Biofilm w wewnętrznych systemach wodociągowych – zagrożenia mikrobiologiczne i wpływ na jakość wody

Biofilm in domestic distribution systems – microbiological hazards and impact on water quality

RENATA MATUSZEWSKA, ADAM GUŚPIEL

DOI 10.36119/15.2024.7-8.5

W artykule przedstawiono znaczenie biofilmu jako przyczyny zagrożeń mikrobiologicznych i wtórnego zanieczyszczenia wody w wewnętrznych systemach wodociągowych. Omówiono jakie czynniki mają wpływ na tworzenie się biofilmu oraz wybrane metody jego usuwania, w tym strategie usprawniające kontrolę i zapewnienie odpowiedniej jakości wody w instalacjach wodociągowych.
Słowa kluczowe: biofilm, mikrobiologiczne zanieczyszczenie, wewnętrzne systemy wodociągowe, jakość wody do picia

The article presents the importance of biofilm as a cause of microbiological hazards and secondary water contamination in domestic distribution systems. It discusses the factors that affect biofilm formation and the selected methods of biofilm removal, including strategies to improve control and ensure water quality in water supply systems.
Keywords: biofilm, microbial contamination, domestic distribution systems, quality of drinking water

Wprowadzenie

Tworzenie biofilmu (tzw. obrostu mikrobiologicznego, błony biologicznej) jest strategią przetrwania stosowaną przez wiele mikroorganizmów, w tym praktycznie przez wszystkie bakterie. W naturalnych ekosystemach wodnych mikroorganizmy związane z powierzchnią znacznie przewyższają liczebnie organizmy występujące w zawiesinie. Celem powstawania biofilmu jest pozostanie drobnoustrojów w korzystnym dla nich środowisku pod względem dostępności substancji odżywczych oraz umożliwienie im zasiedlania nowych środowisk, gdy wyczerpią się niezbędne czynniki wzrostu [8]. Powstawanie biofilmu można podzielić na kilka odrębnych faz, w tym pierwotną i odwracalną adhezję, wtórną i nieodwracalną adhezję oraz wzrost i dojrzewanie błony biologicznej. Dojrzały biofilm jest strukturą złożoną z kilku do kilkudziesięciu warstw, w których oprócz innych mikroorganizmów, obecne są bakterie tego samego lub różnych gatunków, żyjących w pozakomórkowej substancji polisacharydowej (EPS ang. *extracellular polymeric substance*). Komponenty strukturalne biofilmu chronią drobnoustroje przed otaczającym środowiskiem, w tym niekorzystnymi czynnikami fizycznymi, chemicznymi, biologicznymi. Ponadto uczestniczą one w procesie powstawania oraz dojrzewania biofilmu, stabilizują jego strukturę, a także są źródłem substancji odżywczych i wody.

Biofilm jest strukturą powszechnie występującą na powierzchniach stałych mających kontakt z wodą zarówno w środowisku naturalnym jak i na wewnętrznych powierzchniach instalacji oraz urządzeń będących integralną częścią tzw. sztucznych rezerwuarów wody, w tym wewnętrznych systemów wodociągowych [20, 21, 22]. W przypadku różnego rodzaju i przeznaczenia urządzeń lub instalacji wodnych tworzenie się biofilmu jest zjawiskiem niepożądanym, ponieważ może prowadzić do pogorszenia jakości wody, w tym być źródłem zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Ponadto, obecność biofilmu wpływa między innymi na wzbudzenie i intensyfikację procesów korozji oraz obniża skuteczność procesów dezynfekcji.

Powstawanie biofilmu

Powstawanie biofilmu jest procesem wieloetapowym zależnym od budowy i właściwości powierzchni kolonizowanej, a także od mikroorganizmów wchodzących w jego skład. Rozwój biofilmu przebiega w kilku kluczowych etapach (Fig. 1.).

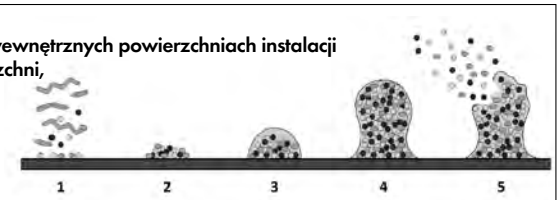

Fig. 1.
Etapy powstawania biofilmu na wewnętrznych powierzchniach instalacji wodnych: 1 – adhezja do powierzchni, 2 – tworzenie mikrokolonii, 3 – wydzielanie macierzy zewnątrzkomórkowej (EPS), 4 – dojrzewanie biofilmu, 5 – dyspersja

dr Renata Matuszewska http://orcid.org/0000-0002-6191-9542 e-mail: rmatuszewska@pzh.gov.pl,
mgr Adam Guśpiel https://orcid.org/0000-0003-1960-7497 e-mail: aguspiel@pzh.gov.pl – Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH-Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Bezpieczeństwa Zdrowotnego Środowiska, Warszawa

