100 ml stora delar av året. Även *Clostridium perfringens* detekteras regelbundet med en medelhalt på 6 st/100 ml. Några analyser

av parasiter är genomförda och i ett av de 6 proven har 2 parasiter påträffats i den analyserade volymen på 10 liter. Turbiditeten i vattnet varierar kraftigt med årstiden (från 1–30 FNU) då sjövattnet har en kraftig biologisk tillväxt under den varma årstiden. Den biologiska aktiviteten i vattnet påverkar även vattnets färg, TOC-innehåll (5–10 mg/l) samt pH som kan förändras betydligt på några timmar (pH 7,1–9,2).

6.4.3 Processkombinationer

För att illustrera olika processer har flera reningssteg kombinerats, det första är dock i samtliga fall traditionell kemisk fällning (flockning, sedimentering och snabbfiltrering). Som extra avskiljande steg har aktiva kolfilter (utformade med samma avskiljande förmåga som traditionella snabbfilter med sand), långsamfilter samt membranfiltrering med ultrafilter (UF) använts. Desinfektionen har varierats mellan dosering av natriumhypoklorit och UV-ljus i kombination med förtillverkad monokloramin. Data för de olika stegen presenteras i Tabell 6-1. Valen som gjorts för vattenverket är gjorda mot bakgrund av att det ska kunna representera ett faktiskt vattenverk.

Tabell 6-1 Indata för modellerat vattenverk.

Process	Fysiska data	Felfrekvenser
Råvattenkvalitet	Kvalitet Da enligt GDP	Diskuteras i texten
Flockning och sedimentering	3 flockningslinjer	1 %
Snabbfiltrering	4 filter per linje	1 %
Aktiva kolfilter	2 filter per linje	1 %
Långsamfiltrering	8 filter	0,1 %
UV	Dos 250 J/m ² , 2 aggregat	0,1 %
UF	10–40 nm, 6 linjer	0,1 %
Hypoklorit	Dos 0,7 mg Cl ₂ /l	-
Monokloramin	Dos 0,3 mg Cl ₂ /l	-

De olika beredningsstegen har kombinerats på ett flertal olika sätt för att illustrera vilken effekt det ger i den mikrobiologiska riskanalysen. Kombinationerna presenteras i Tabell 6-2 där även antalet barriärer detta motsvaras av enligt den svenska definitionen noteras.

Tabell 6-2 Processkombinationer.

Process	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Fällning ¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aktivt kol	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Långsamfilter	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
UF	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
UV	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-
Klorering ²	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
Antal barriärer i Sverige	1	1	2	2	2	2	2	2	3	3	3

¹ Innefattar flockning, sedimentering och snabbfiltrering

² Monokloramin efter UV och Natriumhypoklorit i övriga fall

I kombination B, G och H har de aktiva kolfiltren placerats efter traditionella snabbfilter med sand. Ett annat vanligt alternativ i Sverige är att ersätta sanden i befintliga snabbfilter med granulerat aktivt kol med samma kornstorleksfördelning vilket dock inte ger någon extra barriäreffekt. Om filtreringsegenskaperna för det aktiva kolet är desamma som för snabbfiltersanden kan dessa filter likställas. Bonuseffekten med lukt och smakreduktion i det aktiva kolfiltret ger ingen effekt i den mikrobiologiska riskanalysen även om det kan påverka vattnets kvalitet kraftigt ur andra aspekter.

6.4.4 Kemisk fällning

Felfrekvensen i fällningsdelen är beroende av hur bra fällningsskemikaliedosen styrs och övervakas samt av hur konstant fällnings-pH regleras. För flockning i kombination med sedimentering bedöms 1 % som en rimlig felfrekvens och är det värde som anges som defaultvärde i MRA-modellen. Denna bedömning förutsätter dock att både process- och kvalitetsparametrar övervakas on-line. Författarnas egna erfarenheter visar på lägre felfrekvenser (med 1,0 FNU som felgräns efter sedimentering) men inte med så pass stor avvikelse att det finns anledning att justera felfrekvensen.

Snabbfiltreringens effektivitet påverkas av felfrekvensen i flockningen, eventuell kanalbildning och precisionen i avskiljningen av första filtratet. I MRA-modellen anges 1 % som rimlig felfrekvens för snabbfiltren separat medan en felfrekvens på 10 % över hela kemfällningssteget (vid krav på 0,1 FNU) tolereras i GDP. Författarnas egna erfarenheter indikerar att felfrekvensen över hela kemfällningssteget är mindre än 10 % vid en gräns på 0,1 FNU efter snabbfiltren.

6.4.5 Extra avskiljande steg

Det extra avskiljande steget placeras efter snabbfiltren i kemfällningsprocessen oavsett om det är granulerat aktivt kol, långsamfilter eller ultrafilter. Generellt så är det stor skillnad i den avskiljande effekten i de valda alternativen. För mikroorganismer fungerar kolfiltret i princip endast som ett filtreringssteg av samma grovlek som ett snabbfilter. Syftet med kolfiltret är förutom den fysiska filtreringen i huvudsak lukt och smakreduktion vilket kan ske både biologiskt och genom kemisk adsorption. Efter några månader blir ofta adsorptionsplatserna i kolet mättade med naturligt organiskt material och därefter är det troligen de biologiska processerna som dominerar.

Ett långsamfilter har en effektivare filtreringseffekt än ett snabbfilter i och med att kornstorleken på sanden är betydligt mindre än för snabbfiltersand. För långsamfilter tillkommer även en effektivare biologisk reduktion av organiska molekyler samt mikroorganismer tack vare den betydligt längre uppehållstiden. Liksom i de aktiva kolfiltren reduceras lukt och smak effektivt.

Ultrafilter innebär en ytterligare effektivare avskiljning av partiklar men har inte den biologiska effekten som långsamfilter har. Här antas att ultrafiltret har en nominell porstorlek på 10–40 nm samt att de integritetstestas regelbundet med omedelbar åtgärd vid fel. Det fiktiva vattenverket har ingen analys av partikelantalet i virusstorlek på vattnet efter membranfiltren.

