

# Från platta till pixel.

## Snabb mikrobiell kvalitetskontroll i praktiken – tillämpningar, arbetssätt och lärdomar



### Innehåll

Inledning.....	1
Snabb analys av mikrobiell vattenkvalitet – en översikt.....	2
Flödescytometri som gemensam utgångspunkt.....	2
Nyttan och begränsningar med flödescytometri.....	3
Praktisk användning av flödescytometri .....	4
Rutinanalys i vattenverk och ledningsnät.....	4
Tillfälliga drifhändelser och riktade utredningar.....	6
Onlinemätning på strategiska platser .....	7
Hur används resultaten i praktiken? .....	8
Användning av andra analysmetoder .....	9
Sammanfattning och framåtblick .....	10
Avslutande ord.....	10
Bilagor .....	11

## Inledning

God mikrobiell vattenkvalitet är avgörande för dricksvattenförsörjning, livsmedelsproduktion, industri och andra vattenintensiva verksamheter. I dag följs mikrobiell vattenkvalitet främst upp med traditionella, odlingsbaserade metoder som ger svar först efter 18–24 timmar eller först efter flera dagar. Metoderna är väletablerade och reglerade, men långsamma analysvar innebär att bedömningen i stor utsträckning sker i efterhand. Samtidigt har förutsättningarna förändrats: krav på säkerhet, beredskap och resurseffektivitet har ökat, vattensystem har blivit mer komplexa och ett mer ansträngt omvärldsläge gör behovet av information närmre realtid tydligare. Tidsfördröjningen i dagens analyser upplevs därför allt oftare som en begränsning.

Det finns och utvecklas analysmetoder som kan ge information om mikrobiell vattenkvalitet betydligt snabbare än odlingsmetoder. Dessa kan möjliggöra tätare eller mer kontinuerlig uppföljning och nya typer av data, men väcker samtidigt frågor om tolkning, användning och hur resultaten kan integreras i befintliga arbetssätt och regelverk.

## Syfte, avgränsning och målgrupp

Syftet med denna sammanställning är att ge en erfarenhetsbaserad nulägesbild av hur snabba analyser av mikrobiell vattenkvalitet används idag, med störst fokus på flödescytometri. Detta är analystekniker som inte är beskrivna i dricksvattenföreskrifterna idag. Tyngdpunkten ligger på praktiska tillämpningar, arbetssätt och hur organisationer hittills valt att agera utifrån resultaten. Sammanställningen bygger på erfarenheter från ett begränsat antal organisationer och beskriver analystekniker som används i faktisk tillämpning. Den belyser inte tekniker som bara använts i test- och pilotförsök. När mer kunskap har byggts upp kommer en uppdatering som också inkluderar erfarenheter från analystester och en internationell utblick.

Snabba analyser är inte nödvändigtvis relevanta för alla verksamheter. Behovet är störst där vattenkvalitet är kritiskt och konsekvenserna av störning är stora. Samtidigt är nyttan starkt beroende av sammanhanget – utan organisatoriska förutsättningar att agera på snabbare analysresultat skapar nya analyser begränsat mervärde.

Sammanställningen riktar sig i första hand till organisationer som i dag arbetar med traditionella analysmetoder och som vill förstå vad snabba analyser kan innebära i praktiken. Den är utformad för att kunna läsas utan djup teknisk förkunskap och användas som stöd i samtal om framtida behov och möjligheter.

## Snabb analys av mikrobiell vattenkvalitet – en översikt

Traditionell uppföljning av mikrobiell vattenkvalitet ger ofta svar efter flera dagar och används därför främst för att bekräfta att vattenkvaliteten *har varit* acceptabel, snarare än för att styra pågående drift. För att hantera osäkerheten som följer av tidsfördröjningen används ofta indirekta indikatorer, säkerhetsmarginaler och försiktighetsåtgärder.

När analys svar kan erhållas snabbare förändras förutsättningarna: det blir möjligt att följa mikrobiella förändringar närmare i tid och tidigare upptäcka avvikelser eller oväntade mönster. Samtidigt innebär snabbare svar inte automatiskt enklare beslut – snabba analyser ger ofta mer data och nya typer av information som kräver tolkning och förståelse för sammanhanget.

I denna sammanställning används “snabba analyser” som samlingsnamn för metoder som ger information om mikrobiell vattenkvalitet snabbare än odlingsbaserade analyser och/eller annan typ av information än odlingarna. Begreppet innefattar moderna, molekylärbiologiska och digitala metoder som kan beskriva total mikrobiologisk flora eller specifika bakterier.

Snabba analyser kan bidra med insikter om trender och variationer, och stödja förståelse för vad som är normalt i ett system samt ge tidiga indikationer på förändring. Däremot ger de i nuläget inte direkta svar på hälsorisker och används inte för att efterleva lagstiftning eller föreskrifter. Resultaten behöver därför sättas i relation till annan information, exempelvis processdata, historiska mönster och kompletterande analyser.

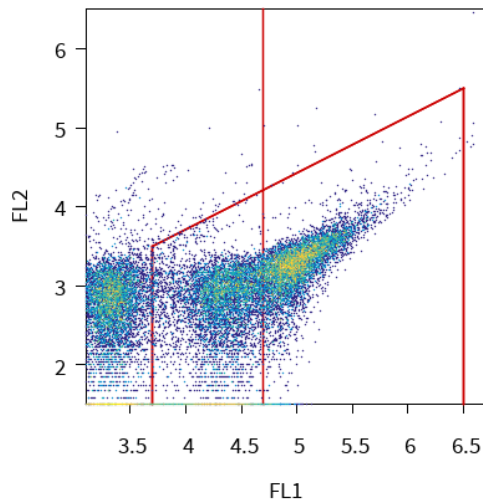
## Flödescytometri som gemensam utgångspunkt

Flödescytometri används här som gemensam utgångspunkt för att beskriva och jämföra snabba analyser av mikrobiell vattenkvalitet. Skälet är inte att tekniken bedöms som överlägsen andra metoder, utan att det är den mest etablerade metoden bland de organisationer som ingår i sammanställningen.

Flödescytometri ger snabb och reproducerbar information om total mikrobiell förekomst i vatten. Till skillnad från odlingsbaserade metoder ger flödescytometri resultat inom minuter eller timmar från provtagning och fångar även mikroorganismer som inte är odlingsbara. Det gör metoden användbar för att följa variationer, trender och förändringar över tid.

Metoden används i olika miljöer, från centrala laboratorier till verksamhetsnära tillämpningar i anslutning till produktionsanläggningar och distributionssystem (on- eller at-line). Principen är att räkna och karakterisera mikroorganismer utifrån molekylära egenskaper där bakterier färgas in med fluorescens, belyses med laser och ljusspridning omvandlas till digitala signaler. Utfallet kan omfatta totalantal celler (TCC), andel celler med högt DNA-innehåll (HNAP)

samt ett “fingeravtryck” av bakteriesammansättningen, Figur 1. Beroende på analys kan även intakta celler kvantifieras och utveckling pågår för ytterligare distinktion av celler.



Figur 1. Exempel på mikrobiologiskt fingeravtryck från analys med flödescytometri. Inringat område anses vara celler i provet och anges som totalantal celler (TCC), utanför är bakgrundsbrus. Andelen celler med högt DNA-innehåll avgränsas med en lodrät linje till den högra delen av inringat område och anges som HNAP (high nucleic acid percentage).

I laboratoriemiljö används flödescytometri för uppföljning och jämförelser över tid och mellan provpunkter. I on-/at-line-tillämpningar används tekniken för tätare uppföljning (ofta var 4–6:e timme) för att upptäcka och följa förändringar i systemet i en specifik provpunkt. Oavsett upplägg krävs strukturerad provtagning, konsekvent provhantering och gemensamma principer för resultatutvärdering. Långa tidsserier eller relevanta referensprov är centrala för att skilja normal variation från avvikelser; i system med tydliga säsongsvariationer kan tidsserier över flera år behövas. Metodbeskrivningen hålls här på övergripande nivå och mer tekniska detaljer om provtagning, analys och instrumentering hänvisas till Bilaga 1.

## Nytta och begränsningar med flödescytometri

En central nytta med flödescytometri är förmågan att fånga förändringar i den totala mikrobiella populationen och snabbt identifiera avvikelser från en förväntad normalbild. Tekniken stödjer därmed nya sätt att följa och förstå vattensystem, särskilt när målet är att bygga kunskap om variationer över tid.

Samtidigt finns tydliga begränsningar när resultaten i nuläget inte ger direkt koppling till vilka förändringar som innebär hälsorisk och inte kan användas för att uppfylla lagkrav eller ersätta traditionella analyser. Tolkningen kräver också erfarenhet samt gemensamma referensramar. I praktiken används flödescytometri därför som ett komplement till andra analysvar och driftsförutsättningar, med en medvetet försiktig omsättning i operativa beslut.

