

BTO 2020.045 | Augustus 2020

BTO rapport

De invloed van
drinkwaterinstallaties op
de microbiologische
kwaliteit van drinkwater
bemonsterd na
doorstroming

BTO

De invloed van drinkwaterinstallaties op de microbiologische kwaliteit van drinkwater bemonsterd na doorstroming

BTO 2020.045 | Augustus 2020

Opdrachtnummer

402045-038

Projectmanager

Michiel Hootsmans

Opdrachtgever

BTO - Thematisch onderzoek - Biologische activiteit

Kwaliteitsborger

Paul van der Wielen

Auteur

Kimberly Learbuch

Verzonden aan

Dit rapport is verspreid onder BTO-participanten.
Een jaar na publicatie is het openbaar.

Jaar van publicatie
2020

Meer informatie

Kimberly Learbuch MSc.
T 030-6069599
E kimberly.learbuch@kwrwater.nl

Keywords

Drinkwater, microbiele activiteit

Postbus 1072
3430 BB Nieuwegein
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511
F +31 (0)30 60 61 165
E info@kwrwater.nl
I www.kwrwater.nl



Alle rechten voorbehouden.

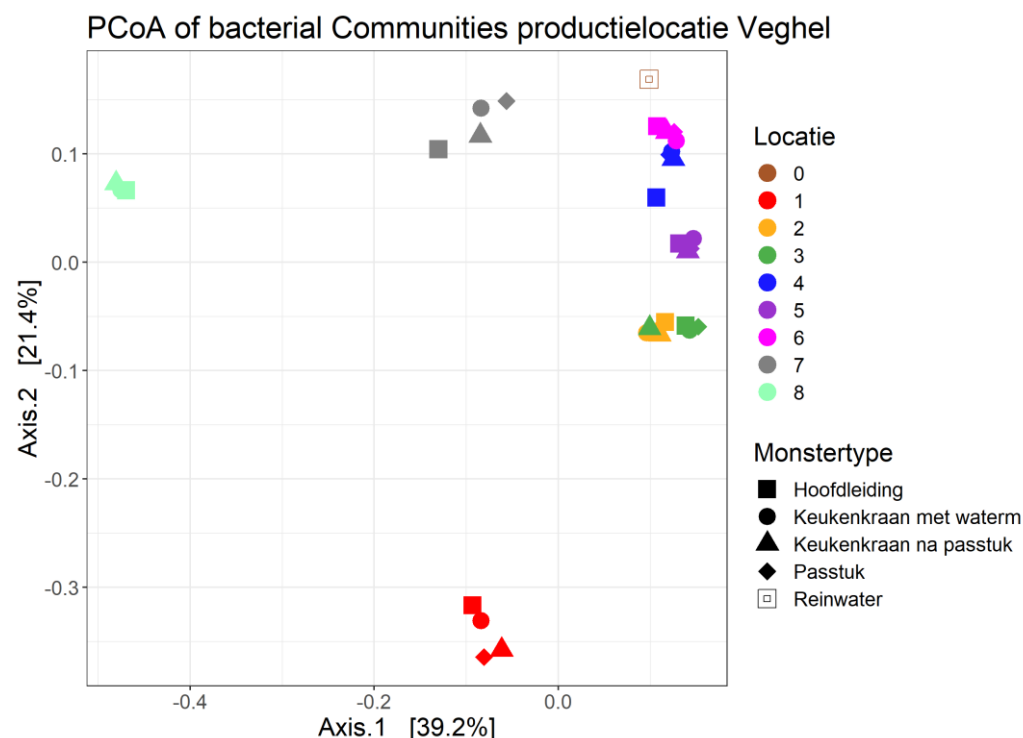
Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

BTO Managementsamenvatting

Bemonstering aan de keukenkraan geeft betrouwbare indicatie voor uitspraak over drinkwaterkwaliteit

Auteur Kimberly Learbuch MSc.

In vier verschillende voorzieningsgebieden zijn op acht verschillende locaties vier verschillende watermonsters genomen om te onderzoeken of bemonstering aan de kraan na doorstroming een betrouwbare locatie is om uitspraken te doen over de microbiologische waterkwaliteit in het distributiesysteem. De vier verschillende watermonsters (aan de keukenkraan voor en na vervanging van de watermeter, van de watermeter en uit de hoofdleiding) zijn geanalyseerd op ATP, KG22, *Aeromonas*, *Legionella*, FCM, specifieke qPCR's en microbial profiling. De resultaten zijn statistisch geanalyseerd en over het algemeen werden geen significante verschillen gevonden voor de microbiologische parameters tussen de verschillende watermonsters of zijn de parameters significant lager (met name KG22) in de monsters uit de keukenkraan dan in de hoofdleiding. Een drinkwatermonster genomen aan de kraan na doorstroming van 15-20 min is dus representatief voor de microbiologische waterkwaliteit van een drinkwatermonster genomen uit de hoofdleiding.



Verskil in bacteriesamenstelling tussen watermonsters, bemonsterd op verschillende locaties in het voorzieningsgebied van productielocatie Veghel. De clustering van symbolen laat zien dat deze verschillen er niet of nauwelijks zijn.

Belang: nagaan betrouwbaarheid monsternamen aan de kraan voor beoordeling waterkwaliteit

Doel van deze studie is te onderzoeken of bemonstering aan de kraan na doorstroming een

betrouwbare locatie is om uitspraken te doen over de microbiologische waterkwaliteit in het distributiesysteem.

Aanpak: bemonstering in voorzieningsgebieden op acht verschillende locaties

In totaal zijn in vier voorzieningsgebieden per gebied acht verschillende locaties bemonsterd. Per locatie zijn vervolgens vier verschillende watermonsters genomen: aan de keukenkraan voor en na vervanging van de watermeter, uit de watermeter met behulp van een passtuk en uit de hoofdleiding. Om de microbiologische waterkwaliteit vast te stellen zijn de monsters geanalyseerd op ATP, KG22, *Aeromonas*, *Legionella*, FCM, specifieke qPCR's en microbial profiling. De resultaten zijn statistisch geanalyseerd.

Resultaten: keukenkraan na doorstroming is vergelijkbaar met distributiesysteem

De resultaten tonen aan dat wanneer na doorstroming van het distributiesysteem een drinkwatermonster aan de tap wordt genomen, de microbiologische parameters ATP, KG22, *Aeromonas* en FCM over het algemeen niet significant hoger zijn dan in de hoofdleiding. Tussen de watermonsters bestaan weinig of kleine verschillen in bacteriesamenstelling. Op basis van deze resultaten wordt geconcludeerd dat de microbiologische kwaliteit van drinkwater tijdens transport door de drinkwaterinstallatie niet verslechterd wanneer deze eerst gedurende 15-20 minuten met drinkwater uit de hoofdleiding is doorstroomd.

Toepassing: geen reden voor aanpassing bemonsteringsprotocol

De gevonden resultaten geven geen aanleiding om de huidige bemonstering van drinkwater aan de keukenkraan – het nemen van een monster nadat de drinkwatertemperatuur 30 seconden constant blijft – aan te passen. Er dient wel aanvullend onderzoek uitgevoerd te worden om te achterhalen of de resultaten van deze methode vergelijkbaar zijn met het nemen van een monster na 15-20 minuten doorstroming.

Rapport

Dit onderzoek is beschreven in het rapport *De invloed van drinkwaterinstallaties op de microbiologische kwaliteit van drinkwater bemonsterd na doorstroming* (BTO-2020.045).

Inhoud

Inhoud	2
1 Inleiding	3
1.1 Monitoren van nagroei in distributiesystemen	4
2 Materiaal en methoden	5
2.1 Voorzieningsgebieden en data	5
2.2 Monsternamen	5
2.3 Analyses	6
2.4 Statistiek	8
3 Resultaten	10
3.1 ATP, KG22, <i>Aeromonas</i> , Legionella, FCM en qPCR's	10
3.2 Verschillen tussen monstertype	23
3.3 Microbial profiling	25
3.4 Relatie tussen de microbiologie en eigenschappen van de monsterlocatie	33
4 Discussie	38
5 Conclusies en aanbevelingen	41
5.1 Conclusies	41
5.2 Aanbevelingen	41
6 Referenties	42
Bijlage I Locaties	44
Bijlage II Bemonsteringsprotocol	47
Bijlage III Resultatentabel	51
Bijlage IV Bargraphs en PCoA plots	83

1 Inleiding

Drinkwater in Nederland wordt gedistribueerd zonder restgehalte van een desinfectiemiddel als chloor. Groei van micro-organismen tijdens distributie wordt beperkt door het aanbod van nutriënten in het drinkwatersysteem zo laag mogelijk te houden, oftewel door te streven naar biologische stabiliteit van het drinkwatersysteem. In 2017 is in samenspraak met de drinkwaterbedrijven een gezamenlijke definitie van deze biologische stabiliteit vastgesteld: 'Biologische stabiliteit beschrijft een drinkwatersysteem dat tot een zo min mogelijke biologische verandering leidt, zodat gezondheidsrisico's en/of consumentenklachten, gerelateerd aan groei van (micro-)organismen, niet kunnen optreden.' Een aantal locaties in Nederland en Vlaanderen voldoet waarschijnlijk niet aan deze definitie doordat opportunistische pathogenen die genotypisch vergelijkbaar zijn met patiëntstammen aanwezig zijn en/of esthetische klachten voorkomen ten aanzien van de aanwezigheid van ongewervelde dieren, geur & smaak en/of bruinwaterklachten. In het BTO onderzoek is traditiegetrouw altijd veel aandacht geweest voor het aanpassen en optimaliseren van de zuivering in relatie tot de biologische stabiliteit, maar het onderzoek heeft zich veel minder gericht op het distributiesysteem. Daar komt bij dat bij de BTO projecten die zich wel op het distributiesysteem hebben gericht, veelal gefocust waren op het bemonsteren en analyseren van reinwatermonsters, watermonsters genomen aan de keukenkraan na doorstroming en/of spuiwater genomen aan de brandkraan. Door de vele variabelen die van invloed zijn op microbiële groei in het distributiesysteem, is het met dergelijke metingen moeilijk om de parameters te identificeren die de meeste invloed hebben op de microbiologische processen die in het distributiesysteem plaatsvinden. Het gevolg is dat het drinkwaterdistributiesysteem nog veelal een "black box" is, waardoor de microbiologische processen die optreden onvoldoende worden begrepen om onderbouwde aanbevelingen te geven om de nagroeiproblematiek gerelateerd aan de biologische stabiliteit te beperken in het distributiesysteem.

Daarnaast zijn ook een aantal BTO-onderzoeken uitgevoerd die zich meer hebben gericht op het identificeren van processen en variabelen die groei van micro-organismen in het distributiesysteem bepalen. Een voorbeeld hiervan is het gezamenlijk BTO-onderzoek naar *Legionella pneumophila* dat in de periode 2002-2012 door Dick van der Kooij is opgezet. Binnen dit *L. pneumophila* onderzoek is veel gebruik gemaakt van experimenten op laboratoriumschaal met biofilmmonitoren. De resultaten van die experimenten hebben duidelijk gemaakt waar de waterkwaliteit, temperatuur en leidingmaterialen aan moeten voldoen om groei van *L. pneumophila* te voorkómen. Het resultaat is dat dit onderzoek, in vergelijking met de "black box" benadering, heeft geresulteerd in concrete en goed onderbouwde aanbevelingen. Het is voor toekomstig BTO-onderzoek daarom zinvoller om metingen in de praktijk te complementeren met onderzoek op laboratoriumschaal.

Daarom is binnen het BTO een relatief groot project gestart dat als overkoepelend doel heeft om, door praktijkmetingen te combineren met experimenten op laboratoriumschaal, diverse microbiologische processen die zich afspelen in het distributiesysteem beter te begrijpen. Met behulp van die kennis kunnen naar verwachting (beter) onderbouwde aanbevelingen gedaan worden die de biologische stabiliteit tijdens distributie moeten verbeteren. Binnen dit overkoepelende project

worden meerdere onderzoeksvragen opgepakt. Binnen de hier beschreven rapportage wordt één van deze onderzoeksvragen behandeld: Is de bemonstering aan de kraan na doorstroming een betrouwbare locatie en methode om uitspraken te doen over de microbiologische waterkwaliteit in het distributiesysteem?

1.1 Monitoren van nagroei in distributiesystemen

Groei van micro-organismen in het distributiesysteem wordt momenteel voornamelijk routinematig gemonitord door bepaling van het koloniegetal bij 22°C (KG22) en het koloniegetal van *Aeromonas* bij 30°C (*Aeromonas*) op drinkwatermonsters die momentaan worden genomen aan de keukenkraan na doorstroming tot de temperatuur van het water 30 seconden constant is, soms aangevuld met metingen van de ATP-concentratie en/of het aantal bacteriecellen. De aanname van deze monsternamen is dat water waarvan de temperatuur 30 seconden constant is afkomstig is uit het distributiesysteem en niet uit de drinkwaterinstallatie van het gebouw. Het is wel mogelijk bij grote gebouwen de temperatuur van het water in de drinkwaterinstallatie ook voor 30 seconden constant kan zijn. Daarnaast zijn er ook nog een aantal beperkingen geassocieerd met deze benadering. Recent BTO-onderzoek heeft bijvoorbeeld laten zien dat ATP-bepalingen en celtellingen in gedistribueerd drinkwater weinig informatie geven over de mate van nagroei in het distributiesysteem van 28 verschillende productielocaties in Nederland, terwijl KG22 en *Aeromonas* voornamelijk gerelateerd zijn aan sedimentgeassocieerde groei (van der Wielen et al., 2017). Daarnaast wordt eventuele aanwezige dynamiek in de microbiologische processen in het distributiesysteem gemist met het nemen van momentaan geplande monsters en kan de drinkwaterinstallatie van het gebouw mogelijk een invloed hebben op de microbiologische kwaliteit van het drinkwater aan de kraan, zelfs na doorstroming (van der Wielen, 2017). De invloed van de drinkwaterinstallaties op de microbiologische waterkwaliteit is echter nog grotendeels onduidelijk en kan worden verhelderd wanneer ook monsters worden genomen vlak voor de watermeter en van de hoofdleiding. De toevoeging van dergelijke monsterpunten laat tevens zien hoe de microbiologische waterkwaliteit verandert tijdens transport in het distributiesysteem, van de reinwaterkelder naar de aansluitleiding en van de aansluitleiding naar de watermeter. Het doel van de in dit rapport beschreven deelproject is om te onderzoeken of de bemonstering aan de kraan na doorstroming een betrouwbare locatie en methode is om uitspraken te doen over de microbiologische waterkwaliteit in het distributiesysteem?

2 Materiaal en methoden

2.1 Voorzieningsgebieden en data

In juni van 2019 zijn in vier verschillende voorzieningsgebieden drinkwatermonsters genomen, zie Tabel 1 voor de voorzieningsgebieden en data. De locaties van Evides zijn voornamelijk bemonsterd van het menggebied Baanhoek/Berenplaat. Ook zijn locaties bemonsterd die worden gevoed met Berenplaat met een extra zuiveringsstap ultrafiltratie (UF). Per voorzieningsgebied zijn acht locaties bemonsterd en in Bijlage I is de informatie van de bemonsterde locaties te vinden.

Tabel 1 Overzicht voorzieningsgebieden en data bemonsteringen.

Waterbedrijf	Voorzieningsgebied	Bron	Monsterdatum
Brabant Water	Veghel	Grondwater	3-6-2019
Oasen	Rodenhuis	Grondwater	11-6-2019
PWN	Andijk	Oppervlaktewater	17-6-2019
Evides	Baanhoek/Berenplaat*	Oppervlaktewater	24-6-2019

* = menggebied van productielocaties Baanhoek en Berenplaat

2.2 Monstername

2.2.1 Drinkwatermonsters

Drinkwatermonsters (2 liter) zijn door de monsternemer volgens aangepast protocol genomen (zie 0 en Tabel 2). Eerst is de keukenkraan 15-20 minuten doorspoeld en vervolgens is een drinkwatermonster genomen. Hiermee kan het eventueel invloed van binnen installatie worden bepaald, door verschil in waterkwaliteit tussen keukenkraan en passtuk. Daarna is de watermeter vervangen door een passtuk en is er opnieuw een drinkwatermonster aan de keukenkraan genomen na 15-20 minuten doorspoeling. Hiermee kan het eventueel invloed van aansluitleiding worden bepaald, door verschil in waterkwaliteit tussen aanboring op de hoofdleiding en passtuk. Vervolgens is een drinkwatermonster uit de monsterkraan op het passtuk genomen en als laatste is een drinkwatermonster op de hoofdleiding genomen m.b.v. een aanboring (dit is het referentiemonster). Deze aanboring op de hoofdleiding is twee weken voor de monstername dag geplaatst. Het betreft een normale aanboring t.b.v. een huisaansluiting. De monsterleiding, 25 mm HDPE, is naar het maaiveld gebracht en onder een straatpot afgedekt. Op het eind van de monsterleiding is een kogelkraan geplaatst en de monsterleiding is voorafgaand aan bemonstering doorspoeld. Van de gekozen adressen gegevens registreren van type huis, leeftijd, lengte, diameter (bereken inhoud van leiding) en materiaal aansluitleiding. Vanuit het hydraulisch model inschatting van verblijftijd.

De reden achter de gekozen doorstroming van 15 minuten was om zeker te zijn dat het drinkwater uit het distributiesysteem komt. Normaliter wordt een drinkwatermonster genomen aan de keukenkraan na doorstroming tot de drinkwatertemperatuur 30 seconden stabiel is.

Tabel 2 Beschrijving en volgorde van de verschillende drinkwatermonsters

Volgorde van bemonstering	Monster	Opmerkingen
n.v.t.	Reinwater	Bij pompstation
1 ^e	Watermonster aan de keukenkraan (voor paasstuk plaatsing)	Eerst 15-20 minuten laten lopen
2 ^e	Watermonster aan de keukenkraan (na passtuk plaatsing)	Eerst 15-20 minuten laten lopen
3 ^e	Watermonster op de plek van de watermeter	Passtuk van rvs
4 ^e	Watermonster op de hoofdleiding	Aanboring voorbereiden in 2 weken voor bemonsteringsdag

2.3 Analyses

2.3.1 Koloniegetal bij 22°C

Deze bepaling conform NEN-EN-ISO 6222 telt het aantal heterotrofe bacteriën dat aanwezig is in het water en biofilm en kolonies vormt op een PCA voedingsmedium na drie dagen incuberen bij 22°C. Dit is een standaardbepaling in drinkwater, en deze parameter is ook opgenomen als norm in het drinkwaterbesluit. De wettelijke eis is dat het geometrisch jaargemiddelde van het KG22 in drinkwater bemonsterd na doorstroming (tot de watertemperatuur 30 seconden constant is) aan de keukenkraan <100 KVE ml⁻¹ en dat er geen ongewone veranderingen optreden in het KG22. De KG22-analyse is uitgevoerd conform KWR-huisvoorschrift LMB-032.

2.3.2 *Aeromonas*

Detectie van *Aeromonas*-bacteriën met behulp van de kweekmethode is uitgevoerd conform NEN 6263. De bepalingsgrens van de methode komt overeen met 1 kolonievormende eenheid per 100 ml (1 kve 100 ml⁻¹). Voor het kwantificeren van de *Aeromonas*-bacteriën worden watermonsters en gesuspenderde biofilmmonsters gefiltreerd door een membraanfilter (0,45µm), uitgespateld op Ampicilline Dextrine Agar (ADA) en vervolgens 24 uur geïncubeerd bij 30°C. Kolonies met een kenmerkende morfologie (geel) worden geteld. De wettelijke eis van *Aeromonas* in het drinkwater bemonsterd na doorstroming (tot de watertemperatuur 30 seconden constant is) aan de keukenkraan is < 1000 KVE 100 ml⁻¹. De *Aeromonas*-analyse is uitgevoerd conform KWR-huisvoorschrift LMB-022.

2.3.3 Legionellakweek

Het aantal legionellabacteriën is bepaald met de kweekmethode op het medium Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) agar met antibiotica conform NEN 6265 (zonder zuur- en hittebehandeling). Na zeven dagen incubatie bij 37 °C werden typische kolonies geteld. Bevestiging van de kolonies is uitgevoerd op BCYE-medium met en zonder cysteïne. Onderscheid tussen kolonies van *L. pneumophila* en kolonies van *L. anisa* is gedaan met qPCR. De wettelijke eis is dat het aantal kweekbare legionellabacteriën < 100 kve l⁻¹.

2.3.4 Adenosinetrifosfaat (ATP)

ATP is aanwezig in alle levende organismen en wordt in de cel gevormd bij de oxidatie van energiebronnen en vervolgens gebruikt bij de synthese van nieuw celmateriaal. De

ATP bepaling berust op de luciferine-luciferase reactie, waarbij ATP onder vorming van licht (een foton per molecuul ATP) overgaat in adenosinedifosfaat (ADP). Met behulp van lichtgevoelige apparatuur kan de lichtproductie nauwkeurig worden gemeten. De werkwijze levert binnen enkele minuten een resultaat op. De detectiegrens van de bepaling bij direct onderzoek van drinkwater bedraagt ca. 1 ng ATP l⁻¹. Op basis van gemiddelde waarden voor het ATP-gehalte per bacteriecel kan met het ATP-gehalte een schatting worden gemaakt voor de concentratie aan actieve (levende) biomassa. De ATP-analyse is uitgevoerd conform KWR-huisvoorschrift LMB-002.