I det fiktiva vattenverket påverkas inte den kemiska fällningen (flockning, sedimentering och snabbfiltrering) av valet av extra avskiljande steg. Om kolfiltren i ett faktiskt vattenverk har ersatt traditionella snabbfilter med sand så kan samma data som kemfällning med snabbfilter användas och extrasteget med aktivt kol tas helt enkelt bort i beräkningen. Om två filtreringssteg med samma grovlek (ex sand och kol) placeras efter varandra så har det senare endast effekt om det blir problem i något av de föregående stegen så att de ordinarie snabbfiltren överbelastas.

6.5 Beräkning med hjälp av GDP-verktyget

De fem stegen i GDP-verktygets beräkningsgång är:

1. Barriärhöjd
2. Vattentäkt
3. Vattenverk
4. Desinfektion
5. Slutresultat

För mer ingående beskrivning av verktyget hänvisas till GDP-rapporterna från Norsk Vann (Ødegaard, Østerhus, & Melin, 170-2009, 2009), (Ødegaard, Østerhus, & Melin, 169-2009, 2009), (Ødegaard, Fiksdal, & Østerhus, 147-2009, 2006) samt den svenska GDP-introduktionen från Svenskt Vatten (Pott & Häggström, 2013). I texten nedan förutsätts att läsaren har viss kännedom om verktyget och hur det används. Resultaten finns sammanställda i Tabell 6-4.

6.5.1 Barriärhöjd GDP

Vattenkvaliteten samt vattenverkets storlek ligger till grund för vilken rening som krävs för att råvattnet skall bli ett dricksvatten av acceptabel kvalitet. Råvattenkvaliteten bedöms här till klass Da enligt GDP-verktygets klassningssystem. Detta eftersom råvattnet har en medelkoncentration på >10 *E.coli*/100ml och $<0,01$ parasiter/100ml. Halten norovirus ingår inte i bedömningen av barriärhöjden utan diskuteras senare i resultatdelen.

Då vattenverket levererar vatten till fler än 10 000 personer blir kravet på barriärhöjd $6,0b + 6,0v + 4,0p$. Detta uttryck betyder att bakterier och virus behöver reduceras med 6 log (99,9999 %) och att parasiterna behöver reduceras med 4 log (99,99 %) för att vattnet ska bli rimligt säkert att använda. Reduktionen på 6 log för virus i klass Da är detsamma som i den sämsta råvattenklassen som tas upp i GDP-verktyget (Dc).

6.5.2 Vattentäkt GDP

Det ytvatten som råvattnet tas ifrån har ett stort tillrinningsområde där en omfattande risk- och sårbarhetsanalys avseende mikrobiologiska risker genomförts. Ett antal potentiella riskpunkter har pekats ut och ett omfattande arbete med att säkra vattentäkten genomförs. Vattentäktens karaktär gör dock att detta arbete inte bedöms ge något teoretiskt bidrag i renings-effektivitet enligt GDP-verktyget. Denna avsaknad av poäng enligt GDP-

verktyget för vattentäkten skall absolut INTE tolkas som att arbetet är oviktigt då en GDP-bedömning alltid är intimt förknippad med en risk- och sårbarhetsanalys.

6.5.3 Vattenverk GDP

Den kemiska fällningen, flockning med efterföljande sedimentering och snabbfiltrering, är välkontrollerad. Flöden, doseringar och pH mäts separat i varje flockningslinje och felaktigheter leder till larm och åtgärd för att återställa flockningen till sina normalvärden. Till detta mäts turbiditeten efter varje sedimenteringslinje samt varje snabbfilter on-line. Det kemiska fällningssteget fungerar oftast bra och turbiditeten är lägre än 0,1 FNU efter snabbfiltren under mer än 90 % av tiden vilket ger en log-reduktion på $3,0b + 3,0v + 2,5p$.

Under förutsättning att det granulerade aktiva kolet har samma filtreringsegenskaper som snabbfiltersanden (d.v.s. de har samma avskiljande kapacitet) så ger kolfilter placerade efter snabbfilter endast ett litet filtreringsbidrag vid fungerande drift. Det finns dock där och vid störningar i fällningen med efterföljande överbelastning eller kanalbildning i sandfiltren gör kolfiltren nytta så att turbiditeten ut från dem antas vara lägre än 0,1 FNU under betydligt mer än 90 % av tiden, vilket är riktvärdet i GDP för en väl fungerande kemisk fällning. Bidraget för de aktiva kolfiltren kan därför i GDP förväntas motsvara snabbfilter i avskiljning under de 10 % av tiden som det antas finnas störningar i kemfällningssteget. Kolfiltren själva antas även ha en felfrekvens på 1 %. Bidraget till virusreduktionen från de aktiva kolfiltren antas därför vara 0,02 log, motsvarande 9,9 % av det angivna värdet på 0,25 log för enbart snabbfiltrering.

För långsamfilter gäller i GDP en avskiljning på $2,0b + 2,0v + 2,0p$ log och det finns här ingen anledning att justera detta då vattenverket inte överbelastar sina långsamfilter och därmed minimeras risken för kanalbildning.

Standardbidraget för en ultrafiltreringsanläggning är $3b + 2v + 3p$ i log-reduktion. För att få detta tillgodoräknat krävs att anläggningen är välskött med god testning av membranintegriteten vilket är fallet här. I de fall en högre virusreduktion kan visas med analyser kan denna visade reduktion användas. Det krävs dock att avskiljningen av partiklar i virusstorlek följs upp ofta så att förstorade porer eller små membranskador, som inte detekteras i den vanliga integritetskontrollen men som kan öka genomsläppligheten för virus, också detekteras. Med god uppföljning av partiklar i virusstorlek kan en avskiljning på upp till 4 log användas. För det fiktiva vattenverket sätts avskiljningen av virus till 2 log då det är standardbidraget för ultrafiltrering om övervakning av avskiljning av partiklar i virusstorlek saknas.

6.5.4 Desinfektion GDP

Det fiktiva vattenverket modelleras med två olika desinfektionsmetoder, UV och klorering. Enligt GDP-verktyget beräknas först desinfektionen för respektive metod och sedan justeras dessa för maxbegränsningar samt reduceras för säkerhetsbrister. I det fiktiva vattenverkets fall görs inga avdrag för säkerhetsbrister.

