

Biofilmvorming op materialen voor huishoudwaterleidingen

*Een momentopname (Langerak, september
1999)*

Biofilmvorming op leidingmaterialen voor huishoudwater

*Een momentopname (Langerak, september
1999)*

Opdrachtgever
WMN

Opdrachtnummer
303698.010

Auteurs
J.S. Vrouwenvelder, D. van der Kooij

Afdeling
Chemie en Biologie

Nieuwegein, oktober 1999

Kiwa N.V.
Onderzoek en Advies
Groningenhaven 7
Postbus 1072
3430 BB Nieuwegein
Telefoon 030 60 69 511
Fax 030 60 61 165
Internet www.kiwa.nl

©1999 Kiwa N.V.
Niets uit dit drukwerk mag veeleenvoudig en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotocopie, microfilm of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Kiwa N.V., noch mag het zonder dergelijke toestemming worden gebruikt voor enig ander werk dan waarvoor het is vervaardigd

Inhoud

Samenvatting	4
1 Inleiding	5
1.1 Huishoudwater	5
1.2 Biofilmvormende eigenschappen van leidingmaterialen	5
1.3 Probleemstelling	6
2 Onderzoek	7
2.1 Opzet onderzoek	7
2.2 Microbiologische analyses	7
2.3 Monsterneming	7
3 Resultaten	9
3.1 Huishoudwater	9
3.1.1 <i>Waterkwaliteit: bemonstering zonder doorstromen</i>	9
3.1.2 <i>Waterkwaliteit: bemonstering na doorstroming</i>	10
3.1.3 <i>Biofilmvorming in leidingen</i>	10
3.2 Drinkwater	11
3.2.1 <i>Waterkwaliteit</i>	11
3.2.2 <i>Biofilmvorming in leidingen</i>	11
4 Discussie	13
5 Conclusies en aanbevelingen	15
5.1 Conclusies	15
5.2 Aanbevelingen	15
6 Literatuur	16
Bijlage 1: omschrijving monsterlocatie	17
Bijlage 2: brief beoordeling materialen van 24 september 1999	18

Samenvatting

In het gebied Leidsche Rijn zullen in de komende jaren veel woningen worden gebouwd. NV Waterleidingbedrijf Midden-Nederland (WMN) zal deze woningen voorzien van drinkwater en via een apart leidingnet huishoudwater (beperkt voorgezuiverd oppervlaktewater) leveren voor laagwaardige toepassingen, zoals toiletspoeling, wasmachine en buitenkraan. Het huishoudwater wordt geleverd via leidingen van kunststof. Uit onderzoek is gebleken dat dergelijke materialen onder testcondities biofilmvorming kunnen versterken, waarbij onder de gehanteerde proefomstandigheden bij watertemperaturen van 25°C groei van *Legionella*-bacteriën kan optreden. Dit gegeven was aanleiding om onderzoek uit te voeren naar biofilmvorming en groei van *Legionella* op leidingmaterialen onder praktijkomstandigheden.

Op 23 september 1999 werden watermonsters en delen van huishoudwaterleidingen (PE en PE-X) onder gedefinieerde omstandigheden genomen (meterkast) uit woningen die ca. 6 maanden daarvoor waren opgeleverd. Als referentie werden in dezelfde woningen monsters genomen van het drinkwatersysteem. Het inkooppunt van het huishoudwater werd bemonsterd om vast te stellen of er sprake is van nagroei.

De temperatuur van het huishoudwater op de monsterpunten in de woningen voor doorstromen lag tussen 20 en 25°C. Na doorstromen was de temperatuur enkele graden lager. De biofilmconcentraties op de uitgenomen leidingen bedroeg gemiddeld 100 pg ATP/cm² (op PE-X), respectievelijk 500 pg ATP/cm² (op PE). Deze concentraties zijn laag in vergelijking met biofilmconcentraties waargenomen op wanden van leidingen van distributiesystemen voor drinkwater. De biofilmconcentratie op de koperen leidingen die werden gevoed met drinkwater varieerde van 130 tot 706 pg ATP/cm² (mediaan: 160 pg ATP/cm²).

Met behulp van een directe moleculair-biologische methode (fluorescente in situ hybridisatie, FISH) werden *Legionella*-bacteriën aangetoond in het huishoudwater op het inkooppunt en op enkele van de geselecteerde monsterpunten, maar er was geen sprake van vermeerdering. In de biofilm op de wand van de leidingen (PE en PE-X) werden geen *Legionella*-bacteriën aangetroffen. Kweekmethoden waren alle negatief. In het drinkwater en in de biofilms in drinkwaterleidingen werden geen *Legionella*-bacteriën aangetroffen. De temperatuur van het drinkwater in de woningen was hoger dan 20°C (tot 25°C) tijdens de bemonstering.

Op basis van deze metingen kan worden geconcludeerd dat geen aanwijzingen zijn verkregen voor een sterke biofilmvorming in het huishoudwatersysteem. In het huishoudwater zijn (niet-kweekbare) *Legionella*-bacteriën aangetroffen, maar vermeerdering van *Legionella*-bacteriën in het huishoudwatersysteem bij een relatief hoge watertemperatuur is niet waargenomen. De biofilmconcentratie was relatief gering.

Aanbevolen wordt (i): nadere aandacht te schenken aan de aanwezigheid van de *Legionella*-bacteriën in het afgeleverde huishoudwater (ii): in een volgende periode met relatief hoge watertemperatuur (zomer) na te gaan of vermeerdering van deze bacteriën kan optreden in biofilms/sediment in het huishoudwatersysteem.