W pierwszym etapie tworzenia biofilmu, swobodnie pływające bakterie w formie planktonicznej osiadają i przyczepiają się do podłoża (powierzchni). Początkowo komórki wiążą się z podłożem na zasadzie niespecyficznych, odwracalnych oddziaływań, takich jak siły grawitacyjne, elektrostatyczne, hydrofobowe van der Waalsa. W tej fazie istotną rolę odgrywają zewnątrzkomórkowe struktury bakteryjne, zwłaszcza białkowe wyrostki tzw. fimbrie. Występujące na fimbriach grupy hydrofobowe ułatwiają bakteriom pokonywanie siły odpychania pomiędzy powierzchnią materiału i powierzchnią drobnoustroju. Następnie ma miejsce swoista reakcja pomiędzy adhezynami bakterii a podłożem. Ścisłe przyleganie komórek drobnoustrojów do podłoża przez odpowiednio długi czas sprawia, że powstałe połączenie staje się nieodwracalne. Stopień przylegania zależy w większości przypadków od gatunku drobnoustroju i liczby komórek, szybkości przepływu wody (lub innej cieczy) oraz cech fizykochemicznych danej powierzchni. W tej fazie dochodzi do wytwarzania przez drobnoustroje pozakomórkowej substancji polisacharydowej (EPS) określanej macierzą zewnątrzkomórkową. Po nieodwracalnym związaniu się komórek z podłożem i wytworzeniu EPS obserwuje się namnażanie i różnicowanie drobnoustrojów. Tempo i zakres zwiększania się warstw komórek tworzących biofilm zależy m.in. od: szybkości przepływu wody, zawartości substancji odżywczych w podłożu, dostępności żelaza, pH, osmolarności, zawartości tlenu, stężenia substancji przeciwbakteryjnych, takich jak środki dezynfekcyjne oraz temperatura otoczenia. W końcowym etapie formowania biofilmu komórki bakteryjne odczepiają się od uformowanej struktury i w wyniku przemieszczenia się z wodą dokonują ekspansji na nowe powierzchnie, dając początek nowemu biofilmowi [6, 7, 12].

Struktura biofilmu

Adhezja mikroorganizmów do powierzchni i powstawanie biofilmu występują w wielu środowiskach w tym na powierzchniach materiałów, z których wykonane są m.in.: sieci dystrybucyjne wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (sieci wodociągowe), wewnętrzne systemy wodociągowe (instalacje zimnej i ciepłej wody), urządzenia do uzdatniania wody [1, 28]. W tym środowisku, biofilm reprezentuje chroniony tryb wzrostu umożliwiający mikroorganizmom przetrwanie [8]. Drobnoustroje biofilmowe tworzą „ustrukturyzowaną społeczność" osadzoną w organicznej matrycy polimerowej, przylegającej do różnych powierzchni. W biofilmie można wyodrębnić trzy podstawowe składniki: powierzchnia przylegania, mikroorganizmy, substancja spajająca (EPS). Dojrzały biofilm jest zwartą, trójwymiarową strukturą zawierającą piramidalne lub grzybkowate mikrokolonie organizmów (w tym bakterii) osadzone w pozakomórkowej substancji polisacharydowej. Pomiędzy poszczególnymi warstwami biofilmu występuje sieć kanałów wypełnionych płynem, łączących wnętrze biofilmu ze środowiskiem, w którym się znajduje oraz umożliwiających w obrębie biofilmu rozprowadzanie tlenu i składników odżywczych oraz usuwanie zbędnych produktów przemiany materii. EPS tworzy rusztowanie dla struktury biofilmu i odpowiada za przyleganie do powierzchni oraz utrzymanie spójności w jego wnętrzu [8]. W dojrzałym biofilmie bakterie stanowią około 10%, a EPS około 90% całej masy. Głównymi składnikami EPS są: polisacharydy, białka, zewnątrzkomórkowe DNA, glikoproteiny, lipidy oraz kwasy lipotejchojowe i lipopolisacharydy (LPS). Znaczną część macierzy (około 97%) stanowi woda chroniąca biofilm przed wysuszeniem [6, 33]. Biofilm chroni drobnoustroje przed otaczającym środowiskiem, w tym czynnikami: fizycznymi (np. promieniowanie UV), chemicznymi (środki dezynfekcyjne), biologicznymi (bakteriofagi, pierwotniaki). W przypadku braku substancji odżywczych, EPS może być źródłem pierwiastków biogennych [6, 33, 36]. Jeśli jeden z tych składników zostanie usunięty biofilm nie rozwinie się. Jest to pewne uproszczenie złożonego procesu, który nie uwzględnia rodzaju mikroorganizmu, składu powierzchni (rodzaju materiału stykającego się z wodą), ani wpływu czynników środowiskowych. Jednak należy pamiętać, że w przypadku biofilmów istnieje prymitywny, ale funkcjonalny stopień organizacji i współpracy, aby umożliwić maksymalną interakcję ze środowiskiem bez narażania przeżycia komórek lub wyczerpania dostępnych zasobów. Poprzez sygnały komórkowe biofilm reguluje wzrost populacji i jej różnorodność [8]. W miarę wzrostu, z biofilmem mogą się wiązać różne mikroorganizmy, w tym bakterie chorobotwórcze, którym ta struktura zapewnia korzystne warunki do namnażania się i chroni przez szkodliwymi czynnikami. Istnieje niejednorodność aktywności bakterii, mikrośrodowisk chemicznych i tworzenia mikrokolonii. Bakterie tlenowe rozwijają się na zewnętrznej powierzchni mającej lepszy kontakt z wodą, podczas gdy część wewnętrzna jest zazwyczaj siedliskiem mikroorganizmów beztlenowych. Biofilm stanowi poważne zagrożenie dla utrzymania właściwej jakości sanitarnej wody, a także wpływa na zmianę jej składu fizyczno-chemicznego, szczególnie w wewnętrznych systemach wodociągowych. Jego bioróżnorodność zależy od warunków środowiskowych panujących w systemie wodociągowym i zwykle jest duża. Wśród organizmów tworzących biofilm oraz obecnych w osadach chemicznych (produktach korozji) występują bakterie autotroficzne, heterotroficzne i miksotroficzne, glony, grzyby, pierwotniaki oraz wirusy [29].

Czynniki sprzyjające występowaniu i wzrostowi biofilmu

Wzrost biofilmu w sieciach dystrybucji i wewnętrznych systemach wodociągowych uzależniony jest od wielu czynników, wśród których można wymienić między innymi:

- jakość wody wprowadzanej do systemu i zawartość w niej związków biogennych,
- ilość środka dezynfekcyjnego,
- temperaturę wody,
- stagnację i nierównomierność rozbioru wody oraz warunki hydrodynamiczne panujące w instalacji,
- rodzaj i skład materiału, z którego wykonane są przewody wodociągowe, a także jego właściwości tj. chropowatość i podatność na korozję [1, 21, 22, 28, 29].