Behandling med UV-ljus ger med en dos på 250 J/m² (biodosimetriskt bestämt) en log-reduktion på 3b + 3v + 3p i GDP. Vissa virus som adenovirus är relativt tåliga mot UV-ljus men här är det norovirus som hanteras och dessa är känsligare för UV-ljus varför reduktionen på 3 log behålls. UV-desinfektionen kombineras med förtillverkad monokloramin. Förtillverkningen innebär att det inte finns någon effekt av typen primärdesinfektion från monokloraminen utan den är endast av sekundär typ för dämpning av tillväxten i ledningsnätet. I Figur 6-1 presenteras beräkningsinformation för monokloraminens bidrag till virusreduktion som endast blir 0,05 log. För beskrivning av beräkningsgången hänvisas till GDP-vägledningen (Ødegaard, Østerhus, & Melin, 170-2009, 2009).

Kloreringsdata monokloramin:

Temperatur = 4 grader

TOC = 4

$C_{dos} = 0,3 \text{ mg/l}$ förtillverkad monokloramin

$k_{Fasl} = 3,3 \cdot 10^{-5} \cdot (1 + TOC) = 1,65 \cdot 10^{-4}$

$V = 5\,000 \text{ m}^3$

$Q = 39 \text{ m}^3/\text{min}$

$V/Q = 128,2$

$T_{10}/T = 0,6$

$t = 128,2 \cdot 0,6 = 76,9$

Eftersom tiden till första konsument är kortare än 2 timmar behöver inte nedbrytningskonstanten till fas II användas.

$Ct \text{ till GDP} = t/2 \cdot (2 \cdot C_{dos} - t \cdot k_{Fasl}) = 76,9/2 \cdot (2 \cdot 0,3 - 76,9 \cdot 1,65 \cdot 10^{-4}) = 22,6$

$\text{Log}_{\text{beräknat}} = \log_{\text{nödvändigt}} \cdot Ct_{\text{beräknat}} / Ct_{\text{nödvändigt}} = 3 \cdot 22,6 / 1\,500 = 0,05$

Inget säkerhetsavdrag

Figur 6-1 Beräkningsinformation för användande av monokloramin.

Desinfektion med natriumhypoklorit innebär att en viss mängd klor förbrukas mycket snabbt och därefter avklingar halten fritt klor långsammare. Data för vattenverkets klorering visas i faktarutan i Figur 6-2 nedan. Beräkningsgången beskrivs mer detaljerat i GDP-vägledningen (Ødegaard, Østerhus, & Melin, 170-2009, 2009). Viktigt är att det är fritt klor som avses och inte totalt klor vilket är det som normalt mäts i Sverige. Log-reduktionen för natriumhypokloriten blir 1,91 log vilket ju är betydligt mer än då monokloramin används.

Kloreringsdata natriumhypoklorit:

Temperatur = 4 grader

pH = 8,3

TOC = 4

 $C_{\text{dos}} = 0,7 \text{ mg/l}$ $\text{IF} = 0,06 \cdot 4 + 0,36 \cdot 0,7 + 0,08 \cdot (0,7/4) - 0,12 = 0,386$ $C_i = C_{\text{dos}} - \text{IF} = 0,7 - 0,386 = 0,314$ (även indata till MRA-modellen) $k = 0,013 \cdot 4 - 0,04 \cdot 0,314 - 0,010 \cdot 0,314/4 + 0,022 = 0,060655$ $V = 5\,000 \text{ m}^3$ $Q = 39 \text{ m}^3/\text{min}$ $V/Q = 128,2$ $T_{10}/T = 0,6$ $t = 128,2 \cdot 0,6 = 76,9$ $\text{Ct till GDP} = (0,314 / 0,060655) \cdot (1 - e^{-4,665769}) = 5,1$ $\text{Log}_{\text{beräknat}} = \log_{\text{nödvändigt}} \cdot \text{Ct}_{\text{beräknat}} / \text{Ct}_{\text{nödvändigt}} = 3 \cdot 5,1/8 = 1,91$

Inget säkerhetsavdrag

Figur 6-2 Beräkningsinformation för användande av natriumhypoklorit. Modellkörning i MRA

6.6 Modellkörning i MRA

För modelleringen har samma processvarianter som i bedömningen enligt GDP-verktyget använts (Tabell 6-2). Felfrekvenser finns beskrivna i Tabell 6-1. Kloreringsdata för natriumhypoklorit Figur 6-2 är samma som för GDP med en initial fri klorrest på 0,314 mg Cl_2/l , en nedbrytningshastighet på 0,0606 mg/(l·min). Kloreringseffektiviteten i den nya MRA-modellen som används i denna utvärdering (daterad 2012-05-23) skiljer avsevärt från den äldre versionen (daterad 2010-01-28). I den nya modellen har ny forskningsdata som inte är helt fastställda inkorporerats. Beräkningarna saknar dessutom maxbegränsning vilket gör att det går att erhålla extrema log-reduktioner för klorering med den nya MRA-modellen. Dessa extrema värden på flera tiotals log i reduktion blir orimliga vilket fortplantar sig i beräkningarna och genererar extremt låga värden på riskerna för konsumenterna. Här har valet gjorts att i stället modifiera indata till den nya modellen så att resultaten liknar det som erhålls i den äldre versionen. I den äldre modellen blir log-reduktionen 2,9 log (dos = 0,7 mg/l, uppehållstid = 128 min samt en nedbrytningskonstant på 0,0606 mg/(l·min)). För att erhålla detta i den nya modellen har uppehållstiden satts till 76,9 min samt 1 CSTR valts. CSTR används för att beskriva omblandningen i en tank (i det här fallet klorkontaktbassängen).