1 Inleiding

1.1 Huishoudwater

In het gebied Leidsche Rijn zullen in de komende jaren veel woningen worden gebouwd. De NV Waterleidingbedrijf Midden-Nederland (WMN) zal deze woningen voorzien van drinkwater en via een apart leidingnet huishoudwater (beperkt voorgezuiverd oppervlaktewater) leveren voor laagwaardige toepassingen, zoals toiletpoeling, wasmachine en buitenkraan. Bij de levering van huishoudwater worden (nieuwe) kunststof leidingmaterialen toegepast. Als bron voor huishoudwater wordt het door de NV Watertransportmaatschappij Rijn-Kennemerland (WRK) afgeleverde water gebruikt. Het WRK-water wordt bereid uit water uit het Lekkanaal (Rijnwater) door toepassen van coagulatie/sedimentatie en snelfiltratie. Dit water wordt vervolgens getransporteerd door een 55 km lange transportleiding naar het duingebied van Amsterdam voor verdere zuivering ter verkrijging van drinkwater. In de transportleiding is ter hoogte van Langerak (Utr.) een aftappunt (inkooppunt) gemaakt waar de WMN het water afneemt. De lengte van de transportleiding van de WRK tot het inkoop punt bedraagt ca. 6 km. Dit huishoudwater is een nieuw product en daarom is besloten diverse kwaliteitsaspecten grondig te bestuderen. Een aspect vormde de beoordeling van de biologische stabiliteit van dit huishoudwater (KOA 98.232). De monitoring van het huishoudwater vond plaats bij gesimuleerd verbruik (spuien). Bij dit onderzoek kwam naar voren dat er geen aanleiding was om het gebruik van WRK-water als huishoudwater uit oogpunt van biologische stabiliteit in twijfel te trekken. Deze conclusie was gebaseerd op de volgende bevindingen:

- het AOC-gehalte van het water en de biofilmvormingssnelheid van het water waren van de zelfde orde van grootte als waargenomen in drinkwater elders in Nederland;
- in de onderzoeksperiode is geen nagroei van betekenis (celaantallen, kolonieggetallen, AOC-afname) in het huishoudwater waargenomen.

1.2 Biofilmvormende eigenschappen van leidingmaterialen

De vorming van biofilms (een slijm laagje voornamelijk bestaande uit bacteriën) op materialen in contact met drinkwater kan leiden tot een vermindering van de kwaliteit van het drinkwater (toename van de aantallen ongewenste bacteriën; aanwezigheid van dierlijke organismen) en/of technische problemen (versnelde corrosie). Biofilmvorming is het gevolg van de opname van afbreekbare verbindingen uit het langstromende water en de afgifte van afbreekbare stoffen door materialen in contact met het water. Voor de bepaling van de biofilmvormende eigenschappen van water en materialen zijn in het kader van het Bedrijfstak- onderzoek dat Kiwa met en voor de waterleidingbedrijven uitvoert methoden ontwikkeld. In alle gevallen wordt adenosinetrifosfaat (ATP) gebruikt als parameter voor de concentratie van actieve biomassa. ATP is aanwezig in alle levende organismen. De mate van groeibevordering door materialen kan worden beoordeeld door het bepalen van de biofilmvormingspotentie (BVP; uitgedrukt in pg ATP/cm²). Bij de beoordelingen van materialen voor speciale toepassingen kan ook het vermogen om de groei van *Legionella*-bacteriën te versterken worden betrokken.

Gebleken is dat bepaalde materialen in de BVP-test, die wordt uitgevoerd bij 25°C en bij langdurige stagnatie, de groei van *Legionella* bevorderen. Er zijn aanwijzingen dat de groeibevordering onder deze omstandigheden sterker is

naarmate de BVP-waarde hoger is. De praktische betekenis van deze waarnemingen is nog niet duidelijk, met name omdat in de praktijk doorstroming plaatsvindt en de watertemperatuur meestal lager is dan 25°C. In bepaalde praktijksituaties treedt echter stagnatie op, en indien dit gepaard gaat met een hogere temperatuur dan is vermeerdering van *Legionella* niet uit te sluiten. Beperking van biofilmvorming is één van de maatregelen om *Legionella* vermeerdering te bestrijden. Verhinderen van opwarming en stagnatie zijn andere maatregelen.

1.3 Probleemstelling

Onbekend is in welke mate biofilmvorming optreedt op diverse typen materialen die worden toegepast bij de distributie van huishoudwater. Tevens is onduidelijk of materialen die in de (statische) BVP-test (bij 25°C) groeibevorderend zijn voor *Legionella* (Winkel, 1999) in de praktijk (in het huishoudwatersnet) eveneens de groei van *Legionella* in de biofilm en het huishoudwater versterken. Voor de beantwoording van deze vragen is onderzoek uitgevoerd naar de biofilmconcentratie en de aanwezigheid van *Legionella*-bacteriën op materialen in contact met huishoudwater.

2 Onderzoek

2.1 Opzet onderzoek

Om na te gaan in welke mate er sprake was van het optreden van biofilmvorming en/of vermeerdering van *Legionella*-bacteriën op diverse leidingmaterialen van het huishoudwater-systeem werden materialen bemonsterd uit een zestal woningen in het gebied Leidsche Rijn. Als referentie werden drinkwater en koperen drinkwaterleidingen uit dezelfde woningen onderzocht. De monsters voor dit onderzoek werden genomen op 23 september 1999. Huishoudwater werden direct genomen (dus zonder vooraf doorstromen) en na doorstroming van de leiding. Ook het huishoudwater op het inkooppunt werd bemonsterd.

Als referentie werd drinkwater in dezelfde woningen bemonsterd (zonder vooraf doorstromen). Aansluitend werden leidingmaterialen voor huishoudwater (PE of PE-X) en drinkwater (koper) in de meterkast van de woningen uitgenomen voor onderzoek naar de concentratie en samenstelling van de biofilm.