2.3.5 Flowcytometrie

Voor telling van de bacteriën met behulp van flowcytometrie (FCM) worden de bacteriecellen eerst met een fluorescent label gekleurd. Hierdoor kan FCM onderscheid maken tussen bacteriën en (niet fluorescerende) deeltjes. Deeltjes die autofluoresceren of deeltjes die ook het fluorescentielabel binden worden wel gedetecteerd (achtergrondruis). Veelal zijn deze vervuiliingsdeeltjes van andere grootte, zodat het apparaat behoorlijk betrouwbaar het aantal bacteriecellen kan bepalen. Geklonterde cellen worden in deze telling gemist doordat ze een andere grootte hebben. Ter volledigheid, bij de kweekmethode worden geklonterde cellen als één kolonievormende eenheid geteld. In de methodiek worden twee kleuringen toegepast. Een algemene kleuring waarmee alle cellen worden gekleurd (SYBR) en een kleuring met propidiumiodide (PI), waarmee cellen met een beschadigde membraan worden geteld. Een gekleurde cel met PI wordt daarom verondersteld "dood" te zijn. De FCM analyse is uitgevoerd conform KWR-huisvoorschrift LMB-071.

2.3.6 DNA isolatie

Elk watermonster werd gefiltreerd door een 0,22µm filter, waarna de filters met een DNA suspensie van een interne controle werden opgeslagen bij -20°C. Later werd DNA uit deze filters geïsoleerd met de DNeasy PowerBiofilm kit (Qiagen). De DNA isolatie is uitgevoerd conform KWR-huisvoorschrift LMB-069.

2.3.7 qPCR's

Er zijn qPCR's, die zich richten op acht verschillende bacteriegroepen en/of -soorten, uitgevoerd op het DNA dat is geïsoleerd uit de drinkwatermonsters (Tabel 3). De opportunistische pathogenen die hierbij zijn geselecteerd zijn degenen die in het verleden zijn aangetroffen op sommige locaties in de Nederlandse drinkwaterdistributiesystemen.

Tabel 3 Informatie van de qPCR's die werden uitgevoerd op het DNA geïsoleerd uit de drinkwatermonsters.

	Doelgen	KWR-huisvoorschrift	Bron
<i>Legionella</i> spp.	16S rRNA	LMB-068, bijlage 01	Heijnen et al., 2002
<i>L. pneumophila</i>	Mip	LMB-065, bijlage 01	Wullings et al., 2011
<i>P. aeruginosa</i>	regA	LMB-065, bijlage 10	Van der Wielen et al., 2014
<i>S. maltophilia</i>	Chitinase A	LMB-068, bijlage 06	da Silva Filho et al., 2004
<i>A. fumigatus</i>	28S rRNA	LMB-065, bijlage 06	van der Wielen, Italiaander, et al., 2011
<i>Mycobacterium</i> spp.	16S rRNA	LMB-065, bijlage 20	Van der Wielen et al., 2014
<i>Hyphomicrobium</i> spp.	16S rRNA		Learbuch & Wullings, 2018

2.3.8 Microbial profiling

Gebarcodeerde fragmenten van het 16S rRNA gen (~300bp), gericht op de V4 hypervariabele regio, werden geamplificeerd door een PCR met primers 515F en 806R uit te voeren op het DNA geïsoleerd van ieder drinkwatermonster en van negatieve controles (blanco van DNase/RNase vrij water tijdens filtratie en tijdens PCR). De DNA-sequentie is bepaald van de gezuiverde PCR producten met de Illumina MiSeq sequencer bij KWR. Deze DNA-sequenties zijn vervolgens geanalyseerd met behulp van het specialistische computerprogramma Mothur (Schloss et al. 2009). Dit programma zorgt voor verbetering van de sequentiedata door eerst een aantal stappen uit te voeren waarin eventuele fouten uit de sequentiedata worden verwijderd, vervolgens wordt een programma toegepast waarmee chimeresequenties (artefacten die t.g.v. de PCR-reacties kunnen ontstaan) worden verwijderd. Na deze verbeteringsstappen worden sequenties ingedeeld in "Operational Taxonomic Units" (OTU's) waarbij alle 16S rRNA gensequenties met een sequentieovereenkomst van minimaal 97% ingedeeld worden tot één OTU. Ten slotte gaat het programma in een referentiesequentiedatabase (Silva v128-V4) op zoek naar 16S rRNA gensequenties van geïdentificeerde bacteriën die overeenkomen met de sequenties van de OTU's uit de dataset en gebruikt deze vergelijking voor taxonomische identificatie van de 16S rRNA gensequenties. Het taxonomisch niveau waarop de sequentie op naam kan worden gebracht hangt af van de aanwezigheid van overeenkomende sequenties in de referentiedatabase. Indien op bijvoorbeeld genusniveau een overeenkomende referentiesequentie ontbreekt, maar op familieniveau wel een overeenkomende referentiesequentie aanwezig is, dan zal de sequentie op genusniveau als "onbekend/unclassified" worden getypeerd, maar op familieniveau wel tot een familienaam kunnen worden benoemd. De betrouwbaarheid en volledigheid van fylogtypering hangt dus mede af van de beschikbare referentiedatabase. Voor het geanalyseerde 16S rRNA genfragment is de referentiedatabase groot, waardoor de identificatie van de sequenties betrouwbaar is. Identificatie tot genusniveau is echter vaak niet mogelijk door het (nog) ontbreken van overeenkomende soorten in de database. Daarnaast is het geanalyseerde stuk 16S rRNA gen te kort om de sequenties tot soortniveau in te kunnen delen. De figuren van de taxonomische indeling zijn gegenereerd met het statistisch programma R en de pakketten phyloseq en ampvis2. Daarbij zijn nu community verschillen tussen monsters bepaald door de Bray-Curtis afstand te bepalen, die vervolgens is gebruikt als input voor de principle coordinates analysis (PCoA). Een PCoA is een manier om de verschillen in soortensamenstelling van de bacteriegemeenschap van de individuele monsters te visualiseren uit een dataset (in dit geval des te dichter monsters bij elkaar liggen, des te minder de bacteriesamenstelling verschillen). Vervolgens is een Canonical Analysis of Principal coordinates (CAP) analyse uitgevoerd met aansluitend een permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) [Omstelbare multivariate variantieanalyse] om na te gaan door welke variabelen de verschillen worden verklaard.

2.4 Statistiek

2.4.1 Verschillen tussen drinkwatermonsters

Verschillen tussen de drinkwatermonsters van de resultaten van de microbiologische parameters KG22, *Aeromonas*, *Legionella*, ATP en bacteriecellen zijn statistisch geanalyseerd met de non-parametrische Friedman test gevolgd door een Bonferroni post-hoc test door gebruik te maken van SPSS versie 26.0.

2.4.2 Meervoudige regressieanalyse

De gegevens uit het voorzieningsgebied van Veghel, Rodenhuis en Andijk zijn geanalyseerd met behulp van een meervoudige regressieanalyse om te achterhalen

welke niet-biologische parameters die zijn bepaald (voorzieningsgebied, woningtype, grondbedekking, temperatuur, bouwjaar huis, materiaaltipe aansluitleiding, ligging aansluitleiding, geschatte lengte drinkwaterinstallatie, oppervlakte aansluitleiding, volume aansluitleiding en oppervlakte-volume ration aansluitleiding) voorspellend zijn voor de gemeten microbiologische parameters. De gegevens van Berenplaat/Braakman zijn niet meegenomen in deze analyse, omdat die monsters zijn genomen in gebieden met en zonder extra nabehandeling in het voorzieningsgebied (ultrafiltratie), wat een invloed kan hebben op de resultaten van de regressieanalyse. Daarnaast waren voor het voorzieningsgebied van Berenplaat/Braakman ook niet alle gegevens bekend. De afhankelijke microbiologische variabelen die zijn gemeten in het voorzieningsgebied van Veghel, Rodenhuis en Andijk (ATP, KG22, *Aeromonas*, membraanintacte cellen en totaal aantal cellen) zijn met de Shapiro-Wilk test getoetst of ze normaal verdeeld waren. De parameters die niet normaal verdeeld waren (KG22, *Aeromonas*, membraanintacte cellen en totaal aantal cellen) zijn vervolgens loggetransformeerd en opnieuw getest met Shapiro-Wilk test, waaruit bleek dat de loggetransformeerde gegevens wel normaal verdeeld waren. Een meervoudige lineaire regressieanalyse, gebaseerd op Pearson, is vervolgens uitgevoerd tussen deze afhankelijke variabelen en de voorspellende parameters. De regressieanalyse is uitgevoerd in SPSS 26.0 met behulp van de forward functie, waarbij de voorspellende parameter met het laagste significantieniveau als eerste aan het model wordt toegevoegd, gevolgd door de parameter met de enlaagste significantieniveau, etc tot een toegevoegde parameter een p-waarde van $> 0,05$ heeft, zodat alle voorspellende parameters in het regressiemodel dus een p-waarde van $< 0,05$ heeft. Tevens werd de aangepaste R^2 van het meervoudige regressiemodel door SPSS 26.0 berekend.

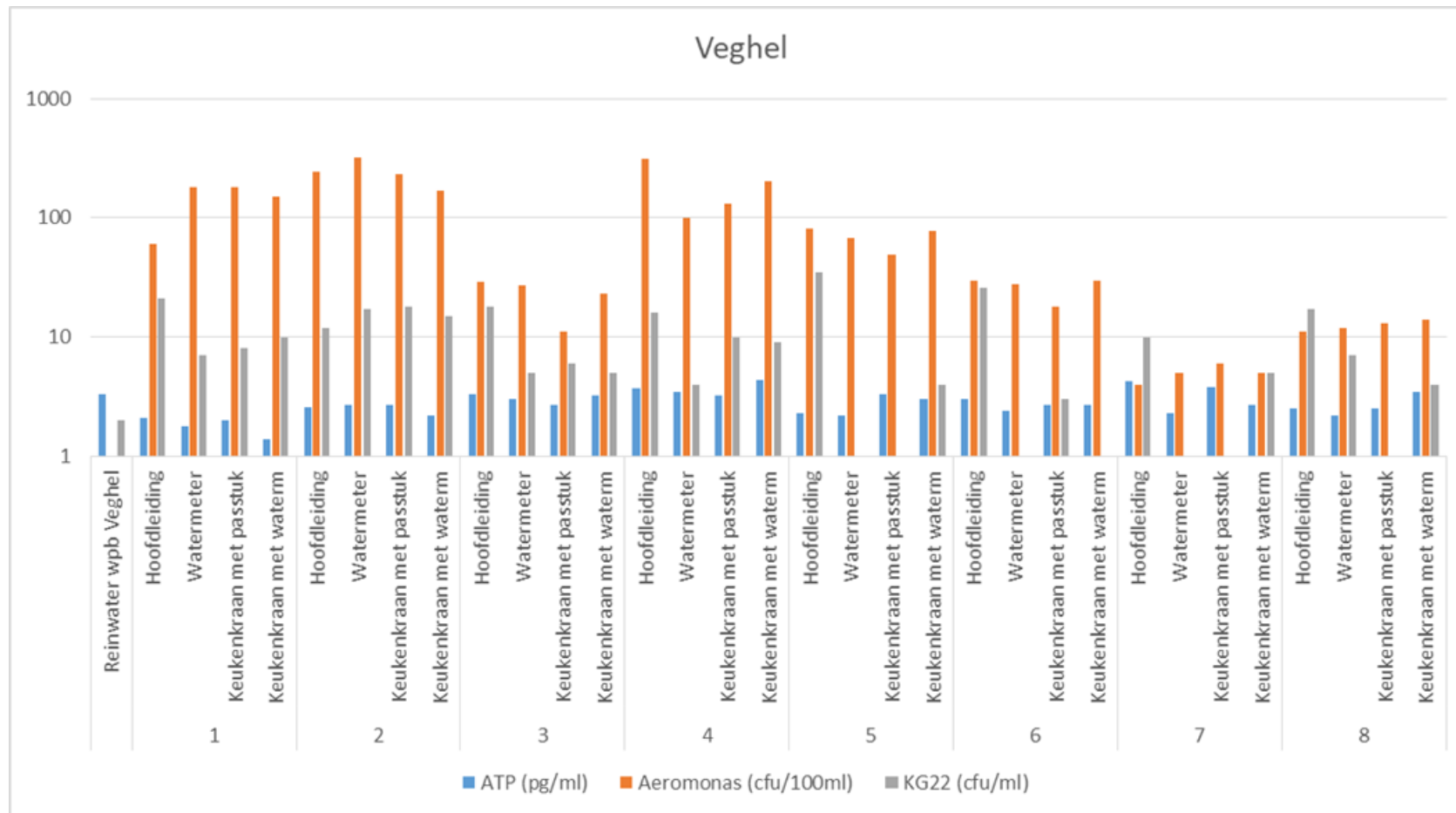
3 Resultaten

3.1 ATP, KG22, *Aeromonas*, *Legionella*, FCM en qPCR's

Er zijn totaal vier voorzieningsgebieden onderzocht waar acht verschillende locaties per voorzieningsgebied zijn bemonsterd. Per locatie zijn vervolgens vier verschillende monsters genomen. In 0 zijn alle resultaten per locatie en productielocatie terug te vinden.

3.1.1 Productielocatie Veghel

De ATP, KG22 en *Aeromonas* resultaten van productielocatie Veghel zijn weergegeven in Figuur 1 en Tabel 4 (en 0). In het reinwater was de ATP concentratie 3,3 ng/l. De ATP concentratie van de verschillende watermonsters bij de acht locaties lagen tussen de 1,4 en 4,4 ng/l. De aantallen van KG22 variëren tussen de 1 – 35 kve/ml, waarbij de hoogste aantallen meestal werden gevonden in de hoofdleiding. De *Aeromonas* aantallen variëren tussen de 1 – 320 kve/100ml, waarbij de hoogste aantallen werden gevonden op locaties 1, 2, 4 en 5. Op de andere locaties lagen de aantallen onder de 30 kve/100ml. Er werd geen trend van *Aeromonas* over hoofdleiding tot keukenkraan waargenomen, op de ene locatie werden de hoogste aantallen gevonden op de hoofdleiding, op een andere locatie bij de watermeter en bij weer een andere locatie bij de keukenkraan.



Figuur 1 ATP, *Aeromonas* en KG22 resultaten van productielocatie Veghel.

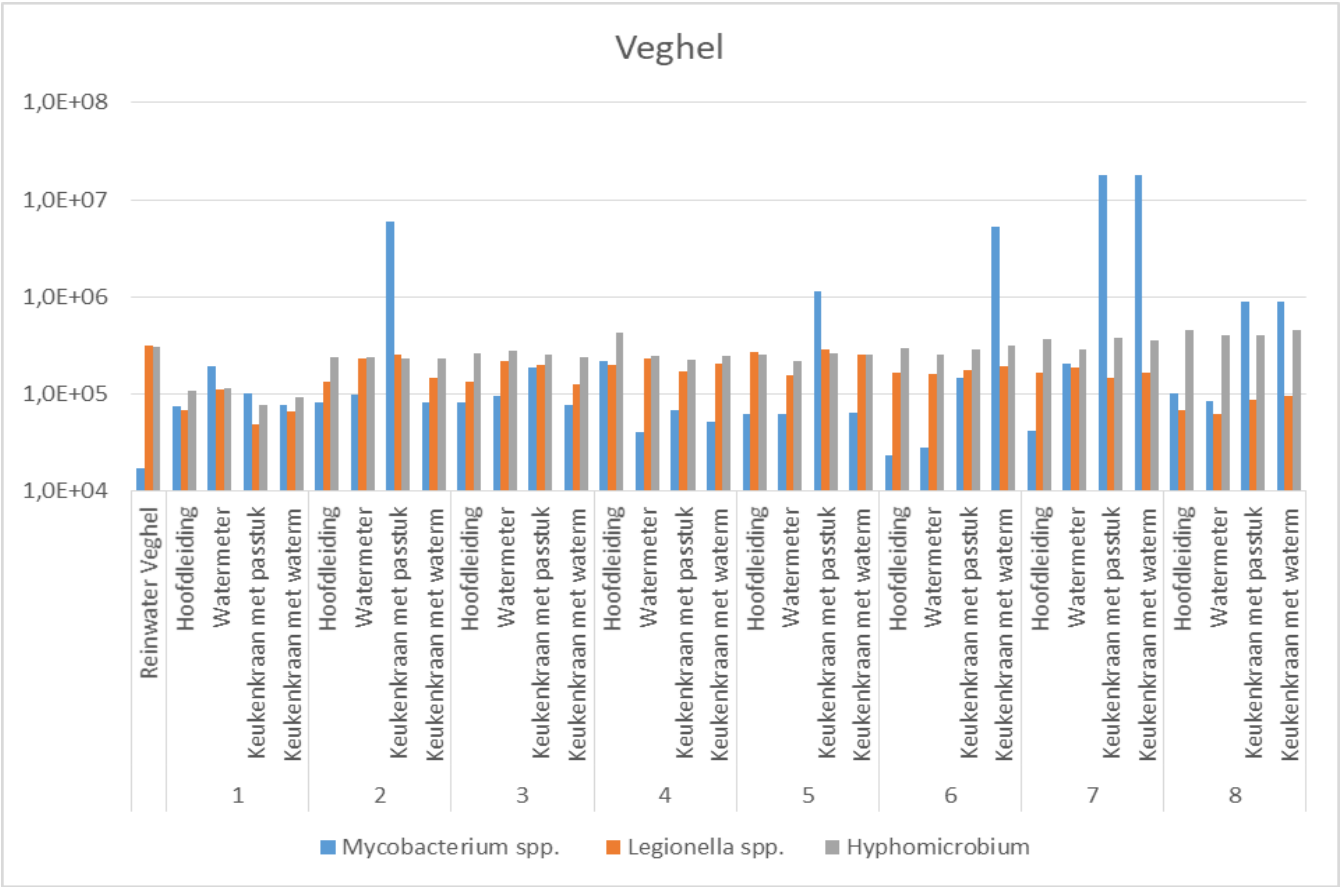
Het gemiddeld aantal 'totaal cellen' lag tussen de $6,8 - 7,4 \times 10^4$ cellen/ml (Tabel 4). De aantallen waren daarbij vergelijkbaar tussen de verschillende drinkwatermonsters en tussen locaties. Zie Bijlage III voor de FCM resultaten per locatie.

Op twee locaties was *Legionella* met kweek aangetroffen; locatie 2 keukenkraan na passtuk 100 kve/l en locatie 6 keukenkraan met watermeter 500 kve/l. Ze zijn met qPCR bevestigd als *Legionella anisa*.

Tabel 4 ATP, *Aeromonas*, KG22 en FCM gemiddelde (*Aeromonas* geomean) resultaten per monstertype van de acht locaties in het distributiesysteem van productielocatie Veghel.

Monstertype	ATP (ng/l)	<i>Aeromonas</i> (kve/100 ml)	KG22 (kve/ml)	FCM (cellen per ml)		
				levend	dood	totaal
Hoofdleiding	$3,0 \pm 0,8$	$43,9 \times / 4,4$	$19,4 \pm 8,0$	$6,3 \times 10^4$ $\pm 1,4 \times 10^4$	$7,2 \times 10^3$ $\pm 3,8 \times 10^3$	$7,0 \times 10^4$ $\pm 1,5 \times 10^4$
Watermeter	$2,5 \pm 0,5$	$45,2 \times / 4,0$	$5,4 \pm 5,3$	$6,0 \times 10^4$ $\pm 1,4 \times 10^4$	$7,4 \times 10^3$ $\pm 2,4 \times 10^3$	$6,8 \times 10^4$ $\pm 1,4 \times 10^4$
Keukenkraan met passtuk	$2,9 \pm 0,6$	$37,7 \times / 4,1$	$6,0 \pm 6,0$	$6,3 \times 10^4$ $\pm 1,4 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$ $\pm 8,5 \times 10^3$	$7,4 \times 10^4$ $\pm 1,2 \times 10^4$
Keukenkraan met watermeter	$2,9 \pm 0,9$	$45,7 \times / 3,8$	$6,6 \pm 4,4$	$6,7 \times 10^4$ $\pm 1,2 \times 10^4$	$7,1 \times 10^3$ $\pm 1,2 \times 10^3$	$7,4 \times 10^4$ $\pm 1,2 \times 10^4$

In Figuur 2 zijn de resultaten weergegeven van de verschillende qPCR's. *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* en *Stenotrophomonas maltophilia* werden met qPCR niet aangetroffen in het voorzieningsgebied van Veghel. *Aspergillus fumigatus* werd één keer aangetroffen, namelijk in drinkwater bemonsterd uit de keukenkraan na passtuk op locatie 5, met een concentratie van 680 genkopieën per liter. *Mycobacterium* spp. genkopieën variëren tussen $1,7 \times 10^4$ en $1,8 \times 10^7$ per liter. De aantallen wisselen tussen monsters en locaties, waarbij werd waargenomen dat drinkwater bemonsterd aan de keukenkraan bij zeven locaties hogere aantallen heeft in vergelijking met de andere monsters. *Legionella* spp. genkopieën variëren tussen $4,9 \times 10^4$ en $3,1 \times 10^5$ per liter. De aantallen wisselen tussen type drinkwatermonster en tussen locaties zonder een consistent patroon. *Hyphomicrobium* spp. genkopieën variëren tussen $7,7 \times 10^4$ en $4,6 \times 10^5$ per liter. De aantallen zijn vergelijkbaar tussen drinkwatermonsters en locaties.