Det extra filtreringssteget som innehåller aktivt kol antas reducera turbiditeten vid störningar så att den totala felfrekvensen för kemisk fällning i kombination med kolfiltren kan antas minska. I MRA modellen ger ett avskiljande steg med enbart kolfilter utan fällning inget bidrag till virus-reduktionen. Detta resultat erhöles genom att sätta felfrekvensen för flock-

ningssteget till 100 %, log-reduktionen för virus över hela den justerade kemiska fällningen, som antas motsvara de aktiva kolfiltren, blir då 0 log. Detta är en uppskattning som bör kontrolleras för det enskilda fallet och om reduktion av partiklar i virusstorlek kan påvisas över det aktiva kolfiltret så kan den i så fall adderas.

För att visa på hur avskiljningen påverkas av hur väl funktionen av ett processteg upprätthålls har ett antal driftscenarion simulerats. Vilka förutsättningar som valts för respektive scenario för de olika processtegen framgår av Tabell 6-2. Något man bör tänka på här är att modellen inte tar hänsyn till eventuella effekter av reducerad reningsförmåga i ett föregående reningssteg, vilket i vissa fall kan göra att reningsförmågan i efterkommande steg överskattas. Detta har inte minst betydelse för desinfektionens effektivitet där till exempel initialförbrukningen av klor kan förändras kraftigt. För UV kan en ökad turbiditet och UV-absorbans i vattnet ge en kraftigt negativ effekt på inaktiveringen. Vid stora fel i de föregående stegen finns det därför risk att desinfektionens effektivitet överskattas om faktiska mätningar av förutsättningarna vid störningar saknas.

Tabell 6-2 Val av scenarion.

Process	Scenario
Fällning (flockning och sedimentering)	Suboptimal flockning på en linje
Fällning (snabbfiltrering)	1 av 4 snabbfilter per linje fallerar
Aktivt kol	-
Långsamfilter	Felfrekvensen höjs från 0,1 % till 1 %
UF	1 av 6 enheter fallerar
UV	1 av 2 aggregat fallerar
Klorering (natriumhypoklorit)	TOC-halten ökar från 4 till 6 ger $C_i = 0,199$ och $k=0,092$

I MRA-modellen kan även beräkningar av den årliga och dagliga infektions sannolikheten (probability of infection, $P_{inf annual}$ respektive $P_{inf daily}$) samt försämrad livskvalitet (disability adjusted life years, DALY) genomföras. Generella acceptabla årliga gränser för dessa mått är enligt bl.a. USEPA och WHO $P_{inf annual} = 1/10\,000$ (en person av 10 000 tillåts bli infekterad varje år) respektive 1μ DALY (en person av 1 000 tillåts bli vinterkräx sjuk varje år). Observera att man skiljer på risken för infektion och risken för sjukdom, de två måtten beskriver således den acceptabla risken på olika sätt och är inte direkt jämförbara. I beräkningarna här har ett ungefärligt antal infektiösa norovirus som genererar de angivna acceptabla riskerna tagits fram för respektive processkombination (Tabell 6-7). För $P_{inf annual}$ skall samtliga relevanta mikrobiologiska risker summeras och därefter jämföras med värdet $1/10\,000$.

6.7 Beräknad avloppsvattenpåverkan

Förutom bedömningen av de olika processernas reningsförmåga har även inverkan av bräddningar i avloppssystemet studerats. Analysen av norovirushalter i inkommande avloppsvatten som utfördes i AP 3 visade på att

högsta uppmätta halterna av norovirus av genogrupp två (GII) varierade mellan ca 10^4 och 10^6 virusgenom per liter. Här antas ett utsläpp bestående av orenat avloppsvatten som sker 1 km från intaget och som fördelas på 10 meters djup och 100 meters bredd, d.v.s. i en volym av 106 m^3 . Koncentrationen vid intaget beräknas för två olika utsläppsvolymer; 100 respektive 10 m^3 . Se Tabell 6-3.

Tabell 6-3 Bräddning av avloppsvatten i en råvattentäkt.

	Utsläppets volym	Utsläppsfaktor	Utsläppets koncentration	Koncentration i inkommande råvatten
Scenario 1	100 m^3	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^6 / \text{liter}$	100/ liter
Scenario 2	10 m^3	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6 / \text{liter}$	10/ liter
Scenario 3	100 m^3	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^4 / \text{liter}$	1/ liter
Scenario 4	10 m^3	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^4 / \text{liter}$	0,1/ liter

6.8 Resultat och diskussion

De olika processkombinationerna ger som förväntat olika log-reduktion för (noro)virus vilket sammanställts i Tabell 6-4 baserat på GDP-verktyget samt i Tabell 6-5 baserat på MRA-modellen.

Tabell 6-4 Resultat log-reduktion för virus enligt GDP-verktyget, kravet på barriärhöjden är 6 log.

Process	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Fällning ¹	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Aktivt kol	-	0,02	-	-	-	-	0,02	0,02	-	-	-
Långsamfilter	-	-	2	-	-	-	-	-	2	2	2
UF	-	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-
UV	-	-	-	-	3	-	3	-	-	3	-
Klorering ²	-	-	-	-	0,05	1,9	0,05	1,9	-	0,05	1,9
Total reduktion	3	3,02	5	5	6,05	4,9	6,07	4,92	7	8,05	6,9

¹ Innefattar flockning, sedimentering och snabbfiltrering

² Monokloramin efter UV och Natriumhypoklorit i övriga fall

Med reduktionskrav för virus på 6 log (råvattenklass D) krävs processkombinationerna E, G eller I–K för att vattenverket skall ha tillräcklig rening enligt GDP-verktyget. Av dessa har kombination E och G, båda med kemisk fällning samt UV med eller utan aktiva kolfilter, minst marginal till den beräknade barriärhöjden. Samtliga kombinationer med tre barriärer (I–K) uppnår tillräcklig virusreduktion. Kombinationen D med kemisk fällning och ultrafilter har här inte tillräcklig reduktion. Med god övervakning av avskiljningsgraden av partiklar i virusstorlek skulle denna kombination kunna komma upp i en virusreduktion på 7 log (då UF kan bidra med upp till 4 log). Detta visar enligt GDP-verktyget på vikten av god övervakning, kontroll och uppföljning av reningsstegens funktion.

Tabell 6-5 visar medianvärden för log-reduktionen över de olika processkombinationerna beräknat med MRA-modellen. För en mer ingående analys av resultaten bör man även titta på spridningsintervallet.