## Praktisk användning av flödescytometri

Den praktiska tillämpningen hos fyra organisationer beskrivs här: Norrvatten, Sydsvatten, VA SYD och Vivab. Gemensamt är att de producerar och distribuerar dricksvatten.

Tillämpningarna bedöms samtidigt kunna vara överförbara till andra verksamheter där kontroll av mikrobiologisk vattenkvalitet är kritisk vid produktion, lagring och distribution av vätskor. Organisationerna använder labbinstrument (BD Accuri C6+, BD Biosciences, USA) och online-instrument (Bactosense, bNovate) på strategiska platser i produktion och distributionsnät. I VA-Sverige används även andra labbinstrument för flödescytometri.

Tillämpningarna delas in i tre huvudsakliga områden: rutinanalyser som en del av löpande uppföljning av vattenkvalitet, tillfälliga utredningar vid förändringar eller avvikelser i systemet samt online-analyser för kontinuerlig övervakning. Genom exemplen belyses både likheter och skillnader i hur tekniken används i olika sammanhang. Avslutningsvis sammanfattas hur resultaten från flödescytometri kan tolkas och omsättas i praktiskt arbete, samt vilka överväganden som krävs för att använda informationen som stöd i drift och beslutsfattande.

## Rutinanalys i vattenverk och ledningsnät

Hos organisationerna används flödescytometri som ett komplement eller en del av den löpande uppföljningen av mikrobiell vattenkvalitet i både vattenverk och distributionssystem. Vanliga parametrar är totalantal, intakta celler och HNAP. Omfattning, provpunkter och frekvens varierar, men det finns gemensamma mönster i hur analyserna används och vilken roll de fyller i vardagen i organisationerna.

**Norrvatten:** flödescytometri används i labb sedan 2017. Utgående dricksvatten analyseras nu dagligen under vardagar; prover mellan processteg tas två gånger per vecka. Prover tas även i reservoarer och pumpstationer i huvudledningsnätet varannan vecka samt vid behov vid ledningsnätsarbeten. Förutom vanlig analys av bakteriekompositionen i vattnet analyseras även alger veckovis. Den långvariga provtagningen har gett omfattande tidsserier som används för att beskriva normalvariation över året och tidigt upptäcka avvikelser i produktion och distribution.

**Sydsvatten:** flödescytometri ingår i ordinarie prov- och analysprogram. Sedan våren 2024 analyseras rutinmässigt prover från cirka 20 punkter i ledningsnätet varje vecka för att följa mikrobiell stabilitet och variation. Larmgränser planeras att definieras efter två års datainsamling. Parallellt används flödescytometri i vattenverken, bland annat för uppföljning av biologiska processer såsom långsamfilter där mer systematiska mätningar har påbörjats under 2026. Analyserna synliggör förändringar som inte fångas av odlingsbaserade metoder och är särskilt relevant i system med mycket låga halter odlingsbara mikroorganismer. På sikt önskar Sydsvatten kunna använda flödescytometri för att avgöra när långsamfilter är redo att tas i drift efter underhåll, något som idag baseras på odlingsresultat.

**VA SYD:** flödescytometri har använts för driftprover i vattenverk sedan omkring 2020, initialt främst i utvecklingsarbete för att bygga baslinjer och referensdata. Sedan 2025 ingår flödescytometri i mer rutinmässig kontroll av ett vattenverk med både regelbunden provtagning varannan vecka och vid behov. Prover tas mellan processteg som komplement till övriga mikrobiologiska och kemiska analyser, främst för att följa systembeteende över tid och återgång till normalläge efter förändringar eller ingrepp i processerna.

**Vivab:** flödescytometri har använts sedan 2018, främst i forskningsstudier kopplade till större förändringar i vattenproduktionen (införande av ultrafiltrering och förändrad desinfektionsstrategi). Under forskningsstudierna användes analyserna för att följa långsiktiga trender i mikrobiell tillväxt och stabilitet i vattenverk och ledningsnät före och efter driftförändringar. Även om labbanalyser inte används rutinmässigt i dag har tidsserierna gett ökad förståelse för vad som är normalt och hur kvalitet påverkas av driftförutsättningar.

**Gemensamma drag:** flödescytometri i rutinprovtagning används främst för att bygga systemförståelse över tid. Kontinuitet och tillräckligt långa tidsserier lyfts som avgörande för meningsfull tolkning. Exempelvis har Norrvatten tydliga säsongsvariationer (ytvatten från Mälaren) och använder rullande standardavvikelse per månad för att identifiera avvikande provresultat, medan VA SYD (grundvatten) har nästan inga årstidsvariationer. Resultat sätts i relation till drifhändelser, processtyrning och traditionella analyssvar; labbpersonal identifierar avvikelser och skapar förståelse i dialog med drift och processtöd, medan eventuella åtgärder beslutas av driftavdelningar.

## Exempel: Övervakning av alger

Norrvatten använder flödescytometri för rutinmässig analys av alger, med fokus på cyanobakterier och fytoplankton. Analysen baseras på autofluorescens från fotosyntetiska pigment vilket möjliggör åtskillnad mellan cyanobakterier och andra planktonalger. Dessa är oönskade i vattnet då cyanobakterier kan bilda toxiner och andra alger såsom kiselalger som kan ge lukt och smak åt vattnet.

Provtagning sker normalt en gång per vecka från olika intagsdjup i råvattentäkten, inkommande vatten till vattenverket, utvalda processteg samt utgående dricksvatten. Resultaten används för att följa variationer över tid och tidigt identifiera förändringar som kan ha betydelse för råvattenkvalitet, processtyrning eller risk för lukt- och smakpåverkan. Analysen ingår som en del i en samlad bedömning, med tyngdpunkt på trendanalys snarare än enskilda mätvärden.

## Tillfälliga drifthändelser och riktade utredningar

Flödescytometri kan användas vid tillfälliga drifthändelser som kompletterande verktyg för att följa hur mikrobiell vattenkvalitet påverkas eller förändras, exempelvis vid underhåll och driftsättning av processanläggningar eller vid planerade/akuta ledningsarbeten. I nuläget används metoden dock endast i begränsad omfattning vid sådana händelser i organisationerna.

**Ledningsarbeten:** Norrvatten har inkluderat flödescytometri i ett analyspaket för ledningsarbete, Bilaga 2. Paketet omfattar mikrobiologiska och kemiska analyser med analys svar inom cirka 26 timmar (med undantag för 3-dygns odlingsbara mikroorganismer). Efter avslutat ledningsarbete spolas ledningen i regel tills analys svar är godkända. Flödescytometriresultat jämförs med referenspunkt i ledningsnätet och/eller utgående dricksvatten för perioden; vid avvikande resultat tas omprov och spolning fortsätter. Metoden ger därmed möjlighet att sätta ledningar i drift innan alla odlingsresultat är klara, under förutsättning att övriga provsvar är godkända.

**Riktade analyser:** Vivab gör ibland extra analyser vid driftsättning av nya anläggningar eller vid ledningsarbeten. Analyser efterfrågas av driftavdelningen vid långvariga problem eller av FoU-avdelningen för att följa specifika händelser. FoU-avdelningen utför alla labbanalyser och driftavdelningen kan välja att sätta online-instrument för tätare provtagning. Tolkning sker i dialog mellan avdelningar för att väga samman analys svar och driftsituation.

### Exempel: Ringa in problemområde

Vid konstaterade eller misstänkta driftstörningar hos Vivab används ibland flödescytometri för att ringa in problemområden i ledningsnätet. Stickprover tas i relevanta områden och används främst för att identifiera ursprung, utbredning och trender, inte för att direkt styra driften. Resultaten hjälper till att prioritera var åtgärder eller vidare utredning ska fokuseras. Osäkerheter kan uppstå om analyser pekar åt olika håll (t.ex. normala flödescytometriresultat men utslag i odling); beslut fattas då från fall till fall beroende på situation.

### Exempel: Utredning av driftstörningar i vattenreservoar

Norrvatten hade tidigare återkommande problem med vattenkvaliteten i en reservoar. Odlingsanalyser visade periodvis förhöjda halter, särskilt under varmare delar av året, men gav begränsad information om orsaker. En utredning genomfördes där online-flödescytometri kombinerades med nivåmätning, temperatur och andra driftparametrar.

Med provtagning var 6:e timme följdes förändringar i total cellhalt och mikrobiell aktivitet. Analyserna visade samband mellan lång uppehållstid och ökad mikrobiell aktivitet. Resultat analyserades tillsammans med drift- och hydraulikdata för att förstå hur omsättning och nivåstyrning påverkade stabiliteten. Utredningen ledde till förändrad driftstrategi med justerade omsättningstider och nivåstyrning, och efter införandet minskade förekomsten av förhöjda odlingsresultat markant.