Istotnym czynnikiem warunkującym rozwój mikroorganizmów to obecność substancji pokarmowych: nieorganicznych połączeń azotu i fosforu, a w przypadku organizmów heterotroficznych dodatkowo obecność biodegradowalnych rozpuszczonych substancji organicznych, a przede wszystkim ich frakcji bezpośrednio przyswajalnej. Źródłem tych substancji dla drobnoustrojów jest przede wszystkim niestabilna mikrobiologicznie woda wprowadzana do systemu wodnego, osady chemiczne i biologiczne oraz niektóre tworzywa sztuczne wykorzystywane jako materiały instalacyjne. Wraz z użytkowaniem instalacji zazwyczaj zmniejsza się ilość dostępnych biogenów, co skutkuje zmianą struktury jakościowej biofilmu i następuje dominacja organizmów o małych wymaganiach pokarmowych. Skutkiem nagromadzenia dużej ilość substancji biogennych jest zmniejszenie ruchliwości drobnoustrojów występujących w wodzie i wzrost ich skłonności do tworzenia biofilmu. Optymalna temperatura do rozwoju biofilmu ma

wartość powyżej 15°C, ale niektóre organizmy mogą się adaptować również do niskich temperatur. Z kolei wzrost temperatury zwiększa zużycie pozostałego środka dezynfekcyjnego, zwiększa aktywność metaboliczną organizmów. Wpływ temperatury jest skorelowany z prędkością przepływu wody i jej stagnacją. Podczas stagnacji wody rośnie jej temperatura oraz zużycie środków dezynfekcyjnych, co stwarza warunki do wzrostu gęstości biofilmu i aktywności metabolicznej mikroorganizmów, a w następstwie intensyfikacji korozji metali w środowisku wodnym. Uwalnianie drobnoustrojów i składników biofilmu do wody ma miejsce w warunkach zwiększonej prędkości i zmiany kierunku przepływu wody w przewodach wodociągowych, a przede wszystkim w warunkach nagłego wzrostu sił hydrodynamicznych na granicy biofilm–woda [29, 30].

Zastosowanie w dużych ilościach dezynfektantów utleniających, głównie chloru wolnego i ditlenku chloru, jest jedną z przyczyn intensyfikacji korozji elektrochemicznej niestabilnych termodynamicznie w wodzie metali i ich stopów. Jej skutki może potęgować korozja mikrobiologiczna (biokorozja) spowodowana działalnością życiową drobnoustrojów tworzących biofilm. Mikroorganizmy biofilmowe wytwarzają nieorganiczne i organiczne produkty metabolizmu zakwaszające środowisko i zwiększające agresywność korozyjną wody oraz hamujące powstawanie powłok antykorozyjnych, bądź ich rozpuszczanie, a także powodują powstawanie tlenowych ogniw stężeniowych na powierzchni metali. Skutki biokorozji stwierdza się również w przypadku tworzyw sztucznych, chociaż w znacznie mniejszym stopniu. Intensywność korozji elektrochemicznej zwiększają prawie wszystkie drobnoustroje tworzące biofilm, a największy wpływ na ten proces mają bakterie żelazowe i siarkowe [29].

Uwalnianiu żywych mikroorganizmów do wody towarzyszy również uwalnianie ich metabolitów, obumarłych drobnoustrojów oraz produktów ich rozkładu, a w przypadku skorodowanych materiałów instalacyjnych także produktów korozji. Substancje te powodują pogorszenie smaku i zmianę zapachu wody, wzrost intensywności jej barwy i mętności oraz zawartości związków organicznych, azotu amonowego i jonów wodorowych, rozpuszczonych i nierozpuszczonych połączeń korodujących metali oraz innych pierwiastków wchodzących w skład niszczonych materiałów [29].

Biofilmy w przypadku wewnętrznych systemów wodociągowych czy innych instalacji zasilanych wodą, mogą powodować wiele problemów i zagrożeń [29, 30, 31, 32], w tym:

- biofouling – utrudnienie przepływu płynów przez przewody, filtry lub wymienniki ciepła,
- biokorozję materiałów instalacyjnych,
- potencjalne zanieczyszczenie wody i pogorszenie jej jakości,
- występowanie warunków sprzyjających obecności i namnażaniu się patogenów, w tym pałeczek *Legionella*.

Zagrożenia zdrowotne związane z obecnością *Legionella* w biofilmie

Jednym z patogenów mających ścisły związek z biofilmem jest tlenowa bakteria z rodzaju *Legionella*. Pałeczki te mogą pozostawać w wodzie jako wolno żyjące bakterie planktonowe lub rozwijać się w biofilmie przylegającym do wewnętrznych powierzchni rur [22]. Kolonizacja wewnętrznych systemów wodociągowych przez bakterie Legionella wiąże się z wieloma zagrożeniami dla zdrowia publicznego, zwłaszcza w przypadku obiektów, w których przebywają osoby z grupy ryzyka. Osoby starsze, palacze lub osoby z osłabionym układem odpornościowym są szczególnie podatne na infekcję i w konsekwencji na wystąpienie powikłań klinicznych i niewydolności oddechowej. Oczywiście wraz ze starzeniem się populacji wpływ pałeczek *Legionella* na zdrowie osób z grupy ryzyka będzie prawdopodobnie wzrastał [26].