Log-reduktionen för det aktiva kolfiltret är beräknat genom att se vilken reduktion kemiska fällningen erhåller om själva flockningen och sedimenteringen inte fungerar alls. I det fallet återstår ju endast kolfiltren och log-reduktionen blir enligt MRA-modellen 0 log för norovirus. Som tidigare nämnts kan en faktiskt uppmätt reduktion användas om data finns för det, men generellt är bidraget litet från två seriekopplade steg som utnyttjar samma reduktionsprincip. Effekten från kolfiltret ligger i stället i en ökad säkerhet vid fel på föregående steg, lukt och smakreduktion samt i viss mån adsorption av kemiska föroreningar.

Tabell 6-5 Logavskiljning (medianvärde) av norovirus i olika processteg enligt MRA-modellen.

Process	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Fällning ¹	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Aktivt kol	-	0	-	-	-	-	0	0	-	-	-
Långsamfilter	-	-	2,2	-	-	-	-	-	2,2	2,2	2,2
UF	-	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-
UV	-	-	-	-	2,6	-	2,6	-	-	2,6	
Klorering ²	-	-	-	-	0,06	2,9	0,06	2,9	-	0,06	2,9
Total reduktion	3,0	3,0	5,2	5,0	5,66	5,9	5,66	5,9	7,2	7,86	8,1

¹ Innefattar flockning, sedimentering och snabbfiltrering

² Monokloramin efter UV och Natriumhypoklorit i övriga fall.

Beräkning av log-reduktion för monokloramin med den äldre MRA-modellen från 2010.

Liksom enligt GDP-verktyget uppvisar log-reduktionerna beräknade med MRA-modellen för kombinationerna med tre barriärer fullgod reduktion utifrån barriärhöjden från GDP. Med bägge modellerna står det även klart att enbart en barriär inte räcker för att uppnå en acceptabel säkerhet.

Även enligt MRA-modellen skulle den bedömda effekten av ultrafiltrering kunna fördubblas om övervakningen var bättre så att ett läckande membran eller andra förändringar i avskiljningskapaciteten detekteras och åtgärdas snabbt.

Eftersom kloreringen beräknas som effektivare och UV som lite mindre effektiv i MRA-modellen än i GDP-verktyget så hamnar kombinationerna med dessa varianter i vissa fall på olika sidor om kravgränsen beroende på modell. I detta sammanhang är det därför viktigt att poängtera att barriärhöjden inte är en absolut gräns utan skall ses som en indikation eller ett riktvärde att förhålla sig till. Det är även viktigt att påpeka att MRA-modellen räknar med fördelningar, d.v.s. den beräknar spridningen i log-reduktionen. Här har dock endast medianvärdet presenterats för tydlighetens skull. Vid resultat nära gränsen, oavsett sida, är noggranna utvärderingar av processerna viktiga för att verifiera avskiljningsgraden.

Då MRA-modellen och GDP-verktyget har olika metoder för att beräkna log-reduktionen i de olika reningsstegen blir resultaten därför sällan helt överensstämmande (se Tabell 6-6). Små skillnader i resultat mellan metoderna kan tolkas som att användbarheten för dem, under de aktuella förutsättningarna, stärks. Skulle stora skillnader erhållas så behöver orsakerna till avvikelserna diskuteras. I det här fallet skiljer det 1 log i kloreringens beräknade effektivitet vilket kan anses acceptabelt med tanke på att indata till MRA-modellen är justerad.

I Tabell 6-6 presenteras log-reduktionen för de normalt fungerande processstegen enligt både GDP-verktyget och MRA-modellen. Dessutom presenteras hur log-reduktionen ser ut enligt MRA-modellen då processerna går med suboptimal drift (fungerar dåligt) med fel enligt Tabell 6-2.

Tabell 6-6 Sammanställning över logavskiljning i olika processsteg.

Process	GDP-verktyget normal	MRA-modellen normal	MRA-modellen suboptimal
Fällning ¹	3 log	3,0 log	0,47 log
Aktivt kol	0,02 log	0 log	0 log
Långsamfilter	2 log	2,2 log	2,1 log
UF	2 log	2,0 log	0,76 log
UV (med monokloramin)	3,05 log	2,66 log	0,36 log
Klorering (hypoklorit)	1,9 log	2,9 log	2,1 log

¹ Innefattar flockning, sedimentering och snabbfiltrering

Suboptimal drift eller andra processfel får stora konsekvenser för vattenverkets totala effektivitet. Beroende på vilken marginal som finns vid dylika processproblem i kombination med aktuell råvattenkvalitet kan effekten för konsumenten bli mycket olika. Kloreringen verkar inte påverkas speciellt mycket i MRA-modellen, den minskar från 2,9 log till 2,1 log vilket indikerar en fortsatt god kloreringseffekt. Denna fortsatt goda desinfektionseffekt (sjunker med mindre än 1 log) bör ses med kritiska ögon och verifieras med verkliga prover för det faktiska vattnet för att vara pålitlig. Motsvarande ändring i GDP-verktyget gör att kloreringens reduktionseffekt minskar från 1,9 log till 0,092 log vilket är en minskning på nästan 2 log. GDP-verktyget indikerar därmed att kloreringen under de förutsättningarna inte är en fungerande barriär längre. Skillnaderna i resultat för de bägge metoderna är stor och i ett verkligt fall är det därför viktigt att verifiera den faktiska effekten för varje enskilt vatten och vattenverk. Verktøyen ger indikationer och aspirerar inte på att beskriva verkligheten i alla enskilda fall. I de fall indikationerna visar likartade resultat är de troligen mer överensstämmande med verkligheten än om de skiljer mycket. Även här indikeras att övervakning, uppföljning och verifiering av effekter i det egna vattenverket är viktigt ur mikrobiologisk säkerhetssynpunkt.

Tabell 6-7 visar som tidigare nämnts att processkombinationerna I-K är mest effektiva mot norovirus enligt både MRA-modellen och GDP-verktyget. Gemensamt för dessa är att de har tre effektiva barriärer (inklusive desinfektion eller ultrafilter).