## Onlinemätning på strategiska platser

För tätare uppföljning används flödescytometri även för online-mätning på strategiska platser i produktionsanläggningar och distributionssystem hos Sydvatten, Norrvatten, Vivab och VA SYD. Instrument har installerats direkt i produktion och ledningsnät och analyserar vattnet automatiskt med regelbundna intervall (ofta var 4–6:e timme). Online-instrument kan även möjliggöra användning i organisationer utan egna laboratorier.

Placering är exempelvis efter specifika processteg i vattenverk eller i distributionsnätet vid reservoarer eller långt ut i ledningsnätet där manuell provtagning sker mer sällan. Hos Norrvatten och Vivab används instrument också mer mobilt och flyttas beroende på aktuella frågeställningar och pågående arbeten.

Online-resultat används för att följa förändringar i total cellhalt och övergripande mikrobiella mönster över tid. Data kan göras tillgängliga via befintliga övervakningssystem (t.ex. SCADA) eller hanteras som fristående dataset som hanteras manuellt. I övervakningssystemet kan larmgränser definieras, men i flera fall behöver dessa justeras månadsvis eller kvartalsvis för att följa säsongsvariation. Exempel på hur larmgränser kan sättas beskrivs i Bilaga 3. I praktiken används larmgränser sparsamt eftersom nyttan kan vara svår att konkretisera för driftpersonal som hanterar larm och -gränser, och eftersom avvikelser i flödescytometri inte är direkt kopplade till hälsorisk. Beslut om åtgärder baseras därför inte enbart på online-larm; resultaten används ofta för efterhandsutredning av avvikelser eller kända driftsituationer.

### Exempel: Övervakning av processteg

**Vivab:** använder online-flödescytometri som processövervakning på ett vattenverk för att säkerställa ultrafiltreringsfunktion samt i ledningsnät/reservoarer. Totalt finns sex instrument och analyser görs var 6:e timme. Resultat för TCC och HNAP skickas direkt till övervakningssystemet, däremot sparas inte fingeravtryck. En person på driftavdelningen ansvarar för instrumenten och vid avvikande resultat går larm till övervakningssystemet. Vid avvikelse undersöks orsaker (t.ex. membranintegritet eller förändrat omsättningsbehov i reservoarerna), alternativ diskuteras vid behov med FoU-avdelningen och beslut om åtgärder fattas därefter.

**Norrvatten:** placerar online-instrument där övervakningsbehov finns, t.ex. vid åtgärder i processteg som filterbassänger eller i ledningsnätet vid reservoarer. Resultat tolkas parallellt med övriga analysvar av avdelningen för processtöd, som även ger rekommendationer om eventuella åtgärder. Beslut och genomförande ligger hos andra avdelningar.

## Hur används resultaten i praktiken?

En gemensam erfarenhet är att flödescytometri i nuläget inte styrs av formella handlingsplaner med fördefinierade gränsvärden och åtgärdstrappor. Arbetssättet präglas i stället av ett dialogbaserat och utforskande förhållningssätt där analysresultat används som utgångspunkt för gemensam tolkning snarare än som direkta beslutsunderlag. Vid avvikande eller oväntade resultat inleds ofta ett "luskande" efter förklaringar där flödescytometri sätts i relation till andra analysvar, drifhändelser, processförändringar, hydraulik och annan tillgänglig information.

Detta bygger i hög grad på kommunikation och nära samarbete mellan labb, processtöd och drift. Fokus ligger ofta på att förstå *varför* ett resultat ser ut som det gör och om det kan kopplas till kända eller nyligen genomförda åtgärder, snarare än att direkt initiera en specifik insats. Åtgärder övervägs typiskt först när flera informationskällor pekar åt samma håll.

Flödescytometri uppfattas i dag främst som verktyg för ökad systemförståelse och tidig indikation, men detta innebär också risk för personberoende. Flera organisationer uttrycker behov av mer strukturerade arbetssätt på sikt, men först när kunskap, tillit och samsyn om tolkning och relevans har byggts upp och förankrats i drift, kvalitet, labb och ledning.

En särskild utmaning är att avgöra när provresultat avviker från normalt – och när en avvikelse innebär en reell kvalitetsförändring eller hälsorisk som kräver åtgärd. Inom projektet *Platta till pixel* adresseras den första delen genom utveckling av ett tolkningsverktyg som ska kunna identifiera avvikande prover objektivt med algoritmer och minska behovet av specialistkompetens. Vidare koppling mellan avvikelse och potentiell hälsorisk behöver fortsatt forskning och utveckling.

Det finns även användningsområden där flödescytometri ger begränsat mervärde. Det gäller särskilt när provets sammansättning varierar över tid, då tolkning bygger på jämförelser med trender, tidsserier eller referensprov. Ett exempel är distributionssystem där dricksvatten blandas från olika råvattenkällor med olika mikrobiell sammansättning; i sådana områden blir det svårt att skilja variationer orsakade av blandningsförhållanden från andra förändringar i mikrobiell sammansättning.

## Användning av andra analysmetoder

Utöver flödescytometri används i dag även andra analysmetoder för mikrobiell vattenkvalitet som inte är beskrivna i dricksvattenföreskrifterna, i första hand för mer riktad övervakning av specifika indikatororganismer. Bland de organisationer som ingår i denna sammanställning är det i nuläget endast Sydsvatten som använder sådana tekniker i löpande tillämpning.

De metoder som används är Colifast CALM (Colifast at-line monitor) och Colifast ALARM båda från Colifast AS, vilka bygger på enzymatisk detektion av bakterier. Analysprincipen innebär att specifika enzymer hos koliforma bakterier och *E. coli* reagerar med tillsatta substrat, vilket ger upphov till fluorescens som mäts av instrumenten. Till skillnad från flödescytometri, som beskriver den totala mikrobiella populationen, ger dessa metoder information om förekomst av utvalda indikatorbakterier. Tiden från provtagning till analys svar är i storleksordningen 9–16 timmar, beroende på metod.

**CALM** används av Sydsvatten för analys av råvatten från Vombsjön. Instrumentet mäter koliforma bakterier och *E. coli* genom automatisk provtagning en gång per dag och är uppkopplat till styrsystemet, där driftpersonal får larm vid avvikande resultat. Larmgränserna är kopplade till organisationens egenkontrollprogram. Vid larm följer driften en etablerad åtgärdsstrappa, som kan innebära reducerat intag av råvatten, andra begränsningar eller behov av verifierande analyser. Metoden upplevs ge ett tydligt mervärde genom att den dagliga ”ögonblicksbilden” av råvattenkvaliteten ger bättre beslutsunderlag jämfört med tidigare veckovis manuell provtagning. Det gäller både för att snabbt kunna vidta försiktighetsåtgärder och för att avgöra när normal drift kan återupptas.

**ALARM** används för övervakning av vatten efter konstgjord infiltration av råvatten från Vombsjön och ger ett binärt resultat (ja/nej) för förekomst av koliforma bakterier. Även denna analys sker dagligen med automatisk provtagning och larm till driftorganisationen vid positivt utslag. Vid larm initieras åtgärder som exempelvis kompletterande provtagning eller spårningsinsatser. Det finns inga specifika handlingsplaner direkt kopplade till instrumentet, men resultaten hanteras inom ramen för befintliga stödjande dokument och arbetssätt för driften. Nyttan beskrivs framför allt som en väsentligt högre upplösning i uppföljningen av inkommande flöden jämfört med traditionell veckovis provtagning likt för analys med CALM.

Sammantaget används dessa enzymatiska online-metoder som operativa övervakningsverktyg med tydlig koppling till drift och åtgärder. Till skillnad från flödescytometri, som i huvudsak används för trendanalys och systemförståelse, är CALM och ALARM mer direkt inriktade på att ge tidiga varningssignaler om förekomst av specifika indikatorbakterier. Samtidigt är mervärdet av analyserna beroende av etablerade rutiner för hur resultat ska tolkas och omsättas i praktisk handling. Metoderna kompletterar därmed både traditionella analyser och flödescytometri, men ersätter dem inte.

## Sammanfattning och framåtblick

Erfarenheterna i denna sammanställning visar att nya analysmetoder redan i dag används som ett värdefullt komplement i arbetet med mikrobiell vattenkvalitet. Tillämpningarna har framför allt bidragit till ökad insikt i hur system beter sig över tid och hur mikrobiella förändringar kan följas med högre tidsupplösning än vad traditionella metoder medger.

Samtidigt är användningen fortfarande under utveckling. Flödescytometri kräver sammanhang, referensdata och organisatoriska förutsättningar för att skapa nytta, och resultaten behöver tolkas i relation till annan information snarare än användas isolerat. Det gör att analyser i nuläget främst fungerar som stöd för förståelse, prioritering och lärande, snarare än som direkt styrande verktyg. De enzymatiska analyserna mäter specifika organismer och därmed närmre traditionella odlingsmetoder där upparbetade rutiner finns för tolkning och åtgärder.