Figuur 2 Resultaten van *Mycobacterium* spp., *Legionella* spp. en *Hyphomicrobium* qPCR's van productielocatie Veghel.

3.1.2 Productielocatie Rodenhuis

De ATP, KG22 en *Aeromonas* resultaten van productielocatie Rodenhuis zijn weergegeven in Figuur 3 en Tabel 5 (en 0). In het reinwater was de ATP concentratie 3,9 ng/l. De ATP concentratie van de verschillende drinkwatermonsters bij de zeven locaties lag tussen de 2,3 en 4,0 ng/l, behalve op locatie 4, waar de concentratie 8,3 ng/l was voor het drinkwatermonster bemonsterd aan de keukenkraan voor passtuk. De aantallen van KG22 variëren tussen de 1 en 88 kve/ml, waarbij de hoogste aantallen in de hoofdleiding werden gevonden. De *Aeromonas* aantallen variëren tussen de 1 en 700 kve/100ml en de hoogste aantallen werden gevonden in de hoofdleiding.

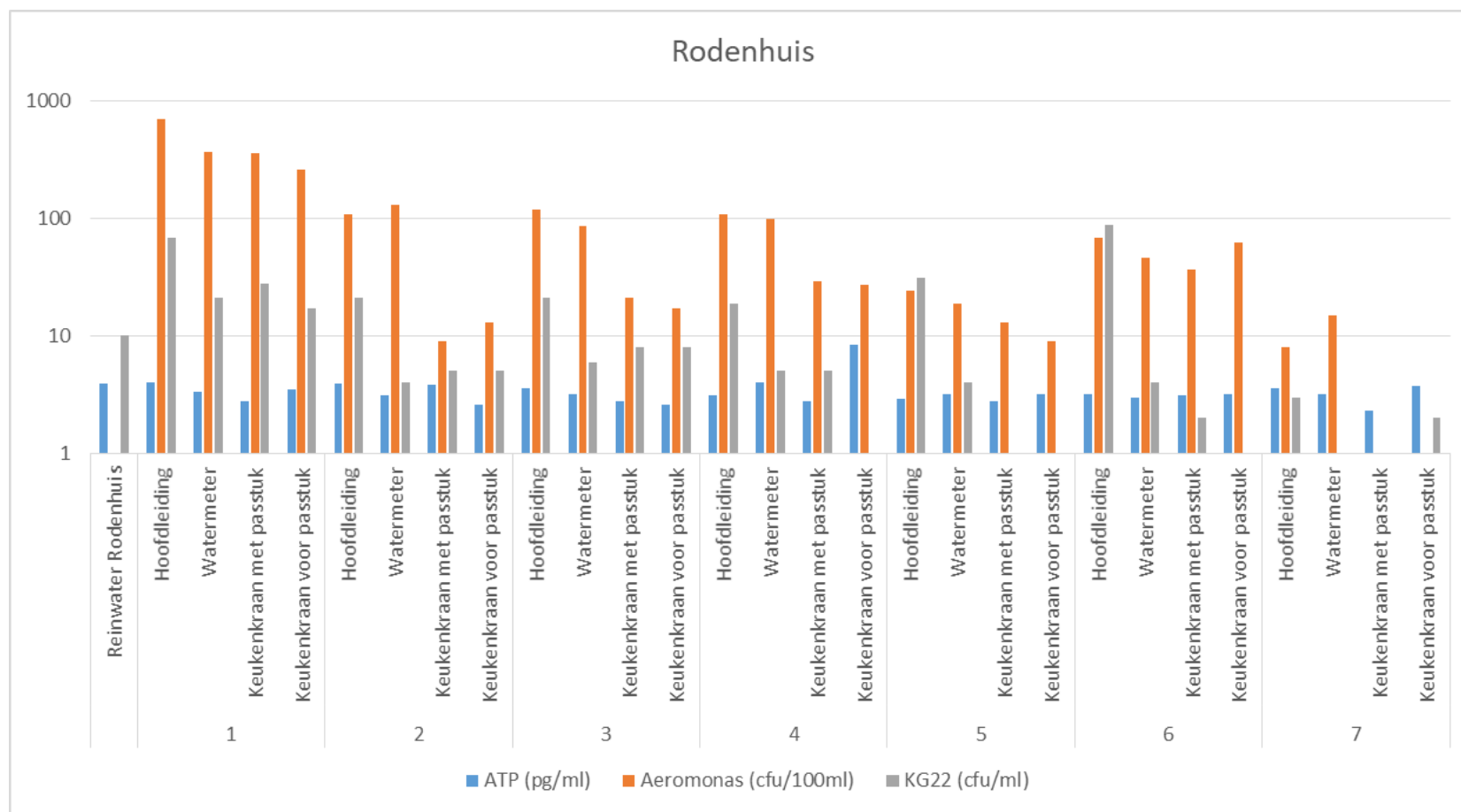
Het gemiddelde aantal totale cellen was $1,5 \times 10^5$ cellen/ml voor ieder bemonsterd drinkwater (Tabel 5). Zie Bijlage III voor de FCM resultaten per locatie.

Op twee locaties was *Legionella* met kweek aangetroffen: locatie 4 keukenkraan voor en na passtuk 100 en 400 kve/l. Ze zijn met qPCR bevestigd als *L. anisa*.

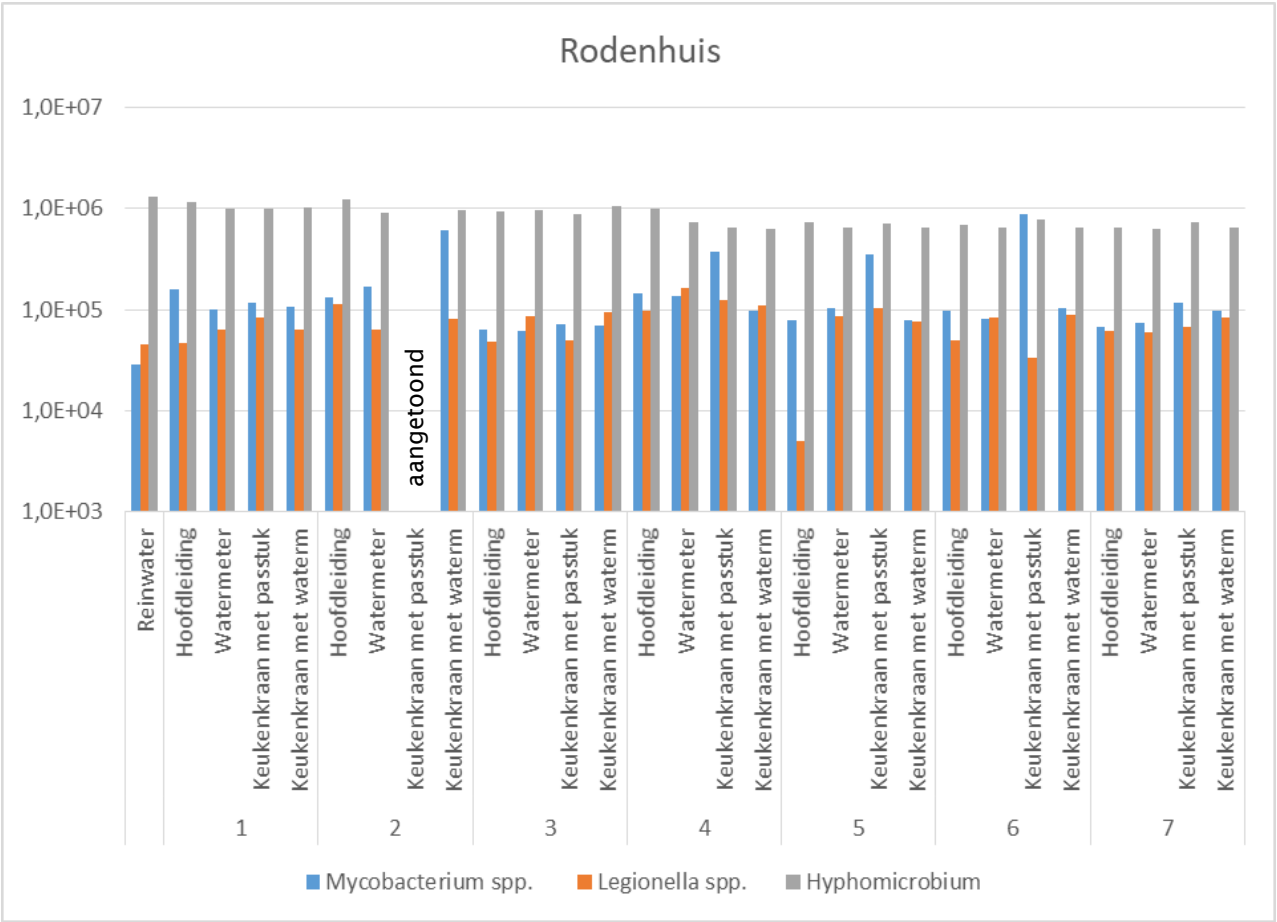
Tabel 5 ATP, *Aeromonas*, KG22 en FCM gemiddelde (*Aeromonas* geomean) resultaten per monstertype van de zeven locaties in het distributiesysteem van productielocatie Rodenhuis.

Monstertype	ATP (ng/l)	<i>Aeromonas</i> (kve/100 ml)	KG22 (kve/ml)	FCM (cellen per ml)		
				levend	dood	totaal
Hoofdleiding	$3,5 \pm 0,4$	$74,9 \times / 4,1$	$36,0 \pm 30,7$	$1,4 \times 10^5$ $\pm 3,5 \times 10^4$	$7,6 \times 10^3$ $\pm 2,8 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$ $\pm 3,6 \times 10^4$
Watermeter	$3,3 \pm 0,3$	$65,9 \times / 3,1$	$7,3 \pm 6,7$	$1,4 \times 10^5$ $\pm 1,5 \times 10^4$	$9,2 \times 10^3$ $\pm 4,8 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$ $\pm 2,1 \times 10^4$
Keukenkraan met passtuk	$2,9 \pm 0,5$	$19,2 \times / 5,8$	$8,2 \pm 10,0$	$1,4 \times 10^5$ $\pm 1,7 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$ $\pm 5,1 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$ $\pm 2,0 \times 10^4$
Keukenkraan met watermeter	$3,9 \pm 2,0$	$19,0 \times / 5,6$	$5,0 \pm 5,9$	$1,4 \times 10^5$ $\pm 1,7 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$ $\pm 5,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$ $\pm 2,0 \times 10^4$

In Figuur 4 zijn de resultaten weergegeven van de verschillende qPCR's. *P. aeruginosa*, *A. fumigatus* en *S. maltophilia* werden met qPCR niet aangetroffen in het voorzieningsgebied van Rodenhuis. *L. pneumophila* werd met qPCR één keer aangetroffen: op locatie 6 aan de keukenkraan met watermeter, waarbij de aantallen indicatief zijn (170 genkopieën/l). *Mycobacterium* spp. genkopieën variëren tussen $2,9 \times 10^4$ en $8,9 \times 10^7$ per liter. De aantallen wisselen tussen de drinkwatermonsters en locaties, waarbij vaak meer genkopieën werden aangetroffen in de kraanwatermonsters. *Legionella* spp. genkopieën variëren tussen $5,0 \times 10^3$ en $1,6 \times 10^5$ per liter. De aantallen wisselen tussen drinkwatermonsters en locaties, zonder een consistent patroon. *Hyphomicrobium* spp. genkopieën variëren tussen $6,2 \times 10^5$ en $1,3 \times 10^6$ per liter. De aantallen zijn daarbij vergelijkbaar tussen drinkwatermonsters en locaties.



Figuur 3 ATP, KG22 en Aeromonas resultaten van productielocatie Rodenhuis.



Figuur 4 Resultaten van *Mycobacterium* spp., *Legionella* spp. en *Hyphomicrobium* qPCR's van productielocatie Rodenhuis.

3.1.3 Productielocatie Andijk

De ATP, KG22 en *Aeromonas* resultaten van productielocatie Andijk zijn weergegeven in Figuur 5 en Tabel 6 (en 0). In het reinwater was de ATP concentratie 4,1 ng/l. De ATP concentratie van de verschillende locaties en watermonsters lag tussen de 2,3 en 7,3 ng/l, behalve op locatie 5, waar de concentratie 9,4 ng/l was voor drinkwater bemonsterd aan de keukenkraan na passtuk. De aantallen van KG22 variëren tussen de 8 en 93 kve/ml en de hoogste aantallen werden in de hoofdleiding gevonden. De *Aeromonas* aantallen variëren tussen de 1 en 2300 kve/100ml, waarbij de laagste aantallen werden gevonden op locaties 3 en 8 (<5 kve/100ml). Tevens zijn de hoogste aantallen vaak aangetroffen in de hoofdleiding (bij zeven van de acht locaties)

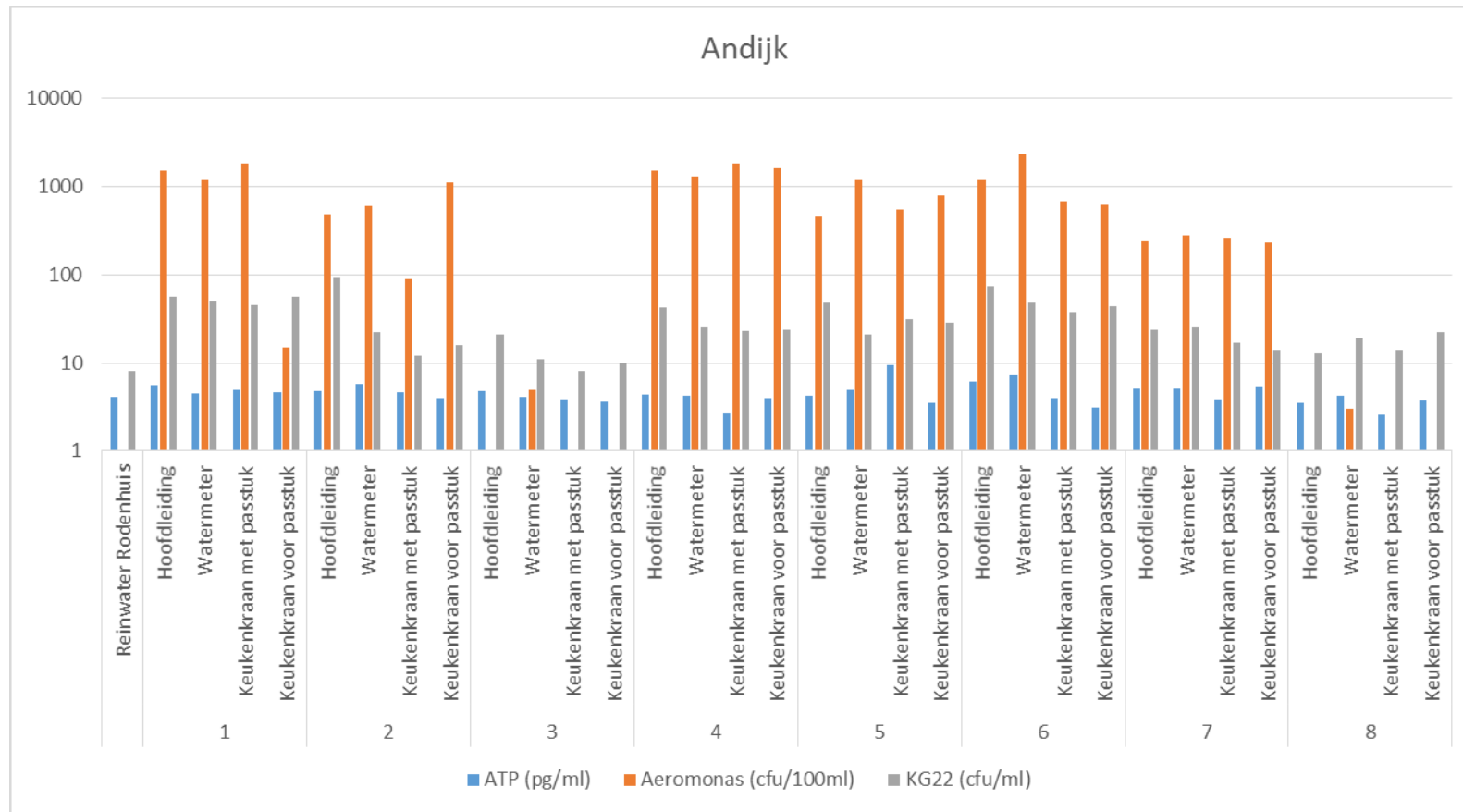
Het gemiddelde totaal aantal cellen was $1,7-1,8 \times 10^5$ cellen/ml in de verschillende monsters (Tabel 6). Zie Bijlage III voor de FCM resultaten per locatie.

Op geen enkele locatie werd *Legionella* met kweek aangetroffen.

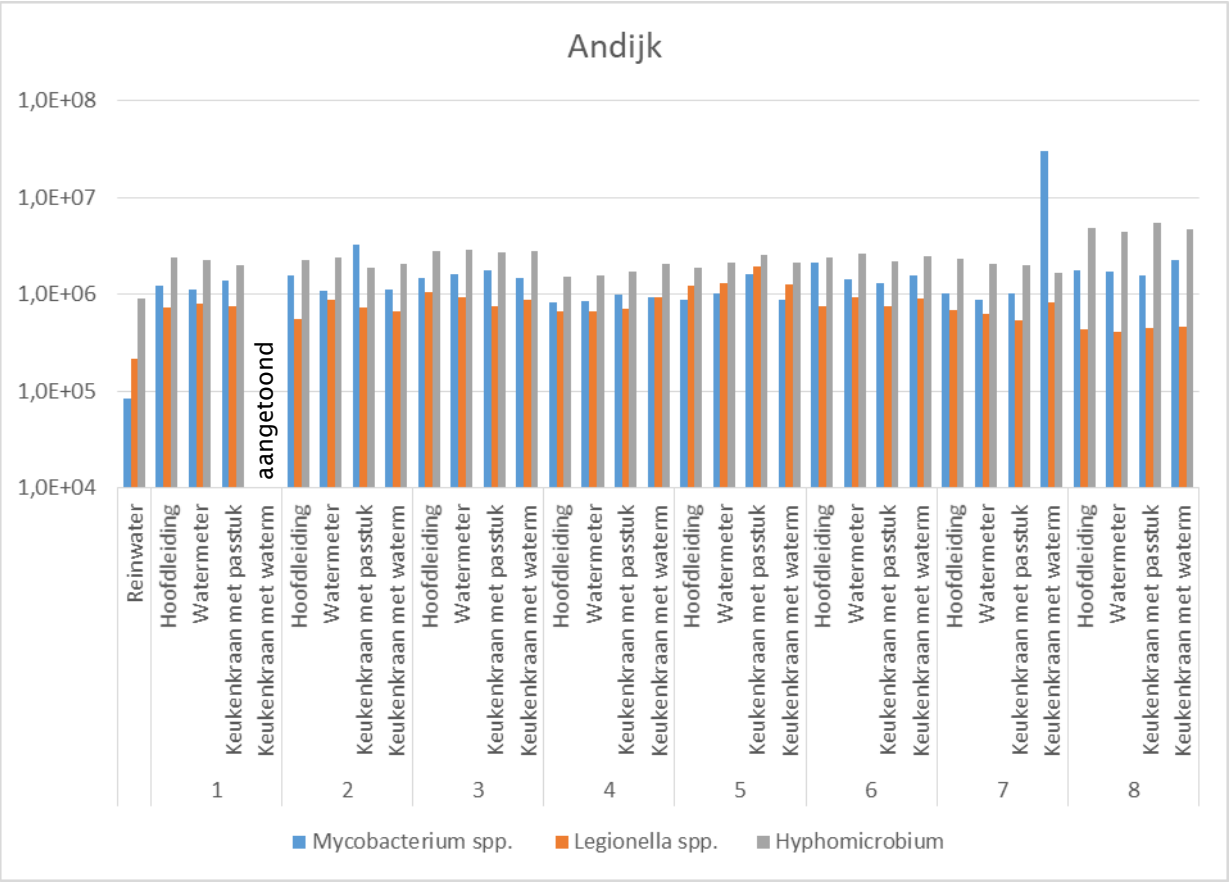
Tabel 6 ATP, *Aeromonas*, KG22 en FCM gemiddelde (*Aeromonas* geomean) resultaten per monstertype van de acht locaties in het distributiesysteem van productielocatie Andijk.