2.2 Microbiologische analyses

Tijdens het onderzoek werden met name aandacht besteed aan het gehalte actieve biomassa (ATP), aantal cellen (TDC) en het aantal *Legionella*-bacteriën:

- *De bepaling van de concentratie adenosinetriposfaat (ATP)*. ATP is een energierijke verbinding die in alle levende (actieve) (micro-)organismen voorkomt. De ATP-concentratie kan daarom gebruikt worden om de concentratie actieve biomassa vast te stellen. Als vuistregel kan gesteld worden dat 1 pg ATP/ml (1 ng/l) overeenkomt met 10^4 tot 10^5 actieve bacteriecellen per ml water. Het ATP-gehalte per bacteriecel hangt af van de conditie van het organisme. Bij snelle groei bevat een cel meer ATP dan in een situatie waarin de groei door het aanbod van voedsel wordt beperkt. De ATP-bepaling maakt geen onderscheid tussen verschillende soorten micro-organismen (nitrificerende en methaanoxiderende m.o. worden meegenomen).
- *De totale directe celtelling (TDC)*. De totale directe celtelling geeft het totaal aantal micro-organismen (hoofdzakelijk bacteriën) aanwezig in water of op een materiaal (leiding), middels het gebruik van een microscoop. De bacteriën op materialen worden in oplossing gebracht middels een ultrasone behandeling. De bacteriën in (de verkregen) suspensie worden geconcentreerd en met een fluorochroom (acridine oranje) gekleurd op een membraanfilter. Alle cellen (levend en dood) worden op dit membraanfilter geteld met behulp van fluorescentie microscopie.
- *Het aantal Legionella- bacteriën*. Een tweetal bepalingmethodieken is toegepast: de standaard kweekmethode en de FISH techniek:
 - kweek: op Buffered Charcoal Yeast Extract Agar medium., volgens NEN 6265;
 - FISH (Fluorescente in situ hybridisatie). Deze directe, moleculair-biologische werkwijze maakt gebruik van specifiek gelabeld enkelstrengs DNA, waarna de fluorescerende cellen worden geteld met behulp van een microscoop.

2.3 Monsterneming

Huishoudwater werd direct bemonsterd (zonder vooraf doorstromen) en na doorstroming van de leiding. De reden voor de directe bemonstering was om de "worst case" te bepalen. Bij directe bemonstering is de contacttijd relatief

lang in leidingen met een groot contactoppervlak (verhouding leidingoppervlak en watervolume) en zijn de watertemperaturen mogelijk enigszins gestegen als gevolg van opwarming in de woning. Stagnatie in combinatie met opwarming kan leiden tot versterkte nagroei respectievelijk vermindering van de waterkwaliteit.

3 Resultaten

3.1 Huishoudwater

3.1.1 Waterkwaliteit: bemonstering zonder doorstromen

De resultaten van het onderzoek van het huishoudwater bij directe bemonstering (zonder vooraf doorstromen) zijn samengevat in de tabellen 1 en 2. Het water bij het inkoop punt werd bemonsterd uit een continu doorstroomde kraan. Uit tabel 1 komt naar voren dat:

- de temperatuur van het huishoudwater hoger was dan 20°C (bij een locatie bijna 25°C);
- *Legionella*-bacteriën niet aangetroffen werden met de klassieke methode (kweken; detectiegrens < 33kve/l);
- met behulp van de FISH-techniek lage aantallen *Legionella*-bacteriën werden aangetroffen (3×10^3 /l) in het water bij het inkoop punt en op enkele andere monsterpunten. Deze aantallen bevinden zich nabij de detectieondergrens van de bepaling. Er is sprake van een toename van *Legionella* (FISH) in het huishoudwater;
- ATP-gehalten in water dat in contact stond met PE-X-leidingen lager was dan in water in de PE-leidingen;
- Het hoogste ATP-gehalte en het hoogste koloniegetal werden waargenomen in het water uit een PE-leiding. Deze concentraties waren hoger dan in het water bij het inkoop punt.

Tabel 1 Kwaliteit van huishoudwater (bemonsterd op 23/9/1999) bij directe bemonstering.

Locatie	Temperatuur (°C)	Legionella		ATP (pg/ml)	TDC (n/ml +/- std)	R ₂ A (kve/ml)
		Kweek	FISH			
Inkoop punt (0)	nb	-	+*	17,2	$2,0 \times 10^6 \pm 3,0 \times 10^5$	$3,5 \times 10^3$
PE (1)	21,9	-	-	19,8	$1,4 \times 10^6 \pm 3,6 \times 10^5$	$1,8 \times 10^4$
PE (2)	20,6	-	-	21,0	$1,8 \times 10^6 \pm 1,1 \times 10^5$	$3,4 \times 10^4$
PE (3)	nb	-	+*	10,4	$2,0 \times 10^6 \pm 2,7 \times 10^5$	$5,3 \times 10^3$
PE-X (4)	20,2	-	+*	9,47	$1,5 \times 10^6 \pm 2,7 \times 10^5$	$2,6 \times 10^3$
PE-X (5)	21,1	-	-#	5,89	$2,1 \times 10^6 \pm 3,1 \times 10^5$	$1,3 \times 10^4$
PE-X (6)	24,6	-	-	9,58	$2,0 \times 10^6 \pm 1,5 \times 10^5$	$1,6 \times 10^4$

*: celaantal 3.10^3 /l (95% betrouwbaarheid: 1.10^2 - 2.10^4)

:- kweek: aantal *Legionella* < 33 kve/ml; FISH: aantal *Legionella* < 1.10^3 kve/l

#: hoog aantal positief reagerende atypische *Legionella* cellen

nb: niet bepaald

De AOC-gehalten van het water op het inkoop punt en in het huishoudwater net (PE-X) hebben waarschijnlijk dezelfde orde grootte (circa 11 µg Ac-C/l; tabel 2). Dit betekent dat het AOC-gehalte niet afnam tijdens distributie, hetgeen duidt op een behoorlijke biologische stabiliteit. Deze uitspraak is gebaseerd op nog niet afgeronde AOC-metingen (het AOC-gehalte kan hoger zijn). De AOC-bepaling werd op de locaties in huishoudwater net beïnvloed door bijgroei van micro-organismen die niet geïnactiveerd (sporen) waren tijdens de pasteurisatie. Deze bijgroei bemoeilijkte de AOC-bepaling en zorgde voor lagere AOC-gehalten (deel van de nutriënten worden door de bijgroei verbruikt en is niet meer beschikbaar voor de stammen P17 en NOX).