De olika sätt att ange acceptabel risk som används i MRA-modellen är som nämnts tidigare bland annat Pinf annual och DALY. Vilka ungefärliga virushalter i råvattnet detta motsvarar presenteras i Tabell 6-7. Dessa värden baseras på antalet kompletta viruspartiklar. Analysmetoden som använts detekterar dock inte kompletta viruspartiklar utan endast antal virusgenom, virusens genmaterial. Antalet genom (vilket är det som analyserats i AP 2 och 3) som motsvarar en viruspartikel som har förmågan att orsaka en infektion varierar som tidigare nämnts kraftigt mellan olika undersökningar. Värden på mellan 20 till 10 000 virusgenom förekommer (Lodder W. , van den Berg, Rutjes, & de Roda Husman, 2010).

Tabell 6-7 Jämförelse mellan MRA-modellen och GDP-verktyget samt framräknade infektionsrisker enligt MRA-modellen.

Process	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
GDP-verktyget Log-reduktion	3	3,02	5	5	6,05	4,9	6,07	4,92	7	8,05	6,9
MRA-modellen Log-reduktion	3,0	3,0	5,2	5,0	5,66	5,9	5,66	5,9	7,2	7,86	8,1
Antal virus/liter råvatten som ger årlig $P_{inf} 1/10000$ ¹	10^{-4}	10^{-4}	0,01	0,01	0,07	0,08	0,07	0,08	3	8	10
Antal virus/liter råvatten som ger ca 1 μ DALY	10^{-3}	10^{-3}	0,2	0,1	0,5	1,1	0,5	1,1	15	100	110

¹ Här har $P_{inf,annual}$ endast beräknats för norovirus. Egentligen skall risken för samtliga mikroorganismer som innebär en risk summeras och summan skall understiga 1/10 000.

Med antagandet att 1 000 påträffade virusgenom per liter motsvarar en infektiös viruspartikel skulle en reningsnivå på 6 log (motsvarande barriärhöjden i GDP) kunna hantera halter på 100–1 000 genom/liter i inkommande råvatten. Övriga processkombinationer som klarar barriärhöjden med marginal kan hantera högre inkommande halter (1 000–200 000 genom/liter). Vid normala bakgrundsdata som erhållits i projektet är detektionsgränsen i storleksordningen 10-100 genom/liter vilket alltså, enligt ovanstående antaganden om infektiositet, kan hanteras av de vattenverk som når den beräknade barriärhöjden enligt GDP-verktyget. De högsta uppmätta halterna är i storleksordningen 10 000 genom/liter vilket medför att för råvattentäkter av den typen krävs en barriärhöjd på över 7 log för att säkerställa dricksvattenkvaliteten. Då det finns osäkerheter i både uppmätta genomhalter, infektiositeten, reningskraven och reningseffektiviteter är det inte meningsfullt att genomföra beräkningarna med en högre detaljeringsgrad i denna rapport.

Vid bräddning av avloppsvatten varierar halterna virusgenom som beräknats nå råvattenintaget mellan 0,1–100 genom/liter, beroende på bräddningens storlek och koncentration (se Tabell 6-3). Syftet med beräkningarna är att visa vilken effekt olika bräddningar skulle kunna ha och baseras inte på några verkliga fall. Koncentrationen baseras på de halter i inkommande avloppsvatten som analyserats inom projektet medan utspädningsfaktorn valts utgående från en möjlig utsläppssituation. Beräkningarna visar att de genomhalter som kan förväntas i råvattnet vid en bräddning av avloppsvatten är lägre än de som inom projektet uppmäts i råvattentäkterna. Detta trots att utsläppen antagits vara ganska stora och utspädningen ganska liten. Orsakerna till denna skillnad mellan uppmätt halt i råvattnet och beräknad halt vid avloppsbräddning kan vara flera och svåra att försöka spekulera kring. En förklaring kan möjligen ligga i skillnaden mellan de metoder som använts för att analysera råvatten och avloppsvatten. En viktig aspekt när det gäller de analyserade halterna är att värdet som beräknats utifrån avloppsbräddning sannolikt består av betydligt högre andel virus som har kvar sin infektiositet, eftersom det är färskare fekalier, jämfört med de som normalt återfinns i ett ytvatten. Detta påverkar dock inte analysmetoderna.

6.9 Slutsats – del 2

De bägge hjälpmedlen för att bedöma mikrobiologiska risker vid vattenverk, GDP-verktyget och MRA-modellen, ger resultat som stämmer ganska väl överens med varandra. Att de inte är helt samstämmiga beror generellt på att de baseras på olika beräkningsmetoder. I de fall resultaten skiljer sig åt kan det finnas anledning att titta närmare på orsaken till detta. I det exempel som redovisats här skiljer sig resultaten i kloreringsdelen åt med 1 log i reningseffektivitet. Denna skillnad beror på att de bägge verktygen använder olika forskningsresultat vid beräkningarna. Avvikelserna indikerar att det är viktigt att studera den faktiska reduktionen i just detta steg. För klorering kan till exempel känsligare odlingsmetoder eller analys av levande celler användas för att få ett noggrannare mått på reduktionen i det specifika fallet. Störningar är lite svårare att testa i fullskala men kloreringseffekten på ett vatten som fått en sämre förbehandling kan undersökas i lab- eller pilotskala.

Barriärhöjden som beräknats fram för den fiktiva ytvattentäkten med hjälp av GDP-verktyget kan sägas korrelera med de vattenverk som har en kombination av processer som tål en virushalt på 1–10 st viruspartiklar per 10 liter råvatten enligt MRA-modellen. Denna halt har här bedömts motsvara mellan 2 och 10 000 detekterade genom/liter råvatten. Detta spann är stort och omfattar både bakgrundshalterna och de flesta av de högre detekterade genomhalterna. Det finns dock uppmätta genomhalter som överstiger spannet och som därför eventuellt skulle kunna kräva ytterligare rening av vattnet. Då det finns osäkerheter i både uppmätta genomhalter, infektiositeten, reningskraven och reningseffektiviteter är det dock viktigt att understryka att de bedömda reningsbehoven ska ses som en uppskattning av storleksordning och inte som definitiva siffror.