	ATP (ng/l)	<i>Aeromonas</i> (kve/100 ml)	KG22 (kve/ml)	FCM (cellen per ml)		
				levend	dood	totaal
Hoofdleiding	4,8 ± 0,8	139,8×/22,6	46,5 ± 27,5	$4,1 \times 10^4$ ±1,3 × 10 ⁴	$1,3 \times 10^5$ ±3,8 × 10 ⁴	$1,8 \times 10^5$ ±4,2 × 10 ⁴
Watermeter	5,0 ± 1,1	239,6 ×/ 13,8	27,5 ± 13,7	$4,1 \times 10^4$ ±1,4 × 10 ⁴	$1,3 \times 10^5$ ±3,9 × 10 ⁴	$1,7 \times 10^5$ ±4,4 × 10 ⁴
Keukenkraan met passtuk	4,5 ± 2,1	113,5 ×/ 21,8	23,5 ± 13,3	$4,2 \times 10^4$ ±1,2 × 10 ⁴	$1,4 \times 10^5$ ±4,0 × 10 ⁴	$1,8 \times 10^5$ ±4,4 × 10 ⁴
Keukenkraan met watermeter	4,0 ± 0,7	86,9×/22,4	26,9 ± 15,8	$4,2 \times 10^4$ ±1,5 × 10 ⁴	$1,4 \times 10^5$ ±4,2 × 10 ⁴	$1,8 \times 10^5$ ±5,0 × 10 ⁴

In Figuur 6 zijn de resultaten weergegeven van de verschillende qPCR's. *P. aeruginosa*, *A. fumigatus* en *S. maltophilia* zijn met qPCR niet aangetroffen in het voorzieningsgebied van Andijk. *L. pneumophila* werd met qPCR één keer aangetroffen in het reinwater, de concentratie was indicatief 240 genkopieën/l. *Mycobacterium* spp. genkopieën variëren tussen $8,5 \times 10^4$ en $3,0 \times 10^7$ per liter. De aantallen wisselen tussen drinkwatermonsters en locaties, een enkele keer werd er in de kraanwatermonsters meer genkopieën aangetroffen (bij twee van de acht locaties). *Legionella* spp. genkopieën variëren tussen $2,2 \times 10^5$ en $2,0 \times 10^6$ per liter. De aantallen wisselen tussen drinkwatermonsters en locaties. *Hyphomicrobium* spp. genkopieën variëren tussen $9,1 \times 10^5$ en $5,5 \times 10^6$ per liter. De aantallen zijn vergelijkbaar tussen drinkwatermonsters en locaties.



Figuur 5 ATP, KG22 en *Aeromonas* resultaten van productielocatie Andijk.



Figuur 6 Resultaten van *Mycobacterium* spp., *Legionella* spp. en *Hyphomicrobium* qPCR's van productielocatie Andijk.

3.1.4 Productielocatie Baanhoek/Berenplaat

De ATP, KG22 en *Aeromonas* resultaten van productielocaties Baanhoek en Berenplaat zijn weergegeven in Figuur 7 en Tabel 7 (en 0). In het reinwater was de ATP concentratie 3,6 ng/l. De ATP concentratie van de verschillende drinkwatermonsters bij de acht bemonsterde locaties ligt tussen de 1,5 en 15,0 ng/l, op een uitschieter van 77 ng/l na (locatie 4; hoofdleiding). Deze uitschieter werd veroorzaakt doordat dit monster uit de brandkraan is bemonsterd. De aantallen van KG22 variëren tussen de 1 en 380 kve/ml, behalve twee uitschieters van $3,1 \times 10^3$ (locatie 8 watermeter) en $4,2 \times 10^3$ (locatie 4 watermeter). Vaak werden de hoogste aantallen KG22 in de hoofdleiding gevonden (vier van de acht locaties). De *Aeromonas* aantallen variëren tussen de 1 en 9300 kve/100 ml, waarbij de hoogste aantallen het vaakst werden gevonden in de hoofdleiding (zes van de acht locaties).

Het gemiddelde aantal 'totaal cellen' lag tussen de $3,5 \times 10^5$ en $3,7 \times 10^5$ cellen/ml (Tabel 7). Zie Bijlage III voor de FCM resultaten per locatie.

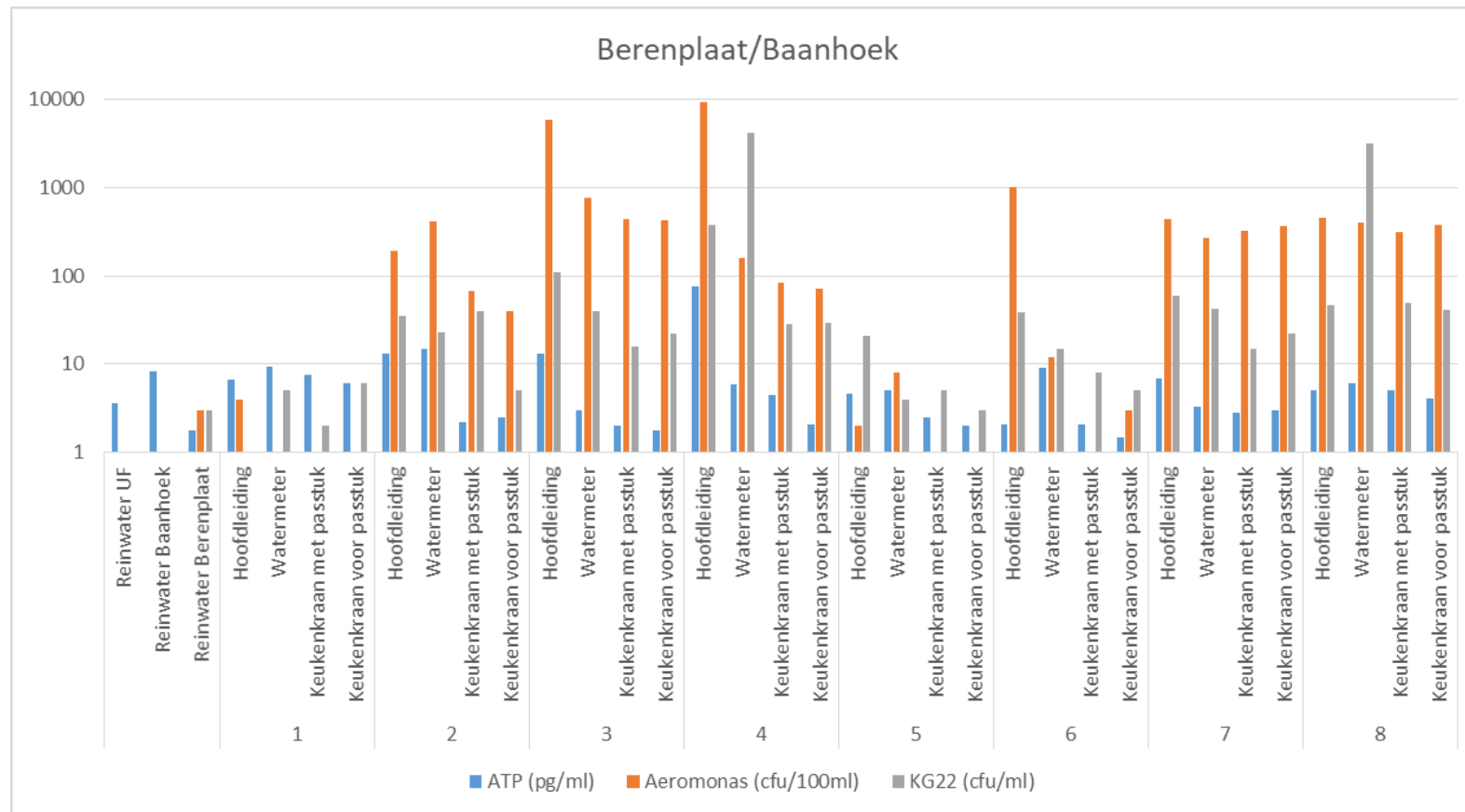
Op geen enkele locatie werd *Legionella* met kweek aangetroffen.

Tabel 7 ATP, *Aeromonas*, KG22 en FCM gemiddelde (*Aeromonas* geomean) resultaten per monstertype van de acht locaties in het distributiesysteem van productielocatie Berenplaat/Baanhoek.

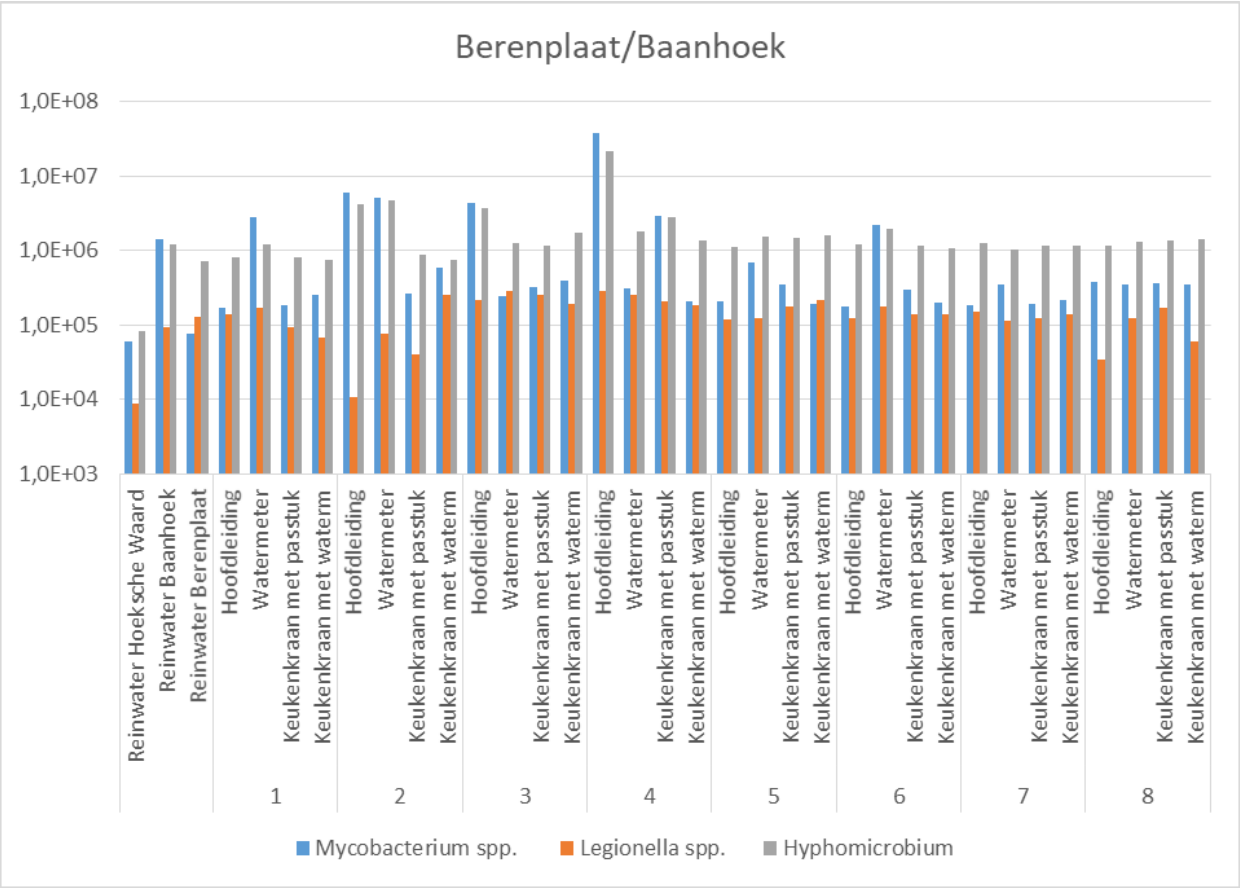
	ATP (ng/l)	<i>Aeromonas</i> (kve/100 ml)	KG22 (kve/ml)	FCM (cellen per ml)		
				levend	dood	totaal
Hoofdleiding ^a	7,3 ± 4,2	15,9 ×/ 18,5	44,4 ± 34,4	$1,3 \times 10^5$ $\pm 6,2 \times 10^4$	$2,3 \times 10^5$ $\pm 2,5 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$ $\pm 3,1 \times 10^5$
Watermeter	7,1 ± 4,0	150,5 ×/ 11,0	928,6 ± 1705,3	$1,4 \times 10^5$ $\pm 5,4 \times 10^4$	$2,3 \times 10^5$ $\pm 2,4 \times 10^5$	$3,7 \times 10^5$ $\pm 2,9 \times 10^5$
Keukenkraan met passtuk	3,6 ± 1,9	69,2 ×/ 16,3	20,5 ± 17,3	$1,3 \times 10^5$ $\pm 5,2 \times 10^4$	$2,4 \times 10^5$ $\pm 2,4 \times 10^5$	$3,7 \times 10^5$ $\pm 2,8 \times 10^5$
Keukenkraan met watermeter	2,9 ± 1,5	26,6 ×/ 14,1	16,6 ± 14,0	$1,3 \times 10^5$ $\pm 6,8 \times 10^4$	$2,3 \times 10^5$ $\pm 2,3 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$ $\pm 2,9 \times 10^5$

^a = locatie 4 is niet meegenomen, want op die locatie is een brandkraan bemonsterd.

In Figuur 8 zijn de resultaten weergegeven van de verschillende qPCR's. *L. pneumophila* en *P. aeruginosa* werden met qPCR niet aangetroffen in het voorzieningsgebied Berenplaat/Baanhoek. *A. fumigatus* werd drie keer aangetroffen met qPCR; locatie 1 keukenkraan met watermeter (400 genkopieën/l), locatie 5 keukenkraan met watermeter ($1,6 \times 10^3$ genkopieën/l) en locatie 6 hoofdleiding (210 genkopieën/l). *S. maltophilia* werd met qPCR vijf keer aangetroffen; locatie 3 hoofdleiding ($1,1 \times 10^3$ genkopieën/l), locatie 4 watermeter en hoofdleiding ($1,2 \times 10^3$ en $3,0 \times 10^3$ genkopieën/l respectievelijk) en locatie 5 keukenkraan met en na watermeter ($9,4 \times 10^2$ en $1,1 \times 10^3$ genkopieën/l respectievelijk). *Mycobacterium* spp. genkopieën variëren tussen $7,5 \times 10^4$ en $3,9 \times 10^7$ per liter. De aantallen wisselen tussen de typen drinkwatermonsters en tussen locaties, zonder een duidelijk consistent patroon. Een enkele keer werd in de drinkwatermonsters van de hoofdleiding meer genkopieën aangetroffen. *Legionella* spp. genkopieën variëren tussen $1,1 \times 10^4$ en $2,9 \times 10^5$ per liter. De aantallen wisselen tussen de drinkwatermonsters en locaties zonder een consistent patroon. *Hyphomicrobium* spp. genkopieën variëren tussen $7,3 \times 10^5$ en $2,2 \times 10^7$ per liter. De aantallen zijn vergelijkbaar tussen drinkwatermonsters en locaties zonder een consistent patroon. Een enkele keer zijn de aantallen hoger in het drinkwatermonster van de hoofdleiding.



Figuur 7 ATP, KG22 en *Aeromonas* resultaten van productielocatie Berenplaat/Baanhoek.



Figuur 8 Resultaten van *Mycobacterium* spp., *Legionella* spp. en *Hyphomicrobium* qPCR's van productielocatie Berenplaat/Baanhoek.

3.2 Verschillen tussen monstertype

De resultaten van de verschillende parameters, gemeten in het drinkwater dat werd bemonsterd binnen een productielocatie, werden statistisch getoetst op verschillen tussen monstertype. Daarbij zijn de gemiddelde waarden van de acht bemonsterde locaties binnen het voorzieningsgebied van een productielocatie gebruikt. Deze statistische analyse liet zien dat de parameter KG22 bij productielocaties Veghel, Rodenhuis en Berenplaat/Baanhoek en *Aeromonas* bij productielocaties Rodenhuis en Berenplaat/Baanhoek significant ($p < 0,05$) verschillend zijn tussen de monstertypes (Tabel 8). Bij productielocatie Andijk daarentegen zijn geen statistische verschillen ($p > 0,05$) tussen de monstertypen waargenomen.

Bij productielocatie Veghel zijn de KG22-aantallen in het drinkwatermonster van de hoofdleiding significant hoger dan het drinkwatermonster bij de watermeter (Tabel 4 & Tabel 8). De KG22-aantallen tussen watermeter en keukenkraan zijn niet significant verschillend. Dit betekent dat (i) tijdens transport van het drinkwater in de aansluitleiding de KG22 aantallen significant afnemen en (ii) tijdens transport van het drinkwater in de drinkwaterinstallatie de aantallen niet significant veranderen.

Bij productielocatie Rodenhuis zijn de KG22-aantallen in het drinkwatermonster van de hoofdleiding ook significant hoger dan bij de watermeter (of keukenkraan) (Tabel 5 & Tabel 8). Wederom zijn de KG22-aantallen tussen watermeter en keukenkraan niet significant verschillend. Dus ook op deze locatie nemen de KG22 aantallen tijdens transport van het drinkwater in de aansluitleiding significant af, maar veranderen ze niet significant tijdens transport van het drinkwater in de drinkwaterinstallatie. De *Aeromonas* aantallen zijn significant lager in het drinkwatermonster uit de kraan dan het drinkwatermonster uit de hoofdleiding bij deze productielocatie (Tabel 5 & Tabel 8). De aantallen van *Aeromonas* in het drinkwater tussen hoofdleiding versus watermeter en in het drinkwater bemonsterd bij de watermeter versus keukenkraan zijn daarentegen niet significant verschillend. Dit betekent dat een geleidelijke significante afname van de aantallen *Aeromonas* plaatsvindt tijdens het drinkwatertransport van de hoofdleiding naar de keukenkraan.

Bij productielocatie Berenplaat/Baanhoek is de ATP concentratie significant lager in het drinkwatermonster uit de keukenkraan dan in de drinkwatermonster bij de watermeter (of de hoofdleiding) (Tabel 6 & Tabel 8). De ATP concentraties in de drinkwatermonsters genomen aan de hoofdleiding en watermeter zijn niet significant verschillend. De ATP-concentratie neemt dus significant af gedurende het transport in de drinkwaterinstallatie van het gebouw. Daarnaast zijn de monsters keukenkraan – hoofdleiding significant verschillend voor parameters KG22 en *Aeromonas*. KG22 aantallen zijn significant hoger bij de hoofdleiding dan bij de keukenkraan en *Aeromonas* aantallen zijn significant hoger bij de hoofdleiding dan bij de keukenkraan. Dit betekent dat een geleidelijke significante toename van de aantallen KG22 plaatsvindt tijdens het drinkwatertransport van de hoofdleiding naar de keukenkraan. Voor de aantallen *Aeromonas* betekent dit een geleidelijke significante afname tijdens het drinkwatertransport van de hoofdleiding naar de keukenkraan.

Tabel 8 Overzicht van statistische analyse per productielocatie en parameter.