Sammanställningen kommer att vidareutvecklas senare i projektet med en internationell utblick samt erfarenheter från tester av ytterligare analysinstrument. I takt med att kunskap, standardisering och tillit utvecklas kan nya analyser få en mer etablerad roll i arbetet med mikrobiell vattenkvalitet i olika verksamheter. Denna sammanställning är ett steg på vägen och ett underlag för fortsatt dialog, snarare än en slutpunkt.

## Avslutande ord

Denna sammanställning är framtagen inom ramen för projektet *Från platta till pixel*, där flera organisationer gemensamt utforskar hur snabba analysmetoder för mikrobiell vattenkvalitet kan användas, tolkas och omsättas i praktiskt arbete. Fokus är inte att ersätta dagens metoder, utan att förstå vilka nya möjligheter och begränsningar som uppstår när tillgången till information förändras.

Använder ni andra analyser inom din organisation? Vi vill gärna ta del av era erfarenheter. Vänligen kontakta oss för att berätta om hur ni hanterar mikrobiell vattenkvalitet.

Texten är sammanställd under våren 2026 av Ellen Edefell, projektledare för *Från platta till pixel* med bidrag och kunskap från Linda Holmer, Norrvatten, Lena Meyer-Lind och Markus Fröjd, VA SYD, Anders Lindström, Sofia Termén och Tony Malmquist, Sydsvatten samt Caroline Schleich och David van Walraven, Vivab.

## Kontakt

Vill du veta mer om projektet är du välkommen att besöka [www.PlattaTillPixel.se](http://www.PlattaTillPixel.se) eller prenumerera på vår artikelserie på [www.plattatillpixel.substack.com](http://www.plattatillpixel.substack.com). Du är också välkommen att kontakta oss via mail på [info@swrab.se](mailto:info@swrab.se).

## Bilagor

**Bilaga 1** – Standard Operating Procedure (SOP) för kvantifiering av bakterier med flödescytometri, VA SYD

**Bilaga 2** – Riktlinjer för analys-kit vid arbete med ny ledning, Norrvatten

**Bilaga 3** – Utdrag från rapport Flödescytometriska basvärden för dricksvattenkontroll, Vivab

## Tillhörighet

Dricksvattenlab

## Dokumenttyp

Redovisande dokument

## Dokument-ID

5208

## Utgåva

2



## Titel

SOP055 Kvantifiering av bakterier med flödescytometri

## Dokumentslag

Rutin

## Huvudförfattare

Lena Meyer-Lind

## Godkänd av

Maria Örtenvik

## Godkänt

den

2024-04-03

Titel
SOP055 Kvantifiering av bakterier med flödescytometri
Distribution
Laboratorieenheter
Fysiska kopior
DVL
Orsak till revidering
Kvalitetskontroll med CS&T Ruo beads

## 1. Syfte

SOP055 beskriver rutin för kvantifiering av bakterier i vatten med flödescytometri (FCM).

## 2. Omfattning

SOP055 omfattar analys av dricksvattenprover för att övervaka total antal bakterier och antal intakta bakterier, oorganiska och organiska partiklar.

## 3. Definitioner

- *SG*: SYBR Green I, färgämne som binder till nukleinsyra (DNA, RNA)
- *PI*: propidium jodid, färgämne som tas upp av celler med skadad membran
- *TCC*: total cell count, totala antal bakterier
- *ICC*: intact cell count, bakterier med intakt cellmembran

## 4. Referenser

- TUT55
- Gatza et al. BD White Paper:  
<https://www.bdbiosciences.com/content/dam/bdb/marketing-documents/unpublished-pdfs/Accuri-WP-Assessing-Water-Quality.pdf>
- BD Accuri C6 plus User's guide:  
<https://www.bdbiosciences.com/content/dam/bdb/marketing-documents/BD-Accuri-C6-Plus-Users-Guide.pdf>
- Schweizer standard "366.1 Determining the total cell count and ratios of high and low nucleic acid cells in fresh water using flow cytometry"
- Valideringsrapport Flödescytometer Accuri BD dok.-id 4271

## 5. Utrustning



- BD Accuri C6 Plus Inv.-nr. 967
- FACS rör (5 ml) samt tillhörande racks
- Pipetter med respektive sterila spetsar (Inv. nr. 951, 952, 953)
- Lösningar till infärgning (SYBR Green I, propidium iodid)

- Vortex
- Frys Salmonellalabb Inv.nr. 922
- Kyl substratlab Inv.nr. 640
- Inkubatorskåp Inv.nr. 638

## 6. Lösningar

- autoklaverat Milli Q vatten
- DMSO
- *Propidium iodid (PI)*. Ljuskänslig, skyddas mot direkt ljus!
  - används som lösning 1 mg/ml.
  - Lösning förvaras i kyl, mindre mängder upp till 100 µl kan förvaras vid rumstemperatur.
- *SYBR Green I*. Ljuskänslig, skyddas mot direkt ljus!
  - 100x lösning: blanda 0,5 ml 10 000x inköpt stocklösning med 49,5 ml DMSO. Frys in 0,5 ml i Eppendorff-rör. Hållbarhet flera år om de förvaras mörkt vid -20°C.
  - Vid behov tinas ett rör åt gången som förvaras sedan mörkt på rumstemperatur.
  - Lösningar ska inte frysas och tinas i omgångar.

## 7. Miljö

Kemikalier	Piktogram	Exponering
BD FACS clean solution		Irritation av hud och ögon Akut och kronisk risk för vattenlevande organismer
BD Detergent solution (koncentrat)		Frätande skada av hud och ögon vid exponering

Slask med märkning "Flödescytometri" lämnas vid miljöstationen, för att sedan hämtas och hanteras av behörigt företag.

## 8. QC

- Kvalitetskontroll utförs varje analysdag innan prover analyseras.
- Efter uppstart av instrumentet, kör autoklaverat mq vatten i 5 minuter, hastighet "fast"
  - är resultatet <5 events/ul, fortsatt med QC
  - är resultatet >5 events/ul behövs instrumentet rengöras (se TUT55)
- BD CS&T Ruo beads förvaras i kyl 640
- sätt 1 droppe välblandade (dock ej vortexade!) QC beads till 250 ul Milli Q vatten, blanda
- öppna QC funktionen och följ instruktioner i mjukvaran

- Kontrollera att rätt batch nummer ligger i mjukvarans QC panel
- Skriv in signatur för användare
- Vid behov justera gates. Bekräfta positioner.
- Resultat "passed": fortsatt med analys av prover
- Resultat "failed": kontrollera gates för beads och FL-1 till FL-4. Om QC godkänns inte efter justering, kör om eller rengör instrumentet enligt TUT55.
- QC rapport sparas i 90 dagar på drive C: Cytometer Support Files med dagens datum. Spara filen på FCM-USB minne och skriv ut för att arkivera rapporten.

## 9. Analys av dricksvatten

### 9.1 Infärgning av bakterier

Emellan proverna sköljs instrumentet med Milli Q vatten. Vid varje analysomgång färgas ett Milli Q - prov med SYBR Green I för att utesluta kontamination av Milli Q vattnet. Vatten som analyseras med FCM skall tas ifrån sterila, thiosulfat-behandlade provtagningsflaskor med sterila spetsar.

Prov sätts i triplikat, prov med väletablerade siffror kan sättas i duplikat (se 8.2.4).

*Var noggrann med att inte krosskontaminera prov och lösning.*

#### 9.1.1 TCC – total cell count

- 495 µl vattenprov i 5 ml FACS rör
- sätt till 5 µl SYBR Green I lösning (100x) och vortexa provröret
- Täck över rören med aluminiumfolja och inkubera proverna på  $36 \pm 1$  °C i 15 minuter.
- Under tiden förbered körfilen.
- Provrören sätts sedan direkt i instrumentet och analysen ska startas omedelbart.

#### 9.1.2 ICC – intact cell count

- 494 µl vattenprov i 5 ml FACS rör
- Sätt till 5 µl SYBR Green I lösning (100x) och 1 µl PI, vortexa prov
- Analyseras flera prov, blanda SYBR Green I och PI i en större volym och tillsätt 6µl av färgämnen till vattenproverna.
- Täck över rören med aluminiumfolja och inkubera proverna på  $36 \pm 1$  °C i 15 minuter.
- Provrören sätts sedan direkt i instrumentet och analysen ska startas omedelbart.

### 9.2 Inställning i BD Accuri C6 Plus mjukvaran

Instruktion för mjukvaran BD CSampler och dataanalys med FlowJo finns i TUT55.