Tabel 2 Minimale groeipotentie van huishoudwater (bemonsterd op 23/9/1999) bij directe bemonstering in het huishoudwaternet (en na doorstroming bij inkooppunt)

Locatie	AOC µg C/l	AOC 7 µg C/l	NPOC mg C/l
Inkooppunt (0)	11,1 (*)	5,6 (*)	1,6
PE (1)	> 0,23 (#)	Nb	1,8
PE-X (4)	> 11,9 (#)	Nb	1,7

(*) AOC-bepaling nog niet beëindigd

(#) AOC-gehaltenes beïnvloed door bijgroei

3.1.2 Waterkwaliteit: bemonstering na doorstroming

De resultaten van het onderzoek in huishoudwater bij bemonstering na doorstroming tot gelijkblijvende temperatuur (na ca. 20 l) zijn samengevat weergegeven in tabel 3. *Legionella* werd bepaald volgens de kweekmethode. Uit deze tabel komt (bij vergelijking met de resultaten uit tabel 2: data zonder doorstroming) naar voren dat:

- De temperatuur van het huishoudwater ca. 2°C lager was na doorstromen van de leiding;
- *Legionella* met de kweekmethode niet werd aangetroffen in het huishoudwater na doorstroming van leiding;
- Het ATP-gehalte van het water in alle leidingen vrijwel overeenkwam met het ATP-gehalte van het water op het inkooppunt (doorstromen gaf toename in de PE-X-leidingen).

Tabel 3 Kwaliteit van het huishoudwater (bemonsterd op 23/9/1999) na doorstroming.

Locatie	temperatuur (°C)	<i>Legionella</i> Kweek (kve/ml)	ATP (pg/ml)	TDC (cellen/ml)	R ₂ A (kve/ml)
Inkooppunt (0)	nb	-	17,2	2,0*10 ⁶	3,5*10 ³
PE (1)	19,8	-	14,5	nb	8,8*10 ³
PE (2)	19,0	-	15,5	nb	7,1*10 ³
PE (3)	nb	-	nb	nb	nb
PE-X (4)	18,7	-	18,6	nb	2,2*10 ⁴
PE-X (5)	19,8	-	14,5	nb	3,5*10 ³
PE-X (6)	22,7	-	12,5	nb	9,5*10 ³

nb niet bepaald; - kleiner dan de detectiegrens (< 33 cellen/l)

3.1.3 Biofilmvorming in leidingen

De meetresultaten van onderzoek aan PE en PE-X leidingen uit het huishoudwaternet zijn samengevat in tabel 4. Uit deze tabel blijkt dat in de biofilm in de leidingen geen *Legionella*-bacteriën werden aangetroffen (kweekmethode en FISH-techniek). Het ATP-gehalte van de biofilm in PE-leidingen was gemiddeld hoger dan in de PE-X leidingen. Het celtaantal (TDC) en koloniegetal op R₂A-medium maakten geen duidelijk onderscheid tussen de twee materialen mogelijk. De bacteriepopulatie in de biofilm afkomstig van de verschillende huishoudwaterleidingen was zeer actief. Dit is gebaseerd op de directe celtelling (TDC) en het fluorescentiesignaal bij de FISH detectie. In de zes biofilmmonsters lijkt één type micro-organisme te domineren. Dit duidt mogelijk op vermeerdering van dit organisme in de biofilm.

Tabel 4 Concentratie en samenstelling van biofilm op huishoudwaterleidingen (bemonsterd op 23/9/1999)

Locatie	<i>Legionella</i>		ATP (pg/cm ²)	TDC (cellen/cm ²)	R ₂ A (kve/cm ²)
	Kweek	FISH			
PE (1)	-	-	140	2,2*10 ⁶	6,9*10 ⁵
PE (2)	-	-	511	1,4*10 ⁷	1,0*10 ⁴
PE (3)	-	-	734	7,4*10 ⁶	5,0*10 ⁵
PE-X (4)	-	-	113	1,9*10 ⁶	3,7*10 ⁴
PE-X (5)	-	-	103	1,5*10 ⁶	1,8*10 ⁵
PE-X (6)	-	-	76	4,7*10 ⁶	4,5*10 ⁴

-: kleiner dan de detectiegrens (< 33 cellen/ml)

3.2 Drinkwater

Drinkwater werd bemonsterd als referentie voor het huishoudwater (dezelfde woningen). Bemonstering van water vond plaats zonder vooraf doorstromen van de leiding. Aansluitend werden stukken (ca. 10 cm) koperen drinkwaterleiding uit de meterkast van de woning genomen voor onderzoek als referentie voor het onderzoek aan de kunststof huishoud-waterleidingen (PE en PE-X).

3.2.1 Waterkwaliteit

De resultaten van onderzoek in drinkwater bij directe bemonstering zijn samengevat in tabel 5. De temperatuur van het bemonsterde drinkwater varieerde tussen de 20 en 25°C. De temperatuur kwam overeen met de temperatuur van het huishoudwater tijdens de directe bemonstering. *Legionella*-bacteriën werden niet waargenomen (< 33 kve/l).

De hoeveelheid biomassa (ATP, TDC en R₂A) in het drinkwater verschilde per monsterlocatie.

Tabel 5 Microbiologische kwaliteit van drinkwater (bemonsterd op 23/9/1999).