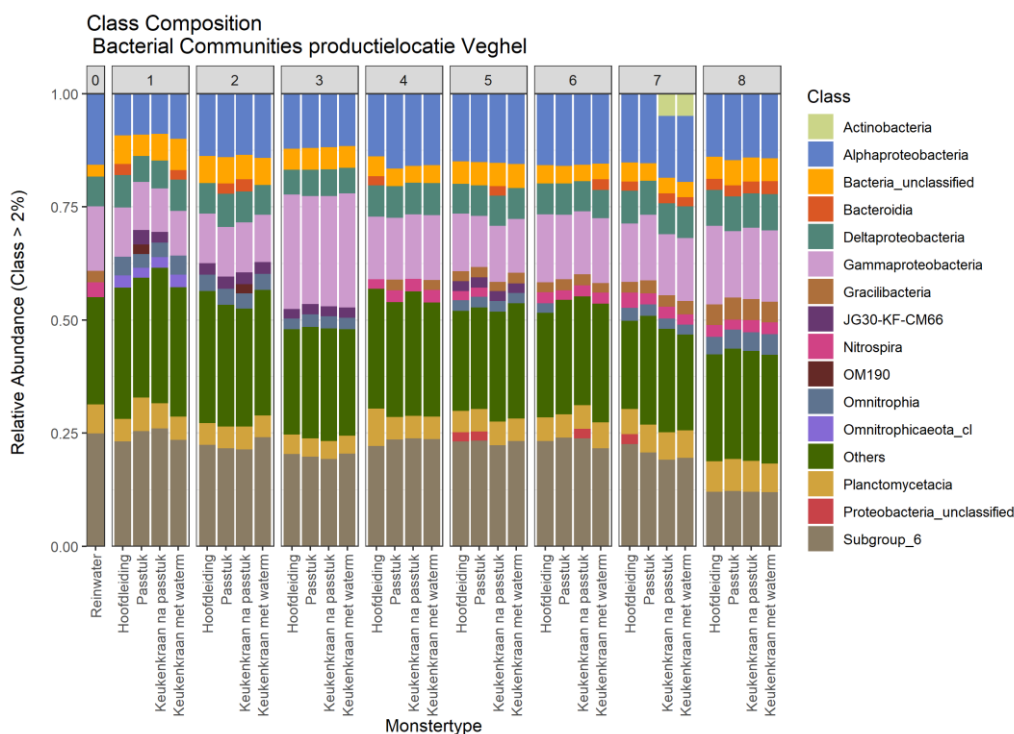
	p	hoofdleiding - watermeter	watermeter - keukenkraan	keukenkraan - hoofdleiding
Veghel				
ATP	>0,05	0,026		
KG22	<0,05			
<i>Aeromonas</i>	>0,05			
Totaal cellen	>0,05			
Levende cellen	>0,05			
Rodenhuis				
ATP	>0,05	0,023		0,01
KG22	<0,05			
<i>Aeromonas</i>	<0,05			
Totaal cellen	>0,05			
levende cellen	>0,05			
Andijk				
ATP	>0,05			
KG22	>0,05			
<i>Aeromonas</i>	>0,05			
Totaal cellen	>0,05			
levende cellen	>0,05			
Berenplaat/Baanhoek*				
ATP	<0,05		0,004	0,048
KG22	<0,05			0,048
<i>Aeromonas</i>	<0,05			0,01
Totaal cellen	>0,05			
Levende cellen	>0,05			

*=locatie 4 is niet meegenomen in de statistische analyse

3.3 Microbial profiling

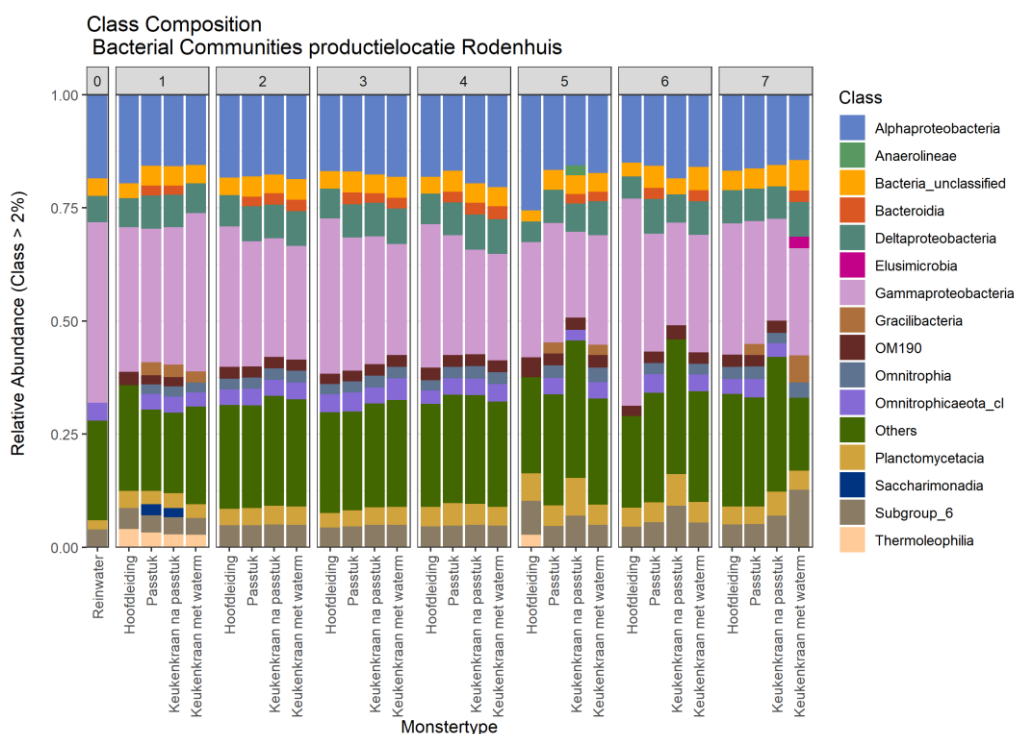
Naast bovenstaande parameters werd ook de samenstelling van de microbiële gemeenschap vergeleken met behulp van microbial profiling. Uit deze analyse bleek dat in totaal 65.082 unieke OTU's in de monsters aanwezig zijn.

Figuur 9 laat de sequentieverdeling over de taxonomische Klassen zien, waarbij alleen de Klassen zijn weergegeven waarbij de sequenties die meer dan 2% bijdragen aan de relatieve abundantie van de bacteriële gemeenschap in elk monster van productielocatie Veghel. Te zien is dat de samenstelling van de bacteriegemeenschap op het niveau van Klassen van de verschillende monsters erg op elkaar lijken, dit geldt voor zowel de verschillende drinkwatertypen binnen een locatie in het voorzieningsgebied als tussen de locaties binnen het voorzieningsgebied van Veghel. Alle Klassen die in het reinwater zijn aangetroffen, worden ook waargenomen in het drinkwater. Alphaproteobacteria, Bacteria_unclassified, Deltaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Planctomycetacia en Subgroup_6 komen in ieder monster voor. Het transport van het drinkwater van de hoofdleiding tot aan de keukenkraan lijkt dus weinig invloed te hebben op de samenstelling van de bacteriegemeenschap op Klassenniveau.



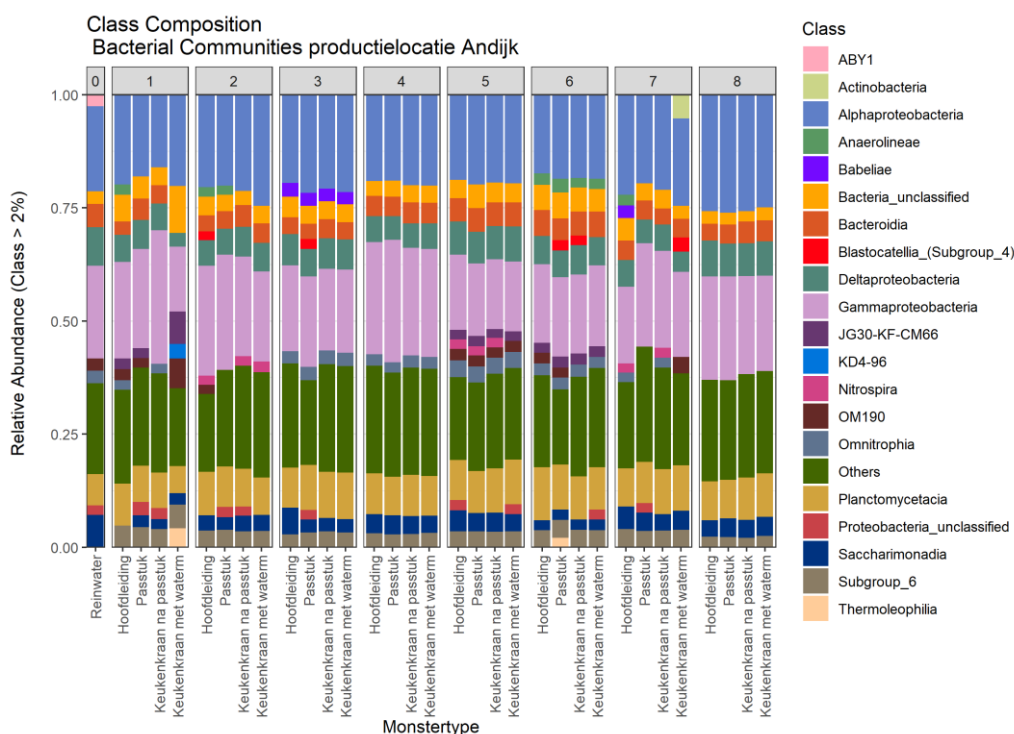
Figuur 9 Klassen die meer dan 2% bijdragen aan de relatieve abundantie in water monsters van productielocatie Veghel van Brabant Water. Passtuk is watermeter.

De samenstelling van de bacteriegemeenschap op het niveau van Klassen van de verschillende monsters genomen in het voorzieningsgebied van Rodenhuis en het reinwater lijken ook erg op elkaar, dit geldt voor zowel de drinkwatermonsters genomen binnen een locatie als tussen de locaties binnen het voorzieningsgebied van Rodenhuis (Figuur 10). Alle Klassen die in het reinwater zijn aangetroffen, werden ook waargenomen in het drinkwater. Alphaproteobacteria, Bacteria_unclassified, Deltaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Planctomycetacia en Subgroup_6 komen in ieder monster voor. Het transport van het drinkwater van de hoofdleiding tot aan de keukenkraan lijkt dus wederom weinig invloed te hebben op de samenstelling van de bacteriegemeenschap op Klassenniveau.



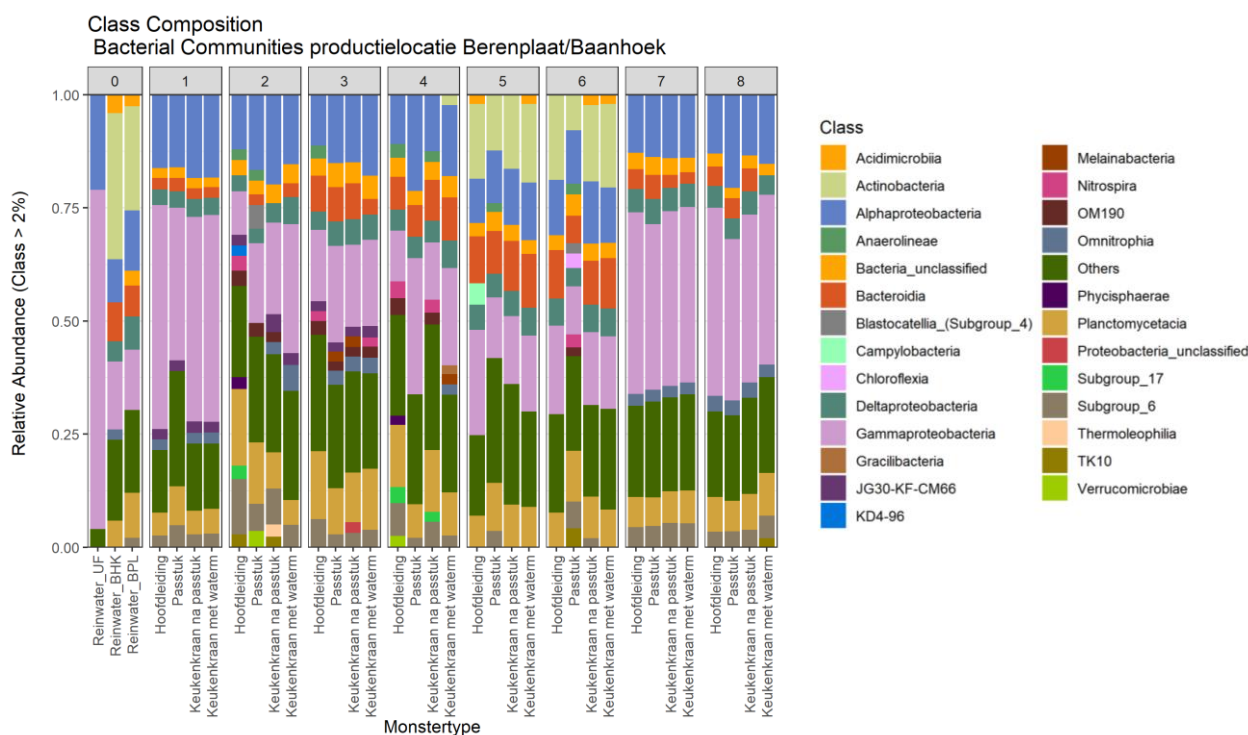
Figuur 10 Klassen die meer dan 2% bijdragen aan de relatieve abundantie in water monsters van productielocatie Rodenhuis van Oasen. Passtuk is watermeter.

De samenstelling van de bacteriegemeenschap op het niveau van Klassen van de verschillende monsters lijken ook erg op elkaar voor de drinkwatermonsters genomen bij Andijk (met uitzondering van locatie 1, waar de samenstelling van het drinkwatermonster genomen aan de keukenkraan met watermeter afwijkt van de andere drie drinkwatermonsters), dit geldt voor zowel de drinkwatertypen binnen een locatie als tussen de locaties binnen het voorzieningsgebied van Andijk (Figuur 11). Bijna alle Klassen die in het reinwater zijn aangetroffen, werden ook waargenomen in het drinkwater. Alphaproteobacteria, Bacteria_unclassified, Deltaproteobacteria, Gammaproteobacteria en Planctomycetacia komen in ieder monster voor. Het transport van het drinkwater van de hoofdleiding tot aan de keukenkraan lijkt dus ook hier weinig invloed te hebben op de samenstelling van de bacteriegemeenschap op Klassenniveau.



Figuur 11 Klassen die meer dan 2% bijdragen aan de relatieve abundantie in water monsters van productielocatie Andijk van PWN. Passtuk is watermeter.

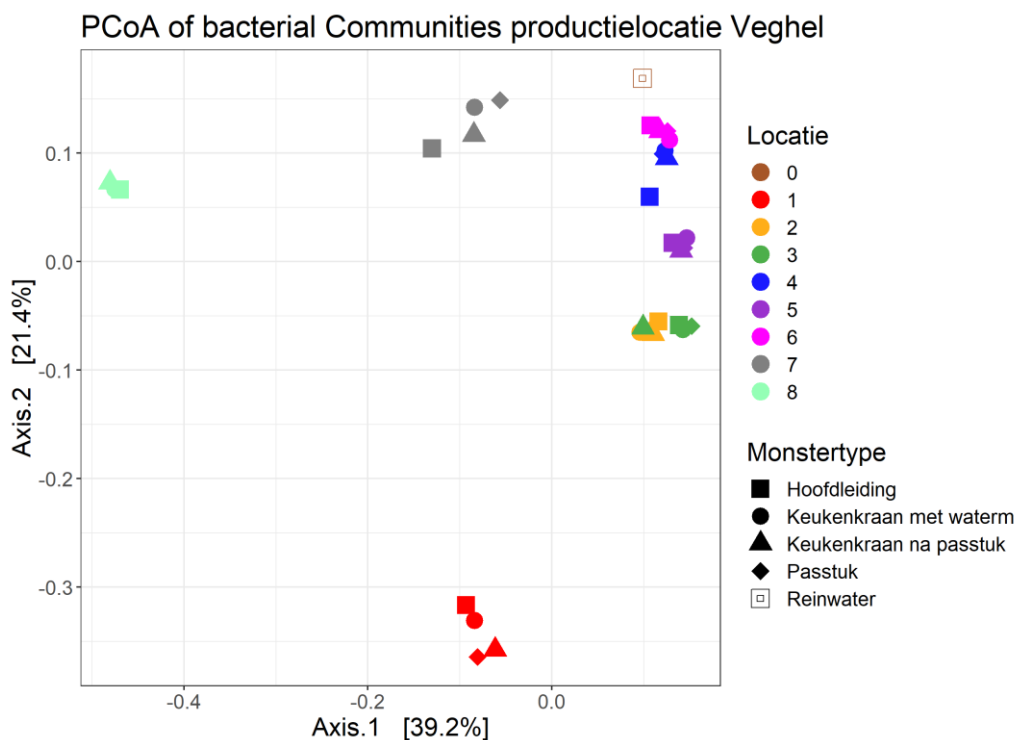
De samenstelling van bacteriegemeenschap op Klassenniveau van de verschillende drinkwatertypen op vijf van de acht locaties uit het voorzieningsgebied van Berenplaat/Baanhoek (menggebied) lijken ook erg op elkaar (locaties 1, 3, 5, 7 en 8), maar in tegenstelling tot de andere voorzieningsgebieden geldt het hier voornamelijk voor het drinkwater bemonsterd binnen een locatie en minder voor drinkwatermonsters tussen locaties (Figuur 12). Daarnaast verschilt bij drie locaties de Klassensamenstelling binnen een locatie, waarbij meestal één van de drinkwatermonsters afwijkt van de rest. Het type drinkwatermonster dat afwijkt, verschilt echter per locatie. Bij locatie 2 wijkt de Klassensamenstelling van de hoofdleiding af van de rest, bij locatie 4 zijn dat de monsters genomen uit de hoofdleiding en keukenkraan na passtuk en bij locatie 6 wijkt het monsters genomen aan de watermeter af. Bijna alle Klassen die in het reinwater zijn aangetroffen, werden ook waargenomen in het drinkwater. Alphaproteobacteria, Bacteria_unclassified, Deltaproteobacteria, Gammaproteobacteria en Planctomycetacia komen in ieder monster voor. Het transport van het drinkwater van de hoofdleiding tot aan de keukenkraan lijkt op vijf van de acht locaties dus weinig invloed te hebben op de samenstelling van de bacteriegemeenschap op Klassenniveau. Bij de andere drie locaties heeft drinkwatertransport van hoofdleiding tot keukenkraan mogelijk wel een effect, maar is dit effect niet consistent hetzelfde bij deze drie locaties.



Figuur 12 Klassen die meer dan 2% bijdragen aan de relatieve abundantie in water monsters van productielocaties Berenplaat en Baanhoek van Evides. Passtuk is watermeter.

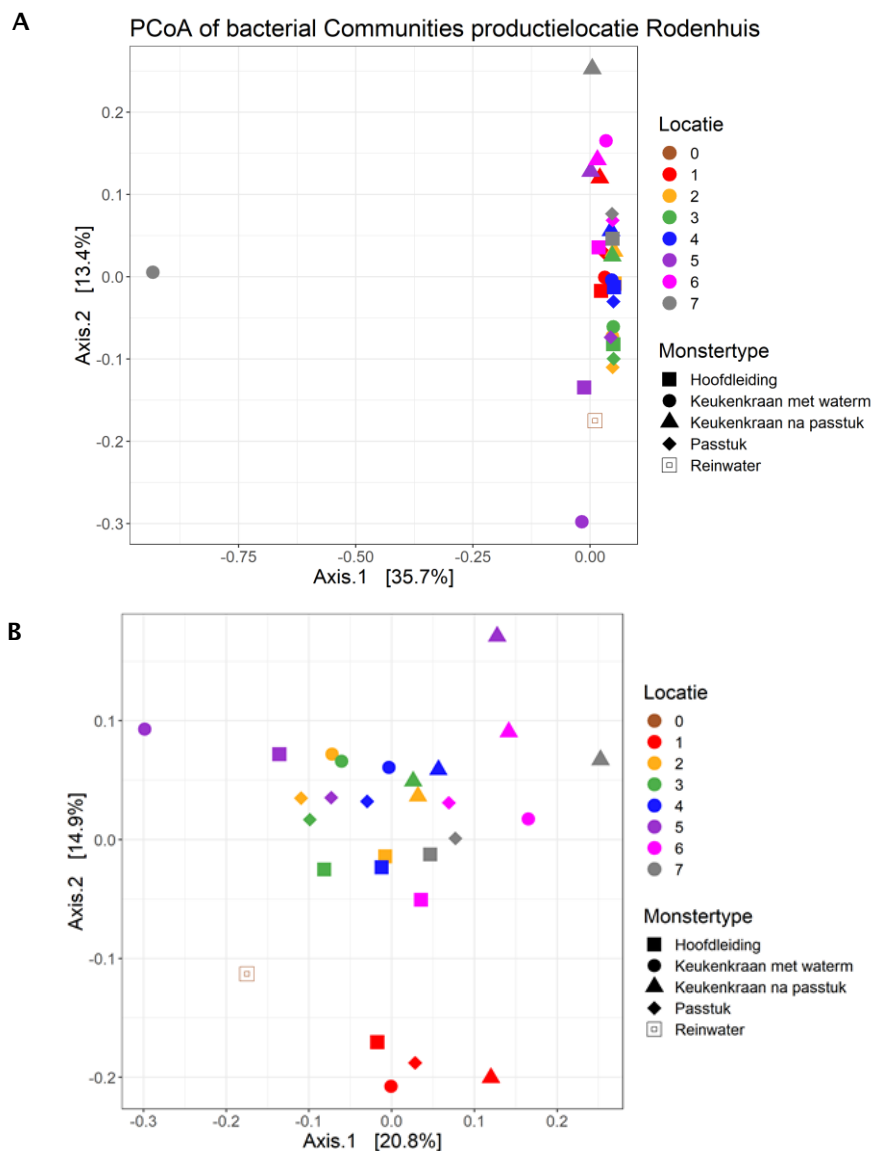
De sequentieverdeling over de taxonomische Klassen, waarbij alleen de Klassen zijn weergegeven waarbij de sequenties die meer dan 2% bijdragen aan de relatieve abundantie van de verschillende productielocaties per monstertype zijn te vinden in Bijlage IV.