W systemach dystrybucji wody i w wewnętrznych systemach wodociągowych pałeczki *Legionella* wchodzą w skład biofilmu powstającego na wewnętrznych powierzchniach rur i elementów urządzeń kontaktujących się z wodą, a ich namnażaniu sprzyja korozja oraz obecność: osadów, innych bakterii i pierwotniaków. Najintensywniejszy wzrost liczby pałeczek *Legionella* w biofilmie jest obserwowany w instalacjach zasilanych wodą o temperaturze 37–42°C. Liczba pałeczek *Legionella* w ciepłej wodzie użytkowej często sięga poziomu 10^3 jtk/100 ml. Zależnie od rodzaju materiału z jakiego wykonana jest instalacja, pałeczki *Legionella* mogą stanowić nawet 35% ogólnej liczby izolowanych z biofilmu bakterii [22]. Ich koncentracja na powierzchni pokrytej biofilmem w zależności od materiału i temperatury wody może osiągać liczbę 10^5 jtk/cm^2 [22]. Biofilm powstaje na każdej powierzchni kontaktującej się z wodą, zarówno na wewnętrznej powierzchni tradycyjnych rur stalowych i żeliwnych, w przewodach z tworzyw sztucznych (PVC, PE, PB, PP) jak i w instalacjach z miedzi (Tabela 1) [1, 20, 21, 22].

Tabela 1. Wpływ temperatury oraz rodzaju materiału, z którego wykonane są przewody instalacji wodociągowych na zasiedlanie przez *L. pneumophila* [22]

Rodzaj materiału	Temperatura	Średnia liczba *L. pneumophila* *	
		na powierzchni materiału [jtk/cm^2]	w fazie planktonicznej [jtk/ml]
Miedź	20°C	poniżej limitu detekcji**	3
Polibutylen		665	128
Polichlorek winylu		2130	281
Miedź	40°C	1670	817
Polibutylen		112000	2200
Polichlorek winylu		68400	2200
Miedź	50°C	poniżej limitu detekcji	17
Polibutylen		858	118
Polichlorek winylu		60	7
Miedź	60°C	poniżej limitu detekcji	poniżej limitu detekcji
Polibutylen		poniżej limitu detekcji	poniżej limitu detekcji
Polichlorek winylu		poniżej limitu detekcji	poniżej limitu detekcji

* – w obroście powyżej 1 do 21 dni
** – < 10 jtk/cm^2 lub 10 jtk/ml

Czas rozwoju biofilmu do osiągnięcia jego funkcjonalnej równowagi jest różny i wynosi od kilku godzin do kilku tygodni, a nawet miesięcy, zależnie od rodzaju materiału stykającego się z wodą, dostępności związków organicznych, temperatury wody i szybkości jej przepływu. Biofilm może stanowić źródło zanieczyszczenia mikrobiologicznego, w tym bakteriami z rodzaju *Legionella*, które są uwalniane do wody w przypadku naruszenia ciągłości jego struktury. Wykazano, że *Legionella* występująca wewnątrz matrycy biofilmu posiada fenotypy różniące się od ich planktonowych odpowiedników i wykazuje zwiększoną odporność na działanie biocydów [15, 34]. Zatem w przeżywalności *Legionella* w systemach wody do picia ważną rolę odgrywa środowisko (woda lub biofilm) oraz rodzaj zastosowanego dezynfektanta. Zanieczyszczenie wewnętrznych systemów wodociągowych tymi pałeczkami może być punktowe, gdy dotyczy ono np. armatury, uszczelki czy główki prysznica lub może mieć charakter systemowy i obejmować całą instalację.

W centralnych punktach instalacji mogą występować miejsca, gdzie bakterie te znalazły swoje nisze ekologiczne, w których namnażają się i skąd są wypłukiwane. W takich przypadkach liczba bakterii nie ulega zmniejszeniu nawet przy intensywnym płukaniu.

Doskonałe warunki dla rozwoju *Legionella* istnieją przede wszystkim w długich i rozgałęzionych wewnętrznych systemach wodociągowych ciepłej wody m.in. w budynkach użyteczności publicznej i dużych obiektach zamieszkania zbiorowego. Kamień i osady organiczne dostarczają również składników odżywczych do tworzenia biofilmu, w którym *Legionella* może przetrwać przez długi czas. Biofilm odgrywa ważną rolę w zapewnianiu odpowiedniego środowiska, w których *Legionella* może się rozwijać, ponieważ zapewnia ochronę przed niekorzystnymi warunkami środowiskowymi i środkami dezynfekującymi, zapewnia dostęp do wyższych poziomów składników odżywczych oraz możliwości symbiotycznych interakcji z innymi drobnoustrojami lub pierwotniakami. Niektóre bakterie z rodzaju *Klebsiella* sp. *czy Flavobacterium* sp., są w stanie zwiększyć długoterminową obecność *L. pneumophila* w biofilmie poprzez syntezę materiałów macierzy otoczkowej i pozakomórkowej, które wspierają przyleganie lub dostarczają bakterii czynników wzrostu [26].