*Inställning för alla prov:*

Limit: volume = 50 ul

- |                   |                      |
|-------------------|----------------------|
| 1. Fluidics:      | Medium (35 µL/min)   |
| 2. Threshold:     | FL1: 500             |
| 3. Wash settings: | None                 |
| 4. Agitate plate: | Yes, every 1 well(s) |

### Inställning för Milli Q vatten:

Limit: time = 2 min

1. Fluidics: Fast (66 µL/min)
2. Threshold: none
3. Wash settings: None
4. Agitate plate: Yes, every 1 well(s)

### 9.2.1 Schema provordning för 24 brunnspeltor

Ska prover analyseras i duplikat, välj inställning –**horizontal**.

mq	A SY	A SY	mq SY	A SY	A SY
mq	B SY	B SY	mq	B SY	B SY
mq	C SY PI	C SY PI	mq	C SY PI	C SY PI
mq	D SY PI	D SY PI	mq	D SY PI	D SY PI

(Där A-D är olika prov. SY = SYBR Green, PI = propidiumiodid)

Ska prover analyseras i triplikat, välj inställning – **vertical**.

mq	mq SY	mq	mq	mq	mq
A SY	A SY+PI	B SY	B SY+PI	C SY	C SY+PI
A SY	A SY+PI	B SY	B SY+PI	C SY	C SY+PI
A SY	A SY+PI	B SY	B SY+PI	C SY	C SY+PI

(A-C = olika prov. SY = SYBR Green, PI = propidiumjodid)

## 10. Rapportering

Efter dataanalys i FlowJo rapporteras resultat som medelvärde celler/ml för TCC och ICC i LW. WSP filer sparas i Sharepoint. Vid önskemål kan det meddelas HNA, LNA och standardavvikelse. Metoden är inte ackrediterat och rapporteras med motsvarande information.

## 11. Arkivering

Resultat sparas i Labware, rådata sparas på FCM-datorn.

## 11. Kopplade dokument

- Valideringsrapport Flödescytometer Accuri BD dok. ID 4271
- TUT55

# Riktlinjer för analys-kit vid arbete med ny ledning

---



Inlagd av  
Stina Bringsarve  
Godkännare  
Daniel Hellström  
Dokumentansvarig  
Daniel Hellström

Inlagd  
2024-06-11  
Godkänd  
2024-06-11  
Process  
Kvalitet & Utveckling

Version  
1  
Kan läsas av  
Alla på Norrvatten  
Dokumentrevision  
2027-06-11

Detta är en papperskopia av det elektroniska originalet, kontrollera giltighet.  
Skanna denna kod med din mobilkamera för att se om dokumentet är giltigt





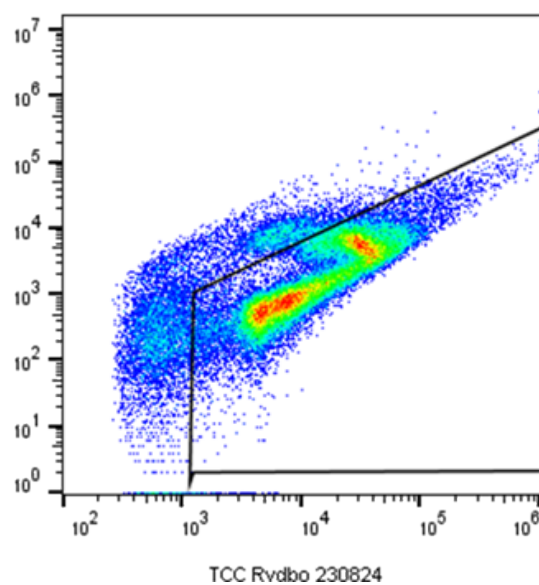
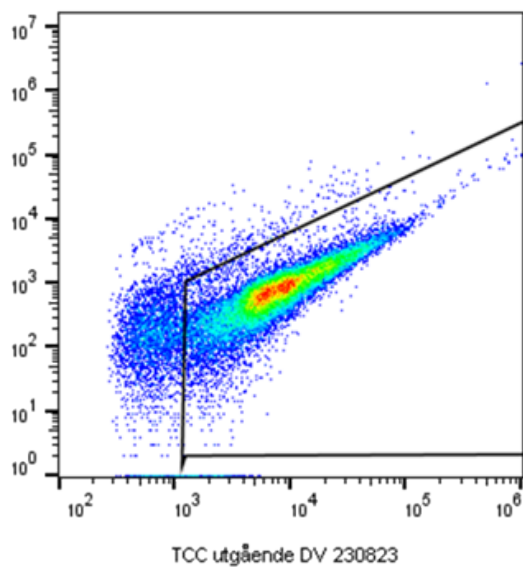
## Riktlinjer

Ärendenummer

# Analys-kit vid Norrvattens arbete med ny ledning/ledningsarbete

---

Antagen av Ledningsgruppen 2024-06-10  
Norrvatten



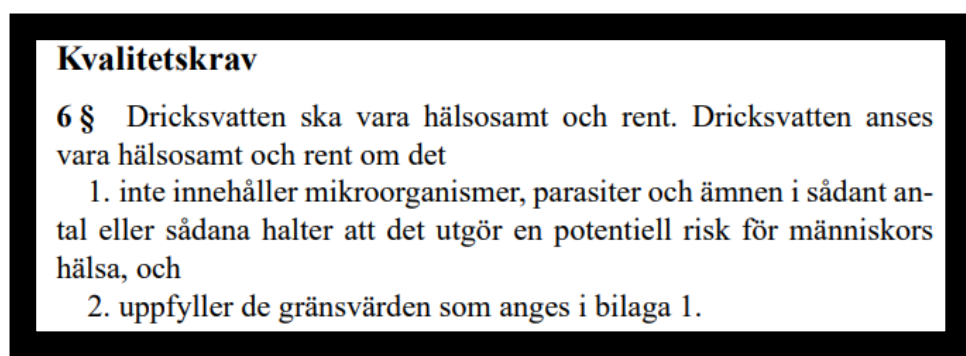
Vid Norrvattens ledningsarbeten och vid driftsättning av ny ledning eller reparation är det nödvändigt att bekräfta god vattenkvalitet efter avslutat arbete. Kvalitet & Utveckling ger rekommendation och produktionschef beslutar. För att kunna ta ett så säkert beslut som möjligt om att driftsätta en ledning, och undvika risk för hälsoskadligt vatten till konsument, kan med fördel ett förbestämt analys-kit användas. Denna skrift sammanfattar och motiverar de analysparametrar som föreslås ingå i detta analys-kit, tabell 1.

**Tabell 1.** Förslag till analys-kit för Ny ledning/Ledningsarbete Norrvatten. Fyra mikrobiologiska och åtta kemiska analyser. Med undantag för odlingsbara mikroorganismer kan provsvar fås inom ett dygn.

Analysmetod	Analys betyder (hos användare)	Analystid	Kvalitetsavvikelse
<b>Flödescytometri (FCM)</b>	Mängd bakterier i provet. Avvikande värde risk för smitta.	1 dag	Vid förhöjt totalantal bakterier eller avvikande fingeravtryck.
<b>Colilert-18</b>	Påvisar koliforma bakterier och eller <i>E.coli</i> . Kontaminering från miljön och/eller avlopp. Risk för smitta.	1 dygn	Påvisad.
<b>Enterolert-DW</b>	Påvisar intestinala enterokocker. Kontaminering från avlopp. Risk för smitta.	1 dygn	Påvisad.
<b>Odlingsbara mikroorganismer vid 22°C</b>	Indikerar förutsättning för mikrobiologisk tillväxt. Höga halter kan indikera förhöjd risk för smitta.	3 dygn	Extremvärden tillsammans med avvikande FCM.
<b>Turbiditet</b>	Onormal ökning i turbiditet kan innebära ökad risk för smitta och tillväxt.	1 dag	1,5 FNU/FTU/NTU
<b>Klor_totalt</b>	Kan ge lukt och smak. Organiskt material i vatten ökar risk för bildning av klororganiska föreningar som kan vara hälsofarliga.	1 dag	0,40 mg/l utgående dricksvatten
<b>Färg_410</b>	Höga värden kan bero på slam och	1 dag	30 mg/l

utfällningar från ledningsnät.			
<b>Lukt 20°C</b>		1 dag	Tydlig
<b>Lukt 50°C</b>		1 dag	
<b>pH</b>	Högt pH ökar risk för korrosion och halter över 10,5 pH kan ge akuta skador på ögon och slemhinnor.	1 dag	≥6,5 och ≥ 9,5
<b>Konduktivitet 25°C</b>		1 dag	
<b>Konduktivitet beräknad 20°C</b>	Totala halten lösta salter. Höga halter påskyndar korrosion.	1 dag	2500 µS/cm

I Livsmedelsverkets vägledning om dricksvatten (SLVSFS 2022:12), om hur kraven i lagen kan uppfyllas, finns ett generellt krav enligt paragraf 6, figur 1.