Locatie	Temperatuur (°C)	<i>Legionella</i> Kweek (kve/ml)	ATP (pg/ml)	TDC (cellen/ml)	R ₂ A (kve/ml)
koper (1)	20,4	-	1,89	nb	8,1*10 ²
koper (2)	20,1	-	4,32	nb	6,9*10 ³
koper (3)	nb	-	8,63	2,3*10 ⁵ ± 4,9*10 ⁴	1,7*10 ⁴
koper (4)	20,6	-	6,11	nb	1,4*10 ⁴
koper (5)	20,5	-	2,74	nb	1,5*10 ³
koper (6)	24,6	-	4,74	nb	1,2*10 ⁴

nb: niet bepaald; -: kleiner dan de detectiegrens (< 33 cellen/ml)

3.2.2 Biofilmvorming in leidingen

De meetresultaten van onderzoek aan koperen drinkwaterleidingen zijn samengevat in tabel 6.

Uit deze tabel blijkt dat in de biofilm in de leidingen geen *Legionella*-bacteriën werden aangetroffen (kweekmethode en FISH-techniek). Het ATP-gehalte van de biofilm in koperen leidingen lag ongeveer op hetzelfde niveau als in de PE-X leidingen. Bij de celtelling (TDC) en FISH analyse van de verschillende biofilmmonsters werd een relatief lage activiteit van de cellen waargenomen (zwakke fluorescentie en relatief kleine cellen).

Tabel 6 Biofilmparameters van koperen drinkwaterleidingen (bemonsterd op 23/9/1999)

Locatie	<i>Legionella</i>		ATP	TDC	R ₂ A
	Kweek	FISH	(pg/cm ²)	(cellen/cm ²)	(kve/cm ²)
koper (1) [#]	-	-	178	5,4*10 ⁶	2,5*10 ⁵
koper (2)	-	-	175	nb	3,2*10 ⁵
koper (3) [#]	-	-	143	nb	6,1*10 ⁵
koper (4)	-	-	129	6,9*10 ⁶	2,3*10 ⁵
koper (5)	-	-	706	5,2*10 ⁶	4,0*10 ⁴
koper (6)	-	-	145	nb	1,6*10 ⁵

-: kleiner dan de detectiegrens (< 33 cellen/ml)

nb: niet bepaald

: monster bij behandeling verloren gegaan

4 Discussie

Het hierboven beschreven onderzoek is uitgevoerd bij een relatief hoge water-temperatuur (tot 25°C) in huishoudwaterleidingen die nog niet lang in gebruik waren. Onder deze omstandigheid werd geen vermeerdering van *Legionella*-bacteriën waargenomen in het huishoudwater en/of in de biofilm op de leidingmaterialen. De biofilmconcentratie was relatief laag in vergelijking met concentraties die zijn waargenomen op leidingen van distributiesystemen voor drinkwater. Hierbij zijn biofilmconcentraties van < 100 tot meer dan 5000 pg ATP/cm² waargenomen. Hierbij moet worden aangetekend dat biofilmconcentraties boven 1000 pg ATP/cm² werden waargenomen in distributiesystemen waarin nagroei van *Aeromonas* optrad. De relatief lage biofilmconcentraties op de materialen (PEX en PE) van het huishoudwatersysteem zijn een aanwijzing dat het huishoudwater en de materialen slechts in beperkte mate groeibevorderend zijn. Overigens ziet het er naar uit dat PE sterker groeibevorderend is dan PEX. Dit verschil kan niet worden afgeleid van de BVP-waarden van dergelijke materialen omdat niet duidelijk is welke typen zijn toegepast in het huishoudwatersysteem. Daarnaast verschillen de condities in de leidingen, waarin periodiek (sterke) doorstroming optreedt van de omstandigheden in de BVP-test. In de BVP-test treedt biofilmvorming op zonder afvoer van de gevormde biomassa met het water.

De metingen aan de microbiologische kwaliteit van het huishoudwater en de biofilmvorming in de leidingen bevestigen eerder onderzoek waaruit naar voren kwam dat het huishoudwater weinig groeibevorderend was (KOA 98.232). Hierbij bleek dat het water een relatief gering AOC-gehalte bevat (<10 µg C/l) en dat de BVS-waarde 23 à 26 pg ATP/cm².dag bedroeg. Deze waarden komen overeen met die gevonden in drinkwater, zij het dat de BVS-waarde op een niveau (>10 pg ATP/cm².dag) ligt waarbij kans bestaat op nagroei van *Aeromonas*. Bij een dergelijke BVS-waarde mag tevens een biofilmconcentratie boven 1000 pg ATP/cm² worden verwacht. Worden leidingen niet voortdurend doorstroomd dan is de aanvoer van voedingsstoffen met het water (veel) geringer en zal minder biofilmvorming optreden.

In het huishoudwater bij het inkooppunt werden *Legionella*-bacteriën aangetoond met de directe molecuulair-biologische methode. De aantallen van deze bacteriën lag iets boven de detectiegrens van de methode. Ook in enkele andere monsters van huishoudwater werden deze bacteriën in een laag aantal aangetroffen. Toepassen van de kweekmethode leverde geen bevestiging op van deze waarnemingen. Het is echter bekend uit de literatuur dat met directe methoden hogere opbrengsten worden verkregen dan met detectie met behulp van kweken. Oorzaken hiervan zijn: de aanwezige bacteriën kunnen zich niet vermeerderen op een vaste voedingsbodem omdat ze behoren tot een ander type, dan wel omdat ze (vrijwel) niet meer levensvatbaar zijn. Onduidelijk is welke factor(en) bij beschreven onderzoek een rol speelde(n). De verklaring voor de aanwezigheid van *Legionella*-bacteriën moet zeer waarschijnlijk worden gezocht in de grondstof (rivierwater), waarbij de toegepaste zuivering niet in staat is tot een verwijdering beneden de aantoonbaarheids grens van de FISH-methode. Gegevens over de concentratie en de aard (levensvatbaarheid, type) van *Legionella*-bacteriën in rivierwater zijn echter niet voor handen. Nader onderzoek hiernaar is van belang voor het verkrijgen van meer zekerheid over de aanwezigheid van *Legionella*-bacteriën in het huishoudwatersysteem.