Zapobieganie powstawaniu i metody usuwania biofilmu

Obecnie uważa się, że nie ma skutecznej metody ograniczającej powstawanie biofilmu ponieważ jest to zjawisko powszechne, a sam biofilm jest strukturą trudną do usunięcia. Jednak w dalszej perspektywie działanie w kierunku zmniejszenia liczby bakterii występujących w wodzie, a także ograniczanie czynników sprzyjających ich namnażaniu może dawać pozytywne efekty. Dlatego też na każdym etapie dostarczania wody oraz zarządzania systemami wodociągowymi należy podejmować odpowiednie działania. Już na etapie oczyszczania (np. poprzez biofiltrację) dostarczanej wody do sieci można zapewnić lepszą jakość bakteriologiczną wody. Potwierdzają to wyniki badań, które wskazują na 30-krotnie mniejszą liczbę bakterii mezofilnych w wodzie oczyszczonej z wykorzystaniem biofiltracji [20]. Kolejnym działaniem jest utrzymywanie na stałym odpowiednim poziomie stężenia środków dezynfekujących (np. ditlenku chloru) wspomagających kontrolę biofilmu i hamujących jego wzrost. Należy jednak wyraźnie podkreślić, że z fizjologicznego punktu widzenia bakterie związane z powierzchnią (występujące w biofilmie) zachowują się zupełnie inaczej niż ich planktoniczne odpowiedniki. Uznając, że naturalnym zjawiskiem jest wiązanie się bakterii z powierzchnią i tworzenie polimikrobowych społeczności, warto zauważyć, że prowadzenie testów wrażliwości na środki dezynfekcyjne przy zastosowaniu czystych kultur i w trybie wzrostu planktonicznego nie uwzględnia rzeczywistych warunków środowiskowych. Fakt, że model ten nie odzwierciedla naturalnie występujących warunków, jest pomocny w zrozumieniu trudności napotykanych w warunkach rzeczywistych w przypadku usuwania zanieczyszczeń mikrobiologicznych związanych z obecnością biofilmu [8].

Jedną z głównych strategii zapobiegania występowaniu biofilmu w wewnętrznych systemach wodociągowych jest ich regularne czyszczenie i dezynfekcja, aby zapobiec silnemu przywieraniu bakterii do powierzchni. Warto też zaznaczyć, że większość środków dezynfekujących jest skuteczniejsza przy braku w wodzie związków organicznych. Inne czynniki środowiskowe, takie jak: temperatura, pH, twardość wody, inhibitory chemiczne, stężenie i czas kontaktu również wpływają na skuteczność procesu dezynfekcji. Biofilm stanowi poważne zagrożenie nie tylko dla prawidłowego i wydajnego działania instalacji i urządzeń, ale również może być środowiskiem do namnażania i źródłem organizmów patogennych, które powodują zagrożenie zdrowotne dla ludzi. Wiele metod do dezynfekcji wody ma ograniczoną skuteczność w procesie usuwania biofilmu. W przypadku najczęściej stosowanych metod opartych na związkach chloru, warto zaznaczyć, że wolny chlor o ile bardzo dobrze oddziałuje na zanieczyszczenia występujące w wodzie to w znacznie mniejszym stopniu oddziałuje na struktury biofilmu [16]. Ponadto stosowanie wysokich dawek dezynfektanta może powodować korozję instalacji oraz znaczne pogorszenie walorów smakowych wody, w tym występowanie ubocznych produktów dezynfekcji o właściwościach kancerogennych. Dlatego też takie rozwiązanie nie zawsze jest właściwe. Również metody fizyczne takie jak dezynfekcja termiczna czy zastosowanie lamp przepływowych z promiennikiem również nie jest dobrym rozwiązaniem do usuwania biofilmu. Skuteczność przegrzewu wody wskazuje na stosunkowo małą redukcję zanieczyszczenia, krótkotrwały efekt, szybką rekolonizację, małą przydatność zastosowania w obiektach o rozbudowanej wewnętrznej instalacji wodnej, gdzie trudno jest uzyskać temp. wody powyżej 60°C [18]. Niektórzy eksperci uważają, że jest to metoda pierwszego wyboru w przypadkach odkażania awaryjnego wody [5], przy czym dla zwiększenia jej skuteczności dodatkowo powinien być stosowany dezynfektant na bazie chloru. Lampy UV stosowane są do punktowej dezynfekcji wody, w tym przypadku nie możemy rozważać ich zastosowania na strukturę biofilmu występującą na wszystkich (w tym odległych) odcinkach instalacji wewnętrznej [15].

Mając na uwadze, że biofilm jest strukturą bardziej odporną na powszechnie stosowane metody do usuwania zanieczyszczeń z wody, strategie dezynfekcji powinny zapewniać następujące wyniki:

- zniszczenie struktury biofilmu (matrycy polisacharydowej) i mikroorganizmów uwalnianych do wody po zabiegach czyszczenia i dezynfekcji,
- utrzymanie wewnętrznych systemów wodociągowych w stanie wolnym od biofilmu lub co najmniej wywieranie hamującego wpływu na jego powstawanie,
- utrzymanie lub poprawę jakości wody.

Wśród metod uważanych za skuteczne do usuwania biofilmu z instalacji wodnych, wskazuje się między innymi dezynfekcję ditlenkiem chloru oraz dezynfekcję elektrolityczną jonami miedzi i srebra.

Dezynfekcja ditlenkiem chloru

Jednych ze środków dezynfekujących (utleniających) stosowanych do usuwania biofilmu jest ditlenek chloru. Ditlenek chloru jest obecnie uważany za bardziej skuteczny i bezpieczny w porównaniu z innymi dezynfektantami opartymi na związkach chloru. Ponadto wskazuje się, że stanowi podstawę najbardziej efektywnej chemicznej metody zwalczania bakterii z rodzaju *Legionella* w wewnętrznych systemach wodociągowych, ponieważ:

- ma silniejsze działanie utleniające niż chlor, działanie dezynfekujące występuje przy niższych dawkach w porównaniu z chlorem, jest prawie niezależne od wartości odczynu wody i w mniejszym stopniu zależne od temperatury,
- nie powstają związki chloroorganiczne oraz nie ulega zmianie smak i zapach wody,
- jest mniej korozyjny w stosunku do stali ocynkowanej niż chlor wolny,
- skutecznie niszczy biofilm.