*Figur 1. Modifierad från LIVSFS 2022:12.*

Vidare står i paragraf 7 stycke 2 att gränsvärdena i bilaga 1 (se bilaga) även gäller ”vatten som tillhandahålls från en distributionsanläggning; vid den punkt i en fastighet eller en anläggning där det tappas ur kranar som normalt används för dricksvatten.”. Likväl som produktionen av dricksvatten kontrolleras noggrant bör således ledningsarbeten ha likvärdiga krav. Kontaminerade ledningar kan nämligen vara direkt ohälsosamma eller bli problematiska över en lång tid. En kontamination av mikroorganismer kan potentiellt etablera sig i biofilmen på ledningens insida och därmed kan organismerna kvarstå och tillväxa. Bakterier i biofilm släpps ut i bulkvattnet slumpartat över tid men kan även släppa från biofilmen vid särskilda händelser så som tryckfall eller luft i ledningen (Jang et al. 2017; Douterelo et al. 2014). Antalet bakterier i vattnet kan på så vis variera och stickprover kan därmed påvisa mycket högt antal bakterier eller helt missa dem. Detta kan skapa en osäkerhet kring kvalitet samt ökad arbetsbelastning med utredningar kring avvikelser.

I föreskrifterna finns provpaket gällande omfattning analyser, provgrupp A och provgrupp B (se bilaga). Från provgrupp A, som är det paket som genomförs ofta har Norrvatten sedan tidigare tagit fram ett analyspaket för nya ledningar/ledningsarbeten. Tabell 1 listar vilka

kemiska parametrar som vanligtvis genomförs på vattenprov från nya ledningar eller ledningsarbeten. Dessa kemiska analyser körs och blir klara samma dag som provet kommer till laboratoriet. Dessa används förslagsvis även i fortsättningen för interna arbeten, dvs Norrvattens egna arbeten på ledningsnät.

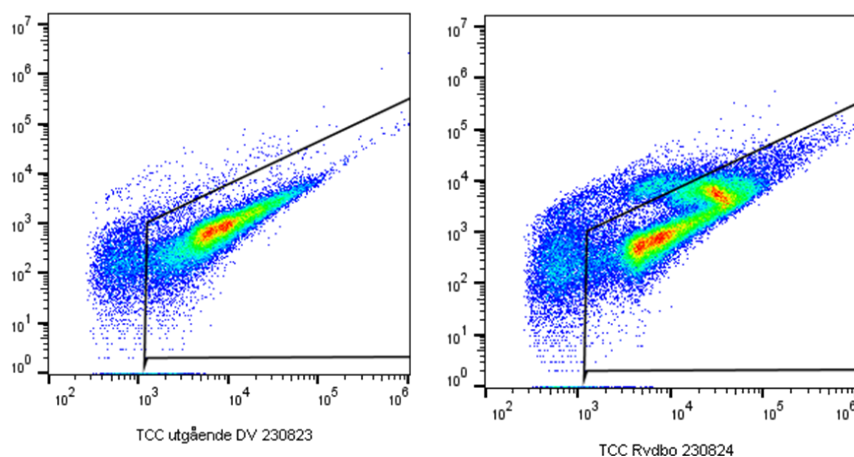
För att få en effektiv tidsram gällande kvalitet för mikrobiologiska analyser har Norrvatten tidigare i år (2023) tagit bort den sju dygn långa analysen långsamväxande bakterier vid 22°C. I och med det nya dricksvatten direktivet som trädde i kraft vid årsskiftet finns inte några numeriska gränsvärden kvar för odlingsbara mikroorganismer vid 22°C (LIVSFS 2022:12). Gränsvärdet är istället ”ingen onormal förändring”. Det blir svårtolkat vid ansättning av prov från ledningsarbeten. Förslagsvis hålls parametern kvar i analyspaketet men flödescytometri (FCM) kan vara ett snabbare alternativ för utvärdering av antalet bakterier i provet. Som referens till ledningsprover finns flödescytmetriska parametrar så som antalet bakterier och fingeravtryck från utgående dricksvatten från verket. Även provpunkter ute på ledningsnätet (pumpstationer och torn) som är närmare ledningsarbetet kan fungera som referens. Allra bäst är om man kan provta både inkommande vatten till ledningen och utgående vid samma tidpunkt.

Figur 2 skildrar ett tydligt exempel på utgående dricksvatten från Görvålverket och en ny ledning på spolning som fick ett avvikande resultat. Mindre än en timme från att provet inkommit laboratoriet kunde avvikelser konstateras med FCM. Tre dagar senare kunde 3-dygnsodling bekräfta avvikelserna. Ett omprov togs dagen efter och detta hade normalt fingeravtryck och odlingsvärden (data ej presenterat).

Så om de flödescytmetriska analyserna inte visar något avvikande mot referens-FCM (såsom förhöjt totalantal bakterier eller ett avvikande fingeravtryck) skulle en ledning med analys svar under gränsvärdena för parametrarna i tabell 1 kunna driftsättas efter ett dygn, det vill säga innan 3-dygnsodling är klar.

En ytterligare förändring gällande krav på mikrobiologiska analyser i nya dricksvattenföreskrifterna är analys av intestinala enterokocker. Den godkända metoden från SLV är en membranfiltermetod med provsvar efter två dygn. Norrvattens laboratorium är ackrediterat för en snabbmetod av intestinala enterokocker och den skulle kunna ersätta filteringsmetoden i analys-kitet.

## Riktlinjer för analys-kit vid arbete med ny ledning



**Figur 2.** Total cell count (TCC) flödescytometriska cytogram. Vattenprover är infärgade med SYBRGreen I för att mätas med känd fluorescensvåglängd. Infärgning av DNA tolkas som bakterieceller. Varje punkt i cytogram är en odefinierad partikel och gating avgränsar bakterieceller från bakgrundsnoise.

Tabell 1 radar upp mikrobiologiska analyser (tillsammans med kemiska analyser) som föreslås kunna användas i analys-kit för ledningsarbeten.

Dessutom kan med fördel en större volym av stickprovet analyseras för att med större sannolikhet upptäcka en förorening. Exempelvis kan hela restvolymen ansättas för analys av koliforma bakterier och/eller *Escherichia coli*. Utöver Colilert kan alltså ca 300 ml ansättas för att påvisa koliforma bakterier, dock utan en exakt kvantifiering. Denna analys indikerar kontaminering från miljön (koliforma bakterier) och/eller kontaminering från avlopp (*E. coli*).

Mikael Danielsson och Linda Holmer  
Mikrobiologer

## Referenser

Douterelo, I., Sharpe, R., Boxall, J (2014). Bacterial community dynamics during the early stages of biofilm formation in a chlorinated experimental drinking water distribution system: implications for drinking water discolouration. *Journal of Applied Microbiology*, 117:286-301.

Jang, H., Rusconi, R., Stocker, R (2017). Biofilm disruption by an air bubble reveals heterogenous age-dependent detachment patterns dictated by initial extracellular matrix distribution. *npj Biofilms and Microbiomes*. 3:6.

Kontrollwiki. <https://kontrollwiki.livsmedelsverket.se/artikel/358/kvalitetskrav>. Hämtat 2023-10-30.

Livsmedelsverkets författningssamling LIVSFS 2022:12.

## 1. Bilagor

Tabell 2. Gränsvärden Bilaga 1, LIVSFS 2022:12

Parameter	Dricksvatten hos användare	Enhet	Provgrupp
<b>Gränsvärden vid bedömning av kvaliteten på dricksvatten. Parametrar för mikroorganismer.</b>			
<i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> )	Påvisad	Antal/100 ml	A och B
Intestinala enterokocker	Påvisad	Antal/100 ml	A och B
<b>Indikatorparametrar</b>			
Aktinomyceter	100	Antal/100 ml	B
<i>Clostridium perfringens</i> , inbegripet sporer	Påvisad	Antal/100 ml	B
Koliforma bakterier	Påvisad	Antal/100 ml	A och B
Mikrosvamp	100	Antal/100 ml	B
Långsamväxande bakterier	Ingen onormal förändring		A och B
Odlingsbara mikroorganismer vid 22°C	Ingen onormal förändring		A och B

2.

### Provgrupp A

Undersökning av provgrupp A ska genomföras ofta, en eller flera gånger per år. Frekvenserna framgår av bilaga 3 avsnitt B tabell 3. Vad som minst ska ingå i en provgrupp A-undersökning framgår av bilaga 1 till LIVSFS 2022:12. Undersökning av provgrupp A ska ge regelbunden information om dricksvattnets normala hälsomässiga, tekniska och estetiska kvalitet. Den ska dessutom ge information om att beredningen fungerar så att kvalitetskraven i bilaga 1 uppfylls.