Både GDP-verktyget och MRA-modellen indikerar att vissa av de processkombinationer som utvärderats kan hantera både den sämsta råvattenklassen Dc (enligt GDP) och de bakgrundshalter av norovirus som analyserats i projektet. Generellt behöver kemisk fällning kompletteras med ytterligare barriärer som kan avlägsna drygt 3 log för att det producerade vattnet ska kunna betraktas som rimligt säkert. För de högsta uppmätta norovirushalterna och vid riskhändelser i takten eller t.ex. under högsäsongen för vinterkräksjukan kan det krävas ytterligare reduktion vid vattenverken. Vid dessa situationer krävs att kemisk fällning kompletteras med drygt 4 log i reduktion, vilket uppnås i de kombinationer som består av 3 st barriärer. Även komplettering av kemisk fällning med UF med mycket god uppföljning av virusavskiljningsgraden kan här motsvara detta högre barriärbehov.

För att kunna genomföra en meningsfull värdering av resultaten från en mikrobiologisk riskvärdering för en verklig anläggning rekommenderas starkt att man ställer denna mot en utförlig risk- och sårbarhetsanalys av den egna takten och vattenverket.

7 Sammanfattande diskussion och slutsatser

Målet i NORVID var att med en känslig, robust, snabb och kostnadseffektiv analysmetod ta fram underlag för att möjliggöra säkrare riskanalyser avseende humanpatogena virus i svenska ytvatten.

Det kan konstateras att det inom NORVID-projektet tagits fram en analysmetod som är bättre än de som tidigare publicerats. Metoden är både känsligare och robustare än tidigare. Genom att delar av detektionssteget har robotiserats är den även snabbare, och därigenom kostnadseffektivare. Utbytet för metoden ligger på ca 10 %, vilket får betraktas som bra i sammanhanget då det är en molekylärbiologisk metod där provvolymen reduceras ca 20 000 gånger. För den mikrobiologiska riskvärderingen och för bedömningen av virushalten som kan förväntas i de undersökta vattentäkterna innebär dock detta utbyte stora osäkerheter i resultaten. Till detta kommer att metoden detekterar genom dvs. den kan inte avgöra om de virus som detekteras är infektiösa eller inte, vilket har stor betydelse för riskvärderingen. Antagandena blir många och osäkerheten i resultatet därmed stor.

Det som med säkerhet kan sägas är att det finns virusgenom (infektiösa eller inte) i de undersökta vattentäkterna och att avloppsvatten är en bidragande orsak. I studien påträffades viruspartiklar under den kallare delen av året, hur det ser ut under den varmare delen av året är osäkert eftersom resultaten låg under detektionsgränsen för metoden då. Om detta betyder att det inte finns några virus under denna period går inte att svara entydigt på. Ett rimligt antagande bör dock vara att det finns virus även då men att förutsättningarna gör att de inte syns i analysen. Ett flertal orsaker till detta har framlagts; a) virushalten är lägre på grund av minskad tillförsel, b) virusen bryts ned fortare, c) vattnen är mer partikelrika vilket försämrar utbytet vid provupparbetningen (större processförlust), d) vattenmatrisen i övrigt förändras så att virus lättare aggregerar till andra partiklar som filtreras bort i förfiltreringen, e) vattnet kan vara skiktat vilket minskar påverkan från ytliga utsläpp av dag- och avloppsvatten då vattnet inte blandas om.

De resultat som erhållits från långtidsprovtagningen och provtagningen av riskpunkter har värderats med hjälp av de två riskvärderingsmetoderna GDP-verktyget och MRA-modellen. De många osäkerheterna i analysdata till trots så ger de mer tillförlitliga resultat än då enbart litteratordata var tillgängligt. Vi vet nu att norovirus förekommer i samtliga undersökta vattentäkter vilket dels visar att norovirus troligtvis förekommer i de flesta svenska ytvatten, dels att norovirus utgör en risk som vattenproducenter måste förhålla sig till. Även om osäkerheten i analysdata kan spänna över både en och två tiopotenser visar riskvärderingarna att det antal barriärer som förordas av Livsmedelsverket, Svenskt Vatten, GDP-verktyget med flera är rimliga. De visar även på vikten av multipla barriärer och hur viktigt det är att dessa upprätthålls. De analysdata som framtagits i detta projekt utgör en god grund för vattenproducenter att göra egna riskvärderingar utifrån egna förhållanden.

Risken att norovirus sprids till konsument via dricksvattnet från ett vattenverk av modelltypen i riskkapitlet med flera barriärer bedöms som mycket låg under normala förhållanden. Samtidigt kan en enstaka riskhändelse, såsom en kraftig bräddning i närheten av intaget, i kombination med tillfälligt nedsatt barriärfunktion medföra att virus tar sig igenom beredningen i sådana halter att den acceptabla risken överskrids.

8 Framtiden – fortsatt forskning

Vi kan konstatera att det i våra svenska ytvattentäkter förekommer norovirus vilket i sig är en risk och något som vi måste förhålla oss till. För att kunna kvantifiera halten och göra tillförlitliga riskbedömningar i det enskilda fallet behövs dock mer forskning. Samtidigt som föreliggande projekt har tillfört ny kunskap har det också visat på ett antal utmaningar och kunskapsluckor.

- En av nyckelfrågorna är att söka svar på hur stor andel av påvisade virus som kan vara infektiösa. I projektet användes musnorovirus som kontroll av virusförlusten i den använda metoden. Musnorovirus anses ha liknande egenskaper som humant norovirus med den skillnaden att musnorovirus går att odla. Detta gör troligen musnorovirus till en lämplig kandidat för undersökningar av hur mycket infektiösiteten avtar under olika betingelser.
- För fortsatta studier på råvatten bör även andra filtreringstekniker undersökas för att nå ett ännu högre utbyte och därmed sänka detektionsgränsen.
- För att kunna verifiera avskiljningsgraden i ett vattenverks olika processsteg behöver metoden förfinas ytterligare, virus reduceras igenom processtegen och dagens detektionsgräns är för hög för att kunna göra sådana verifieringar.
- För den totala riskbedömningen skulle kunskapen kring förekomst av och belastning från olika typer av föroreningskällor behöva stärkas. För enskilda vattenproducenter är det även intressant att fördjupa sig i vilka riskpunkter som finns i den egna närheten. Här är det även viktigt att titta på strömförhållanden då spridning och utspädningsvolym är av mycket stor betydelse.