Wysoka efektywność ditlenku chloru w niszczeniu biofilmu ma zasadnicze znaczenie dla zwalczania bakterii z rodzaju

Legionella w wewnętrznych systemach wodociągowych. Zdolność ta jest tłumaczona silnym działaniem utleniającym ClO_2, bardzo dobrą penetracją w głębokie warstwy biofilmu oraz dodatkowo przekształcaniem w warstwie biofilmu, w obszarze niskiego pH jonu chlorynowego ponownie w biologicznie aktywny ditlenek chloru [17]. Proces usuwania biofilmu jest najbardziej intensywny w pierwszym okresie po rozpoczęciu dawkowania ditlenku chloru. Czas trwania procesu oczyszczania powierzchni z biofilmu zależy od wielu czynników, takich jak rodzaj i grubość warstwy, warunki eksploatacji, wyposażenie instalacji oraz dawka ClO_2. Zjawisku temu towarzyszy przejściowe pogorszenie jakości wody.

Zasadnicze znaczenie dla ograniczania zagrożenia bakteriami *Legionella* w wewnętrznych systemach wodociągowych przy użyciu ditlenku chloru ma dobór odpowiedniej dawki tego środka do dezynfekcji. Ustalając dawkę należy brać pod uwagę osiągnięcie następujących celów:

– skuteczną inaktywację bakterii,
– usunięcie biofilmu i zabezpieczenie przed wtórnym jego tworzeniem,
– wyeliminowanie zjawiska wtórnego rozwoju bakterii w instalacji wodociągowej,
– zapewnienie minimalnego stężenia środka do dezynfekcji w każdym punkcie poboru wody oraz w wodzie cyrkulacyjnej,
– ograniczenie stężenia produktów ubocznych procesu dezynfekcji.

Dawka ditlenku chloru powinna być tak dobrana, aby były spełnione prawne wymagania jakim powinna odpowiadać woda przeznaczona do spożycia, tj. suma stężenia chlorynów i chloranów w punkcie poboru wody nie powinna być większa niż 0,7 mg/l [24]. Zalecana dawka ClO_2 zapewniająca utrzymanie stabilności biologicznej waha się od 0,1–0,2 mg/l do 0,5 mg/l efektywnego ditlenku chloru [2, 17, 26]. Czas potrzebny na usunięcie skażenia instalacji bez wstępnej dezynfekcji szokowej może wynosić 1,5 roku i więcej, ponieważ pałeczki *Legionella* występujące w biofilmie wykazują znaczną odporność na wysokie stężenia chloru. Wysoki poziom resztkowego chloru jest w szczególności odpowiedzialny za korozję rur miedzianych i żelaznych. Utrzymanie pH chlorowanej wody powyżej 8 może przeciwdziałać korozyjnemu wpływowi chloru na miedź i żelazo. Mieszanki poli i ortofosforanów mogą być stosowane jako inhibitory korozji w celu utworzenia warstwy pasywującej na ściankach rur. Jednak stosowanie polifosforanów do kontroli korozji pociąga za sobą pewne ryzyko, ponieważ mogą one zwiększać wypłukiwanie metalu rur do wody.

Dodatkowo, w chlorowanej wodzie do picia mogą powstawać potencjalnie toksyczne i rakotwórcze uboczne produkty dezynfekcji, głównie trihalometany (THM). Trihalometany powstają w wyniku interakcji wolnego chloru w wodzie z rozpuszczalnymi, naturalnymi związkami organicznymi obecnymi w wodzie, a ich stężenie ma tendencję do wzrostu wraz z obecnością bromku lub jodku, a także ze wzrostem temperatury, pH i dawki chloru. Usuwanie trihalometanów lub ich prekursorów jest trudne i obejmuje procesy wymagające dużych zasobów, takie jak na przykład ozonowanie i stosowanie węgla aktywnego. Jednak opisane powyżej technologie mogą być czasochłonne i niezwykle kosztowne. Z tego powodu skuteczną metodą kontroli ubocznych produktów dezynfekcji wody do picia może być stosowanie alternatywnych środków dezynfekujących.

Ditlenek chloru jest rozpuszczalnym w wodzie gazem, który łatwo przenika przez błony komórkowe bakterii. Stwierdzono, że ditlenek chloru w porównaniu z chlorem lepiej penetruje biofilmy [15] i inaktywuje wolno żyjące pierwotniaki, takie jak na przykład szczepy *Acanthamoeba,* w których mogą namnażać *się* bakterie z rodzaju *Legionella.* Całkowita ilość ditlenku chloru wynosząca 0,1–0,5 mg/l w wodzie jest zwykle wystarczająca do kontrolowania namnażania się pałeczek *Legionella*, ale w silnie skolonizowanych systemach wodociągowych konieczne może być zastosowanie wyższych dawek [11]. Ditlenek chloru chociaż jest mniej korozyjny niż chlor [15], to jednak istnieją dowody na to, że może powodować uszkodzenia rur polietylenowych. Wreszcie, chociaż nie tworzy on znacznych ilości THM i kwasów halooctowych (HAA), zaobserwowano, że wytwarzanie ditlenku chloru na miejscu często wiąże się z wytwarzaniem wolnego chloru, którego ilość wzrasta wraz z czasem reakcji. Dlatego stosunek ditlenku chloru do chloru musi być stale monitorowany i weryfikowany, aby uzyskać jak najlepszą kontrolę tworzenia ubocznych produktów dezynfekcji [10].

Dezynfekcja jonami miedzi i srebra

W wielu przypadkach powszechnie stosowane metody dezynfekcji chemicznej oparte na związkach chloru okazują się niewystarczająco skuteczne. W takich przypadkach, znajdują zastosowanie metody alternatywne, m.in. elektrolityczna dezynfekcja przy użyciu urządzeń uwalniających do wody jony miedzi i srebra. Jony miedzi i srebra (środki dezynfekujące nieutleniające) stosowane razem tworzą efekt synergiczny, ponieważ jony miedzi uszkadzają ścianę komórkową zwiększając jej przepuszczalność, co pozwala jonom srebra zakłócać syntezę białek i enzymów, co skutkuje wyższym stopniem inaktywacji pałeczek *Legionella* [13]. Jonizacja miedziowo-srebrowa jest powszechnie stosowana w wewnętrznych systemach wodociągowych z pętlami recyrkulacyjnymi ciepłej wody [15]. W przypadku zwalczania Legionella zalecane stężenia jonów miedzi i srebra zazwyczaj wynoszą odpowiednio 0,2–0,4 mg/l i 0,02–0,04 mg/l [15].