### Provgrupp B

Undersökning av provgrupp B ska genomföras mer sällan än provgrupp A och innebär att alla relevanta parametrar i bilaga 1 till LIVSFS 2022:12 ska undersökas. En del av parametrarna behöver bara analyseras under vissa förutsättningar vilket specificeras i kommentarer i tabellen.

Figur 3. Från LIVSFS 2022:12.

# Utdrag från Vivabs rapport

## Flödescytometriska basvärden för dricksvattenkontroll

Caroline Schleich och Alexander Keuken, 2020

### 1. Introduktion

Hösten 2015 tog VIVAB tillsammans med Sweden Water Research och Lunds universitet ett initiativ att påbörja en långsiktig biofilmsstudie. Ansatsen var att kombinera molekylärbiologisk analys, inklusive DNA-baserad flödescytometri (FCM), med traditionell biologisk och kemisk analys för att öka kunskapen om dricksvattenledningarnas biofilm samt att undersöka om FCM kan användas för processoptimering och övervakning av dricksvattenproduktionen. Pågående internationell dricksvattenforskning har visat att FCM har potential för innovativ uppföljning av de mikrobiologiska förändringarna inom dricksvattenproduktionen [1–3]. De positiva FCM-erfarenheterna under projektets första två år ledde till att antalet provtagningspunkter i ledningsnätet utökades under år 2018 för att även omfatta ytterområdena inom distributionssystemet kopplat till Kvarnagårdens vattenverk. Målet var att identifiera basvärden, d.v.s. de typiska bakterieantalen för strategiskt intressanta provtagningspunkter i ledningsnätet för olika årstider. Undersökningen av olika provpunkter i ledningsnätet visade fluktuationer i bakterieantalen med hänsyn till uppehållstider, avståndet från vattenverket och vattentemperaturen [4]. De framtagna basvärdena ska vara ett viktigt verktyg i framtiden för att övervaka vattenkvalitén.

### 2. Material och Metod

#### 2.1 Provtagningspunkter

VIVAB tar vattenprover på 16 strategiska provpunkter i ledningsnätet för att övervaka hur bakterieantalet i vattnet utvecklas med avseende på olika hydrauliska förhållanden i ledningsnätet och temperaturfluktuationer under årstiderna [4, 5]. Alla vattenprover samlades in i sterila 15 mL Falcon-rör med tillsats av 1% (v/v) natriumtiosulfat (20 g/L) för att inaktivera resthalter av klor. Provtagningsrutinen inkluderade desinfektion av provtagningskranen (med brännare) och spolning av vattenledningen i 10 minuter innan provtagning och registrering av vattentemperatur. Prover transporterades i kylboxar och analyserades samma dag m.a.p. FCM.

#### 2.2. Flödescytometri

Flödescytometri är en teknik för att mäta bakterieantalet (total cell count = TCC) i dricksvattnet. Utöver TCC analyseras mängden DNA som bakterierna innehåller vilket möjliggör en indelning av bakterier i low nucleic acid (LNA) och high nucleic acid (HNA). Inom verksamheten finns det två olika typer av flödescytometrar. Det finns ett labbinstrument som möjliggör manuella mätningar (BD Accuri) och tre on-line instrument (BactoSense) som mäter kontinuerligt vid utvalda provpunkter i distributionsnätet kopplat till Kvarnagårdens vattenverk.

## 4. Lathund – Etablering av basvärden

Vid upprättelse av basvärden bör några aspekter beaktas enligt nedan:

- Förändring av TCC på grund av vattentemperaturen (säsongsberoende trender).
- Fluktuationer på grund av flödesförändringar.
- Förekomst av avvikande utslag (exempelvis kraftigt förhöjda värden).

Vidare rekommenderas att använda både minimum- och maximum-gränsvärden. Överskridandet av MAX-gränsvärden eller förhöjda värden kan indikera kontamination, tillväxt eller störningar i ledningsnätet. Underskridandet av MIN-gränsvärden kan bland annat tyder på instrumentfel, till exempel att reagenser som färgar bakterieceller inte fungerar tillfredställande.

### 4.1 On-lineövervakning

On-lineövervakningen i ledningsnätet möjliggör en uppföljning om hur bakterieantalet förändras under vissa tidsintervaller och hur förändringen av flödet påverkar bakterieantalet. Vid stabila förhållanden rekommenderas gränsvärden som motsvarar 15 % skillnad från medelvärdet (t.ex. om medelvärdet ligger vid 60 000 celler/mL rekommenderas MIN-gränsvärde = 51 000 celler/mL och MAX-gränsvärde = 69 000 celler/mL. Medelvärden beräknas genom att betrakta en period av flera sammanhängande månader med liknande bakteriehalter. Om gränsvärdena över- eller underskrids krävs en ytterligare utvärdering och övervakning avseende varaktigheten. Oftast handlar över-/underskridanden om enskilda utslag som kan kopplas till incidenter eller förändringar av exempelvis vattenflödet. Om det inte finns rimliga förklaringar som kan härledas till en incident och gränsvärdesöverskridanden fortsätter eller uppmätta värden till och med visar på stigande trender kan det tyda på bland annat en kontamination i vattenledningen som kräver en orsaksanalys.

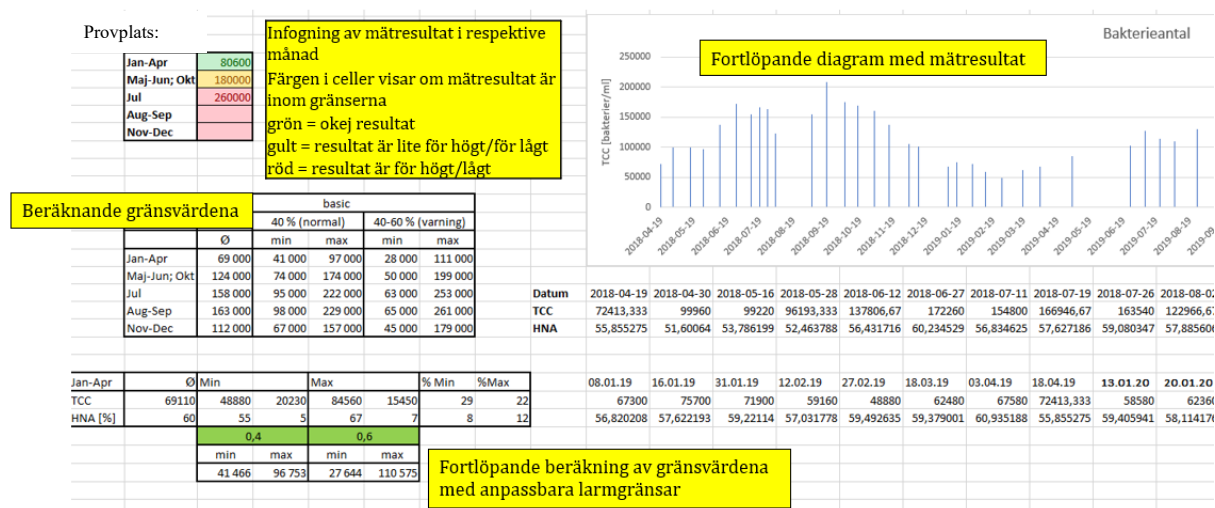
Fortlöpande och situationsanpassad justering av gränsvärden måste utföras av driftpersonalen med hänsyn till säsongsberoende trender. Några provpunkter, som utgående vattnet från vattenverket visar stabila bakteriehalter året runt och behöver ingen anpassning. Andra punkter, visar stora förändringar under årets gång vilket medför justeringskrav för gränsvärden runt 4 gånger om året. Undersökningen av flera provpunkter i ledningsnätet under de senaste åren har resulterat i återkommande och liknande trendförlopp för bakteriehalter på årsbasis. Gränsvärden från tidigare år kan därmed användas som beslutsstöd för definition av gränsvärden för nästkommande år.

### 4.2 Manuella mätningar

Sedan april 2018 togs vattenprover för FCM på 16 provpunkter i ledningsnätet. Denna FCM-datasats återspeglar säsongsberoende trender och inverkan av faktorer (t.ex. provpunkternas avstånd till vattenverket och vattnets uppehållstid i ledningsnätet). Omfattande dataanalys visade återkommande bakteriehalter under årets gång på de flesta provtagningspunkterna vilket förenklade framtagandet av basvärden för de olika provpunkterna. Däremot medförde utfasningen av kloramin (startdatum: 20.01.2020) en stor förändring av den mikrobiologiska dynamiken i ledningsnätet som i sin tur ledde till nya trender av bakterieantalet på några provpunkter. Beroende på hur förändringarna sett ut för olika provpunkter, så finns det två olika metoder för framtagandet av basvärden.