9 Referenser

- Atha, D., & Ingham, K. (1981). Mechanism of precipitation of proteins by polyethylene glycols. Analysis in terms of excluded volume. *Journal of Biological Chemistry*, 1981, 10:256(23): 12108–17.
- Dalin, E., Ansker, J., Häggström, P., Dahlberg, B., Pott, B.-m., Ericsson, P., o.a. (2010). *Analysmetoder för norovirus i ytvatten*. Stockholm: Svenskt Vatten Utveckling.
- Gilgen, M., Germann, D., Lüthy, J., & Hübner, P. (1997). Three-step isolation method for sensitive detection of enterovirus, rotavirus, hepatitis A virus, and small round structured viruses in water samples. *International Journal of Food Microbiology*, 37(2–3), 189–199.
- Greer, A. L., Drews, S. J., & Fisman, D. N. (2010). Why ”Winter” Vomiting Disease? Seasonality, Hydrology, and Norovirus Epidemiology in Toronto, Canada. *EcoHealth*, 6, ss. 192–199.
- Hallin, E. (2012). *Norovirus i vatten – en litteraturstudie*. Smittskyddsinstitutet, Avdelningen för Beredskap. Svenskt Vatten AB.
- Hamza, I. A., Jurzik, L., Stang, A., Sure, K., Überla, K., & Wilhelm, M. (Januari 2009). Detection of human viruses in rivers of a densely-populated area in Germany using a virus adsorption elution method optimized for PCR analyses. *Water Research*, 43(10), ss. 2657–2668.
- Huang, P., Laborde, D., Land, V., Matson, D., Smith, A., & Jiang, X. (2000). Concentration and detection of caliciviruses in water samples by reverse transcription-PCR. *Applied Environmental Microbiology*, 66(10):4383–8.
- Johansson, J. (2011). *Development of a target enrichment method for detection and quantification of human norovirus in sediment from drinking-water treatment plants*. IKE. LiU.
- Livsmedelsverket. (2011). *Föreskrifter om ändring i Livsmedelsverkets föreskrifter (SLVFS 2001:30) om dricksvatten*. Livsmedelsverket.
- Lodder, W. J., van den Berg, H. H., Rutjes, S. A., & de Roda Husman, A. M. (2010). Presence of Enteric Viruses in Source Waters for Drinking Water Production in the Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*, 76–17, 5965–5971.
- Lundberg Abrahamsson, J., Ansker, J., & Heinicke, G. (2009). *MRA – Ett modellverktyg för svenska vattenverk*. Svenskt Vatten Utveckling.
- Maunula, L., Miettinen, I. T., & von Bonsdorff, C.-H. (November 2005). Norovirus Outbreaks from Drinking Water. *Emerging Infectious Disease*, 11(11), ss. 1716–1721.
- Maunula, L., Söderberg, K., Vahtera, H., Vuorilehto, V.-P., von Bonsdorff, C.-H., Valtari, M., o.a. (2012). Presence of human noro- and adenoviruses in river and treated wastewater, a longitudinal study and method comparison. *Journal of Water Health*, 12(1), 89–99.

- Nordgren, J., Bucardo, F., Dienus, O., Svensson, L., & Lindgren, P.-E. (2008). Novel light-upon-extension real-time PCR assays for detection and quantification of genogroup I and II noroviruses in clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology* (46), 164–170.
- Nordgren, J., Matussek, A., Mattson, A., Svensson, L., & Lindgren, P.-E. (2009). Prevalence of norovirus and factors influencing virus concentrations during one year in a full-scale wastewater treatment plant. *Water Research*, 43(4), 1117–1125.
- Pott, B.-M., & Häggström, P. (2013). *Introduktion till God DesinfektionsPraxis*, GDP (P108). Svenskt Vatten.
- Projekt Ringsjön. (u.d.). *Projekt Ringsjön*. Hämtat från www.ringsjon.se den 13 November 2012.
- Rodríguez, A. R., Thie, L., Gibbons, C. D., & Sobsey, M. D. (2012). Reducing the effects of environmental inhibition in quantitative real-time PCR detection of adenovirus and norovirus in recreational seawaters. *Journal of Virological Methods*, 181(1), 43–50.
- SMI. (u.d.). *Smittskyddsinstitutet*. Hämtat från Smittskyddsinstitutet: www.smi.se den 17 oktober 2012.
- Svenskt Vatten. (2007). *Dricksvattenförsörjning i förändrat klimat, Underlagsrapport till Klimat- och sårbarhetsutredningen*. Svenskt Vatten.
- Wallin, M., Andersson, B., Johnson, R., Kvarnäs, H., Persson, G., Weyhenmeyer, G., o.a. (2000). *Mälaren – miljö tillstånd och utveckling 1965–98*. Mälarens vattenvårdsförbund.
- VAS-rådet. (2008). *Dag- och bräddvattenpåverkan på dricksvattenproduktion i östra Mälaren*.
- VAS-rådet. (2009). *Samhällskostnader vid störningar i dricksvattenförsörjningen*. VAS-rådet.
- WHO. (2004). *Guidelines for Drinkingwater Quality* (3rd ed.). Geneva.
- WHO. (2011). *Guidelines for Drinking Water Quality* (4th ed.). WHO.
- Ødegaard, H., Fiksdal, L., & Østerhus, S. (2006). *Optimal desinfeksjonpraksis for drikkevann*. Norsk Vann.
- Ødegaard, H., Østerhus, S., & Melin, E. (2009). *Optimal desinfeksjonspraksis fase 2*. Norsk Vann.
- Ødegaard, H., Østerhus, S., & Melin, E. (2009). *Veiledning til bestemmelse av god desinfeksjonpraksis*. Norsk Vann.



Box 47607, 117 94 Stockholm
Tfn 08 506 002 00
Fax 08 506 002 10
svensktvatten@svensktvatten.se
www.svensktvatten.se