Dane literaturowe pokazują, że w przypadku zastosowania metody jonizacji istnieją co najmniej trzy główne wyzwania [3, 14, 23]:

– zapewnienie wypłukania dodanych jonów w całym systemie wodociągowym,
– pojawienie się opornych szczepów *Legionella*,
– zmniejszenie mocy bakteriobójczej wskutek tworzenia kompleksów metali.

Wreszcie, jonizacja miedzi i srebra może zwiększać tworzenie się ubocznych produktów dezynfekcji chlorem przy pH 8,6 w obecności naturalnej materii organicznej [14, 35].

Inteligentne powierzchnie

Inteligentne powierzchnie to nowa technologia materiałowa zdolna do dynamicznego reagowania na zmiany w środowisku poprzez włączenie polimerów reagujących na bodźce (SRP ang. *stimuli--responsive polymers*) do powierzchni materiału [25]. Do wywołania działania przeciwbakteryjnego mogą być użyte różne bodźce [4]. Jedną z propozycji jest inteligentna powierzchnia złożona z nanostruktur krzemionkowych. Tak chemicznie zmodyfikowana macierz tworząca biofilm zapewnia skuteczną redukcję mikroorganizmów planktonowych i przyczepionych do powierzchni, zmniejszając w ten sposób ich późniejszą przeżywalność i możliwość procesu adaptacyjnego [27].

Podsumowanie

Zapobieganie powstawaniu biofilmu, który może być źródłem wtórnego zanieczyszczeniu wody w tym obecności w niej mikroorganizmów patogennych powinno być jednym z celów określonych w planie zarządzania wewnętrznymi systemami wodociągowymi. Zrozumienie i właściwe

nadzorowanie czynników biologicznych, fizykochemicznych, które przyczyniają się do powstawania biofilmu i kolonizacji instalacji wodnych przez bakterie (m.in. takich jak pałeczki *Legionella* sp.) ma kluczowe znaczenie dla zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego wody. Opracowanie i wdrożenie planu zarządzania wewnętrznymi systemami wodociągowymi na podstawie oceny ryzyka wynika z zapisów Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2020/2184 z dnia 16 grudnia 2020 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi [9, 19], która jednoznacznie wskazuje, że na jakość wody mają wpływ warunki środowiskowe występujące wewnątrz instalacji wodociągowej.

LITERATURA

[1] Biedroń B, Traczewska T, Konieczny T, Płaza G. Characterization of biofilms from selected synthetic materials used in water distribution system. *J Ecol Eng.* 2017;18(1):284–293. https://doi.org/10.12911/22998993/67850

[2] Campos C, Loret JF, Cooper AJ, Kelly RF. Disinfection of domestic water systems for *Legionella pneumophila*. *J Water Supply Res Technol AQUA.* 2003;52(5):341–354. https://doi.org/10.2166/aqua.2003.0032

[3] Cachafeiro SP, Naveira IM, García IG. Is copper-silver ionisation safe and effective in controlling legionella? *J Hosp Infect.* 2007;67(3):209–216. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2007.07.017

[4] Cavallaro A, Taheri S, Vasilev K. Responsive and "smart" antibacterial surfaces: common approaches and new developments (Review). *Biointerphases.* 2014;9(2):029005. https://doi.org/10.1116/1.4866697

[5] Chen YS, Liu YC, Lee SS, et al. Abbreviated duration of superheat-and-flush and disinfection of taps for *Legionella* disinfection: lessons learned from failure. *Am J Infect Control.* 2005;33(10):606-10. https://doi.org/10.1016/j.ajic.2004.12.008

[6] Czyżewska-Dors E, Dors A, Pomorska-Mól M. Właściwości biofilmu bakteryjnego warunkujące oporność na antybiotyki oraz metody jego zwalczania. *Życie Weterynaryjne.* 2018;93(11):765–771.

[7] Dufour D, Leung V, Lévesque CM. Bacterial biofilm. *Endod Topics.* 2012;22:2–16. https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2012.00277.x

[8] Dunne WM Jr. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(2):155–166. https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.155-166.2002

[9] Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2020/2184 z dnia 16 grudnia 2020 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (wersja przekształcona) (Tekst mający znaczenie dla EOG). W: Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej, L 435. Luksemburg: Urząd Publikacji Unii Europejskiej; 2020.

[10] Gan W, Huang H, Yang X, Peng Z, Chen G. Emerging investigators series: Disinfection-by-products in mixed chlorine dioxide and chlorine water treatment. *Environ Sci: Water Res Technol.* 2016;2(5):838–847. https://doi.org/10.1039/C6EW00061D

[11] Health and Safe Executive (HSE). Legionnaires' Disease, Technical guidance. Part 2: The Control of Legionella Bacteria in Hot and Cold Water Systems. 2014. Available online: www.hse.gov.uk/pubns/priced/hsg274part2.pdf

[12] Maciejewska M, Bauer M, Dawgul M. Nowoczesne metody zwalczania biofilmu bakteryjnego. *Post Mikrobiol.* 2016;55(1):3–11.