## Metod 1: Framtagande av medelvärden för specifika tidsperioder

Denna metod baseras på basvärden (gränsvärden) för olika perioder under årets förlopp. Basvärdena som har tagits fram under år 2018 och 2019 kan användas som riktvärden. Beräkningen av basvärdena sker automatisk i en Excelfil (Figur 1). Driftpersonalen kan infoga mätresultat från provtagningspunkterna för respektive månad. Med hjälp av en automatisk infärgning av datacellen sker en direkt återkoppling om det aktuella mätresultatet motsvarar tidigare mätningar under samma tidsperiod.



Figur 1: Översikt av beräkningsformuläret för specifika basvärden utifrån tidsperioder.

Det är viktigt att uppdatera Excel-filen med aktuella mätresultat eftersom bakterieantalet i ledningsnätet kan ändra sig över tid. Basvärden kommer att anpassas automatisk vid infogande av nya mätresultat.

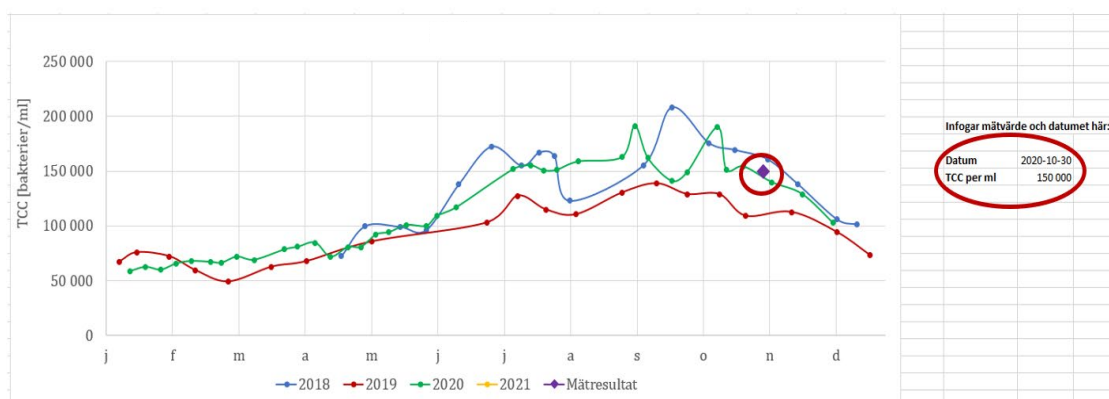
En pedagogisk förklaring om var man ska infoga resultaten återfinns i Excel-filen. De manuella mätningarna tilldelas en högre standardavvikelse från medelvärdet jämfört med onlinemätningarna. Den här principen tillämpas då det finns en större fluktuation i de manuella mätningarna till följd av flera potentiella felkällor. Med nuvarande version av beräkningsformulär markerar cellerna röda när mätresultat avviker med mer än 60 % från medelvärdet. Däremot finns det möjlighet att ändra den här specifika gränsen vid behov.

Fördelen med denna metod är en snabb och användarvänlig hantering av sifferunderlag för driftpersonalen. Mätresultat behöver enbart skrivas i respektive kolumn och färgkoderna möjliggör en enkel bedömning. Nackdelen är att det behövs en kvalificerad resursperson som fortlöpande kontrollerar och eventuellt anpassar basvärden utifrån trenderna i ledningsnätet. Denna metod kan i dagsläget bara användas för de provpunkter som inte visade en reaktion på utfasningen av kloramin och där mätresultaten följer tidigare trender. Vid andra provpunkter är skillnaden mellan mätresultat från tidigare år (2018–2019) och år 2020 för stora för att tillämpa metod 1. För dessa punkter finns metod 2 som baseras på historiska data för att kunna utföra en kvalificerad dricksvattenövervakning.

## Metod 2: Förenklad jämförelse av mätresultat i diagram

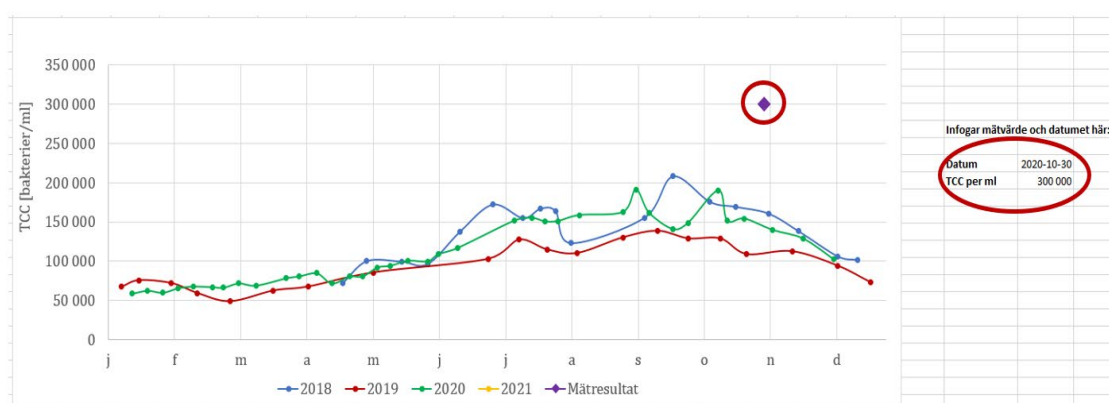
Denna metod kan användas för alla provtagningspunkter, men rekommenderas framförallt för provpunkter som har uppvisat en förändring av TCC-ökningen under år 2020 jämfört med tidigare år. Förhoppningen är att mätresultaten kommer att stabilisera sig för många av dessa punkter i framtiden och därmed möjliggörs en användning av metod 1.

Istället för att bilda medelvärden av tidigare mätningar rekommenderas en jämförelse av mätresultat mot trender och olika nivåer av TCC från tidigare år. Figur 10 och 11 illustrerar hur historiska data kan användas i framtiden. Analysresultat från manuella provtagningar infogas i en Excel-fil. I beräkningsfilen visas hur mätresultatet står i relation mot tidigare mätningar. Figur 2 visar ett exempel där ett prov togs den 30:e oktober 2020 med en bakteriehalt av 150 000 celler/mL. Resultatet visas automatiskt i diagrammet och en jämförelse med tidigare mätningar från samma provpunkt indikerar en vanlig nivå för årstiden. När provresultaten är kvalitetssäkrade och betraktas som rimliga, så kan dessa mätresultat sparas i en dynamisk databas som möjliggör uppföljning av långtidstrender i ledningsnätet.



Figur 2: Historiska FCM-mätvärden vid en provtagningspunkt och en exempelmätning som följer tidigare trender

Figur 3 visar samma provtagningspunkt men med ett mätresultat på 300 000 celler/mL. Det syns tydligt att resultatet ligger högre jämfört med tidigare år. Vid ett sådant fall rekommenderas ett omprov för verifieringen. Om omprovet bekräftar resultatet borde en orsaksanalys påbörjas.



Figur 3: Historiska FCM-mätvärden vid en provtagningspunkt och en exempelmätning som inte följer tidigare trender

Fördelen med denna metod är att historiska data kan användas på ett enkelt sätt även på de punkter som inte följer tidigare trender (efter utfasningen av kloramin). Nackdelen är att det kräver en mer kvalificerad bedömning av driftpersonalen om mätresultatens rimlighet.

## Referenser

1. Chan, S. Processes governing the drinking water microbiome, Lund University, 2018.
2. Chan, S.; Pullerits, K.; Riechelmann, J.; Persson, K.M.; Rådström, P.; Paul, C.J. Monitoring biofilm function in new and matured full-scale slow sand filters using flow cytometric histogram image comparison (CHIC). *Water Res.* **2018**, *138*, 27–36, doi:10.1016/j.watres.2018.03.032.
3. Van Nevel, S.; Koetzsch, S.; Proctor, C.R.; Besmer, M.D.; Prest, E.I.; Vrouwenvelder, J.S.; Knezev, A.; Boon, N.; Hammes, F. Flow cytometric bacterial cell counts challenge conventional heterotrophic plate counts for routine microbiological drinking water monitoring. *Water Res.* 2017.
4. Schleich, C.; Chan, S.; Pullerits, K.; Besmer, M.D.; Paul, C.J.; Rådström, P.; Keucken, A. Mapping dynamics of bacterial communities in a full-scale drinking water distribution system using flow cytometry. *Water (Switzerland)* **2019**, *11*, 1–14, doi:10.3390/w11102137.
5. Schleich, C.; Chan, S.; Pullerits, K.; Habagil, M.; Lindgren, J.; Paul, C.J.; Keucken, A.; Rådström, P. *Biofilmens funktion och korrelation med dricksvattnets kvalitet*; Bromma, 2020;