De bacteriesamenstelling van ieder monster is op OTU niveau bepaald en de verschillen in bacteriesamenstelling op OTU niveau tussen de verschillende monsters is weergegeven met behulp van een Principle Coordinate analysis (PCoA) plot. Deze PCoA is een manier om de verschillen in soortensamenstelling van de bacteriegemeenschap van de individuele monsters te visualiseren uit een dataset (in dit geval des te dichter monsters bij elkaar liggen, des te minder de bacteriesamenstelling verschillen). De PCoA plots voor de verschillende productielocaties zijn weergegeven in Figuur 13 t/m 16, waarbij de verschillende monstertypes worden weergegeven door verschillende symbolen en de verschillende locaties door verschillende kleuren. De PCoA plots hebben twee assen die gebaseerd zijn op factoren die de variantie uitleggen. Dus bij productielocatie Veghel bijvoorbeeld, wordt 60,6% (39,2+21,4%) van de variantie verklaard met deze twee assen (Figuur 13). Te zien is dat bij productielocatie Veghel de OTU samenstelling van de bacteriepopulaties in de drinkwatermonsters van de locaties 1 en 8 apart clusteren van de andere zes locaties en het reinwater. Op deze twee locaties in het voorzieningsgebied is de OTU samenstelling van de bacteriepopulatie dus duidelijk anders ontwikkeld dan bij de andere zes locaties. Daarnaast is de afstand tussen de verschillende monstertypes binnen een locatie zeer klein op vijf van de acht locaties (2, 3, 5, 6 en 8). Dit betekent dat de OTU samenstelling van de bacteriepopulaties in de verschillende monsters binnen deze locatie vergelijkbaar zijn en dat er dus weinig veranderingen in de bacteriesoortensamenstelling optreden door distributie van hoofdleiding naar de keukenkraan. Op locatie 1 wijkt het drinkwater uit hoofdleiding en keukenkraan af van de overige twee drinkwatermonsters. Op locatie 4 wijkt de bacteriesamenstelling van het drinkwater uit de hoofdleiding licht af van de bacteriesamenstelling van de andere drinkwatermonsters op deze locatie, maar de verschillen blijven klein. Dat betekent dat tijdens het transport door de aansluitleiding kleine veranderingen optreden in de bacteriesoortensamenstelling. Hetzelfde is ook voor locatie 7 waargenomen, hoewel daar ook minieme verschillen zijn tussen de andere monstertypen.



Figuur 13 PCoA van de bacteriesamenstelling op OTU niveau van alle watermonsters (verschillende symbolen) en van de verschillende locaties (verschillende kleuren) van productielocatie Veghel. Passtuk is watermeter.

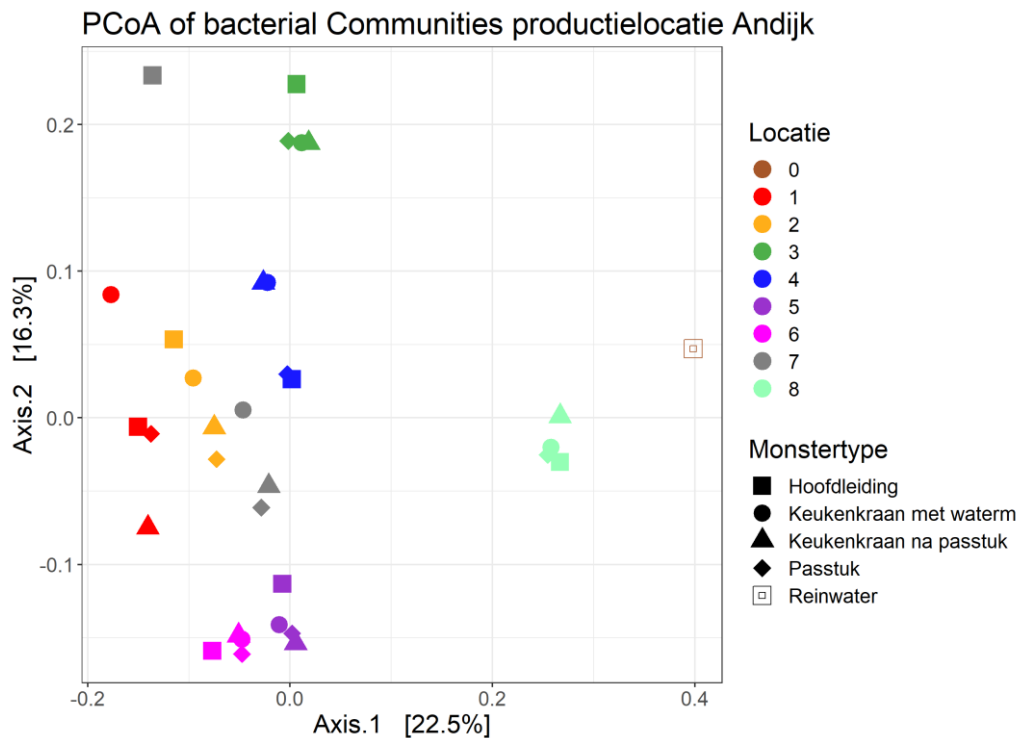
In Figuur 14A is de PCoA plot van de OTU samenstellingen van de bacteriepopulaties van de verschillende drinkwatermonster uit het voorzieningsgebied van productielocatie Rodenhuis te zien. Hier wijkt de bacteriegemeenschap van het drinkwatermonster uit de keukenkraan van locatie 7 duidelijk af van de rest. Dit lijkt een uitschieter te zijn, waardoor verschillen tussen de andere monsters moeilijk zijn te identificeren en daarom is in Figuur 14B de PCoA plot zonder dit monster weergegeven, zodat duidelijker waarneembaar is hoe de overige monsters en locaties ten opzichte van elkaar verschillen. De OTU samenstelling van de drinkwatermonsters genomen bij locatie 1 clusteren apart van de overige monsters en op deze locatie is de samenstelling van de bacteriepopulatie dus anders verlopen dan bij de andere locaties. Het reinwater clustert apart van alle locaties in het voorzieningsgebied. In vergelijking met productielocatie Veghel, liggen de drinkwatermonsters van één locatie verder uit elkaar. Zo ligt bij locatie 1 het monster van de keukenkraan na passtuk verder af van de overige monsters. Bij locaties 2, 3, 6 liggen alle monsters uit elkaar. Bij locatie 4 ligt het monster genomen uit de hoofdleiding verder weg van de andere monsters. Bij locaties 5 en 7 liggen de monsters van de hoofdleiding en watermeter relatief dicht bij elkaar en liggen de keukenkraanmonsters verder weg. Deze resultaten laten zien dat de compositie van de bacteriesoortengemeenschap verandert tijdens transport van hoofdleiding naar keukenkraan op deze locaties binnen het voorzieningsgebied van Rodenhuis.



Figuur 14 A) PCoA van de bacteriesamenstelling op OTU niveau van alle watermonsters (verschillende symbolen) en van de verschillende locaties (verschillende kleuren) van productielocatie Rodenhuis. Passtuk is watermeter. B) PCoA plot zonder monster keukenkraan met watermeter van locatie 7.

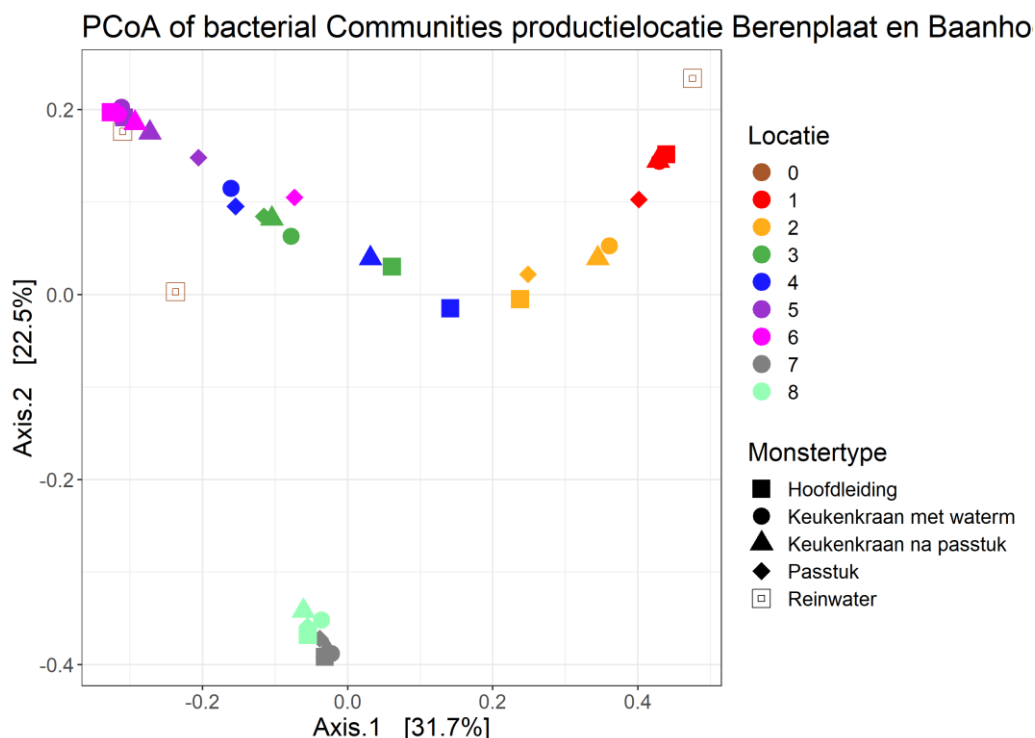
In Figuur 15 zijn de PCoA plot van de bacteriegemeenschappen van de monsters uit het voorzieningsgebied van productielocatie Andijk weergegeven. Te zien is dat iedere locatie apart clustert en dat ook het reinwater afwijkt van de overige monsters. Dit betekent dat de soortensamenstelling dusdanig verandert tijdens transport in het distributiesysteem dat iedere locatie een specifiek bacteriesoortensamenstelling ontwikkelt. Daarnaast laat de figuur zien dat op locatie 6 en 8 alle monstertypen zeer dicht bij elkaar clusteren, op locatie 3, 5 en 7 de hoofdleiding apart ligt van de andere monstertypen, op locatie 1 en 4 de keukenkraanmonsters apart liggen van de hoofdleiding en watermeter en op locatie 2 de hoofdleiding en keukenkraan met watermeter bij elkaar clusteren, maar apart van de watermeter en keukenkraan na passtuk. Dit betekent dat op enkele locaties binnen het voorzieningsgebied van Andijk geen veranderingen optreden tijdens distributie van hoofdleiding naar keukenkraan

(locaties 6 en 8), terwijl bij andere locaties veranderingen plaatsvinden tijdens transport in de aansluitleiding (locaties 3, 5 en 7) of tijdens transport in de drinkwaterinstallatie (locaties 1 en 4). Bij locatie 1 lijkt het vervangen van de watermeter voor een passtuk tot veranderingen te hebben geleid.



Figuur 15 PCoA van alle OTU's van alle watermonsters (verschillende symbolen) van de verschillende locaties (verschillende kleuren) van productielocatie Andijk van PWN. Passtuk is watermeter.

In Figuur 16 is de PCoA plot van de OTU samenstelling van de bacteriegemeenschappen in het gebied van productielocaties Baanhoek en Berenplaat weergegeven. Te zien is dat met name locaties 7 en 8 apart clusteren van de overige locaties en dat de reinwatermonsters van elkaar clusteren. Dat laatste komt omdat reinwatermonsters van Baanhoek en Berenplaat zijn geanalyseerd en deze duidelijk van elkaar verschillen. De verschillende monstertypen van locaties 7 en 8 clusteren zeer dicht samen, dus bij die locaties treden weinig veranderingen op tijdens het transport van hoofdleiding naar keukenkraan. Bij locaties 1, 5 en 6 wijkt de bacteriesamenstelling van het drinkwatermonster genomen bij watermeter af van de rest, dus daar lijkt de vervanging van de watermeter door het passtuk de bacteriesoortensamenstelling te hebben beïnvloed. Bij locatie 2 clusteren de monsters van de hoofdleiding en watermeter apart van de keukenkranen, dus hier treden veranderingen in de bacteriesoortensamenstelling op tijdens transport van het drinkwater door de binneninstallatie. Bij locaties 3 en 4 clustert de hoofdleiding apart van de andere monsters, dus daar treden veranderingen in de bacteriesoortengemeenschap op tijdens transport door de aansluitleiding.



Figuur 16 PCoA van alle OTU's van alle watermonsters (verschillende symbolen) van de verschillende locaties (verschillende kleuren) van productielocatie Berenplaat/Baanhoek van Evides. Passtuk is watermeter.

Naast de hierboven getoonde PCoA plots, zijn er ook PCoA plots van de verschillende productielocaties per monstertype gemaakt en die zijn te vinden in Bijlage IV. Deze PCoA plots laten zien dat iedere productielocatie/voorzieningsgebied een eigen specifieke bacteriegemeenschap heeft.

3.4 Relatie tussen de microbiologie en eigenschappen van de monsterlocatie

Van iedere locatie is de metadata genoteerd, zie Bijlage I, zodat de relatie tussen de microbiologie en eigenschappen van de monsterlocatie kan worden onderzocht.

3.4.1 Meervoudige regressieanalyse

Op de ATP data en de loggetransformeerde KG22, *Aeromonas* en FCM data van Veghel, Rodenhuis en Andijk is een meervoudige regressieanalyse uitgevoerd waarvan de resultaten staan weergegeven in Tabel 9.

Uit de meervoudige regressieanalyse volgt dat ATP een relatie heeft met het materiaaltype van de aansluitleiding, de loggetransformeerde KG22 data met voorzieningsgebied, woningtype (vrijstaand, rijtjeshuis of 2-onder-1 kap) en grondbedekking (tegels, klinkers, beplanting, zand). Voor de loggetransformeerde data van *Aeromonas* werd met de meervoudige regressieanalyse geen relatie gevonden met de geteste niet-biologische parameters. Daarnaast liet de regressieanalyse zien dat de loggetransformeerde aantallen membraanintacte (MI) cellen een relatie hadden met de oppervlakte-volumeratio van de aansluitleiding, materiaaltype van de aansluitleiding en

de geschatte lengte van de drinkwaterinstallatie, terwijl de loggetransformeerde totaal aantal cellen een relatie lieten zien met voorzieningsgebied en temperatuur. Tevens is de sterkte van het verband (R^2) tussen de voorspellende parameters en de afhankelijke parameter weergegeven. Bij drie van de vier regressiemodellen (ATP, log KG22 en log totaal cellen) ligt deze R^2 boven de 0,5 en in die gevallen wordt meer dan 50% van de variatie in de microbiologische parameter verklaart met de gevonden voorspellende parameters. Bij de loggetransformeerde aantallen MI cellen ligt de R^2 van het model onder de 0,5 en deze relatie is dus wat minder sterk.

Tabel 9 De resultaten van de meervoudige regressieanalyse tussen de afhankelijke variabele ATP, log KG22, log *Aeromonas*, log membraanintacte (MI) cellen of log totaal (Tot) aantal cellen en de voorspellende variabelen voorzieningsgebied, woningtype, grondbedekking, watertemperatuur, bouwjaar woning, materiaaltipe aansluitleiding, ligging aansluitleiding, geschatte lengte drinkwaterinstallatie, oppervlakte aansluitleiding, inhoud aansluitleiding en oppervlakte/volume ratio aansluitleiding bepaald in het voorzieningsgebied van Veghel, Rodenhuis en Andijk.

Afhankelijke variabele	Voorspellende variabele (n) model	p-waarde	R2
ATP	Materiaaltipe aansluitleiding	< 0,05	0,59
Log KG22	Voorzieningsgebied	< 0,05	0,66
	Woningtype	< 0,05	
	Grondbedekking	< 0,05	
Log <i>Aeromonas</i>	Geen	> 0,05	-
Log MI cellen ^a	Oppervlakte/volume ratio aansluitleiding	< 0,05	0,49
	Materiaaltipe aansluitleiding	< 0,05	
	Geschatte lengte drinkwaterinstallatie gebouw	< 0,05	
Log Tot cellen ^b	Voorzieningsgebied	< 0,05	0,71
	Watertemperatuur	< 0,05	

^a MI cellen = membraanintacte cellen

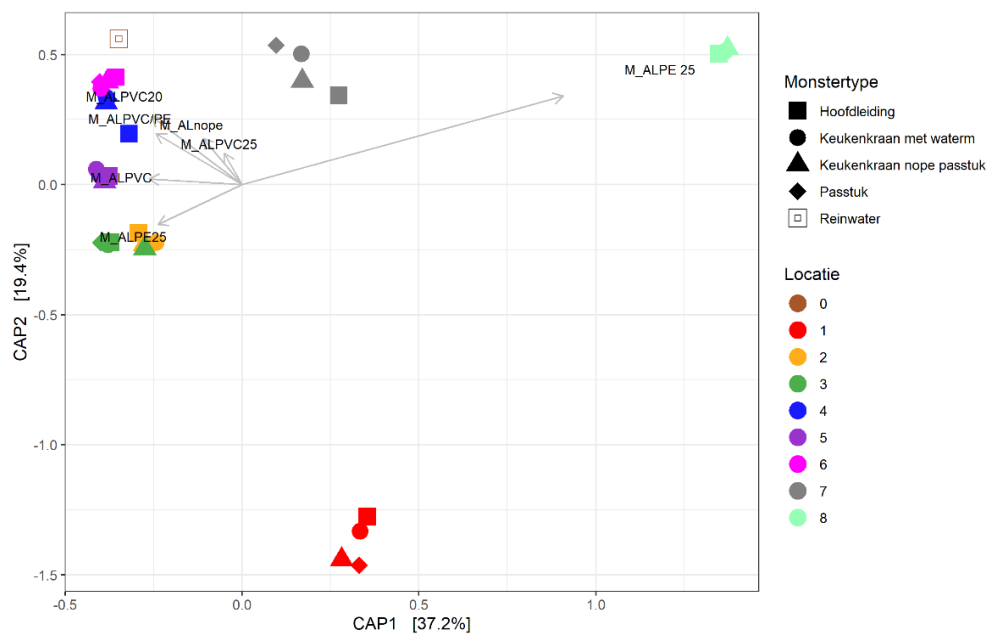
^b Tot cellen = totaal aantal cellen

3.4.2 Canonical Analysis of Principal coordinates (CAP) analyse

Er is een Canonical Analysis of Principal coordinates (CAP) analyse uitgevoerd met aansluitend een permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) [Omstelbare multivariate variantieanalyse] om na te gaan welke variabele de verschillen in microbiele populatie verklaart. De volgende variabelen zijn getoetst: leeftijd van de woning, lengte aansluitleiding, materiaal aansluitleiding, ligging aansluitleiding, grondbedekking boven aansluitleiding en materiaal binnenleiding. Alleen de variabele materiaal aansluitleiding (M_AL) werd als verklarende factor gegeven voor verschillen tussen de microbiele samenstelling in de CAP analyse, zie Figuren 17-20.

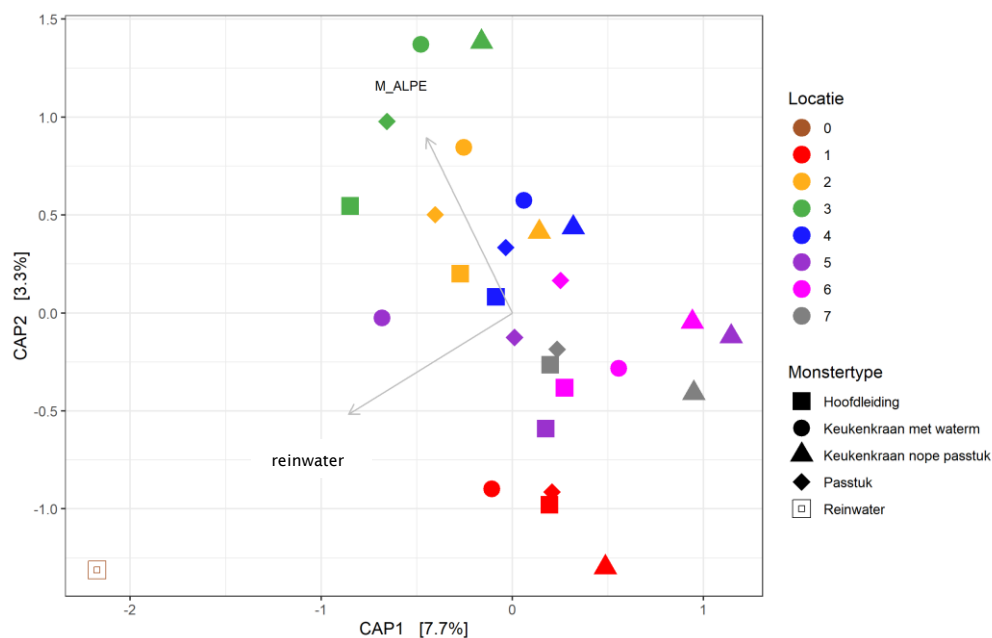
De PERMANOVA geeft aan dat voor voorzieningsgebieden Veghel, Andijk en Berenplaat/Baanhoek deze verschillen significant zijn ($p < 0,001$), voor voorzieningsgebied Rodenhuis zijn deze verschillen niet significant verschillend.