[13] Landeen LK, Yahya MT, Gerba CP. Efficacy of copper and silver ions and reduced levels of free chlorine in inactivation of *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* 1989;55(12):3045–3050. https://doi.org/10.1128/aem.55.12.3045-3050.1989

[14] Lin YS, Vidic RD, Stout JE, Yu VL. Negative effect of high pH on biocidal efficacy of copper and silver ions in controlling *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* 2002;68(6):2711–2715. https://doi.org/10.1128/AEM.68.6.2711-2715.2002

[15] Lin YE, Stout JE, Yu VL. Controlling legionella in hospital drinking water: an evidence-based review of disinfection methods. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011;32(2):166–173. https://doi.org/10.1086/657934

[16] Lin YS, Stout JE, Yu VL, Vidic RD. Disinfection of water distribution systems for Legionella. *Semin Respir Infect.* 1998;13(2):147–159.

[17] Lipiak D. Usuwanie i zapobieganie skażeniom bakteriologicznym z wykorzystaniem dwutlenku chloru na podstawie wybranych przykładów. XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód". Poznań, Polska: Materiały konferencyjne; 2004:689–701.

[18] Marchesi I, Marchegiano P, Bargellini A, Cencetti S, Frezza G, Miselli M, Borella P. Effectiveness of different methods to control legionella in the water supply: ten-year experience in an Italian university hospital. *J Hosp Infect.* 2011;77(1):47–51. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2010.09.012

[19] Matuszewska R. Nowe wymagania dotyczące wewnętrznych systemów wodociągowych według dyrektywy 2020/2184 w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. *Instal.* 2023;(03):32–35. https://doi.org/10.36119/15.2023.3.5

[20] Pietrzyk A, Papciak D. Wpływ technologii oczyszczania wody na proces kształtowania biofilmu na wybranych materiałach instalacyjnych. *JCEEA.* 2017;34(64):131–142. https://doi.org/10.7862/rb.2017.87

[21] Rogers J, Dowsett AB, Dennis PJ, Lee JV, Keevil CW. Influence of Plumbing Materials on Biofilm Formation and Growth of *Legionella pneumophila* in Potable Water Systems. *Appl Environ Microbiol.* 1994;60(6):1842–1851. https://doi.org/10.1128/aem.60.6.1842-1851.1994

[22] Rogers J, Dowsett AB, Dennis PJ, Lee JV, Keevil CW. Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in a model potable water system containing complex microbial flora. *Appl Environ Microbiol.* 1994;60(5):1585–1592. https://doi.org/10.1128/aem.60.5.1585-1592.1994

[23] Rohr U, Senger M, Selenka F, Turley R, Wilhelm M. Four years of experience with silver-copper ionization for control of legionella in a German university hospital hot water plumbing system. *Clin Infect Dis.* 1999;29(6):1507–1511. https://doi.org/10.1086/313512

[24] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 7 grudnia 2017 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Warszawa, Polska: Dziennik Ustaw 2017 poz. 2294; 2017.

[25] Sciuto EL, Laganà P, Filice S, et al. Environmental Management of *Legionella* in Domestic Water Systems: Consolidated and Innovative Approaches for Disinfection Methods and Risk Assessment. *Microorganisms.* 2021;9(3):577. https://doi.org/10.3390/microorganisms9030577

[26] Sidari FP, Stout JE, Vanbriesen JM, et al. Kemping *Legionella* out of water systems. *J Am Water Works Assoc.* 2004;96(1):111–119. https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.2004.tb10538.x

[27] Susarrey-Arce A, Sorzabal-Bellido I, Oknianska A, et al. Bacterial viability on chemically modified silicon nanowire arrays. *J Mater Chem B.* 2016;4(18):3104–3112. https://doi.org/10.1039/c6tb00460a

[28] Szczotko M, Orych I, Guśpiel A, Maziarka D, Solecka J. Wdrożenie metody badawczej do oceny materiałów przeznaczonych do kontaktu z wodą w zakresie ich podatności na powstawanie biofilmu, zgodnej z EN 16421:2014 Influence of materials on water for human consumption – Enhancement of microbial growth (EMG) – Method 3: Measured by mean dissolved oxygen depletion. Badania porównawcze. *Instal.* 2021;(12):46–52. https://doi.org/10.36119/15.2021.12.7

[29] Świderska-Bróż M. Threats associated with the presence of biofilm in drinking water distribution systems. *Ochrona Środowiska.* 2012;34(1):9–14.

[30] Świderska-Bróż M, Wolska M. Wpływ nierównomierności rozbioru wody na zmianę jej jakości. *Ochrona Środowiska.* 2004;26(4):21–23.

[31] Świderska-Bróż M., Wolska M. Główne przyczyny wtórnego zanieczyszczenia wody w systemie dystrybucji. *Ochrona Środowiska.* 2006;28(4):29–34.

[32] Traczewska TM, Sitarska M. Materiały syntetyczne podłożem dla rozwoju biofilmu w systemach dystrybucji wody. In: Kotwzan B, Grabas K, eds., Ekotoksykologia w ochronie środowiska. Wrocław, Polska: PZITS; 2008:443–450.

[33] Vu B, Chen M, Crawford RJ, Ivanova EP. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. *Molecules.* 2009;14(7):2535–2554. https://doi.org/10.3390/molecules14072535

[34] Wright JB, Ruseska I, Costerton JW. Decreased biocide susceptibility of adherent *Legionella pneumophila*. *J Appl Bacteriol.* 1991;71(6):531–538. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1991.tb03828.x

[35] Zhang H, Andrews SA. Catalysis of copper corrosion products on chlorine decay and HAA formation in simulated distribution systems. *Water Res.* 2012;46(8):2665–2673. https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.02.028

[36] Zhurina, M.V., Gannesen, A.V., Zdorovenko, E.L. *et al.* Composition and functions of the extracellular polymer matrix of bacterial biofilms. *Microbiology.* 204;83:713–722. https://doi.org/10.1134/S002626171406023X

■