Legionella-bacteriën werden niet aangetoond in de biofilm op de diverse materialen uit het huishoudwatersysteem. Dit betekent dat onder de heersende omstandigheden (relatief hoge temperatuur en relatief nieuwe materialen) geen vermeerdering van *Legionella* optrad. Dit kan betekenen dat onder omstandigheden waarbij de temperatuur lager is (het grootste deel van het jaar) de kans op vermeerdering van *Legionella* zeer gering is. Nader onderzoek in een warme periode of in omstandigheden waarbij een langdurige stilstand en opwarming van het huishoudwater optreedt kan uitsluitsel geven over de potentiële risico's op vermeerdering van *Legionella*. Overigens moet worden bedacht dat gezien de gebruiksdoelen van huishoudwater enige aanwezigheid van *Legionella* niet bedreigend is voor de volksgezondheid.

De verkregen gegevens wijzen uit dat biofilmvorming op de leidingmaterialen relatief gering is, en dat *Legionella*-bacteriën zich niet vermeerderden, hoewel ze wel in het water aanwezig waren. Het uitgevoerde onderzoek is echter een beperkte momentopname.

Op grond van de verkregen gegevens over de biofilmconcentratie op de leidingmaterialen kan worden geconcludeerd dat er geen redenen zijn biofilmconcentraties in huishoudwatersystemen zou voorlopig de voorkeur kunnen worden gegeven aan materialen met een BVP-waarde kleiner dan 1000 pg ATP/cm².

5 Conclusies en aanbevelingen

5.1 Conclusies

1. De in dit rapport verzamelde gegevens zijn in overeenstemming met de resultaten van eerder onderzoek (KOA 98.232) en duiden op een behoorlijke biologische stabiliteit van het huishoudwater.
2. In het huishoudwater werd met een directe (FISH) methode een lage concentratie aan *Legionella*-bacteriën waargenomen. Deze waarneming werd niet bevestigd met de kweekmethode.
3. Een toename van het aantal *Legionella*-bacteriën in het huishoudwater is niet waargenomen;
4. In de biofilm op de diverse leidingmaterialen zijn geen *Legionella*-bacteriën waargenomen.
5. De biofilmconcentratie op de PE- en PEX-materialen was relatief gering en op de PE-materialen hoger dan op de PEX-materialen.
6. In het drinkwater en in de biofilms op de koperen drinkwaterleidingen werden geen *Legionella*-bacteriën aangetroffen;
7. De biofilmconcentratie op de koperen leiding was gering.
8. Er zijn geen aanwijzingen dat onder de tijdens de monsterneming heersende omstandigheden (een relatief hoge watertemperatuur) sprake is van vermeerdering van *Legionella*-bacteriën in de biofilm.

5.2 Aanbevelingen

1. Nader onderzoek naar de herkomst en de aard van de in het huishoudwater aangetroffen *Legionella*-bacteriën;
2. Uitvoering van een beperkt onderzoek naar de aanwezigheid van *Legionella*-bacteriën in biofilms op leidingmateriaal en in sediment uit de huishoudwaterleiding in een volgende warme periode (zomer) en of in een situatie met langdurige stilstand en opwarming.

6 Literatuur

E. Winkel. 1999. Biofilmvormingspotentie en groeibevorderende eigenschappen van leidingmaterialen t.b.v. huishoudwater Leidsche Rijn (LR-99.42) juni 1999.

J.S. Vrouwenvelder, E. Winkel, D. van der Kooij. 1998. Beoordeling van de biologische stabiliteit van het huishoudwater van Langerak, KOA 98.232 (december 1998).

Bijlage 1: omschrijving monsterlocatie

Tabel 7 Omschrijving monsterlocatie.

Locatie		
inkooppunt (0)		
PE (1), koper (1)	Houtrakgracht 148	H1
PE (2), koper 2	Houtrakgracht 162	H2
PE (3) koper 3	Houtrakgracht 156	H3
PE-X (4) koper 4	Klifrakplantsoen 40	K1
PE-X (5) koper 5	Klifrakplantsoen 26	K2
PE-X (6) koper 6	Klifrakplantsoen 116	K3

Bijlage 2: brief beoordeling materialen van 24 september 1999

NV Waterleidingbedrijf Midden-Nederland
T.a.v. de heer A.A.I. Sluis
Reactorweg 47
3542 AD UTRECHT

Kiwa N.V.
Onderzoek en Advies
Groningenhaven 7
Postbus 1072
3430 BB Nieuwegein
Telefoon 030 60 69 511
Fax 030 60 61 165
Internet www.kiwa.nl

Betreft beoordeling materialen
Bijlagen 1
Informatie Dick van der Kooij, 6069634
E-mail vdkooij@kiwaoa.nl
Datum 24 september 1999
Kenmerk

Geachte heer Sluis,

Naar aanleiding van ons gesprek op 17 september jongstleden zend ik u hierbij ons advies betreffende de beoordeling van materialen, bestemd voor toepassingen in contact met huishoudwater, op basis van de groeibevorderende werking. De in dit advies genoemde streefwaarde heeft geen formele basis; zelfs voor materialen in contact met drinkwater bestaan in Nederland (nog) geen richtlijnen. Mede als gevolg van ontwikkelingen in Europees verband wordt in het concept van de nieuwe Waterleidingwet gesteld dat materialen geen nadelige invloed op de kwaliteit van het drinkwater mogen uitoefenen. Het ontwikkelen van een richtlijn voor de beoordeling van materialen op basis van groeibevordering staat daarom op de agenda van de VROM-Kiwa Commissie Gezondheidsaspecten van Chemicaliën en Materialen Drinkwatervoorziening (CGCMD). Voor materialen in contact met huishoudwater is de situatie nog minder duidelijk.