In voorzieningsgebied Veghel zijn de volgende materialen uitgenomen: CU15 (locatie 1), PVC25 (locatie 2, 7), PE25 (locatie 3, 8), PVC/PE (locatie 4), PVC (locatie 5), PVC20 (locatie 5) (Figuur 17). Te zien is dat de materialen PE-25, PVC-25, PVC20, PVC/PE, PVC een verklarende factor voor de verschillende microbiele populaties van de verschillende locaties. Locatie 1 clustert duidelijk apart van de rest, maar er is geen factor gevonden die deze aparte clustering verklaart. Dit betekent dat een andere onbekende variabele hiervoor verantwoordelijk is.



Figuur 17 CAP van alle OTU's van alle watermonsters (verschillende symbolen) van de verschillende locaties (verschillende kleuren) van productielocatie Veghel. Passtuk is watermeter

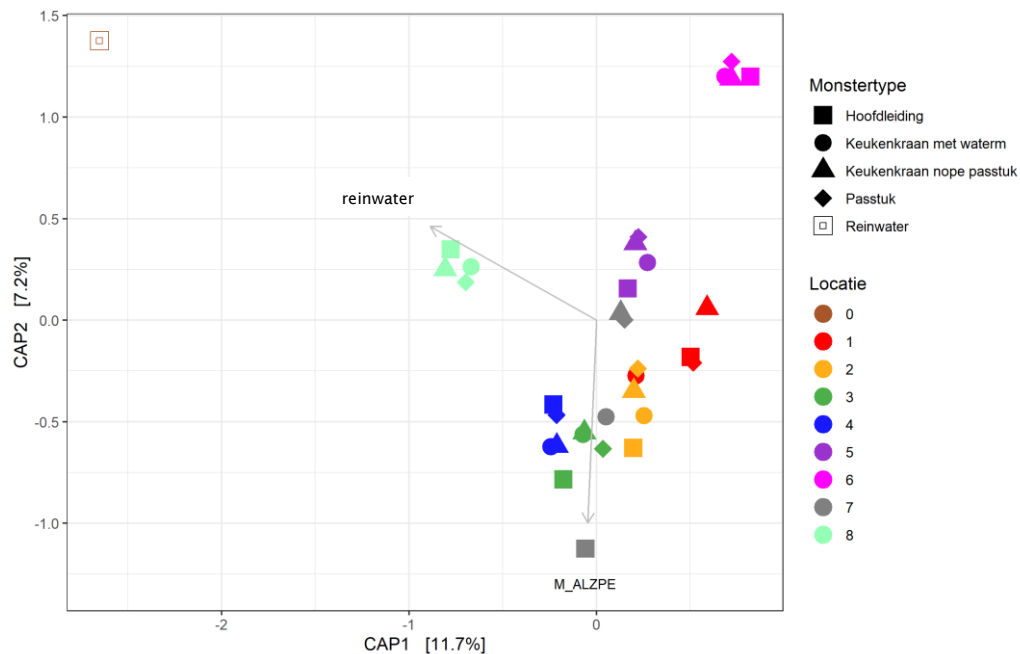
In voorzieningsgebied Rodenhuis zijn de volgende materialen uitgenomen: PE (locatie 3) en HPE (overige locaties) (Figuur 18). Te zien is dat het materiaal PE en het reinwater een verklarende factor zijn voor de verschillende microbiele populaties.



Figuur 18 CAP van alle OTU's van alle watermonsters (verschillende symbolen) van de verschillende locaties (verschillende kleuren) van productielocatie Rodenhuis. Passtuk is watermeter.

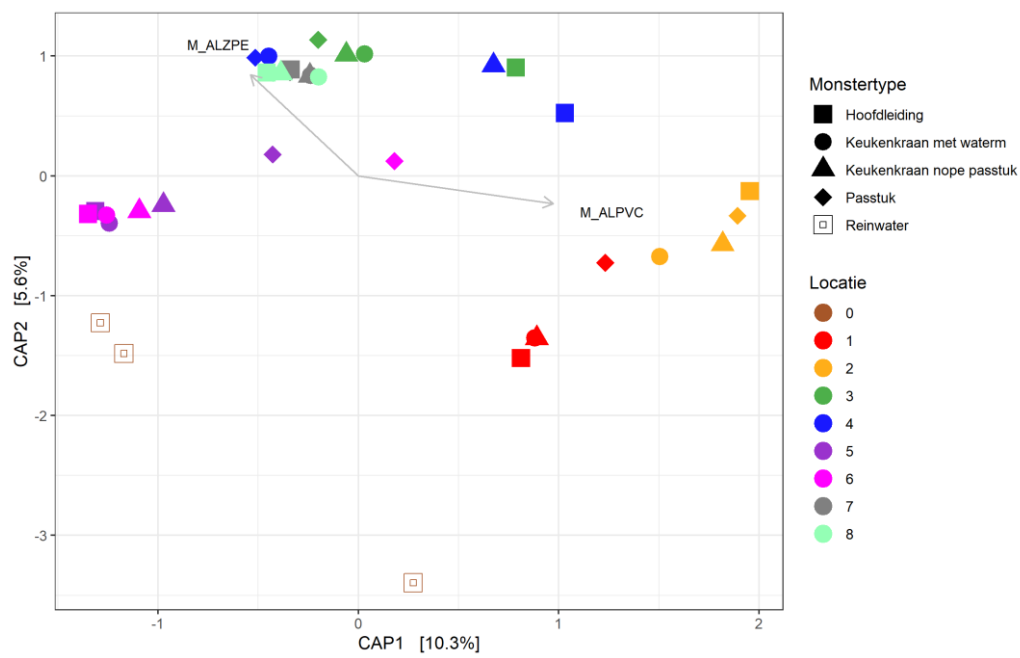
In voorzieningsgebied Andijk zijn de volgende materialen uitgenomen: HPE (locatie 6) en ZPE (overige locaties) (Figuur 19). Te zien is dat het materiaal ZPE en het reinwater

een verklarende factor zijn voor de verschillende microbiële populaties. Locatie 6 clustert duidelijk apart van de rest, maar er is geen factor gevonden die deze aparte clustering verklaart. Dit betekent dat een andere onbekende variabele hiervoor verantwoordelijk is.



Figuur 19 CAP van alle OTU's van alle watermonsters (verschillende symbolen) van de verschillende locaties (verschillende kleuren) van productielocatie Andijk. Passtuk is watermeter.

In voorzieningsgebied Berenplaat/Baanhoek zijn de volgende materialen uitgenomen: PVC (locatie 2) en ZPE (overige locaties) (Figuur 20). Te zien is dat beide materialen een verklarende factor zijn voor de verschillen tussen de microbiële populaties. Locatie 2, 5 en 6 clusteren duidelijk apart van de rest en dit wordt niet verklaard door de factor materiaaltype van de aansluitleiding. Dit betekent dat een andere onbekende variabele hiervoor verantwoordelijk is.



Figuur 20 CAP van alle OTU's van alle watermonsters (verschillende symbolen) van de verschillende locaties (verschillende kleuren) van productielocatie Berenplaat/Baanhoek. Passtuk is watermeter.

4 Discussie

Het doel van dit project was om na te gaan of de bemonstering aan de kraan na doorstroming een betrouwbare locatie is om uitspraken te doen over de microbiologische waterkwaliteit in het distributiesysteem. Daartoe zijn in totaal 31 locaties bemonsterd (uit in totaal vier voorzieningsgebieden) en per locatie zijn vier verschillende drinkwatermonsters genomen, aan de keukenkraan met watermeter (na 15-20 minuten doorstroming) en uit de keukenkraan met een passtuk op de plek van de watermeter, bij de watermeter en uit de hoofdleiding/distributiesysteem. De monsters zijn geanalyseerd op ATP, KG22, *Aeromonas*, specifieke qPCR's en de samenstelling van de bacteriegemeenschap. De reden achter de gekozen doorstroming van 15 minuten was om zeker te zijn dat het drinkwater uit het distributiesysteem komt. Normaliter wordt een drinkwatermonster genomen aan de keukenkraan na doorstroming tot de drinkwatertemperatuur 30 seconden stabiel is.

De hypothese van het onderzoek was dat de aansluitleiding en de drinkwaterinstallatie van een gebouw tot een verslechtering van de microbiologische waterkwaliteit leidt (hogere ATP-concentratie en aantallen KG22 en *Aeromonas*) omdat beide een hoger oppervlaktevolume verhouding hebben, vaker stilstand laten zien en mogelijk ander materiaalgebruik dat meer groei veroorzaakt (PE-materiaal) dan in de andere leidingen van het distributiesysteem. In dit onderzoek wordt echter vooral het omgekeerde gevonden, namelijk dat de KG22 aantallen bij drie van de vier voorzieningsgebieden het hoogst zijn in de hoofdleiding en significant lager in de monsters uit de keukenkraan met watermeter. Dezelfde waarneming werd ook een aantal keren gedaan voor de *Aeromonas* aantallen en ATP-concentratie, maar deze waren meestal niet significant verschillend tussen de monstertypen. Alleen in het voorzieningsgebied van Baanhoek/Berenplaat waren de *Aeromonas* aantallen in het drinkwater aan de keukenkraan (met watermeter) significant hoger dan in het drinkwater bemonsterd aan de hoofdleiding.

Dat *Aeromonas* en KG22 aantallen niet hoger zijn in de binneninstallatie kan worden verklaard doordat *Aeromonas* en KG22 vooral in het sediment aanwezig zijn en niet in de biofilm, zoals is aangetoond in eerder onderzoek (van der Wielen & Lut, 2016). Een mogelijke betere biofilm indicator zou *Mycobacterium* kunnen zijn. In dit onderzoek is *Mycobacterium* vaak verhoogd in drinkwater na doorstroming. Dat betekent dat er voldoende uitwisseling tussen biofilm en drinkwater is om in drinkwater monsters verschillen te zien. *Mycobacterium* vermeerdert zich ook in drinkwaterinstallaties en is waargenomen in biofilms (van der Wielen & van der Kooij, 2011).

Op basis van deze resultaten wordt geconcludeerd dat wanneer een drinkwatermonster aan de tap na doorstroming van 15 minuten wordt genomen, de gemeten parameters ATP, KG22, *Aeromonas* en FCM over het algemeen niet significant verhoogd zijn ten opzichte van de hoofdleiding en dat transport van het drinkwater door de aansluitleiding en drinkwaterinstallatie dus niet leidt tot verslechtering van de microbiologische waterkwaliteit. Voor KG22 resulteert bemonstering aan de keukenkraan na doorstroming zelfs in de meeste gevallen tot lagere aantallen. Deze verlaging is echter niet dusdanig dat wanneer de drinkwatermonsters uit de distributiesysteem genomen zouden worden de wettelijke norm voor KG22 wordt

overschreden. Daarmee lijkt dat de bemonstering aan de kraan, zoals uitgevoerd in dit onderzoek, een betrouwbare manier is om de microbiologische waterkwaliteit te bepalen met de wettelijke parameters (KG22 en *Aeromonas*), inclusief wettelijke overschrijdingen, en andere gebruikelijke parameters (ATP en celaantallen).

Uit de regressieanalyse volgt dat drinkwater bemonsterd op locaties waar de aansluitleiding van het type ZPE is, de hoogste ATP concentratie hebben, maar de laagste aantallen membraanintacte cellen. Dit resultaat is onverwacht omdat normaliter ATP en de aantallen membraanintacte cellen sterk gecorreleerd zijn. Het is onduidelijk wat hier de oorzaak van is. Het drinkwater bemonsterd op de locaties waar PVC-U aansluitleidingen worden gebruikt hebben de laagste ATP concentratie, terwijl het drinkwater op locaties met aansluitleidingen van HPE de hoogste aantallen membraanintacte cellen hebben. Deze resultaten bevestigen eerder onderzoek dat heeft laten zien dat de groeipotentie van PE materialen hoger is dan van PVC-U materialen (van der Kooij & van der Wielen, 2014). Het drinkwater dat is bemonsterd bij het woningtype rijtjeshuis heeft de laagste KG22 aantallen, evenals het drinkwater bemonsterd uit het voorzieningsgebied van Veghel en op locaties waar de grondbedekking zand is. De hoogste KG22 aantallen worden gevonden in het drinkwater uit het voorzieningsgebied van Andijk en waar de grondbedekking uit beplanting bestaat. Het drinkwater van Andijk heeft een relatief lage biologische stabiliteit in vergelijking met drinkwater van Veghel of Rodenhuis (van der Wielen, 2018), waardoor te verwachten is dat nagroeiparameters (zoals KG22) in het drinkwater van Andijk hoger zullen zijn. Membraanintacte cellen in het drinkwater nemen ook af op locaties met een toenemende oppervlakte-volumeratio van de aansluitleiding alsook met een toenemende lengte van de drinkwaterinstallatie in het bemonsterde gebouw. Het totaal aantal cellen in drinkwater zijn het hoogst in het voorzieningsgebied Andijk, en tevens op locaties waar de drinkwatertemperatuur hoger is. Uit de regressieanalyse volgt dus dat iedere microbiologische parameter een relatie heeft met andere niet-biologische parameters.

De qPCR voor *Mycobacterium* spp resulteerde vaak in hogere aantallen voor de monsters genomen aan de keukenkraan na doorstroming bij productielocaties Veghel en Rodenhuis. Dit komt overeen met eerder onderzoek waar is waargenomen dat in het distributiesysteem van productielocatie Kralingen en Berenplaat vermeerdering van mycobacteriën plaatsvindt in de binneninstallatie van gebouwen (van der Wielen & van der Kooij, 2011). Deze resultaten impliceren dat mycobacteriën zich voornamelijk vermeerderen in de biofilm van de drinkwaterinstallaties en uitwisselen met het drinkwater uit de distributiesysteem wanneer het drinkwater door de drinkwaterinstallatie stroomt. Voor productielocatie Andijk waren de aantallen *Mycobacterium* spp. ook een enkele keer hoger in het monster genomen aan de keukenkraan. Productielocatie Berenplaat/Baanhoek liet juist een aantal keer hogere aantallen zien in monsters uit de hoofdleiding, dit in tegenstelling is met het eerder genoemde onderzoek (van der Wielen & van der Kooij, 2011). De qPCR's voor *Legionella* spp. en *Hyphomicrobium* spp. lieten vergelijkbare aantallen zien tussen de verschillende drinkwatermonsters genomen binnen een locatie van het voorzieningsgebied. *Pseudomonas aeruginosa* is in geen enkel monster aangetroffen. *Legionella pneumophila* is twee keer aangetroffen in watermonsters van productielocaties Rodenhuis en Andijk. In beide gevallen waren de concentraties indicatief (dus de concentratie was laag en nabij de detectielimiet). *S. maltophilia* is in vijf monsters aangetroffen van productielocatie Berenplaat/Baanhoek, zoals ook in eerder onderzoek is aangetoond (van der Wielen & van der Kooij, 2011). *A. fumigatus* is één keer aangetroffen in het voorzieningsgebied van productielocatie Veghel en drie keer in het voorzieningsgebied van productielocatie Berenplaat/Baanhoek. Er zijn echter te weinig positieve monsters van deze opportunistische pathogenen gevonden om

betrouwbare uitspraken te doen over de invloed van monsternamen op deze organismen. Het is wel aannemelijk dat binneninstallatie een rol kan spelen, omdat deze organismen zich vermeerderen in de biofilm (van der Wielen, 2014a) en ook hogere aantallen werden gevonden in drinkwater uit de drinkwaterinstallatie dan drinkwater uit het distributiesysteem (van der Wielen, 2014b).

Op Klassenniveausamenstelling zijn er weinig verschillen waarneembaar tussen de verschillende drinkwatermonsters binnen een locatie evenals voor de andere microbiologische parameters. Dit bevestigt nogmaals dat de bacteriesamenstelling niet veel veranderd tijdens transport van de distributiesysteem naar de keukenkraan. Goed om te benoemen is dat op Klasseniveau er alleen is gekeken naar de dominante populatie (>2%). Mogelijk dat de Klasse die verschillen wel aanwezig zijn maar dan in de <2% deel, tevens kunnen er ook (kleine) verschillen worden waargenomen wanneer er wordt gekeken naar de niet dominante populatie. De OTU samenstelling van de bacteriepopulaties in de verschillende drinkwatermonsters binnen een locatie verschilt een klein beetje van elkaar op een aantal locaties. Dergelijke kleine verschillen worden ook een aantal keer waargenomen bij de andere gemeten parameters (*Aeromonas*, KG22 en/of ATP). Mogelijk dat de tijdsduur van monsternamen hier een verklaring voor kan zijn. Er werden overigens geen eenduidige microbial profiling resultaten gevonden. Op sommige locaties in een voorzieningsgebied treden kleine verandering op tijdens transport in de aansluitleiding, terwijl op andere locaties in het voorzieningsgebied deze veranderingen niet worden waargenomen, maar soms weer wel tijdens transport in de binneninstallatie. De resultaten lieten zien dat er weinig of kleine verschillen werden waargenomen in de bacteriesamenstelling op Klasse en OTU niveau tussen de verschillende monsters. In eerder onderzoek kwam naar voren dat de microbiële populatie van water en biofilm duidelijk van elkaar verschilt, maar dat de biofilmpopulatie weinig invloed heeft op de samenstelling van de bacteriepopulatie van het drinkwater (Learbuch & Wullings, 2018; Learbuch, 2018). De resultaten van de in dit rapport beschreven studie bevestigen de conclusies van die studies, namelijk dat de biofilm over het algemeen weinig invloed heeft op de samenstelling van de bacteriegemeenschap van het drinkwater in het distributiesysteem. Met de CAP analyse is aangetoond dat het materiaal van de aansluitleiding verantwoordelijk is voor de verschillen in microbiële populatie voor de verschillende locaties in de voorzieningsgebieden, Veghel, Andijk en Berenplaat/Baanhoek.

5 Conclusies en aanbevelingen

5.1 Conclusies

- De wettelijke microbiologische parameters KG22 en *Aeromonas* alsook de microbiologische parameters ATP en celaantallen worden over het algemeen niet significant verhoogd tijdens transport van het drinkwater door de aansluitleiding en drinkwaterinstallatie. Bemonstering van het drinkwater naar doorstroming aan de keukenkraan leidt dus niet tot een verslechtering van de microbiologische waterkwaliteit bepaald met de wettelijke parameters voor nagroei.
- De KG22 aantallen in het drinkwater bemonsterd aan de keukenkraan na 15 tot 20 minuten doorstroming zijn op de meeste bemonsterde locaties lager dan in het drinkwater bemonsterd uit de hoofdleiding en schetsen daardoor een beter beeld van de waterkwaliteit dan wanneer de monsters uit de hoofdleiding zouden worden genomen. Dit verschil leidt echter niet tot het missen van wettelijke overschrijdingen van KG22 in het drinkwater van de hoofdleiding.
- Vermeerdering van mycobacteriën vindt plaats in de biofilm van de drinkwaterinstallatie van gebouwen.
- De aantallen *Legionella* spp. en *Hyphomicrobium* spp. in het drinkwater veranderen niet tijdens drinkwatertransport door de aansluitleiding en drinkwaterinstallatie op de bemonsterde locaties.
- De opportunistische pathogenen zijn nauwelijks aangetroffen in de geanalyseerde drinkwatermonsters.
- De verandering van de bacteriesamenstelling in drinkwater is over het algemeen klein tijdens transport van het drinkwater in de aansluitleiding en drinkwaterinstallatie en de kleine veranderingen die op sommige locaties worden waargenomen zijn niet eenduidig en consistent. Transport van drinkwater door de aansluitleiding en drinkwaterinstallatie lijkt dus een minder belangrijke factor in eventuele veranderingen in de bacteriesamenstelling van het drinkwater.

5.2 Aanbevelingen

Het huidige bemonsteringsprotocol voor het analyseren van de aantallen KG22 en *Aeromonas* in drinkwatermonsters uit het distributiesysteem, om de microbiologische waterkwaliteit te monitoren, hoeft op basis van de verkregen resultaten niet te worden aangepast.

Aanvullend onderzoek dient te worden uitgevoerd om na te gaan of de huidige manier van monsternamen aan de keukenkraan (doorstroming tot de temperatuur 30 seconde stabiel is) tot dezelfde resultaten leidt als de manier van doorstroming die in de in dit rapport beschreven studie is gebruikt (doorstroming van 15-20 min).