De vorming van een biofilm (een slijmlaagje van bacteriën) op materialen in contact met (leiding)water kan leiden tot hygiënische, esthetische en technische problemen. Biofilmvorming wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van afbreekbare verbindingen in het water en de afgifte van dergelijke verbindingen door materialen in contact met het water. Huishoudwater zal als gevolg van een minder uitgebreide zuivering sterker biofilmvormend zijn dan biologisch stabiel drinkwater. Bovendien is de blootstelling van de gebruiker aan huishoudwater veel geringer dan blootstelling aan drinkwater. Het ligt dus voor de hand om aan materialen in contact met huishoudwater voor wat betreft de groeibevorderende eigenschappen minder hoge eisen te stellen dan aan materialen in contact met drinkwater.

Voorkomen moet worden dat materialen de biofilmvorming in huishoudwatersystemen aanzienlijk versterken. Daarom wordt voorgesteld om materialen toe te passen met een biofilmvormingspotentie (BVP) die geringer is dan de biofilmvorming die optreedt onder invloed van het water. Bij ontbreken van gegevens over de mate van biofilmvorming in huishoudwatersystemen zou voorlopig de voorkeur kunnen worden gegeven aan toepassing van materialen met een BVP-waarde kleiner dan 1000 pg ATP/cm². Hierbij moet worden aangetekend dat deze waarde niet de status heeft van richtlijn, want Kiwa is niet bevoegd tot het geven van richtlijnen op dit gebied.

Voor de achtergrond van dit advies verwijs ik naar bijgaande notitie. Uiteraard ben ik gaarne bereid een mondelinge toelichting te geven op deze notitie en de bovengenoemde BVP-waarde.

Ik hoop dat dit advies bijdraagt aan het verkrijgen van meer duidelijkheid over de uitgangspunten die van invloed zijn op het aanleggen van systemen voor huishoudwater.

Hoogachtend,
Kiwa N.V.

Prof.dr.ir. D. van der Kooij
Adviseur Microbiologie



ISO
9001



Certificaat
QSC-7254

Bijlage bij brief aan N.V. Waterleidingbedrijf Midden-Nederland, dd. 28 september 1999.

Beoordeling van de materialen in contact met huishoudwater, op basis van bevordering van bacteriegroei.

Achtergrond

De vorming van biofilms (een slijm laagje voornamelijk bestaande uit bacteriën) op materialen in contact met drinkwater kan leiden tot een kwaliteitsvermindering van het drinkwater (toename van de aantallen ongewenste bacteriën; aanwezigheid van dierlijke organismen) en/of technische problemen (versnelde corrosie) veroorzaken. Biofilmvorming is het gevolg van de opname van afbreekbare verbindingen uit het langsstromende water en/of de afgifte van afbreekbare stoffen door materialen in contact met het water. Biofilmvorming door het drinkwater is afhankelijk van de mate van biologische stabiliteit van het drinkwater. De waterleidingbedrijven in Nederland distribueren het drinkwater meestal zonder een restgehalte van een desinfectiemiddel. Daarom wordt nagestreefd om drinkwater te bereiden met een hoge mate van biologische stabiliteit (laag AOC-gehalte).

Mede als gevolg van ontwikkelingen in Europees verband wordt in het concept van de nieuwe Waterleidingwet gesteld dat materialen geen nadelige invloed op de kwaliteit van het drinkwater mogen uitoefenen. De VROM/Kiwa-Commissie Gezondheidsaspecten Chemicaliën en Materialen Drinkwatervoorziening (CGCMD) is verantwoordelijk voor de beoordeling van materialen op toxische gronden. Richtlijnen voor het beoordelen van materialen op basis van groeibevordering zijn nog niet beschikbaar, maar dit onderwerp staat inmiddels op de agenda van de CGCMD. Voor materialen in contact met huishoudwater is de situatie nog minder duidelijk. Hieronder wordt een aantal aspecten genoemd die waarschijnlijk een rol zullen spelen bij de beoordeling van materialen op basis van groeibevordering.

Meetmethoden en uitgangspunten voor beoordeling

Voor de bepaling van de biofilmvormende eigenschappen van water en materialen zijn in het kader van het Bedrijfstak Onderzoek dat Kiwa met en voor de waterleidingbedrijven uitvoert methoden ontwikkeld. Met deze methoden is inmiddels ervaring opgedaan, waardoor informatie beschikbaar is over:

- de biofilmvormende eigenschappen van drinkwater (zie H₂O, 1997);
- biofilmconcentraties (BC) op leidingwanden;
- de biofilmvormingspotentie (BVP) van diverse materialen in contact met drinkwater.

In alle gevallen wordt adenosinetrifosfaat (ATP) gebruikt als parameter voor de concentratie van actieve biomassa. ATP is aanwezig in alle levende organismen. De beoordeling van materialen m.b.t. groeibevorderende eigenschappen zal waarschijnlijk worden gebaseerd op de BVP-waarde (uitgedrukt in pg ATP/cm²) van het materiaal. Het is echter mogelijk bij de beoordelingen van materialen voor speciale toepassingen ook het vermogen om de groei van *Legionella*-bacteriën te versterken wordt betrokken.

Met name de gegevens over biofilmconcentraties op de wanden van leidingen van distributiesystemen kunnen als referentiewaarden dienen voor de beoordeling van de materialen. Hierbij kan als uitgangspunt worden gehanteerd dat de BVP-waarde van een materiaal lager moet zijn dan de gewenste biofilmconcentratie in het leidingnet.

Biofilmconcentraties in distributiesystemen

Biofilmconcentraties (BC) op leidingen van PVC (Ø 110 mm) afkomstig van een twaalfal distributiesystemen varieerden van ca. 40 pg ATP/cm² tot circa 6000 pg ATP/cm² (mediaan-waarde: 670 pg ATP/cm²; 90-percentiel: 2600 pg ATP/cm²). Hierbij viel op dat BC-waarden boven 1000 pg ATP/cm² vooral werden waargenomen in distributiesystemen waarin nagroei van *Aeromonas* optrad. Dit is een indicatie dat dergelijke BC-waarden als minder gewenst moeten worden beschouwd. In een beperkt aantal situaties zijn metingen verricht aan PE-leidingen, met name ook in het voorzieningsgebied van de WMN. BC-waarden op de PE-leidingen lagen tussen circa 2000 pg ATP/cm² tot 8500 pg ATP/cm². Deze niveau's waren (veel) hoger dan niveau's waargenomen op PVC-leidingen uit hetzelfde gebied. Onduidelijk is nog welke betekenis aan deze verhoogde BC-waarden moet worden toegekend. PE-leidingen zijn in de regel veel korter dan PVC-leidingen en vorming van sediment door afslag van biofilmmateriaal zal hierin in veel mindere mate optreden dan in de

uitgestrekte leidingnetten van PVC. Dit kan betekenen dat de relatief hoge biofilmconcentraties op PE in dergelijke omstandigheden geen problemen met *Aeromonas* veroorzaken.

BVP-waarden

Van een aantal materialen zijn BVP-waarden bepaald. Deze liggen tussen waarden < 100 pg ATP/cm² voor PVC tot waarden boven 10.000 pg ATP/cm² voor rubber soorten en ook zacht PVC (dat niet wordt toegepast voor transport/distributie van drinkwater). Opmerkelijk is de range aan BVP-waarden waargenomen voor PE-materialen (circa 400 – 2700 pg ATP/cm²) die worden toegepast in contact met drinkwater. Een aspect bij de beoordeling van leidingmaterialen is de mogelijke bevordering van de groei van *Legionella*-bacteriën. Gebleken is dat bepaalde materialen in de BVP-test, die wordt uitgevoerd bij 25°C en bij langdurige stagnatie, de groei van *Legionella* bevorderen. Er zijn aanwijzingen dat de groeibevordering onder deze omstandigheden sterker is naarmate de BVP-waarde hoger is. De praktische betekenis van deze waarnemingen is nog niet duidelijk, met name omdat in de praktijk doorstroming plaatsvindt en de watertemperatuur meestal lager is dan 25°C. In bepaalde situaties in de praktijk treedt ook stagnatie op en indien dit gepaard gaat met een hogere temperatuur dan is vermeerdering van *Legionella* niet uit te sluiten. Beperking van biofilmvorming is één van de maatregelen om *Legionella* vermeerdering te bestrijden. Verhindern van opwarming en stagnatie zijn andere maatregelen.

Situatie 'Leidsche Rijn/Langerak'

Biofilmvorming in de leiding ontstaat onder invloed van het aangevoerde water en van het toegepaste leidingmateriaal. Ook in huishoudwatersystemen geldt dat de beoordeling van het materiaal in verhouding moet staan met de biofilmvorming die door het water wordt veroorzaakt. Uit een onderzoek naar de biologische stabiliteit van het huishoudwater voor Langerak (KOA 98.232) is naar voren gekomen dat het water een relatief gering AOC-gehalte bevat (< 10 µg C/l) en dat de BVS-waarde 23 à 26 pg ATP/cm².dag bedroeg. Deze waarden komen overeen met die gevonden in drinkwater, zij het dat de BVS-waarde op een niveau (> 10) ligt waarbij kans bestaat op nagroei van *Aeromonas*. Bij een dergelijke BVS-waarde mag tevens een biofilmconcentratie boven 1000 pg ATP/cm² worden verwacht, maar gegevens hierover zijn niet verzameld omdat het leidingnet voor het huishoudwater in de periode waarin het onderzoek is uitgevoerd nog niet in bedrijf was.

Uit een onderzoek naar de BVP-waarden van materialen die in aanmerking komen voor toepassing in contact met huishoudwater is gebleken dat deze varieerden tussen waarden < 100 pg ATP/cm² (PVC-C) tot waarden van ca. 850 pg ATP/cm² (PE-basis).

Streefwaarde voor BVP-waarde van materialen in contact met huishoudwater

Bovenvermelde gegevens vormen de achtergrond voor het advies betreffende een streefwaarde van de BVP-waarde van het leidingmateriaal in contact met huishoudwater. De volgende punten zijn hierbij met name van belang:

1. Huishoudwater zal als gevolg van een minder uitgebreide zuivering sterker biofilmvormend zijn dan biologisch stabiel drinkwater, cq. biofilmvormende eigenschappen hebben die worden waargenomen in drinkwater met een beperkte mate van biologisch stabiliteit
2. Richtniveau's voor BVP-waarden van materialen in contact met drinkwater ontbreken nog. Het meest algemeen toegepaste leidingmateriaal (PVC) heeft een zeer geringe BVP-waarde (< 100 pg ATP/cm²), maar materialen met een BVP-waarde die hoger is dan 1000 pg ATP/cm² worden ook toegepast.
3. De blootstelling van de gebruiker aan huishoudwater is veel geringer dan de blootstelling aan drinkwater.

Geconcludeerd kan worden dat er geen basis is voor het stellen van strenge eisen aan de BVP-waarde van materialen in contact met huishoudwater. Wel wordt aanbevolen wordt om de biofilmvorming in systemen van huishoudwater binnen de perken te houden. Bij het ontbreken van gegevens over de biofilmconcentraties in huishoudwatersystemen zou voorlopig de voorkeur kunnen worden gegeven aan materialen met een BVP-waarde kleiner dan 1000 pg ATP/cm².

Aanbevelingen voor nader onderzoek

1. Inventarisatie van biofilmconcentraties in het leidingnet voor huishoudwater;
2. Bepaling van de aanwezigheid van *Legionella* in biofilms in huishoudwaterleidingen.