6 Referenties

- Heijnen, L., Wullings, B., & Medema, G. (2002). Toepassingsmogelijkheden van moleculair-biologische methoden voor de drinkwater praktijk (BTO 2002.136). Nieuwegein: KWR.
- Learbuch, K. and B. Wullings (2018). Indicator voor biofilm in het drinkwater-distributiesysteem. (BTO 2018.011). Nieuwegein, KWR.
- Learbuch, K. (2018). Invloed van stroomsnelheid op de verdeling van bacteriën in biofilm en water (BTO 2018.090). Nieuwegein, KWR.
- da Silva Filho, L. V., Tateno, A. F., Velloso, L. D. F., Levi, J. E., Fernandes, S., Bento, C. N., ... & Ramos, S. R. (2004). Identification of *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex, and *Stenotrophomonas maltophilia* in respiratory samples from cystic fibrosis patients using multiplex PCR. *Pediatr. Pulmonol.*, 37, 537–547.
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., ... & Sahl, J. W. (2009) Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 75(23), 7537-7541.
- van der Kooij, D.; van der Wielen, P. W. J. J., Microbial growth in drinking-water supplies. Problems, causes, control and research needs. IWA Publishing: London, UK, 2014; p 453.
- van der Wielen, P. W. J. J., Italiaander, R., & Heijnen, L. (2011). Kwantitatieve detectiemethoden voor opportunistisch ziekteverwekkende micro-organismen in drinkwater. (BTO 2011.034(s)). Nieuwegein, KWR.
- van der Wielen, P., & van der Kooij, D. (2011). Opportunistisch ziekteverwekkende micro-organismen in drinkwater. (BTO 2011.035). Nieuwegein, KWR.
- van der Wielen, W. J. J. (2014a). Rol van drinkwater, biofilm en temperatuur op groei van opportunistische pathogenen (BTO 2014.217(s)). Nieuwegein, KWR.
- van der Wielen, W. J. J. (2014b). Effect van waterkwaliteit, seizoen, drinkwaterinstallatie en verblijftijd/afstand op opportunistische pathogenen in drinkwater (BTO 2014.015). Nieuwegein, KWR.
- van der Wielen, P. W. J. J., R. Italiaander, B. A. Wullings, L. Heijnen, and D. van der Kooij (2014), Opportunistic pathogens in drinking water in the Netherlands, in *Microbial Growth in Drinking-Water Supplies. Problems, Causes, Control and Research Needs*, edited by D. van der Kooij and P. W. J. J. van der Wielen, pp. 177-205, IWA Publishing, London, UK.
- van der Wielen, P. W. J. J., & Lut, M. C. (2016). Distribution of microbial activity and specific microorganisms across sediment size fractions and pipe wall biofilm in a

drinking water distribution system. *Water Science & Technology: Water Supply*, 16(4), 896-904.

van der Wielen, P. W. J. J. (2017). Invloed van waterkwaliteit, adres en tijdstip op KG22 en *Aeromonas* als wettelijke parameters nagroei (BTO 2017.028). Nieuwegein, KWR.

van der Wielen, P. W. J. J. (2018). Aandachtswaarden nieuwe methogen biologische stabiliteit (BTO 2018.049). Nieuwegein, KWR.

Wullings, B., Bakker, G., and van der Kooij, D. (2011) Concentration and Diversity of Uncultured *Legionella* spp. in Two Unchlorinated Drinking Water Supplies with Different Concentrations of Natural Organic Matter. *Appl Environ Microbiol.* 77(2): 634-641

Bijlage I Locaties

Datum	Drinkwaterbedrijf	Voorzieningsgebied	Locatie	Hoofdleiding minimaal doorstroomd
3-6-2019	Brabant Water	Veghel		
3-6-2019	Brabant Water	Veghel	1	4,05 liter
3-6-2019	Brabant Water	Veghel	2	2,715 liter
3-6-2019	Brabant Water	Veghel	3	3 liter
3-6-2019	Brabant Water	Veghel	4	2,4 liter
3-6-2019	Brabant Water	Veghel	5	5,4 liter
3-6-2019	Brabant Water	Veghel	6	2,7 liter
3-6-2019	Brabant Water	Veghel	7	2,4 liter
3-6-2019	Brabant Water	Veghel	8	4,35 liter
11-6-2019	Oasen	Rodenhuis		
11-6-2019	Oasen	Rodenhuis	1	15-45 min
11-6-2019	Oasen	Rodenhuis	2	15-45 min
11-6-2019	Oasen	Rodenhuis	3	15-45 min
11-6-2019	Oasen	Rodenhuis	4	15-45 min
11-6-2019	Oasen	Rodenhuis	5	15-45 min
11-6-2019	Oasen	Rodenhuis	6	15-45 min
11-6-2019	Oasen	Rodenhuis	7	15-45 min
17-6-2019	PWN	Andijk		
17-6-2019	PWN	Andijk	1	
17-6-2019	PWN	Andijk	2	
17-6-2019	PWN	Andijk	3	
17-6-2019	PWN	Andijk	4	
17-6-2019	PWN	Andijk	5	
17-6-2019	PWN	Andijk	6	
17-6-2019	PWN	Andijk	7	
17-6-2019	PWN	Andijk	8	
24-6-2019	Evides	UF		
24-6-2019	Evides	Baanhoek		
24-6-2019	Evides	Berenplaat		
24-6-2019	Evides	UF	1	
24-6-2019	Evides	UF	2	
24-6-2019	Evides	Berenplaat/Baanhoek	3	
24-6-2019	Evides	Berenplaat/Baanhoek	4	
24-6-2019	Evides	UF	5	
24-6-2019	Evides	Berenplaat	6	
24-6-2019	Evides	Berenplaat/Baanhoek	7	
24-6-2019	Evides	Berenplaat/Baanhoek	8	

AL = aansluitleiding, BL= binnenleiding

	Locatie	Type woning	Leeftijd woning	Lengte AL (m)	Materiaal AL	Diameter AL (mm)	Inhoud AL (l)	Ligging AL	Schattig lengte BL (m)	Grondbedekking boven AL	Materiaal BL	Berekening verblijftijd (uur)
Veghel	1	Vrijstaand	1966	5	Cu15	13	0,665	noord oost	5	klinkers	Koper	
Veghel	2	2-onder-1 kap	1993	4	PVC25	25	2,32	oost	10	beplanting	Koper	
Veghel	3	2-onder-1 kap	1956	20	PE25	20,4	6,54	zuid west	8	tegels, beplanting asfaltweg	Koper	
Veghel	4	Vrijstaand	1966	26	PVC/PE	25	15,08	noord west	4	zand	Koper	
Veghel	5	Vrijstaand	2017	9	PVC	25	5,22	zuid west	8	beplanting	Koper	
Veghel	6	Rijtjes woning	1973	10	PVC20	20	3,5	Noord	14	tegels	Koper	
Veghel	7	2-onder-1 kap	1959	34,5	PVC25	25	20,01	zuid oost	17	zand	Koper	
Veghel	8	2-onder-1 kap	2019	4	PE25	20,4	1,3	noord oost	8	aarde	Kunststof Unicor	
Rodenhuis	1	2-onder-1 kap	2006	9,4	HPE	25	4,61	noord, west	8	Tegels	Flex (wit)	
Rodenhuis	2	Rijtjes woning	1969	8,8	HPE	25	4,32	noord,oost	3	tegels	Koper	
Rodenhuis	3	Rijtjes woning	1972	7,6	PE	25	3,73	noord,west	3	tegels	Koper	
Rodenhuis	4	Rijtjes woning	1970	8,5	HPE	25	4,17	noord, west	7	Tegels	Koper	
Rodenhuis	5	Rijtjes woning	1961	8,55	HPE	25	4,20	noord, west	6	Tegels	Koper	
Rodenhuis	6	Rijtjes woning	1973	5	HPE	25	2,45	noord	2	klinkers	Tyleen/Koper	
Rodenhuis	7	Rijtjes woning	1977	2,7	HPE	25	1,33	zuid	5	Tegels	Koper	
Andijk	1 ^a	2-onder-1 kap	2000	16,44	ZPE	25	8,07	NZ-OW	2,5	tegels	Koper	48
Andijk	2 ^b	Rijtjes woning	1996	5,26	ZPE	19,6	1,59	W-O	5	tegels	Koper	37
Andijk	3 ^c	2-onder-1 kap	1992	5,07	ZPE	19,6	1,53	N-Z	5	tegels	Koper	14
Andijk	4	Rijtjes woning	1976	14,17	ZPE	19,6	4,28	O-W	5	tegels/beplanting	Koper	35

Andijk	5	Rijtjes woning	1989	6,12	ZPE	19,6	1,85	Z-N	4	beplanting	Koper	29
Andijk	6 ^d	Vrijstaand	2008	7,97	HPE	21	2,76	N-Z	5	tegels	Koper	46
Andijk	7 ^e	Rijtjes woning	1978	4,11	ZPE	19,6	1,24	W-O	9	tegels	Koper	36
Andijk	8 ^f	Rijtjes woning	2005	4,91	ZPE	19,6	1,48	W-O	5	tegels/beplanti ng	Koper	14
UF	1	Hoekhuis	2018	1	ZPE	19,6	0,30	zuid		tegels		
UF	2	Vrijstaand	1918	19	PVC	22,6	7,62	west		gras		
Berenplaat/Baan hoek	3	Vrijstaand	1998	20	ZPE	25	9,81	zuid		tegels		
Berenplaat/Baan hoek	4 ^g	Rijtjes woning	1997	18,5	ZPE	25	9,08	noord		tegels		
UF	5	Rijtjes woning	1951	6	ZPE	19,6	1,81	oost		tegels		
Berenplaat	6	Hoekhuis	1998	11	ZPE	25	5,40	west		tegels		
Berenplaat/Baan hoek	7 ^h	Rijtjes woning	1974	15	ZPE	19,6	4,52	oost		tegels		
Berenplaat/Baan hoek	8	Rijtjes woning	2007	8	ZPE	19,6	2,41	oost		tegels		

^a WC-kraan, lange aansluitleiding met twee richtingen

^b WC-kraan: monsterfles paste met moeite onder de kraan

^c Platte kraan: na verwijderen perlator ontstaat er een onrustige straal

^d aansluitleiding bestaat uit 2 gekoppelde aansluitleidingen

^e niet zichtbaar wat grondbedekking is, inschatting tegels

^f Platte kraan: na verwijderen perlator ontstaat er een onrustige straal

^g Er is water getapt vanaf hydrant i.p.v. 31449 (40 meter van huisadres) i.p.v. de aanboring omdat er tijdens de graafwerkzaamheden geen leiding is gevonden

^h gewoon met watermeter, passtuk niet mogelijk

Bijlage II Bemonsteringsprotocol

Doel is het achterhalen of bemonstering aan de kraan na doorstroming een betrouwbare locatie is om uitspraken te doen over de microbiologische waterkwaliteit in het distributiesysteem. In het project wordt op 3 locaties gemeten:

1. Keukenkraan, dit is het reguliere meetpunt, waar bemonstering plaats vindt. Hiermee kan het eventueel invloed van binnen installatie worden bepaald, door verschil in waterkwaliteit tussen keukenkraan en passtuk.
2. Passtuk (rvs) met monstercraan, op de plaats van de watermeter. Hiermee kan het eventueel invloed van aansluitleiding worden bepaald, door verschil in waterkwaliteit tussen aanboring op de hoofdleiding en passtuk.
3. Aanboring op de hoofdleiding voor de deur van te bemonsteren adres. Dit is het referentiemonster.

Volgorde van bemonstering	Monster	Volume	Opmerkingen
n.v.t.	Reinwater	2 liter	Bij pompstation
1 ^e	Watermonster aan de keukenkraan (voor paasstuk plaatsing)	2 liter	Eerst 15-20 minuten laten lopen
2 ^e	Watermonster aan de keukenkraan (na passtuk plaatsing)	2 liter	Eerst 15-20 minuten laten lopen
3 ^e	Watermonster op de plek van de watermeter	2 liter	Passtuk van rvs
4 ^e	Watermonster op de hoofdleiding	2 liter	Aanboring voorbereiden in 2 weken voor bemonsteringsdag

Volgorde van werken

Selectie van monsterlocaties en een monsterdatum. Het is de bedoeling dat alle 8 metingen in 1 dag worden uitgevoerd. Het is dus handig om de locaties een beetje bij elkaar in de buurt te hebben. (Bij PWN willen ze medewerkers vragen of zij hun huis beschikbaar willen stellen voor dit onderzoek).

Van de gekozen adressen gegevens registreren van type huis, leeftijd, lengte, diameter (bereken inhoud van leiding) en materiaal aansluitleiding. Vanuit het hydraulisch model inschatting van verblijftijd.

Tussen 0-2 weken vooraf aan de bemonstering worden de meetpunten op de hoofdleiding gereed gemaakt. Let op voor het graven moeten klic-meldingen worden gemaakt en dient onderzoek bodemverontreiniging te worden uitgevoerd. Voorbereiding op tijd starten.

Op de dag van bemonsteren

Eerst een watermonsters bij de keukenkraan nemen. De keukenkraan voor 15-20 minuten laten lopen (afhankelijk van inhoud in de aansluitleiding). Volume van de keukenkraan uit literen (om de volumestroom te bepalen). Keukenkraan klaar voor bemonstering zoals bij reguliere monsternamen.

Vervolgens passtuk plaatsen en nog een monster op dezelfde manier nemen.

Passtuk (rvs) kort door spoelen en dan klaar voor bemonsteren.

Tijdens de 15-20 minuten doorstromen keukenkraan het mobiele monsterpunt op de hoofdleiding voor de deur opbouwen. Leiding doorspoelen, mobiele monsterkraan monteren, laten doorstromen, kogelkraan dicht, monsterkraan afbranden en dan monsterpunt openen en blijvend laten stromen met constante volume (eventueel stromend opvangen in emmer om teveel spetteren tegen te gaan). Monsterpunt klaar voor gebruik.

Per locatie dient er een paspoort/logboek te worden gemaakt.

Paspoort kan/moet vooraf	Adres
	Type woning (flat, rijtjes, vrijstaand) Leeftijd woning Lengte aansluitleiding (AL) Materiaal AL Diameter AL (inwendig) Inhoud AL Ligging van AL (noord/oost/zuid/west) Schatting lengte binnenleiding Grondbedekking boven AL (tegels, beplanting, gras) Materiaal binnenleiding Berekening verblijftijd
Tijdens de bemonstering	
	Datum van bemonstering Tijdstip keukenkraan open Volumestroom (l/min) keukenkraan tijdens doorstromen Tijdstip passtuk gereed Tijdstip meetpunt hoofdleiding gereed Tijdstip monsternamen keukenkraan + temp Tijdstip monsternamen passtuk + temp Tijdstip monsternamen hoofdleiding + temp Bijzonderheden
Kan achteraf	
	Werkzaamheden in het aanvoergebied?

Aangezien er op 1 dag 8 metingen moeten worden uitgevoerd, is logistieke planning van belang. Het beschikbaar hebben van minimaal 2 sets van mobiele monsterkraan en passtuk met monsterkraan is aan te raden. Door dan te werken met 2 teams, één voor de op- en afbouw en één voor de bemonstering, zal de uitvoer versoepelen.

Rein watermonster (2 liter)

- Rein watermonster van pompstation (2 liter): als reguliere monstername (temperatuur meten).
- Alle watermonsters gekoeld bewaren en vervoeren.

Watermonster aan keukenkraan (2x 2 liter)

De keukenkraan voor 15-20 minuten laten lopen (afhankelijk van inhoud in de aansluitleiding). Volume van de keukenkraan uit literen (om de volumestroom te bepalen). Keukenkraan klaar voor bemonstering. Verder zoals reguliere monstername

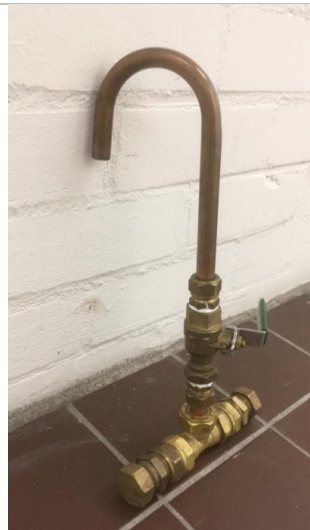
Watermonster nemen (2 liter), temperatuur meten.

Vervolgens het passtuk plaatsen op de plek van de watermeter en nog een watermonster nemen op de manier zoals beschreven hierboven.

Passtuk (rvs) met monsterkraan, op de plaats van de watermeter (2 liter)

Het passtuk (rvs) wordt op de plek van de watermeter geïnstalleerd. Sluit de beide kogelkranen, neem de watermeter weg en plaats het passtuk. Open de beide kogelkranen weer. Voor gebruik van het meetpunt spoel het passtuk en kraan en daarna monster nemen.

Voorbeeld van passtuk
met monsterkraan



Watermonster nemen (2 liter), temperatuur meten.

Aanboring op de hoofdleiding (2 liter)

De aanboring op de hoofdleiding voor het te bemonsteren adres mag in de 2 weken vooraf aan de geplande worden gemaakt. Het betreft een normale aanboring t.b.v. een huisaansluiting. De monsterleiding, 25 mm HDPE, naar maaiveld brengen en onder straatpot afdekken. Op het eind van de monsterleiding een kogelkraan. Monsterleiding goed doorspoelen en dan kogelkraan dicht. Vanzelfsprekend opletten om zo hygiënisch mogelijk te werken.

Aanboring onder druk	Straatpot	Mobiele monsterkraan
		
Kogelkraan op het eind	Volledig monsterpunt	
		

Watermonster nemen (2 liter), temperatuur meten.

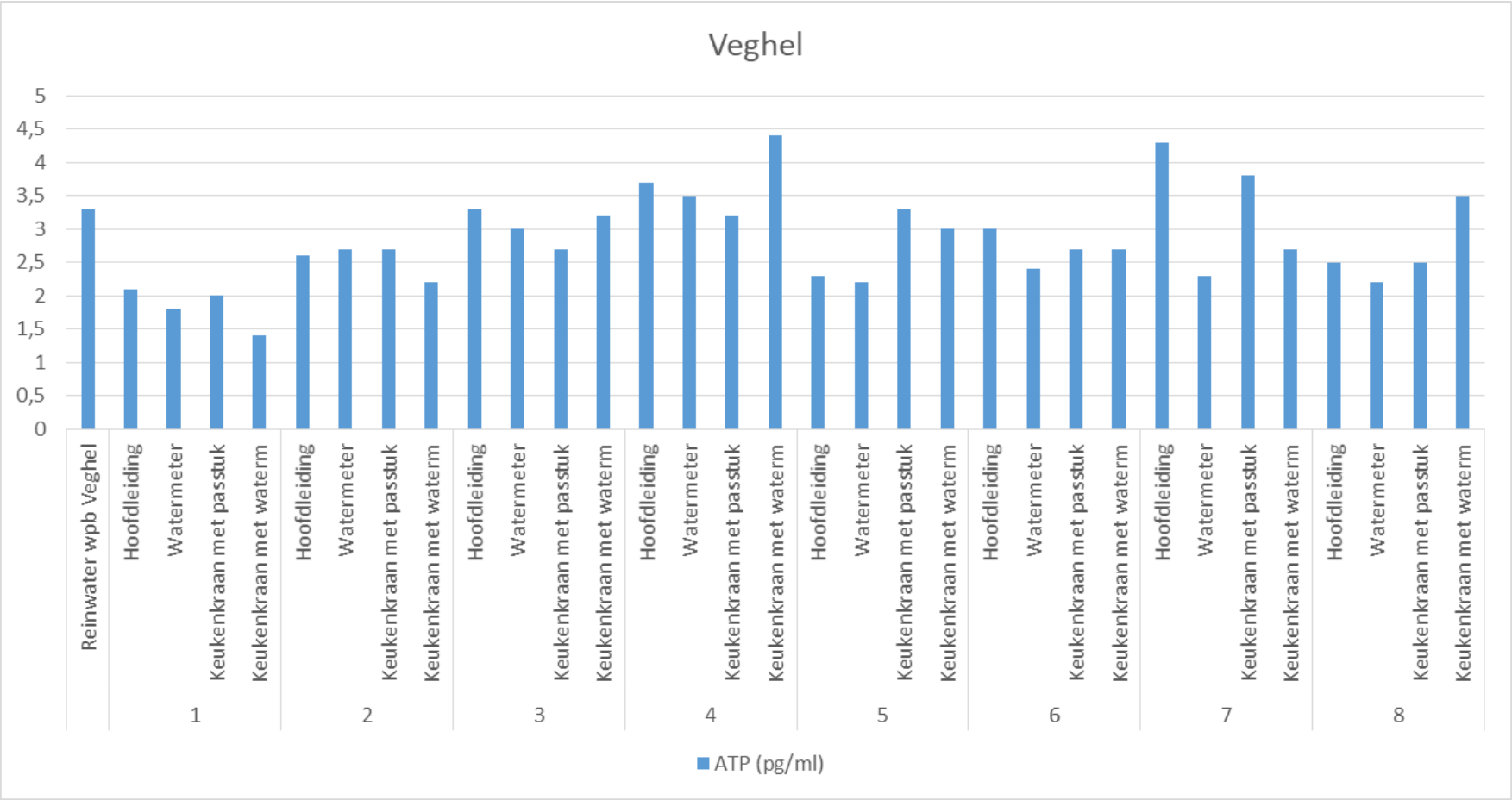
De watermonsters worden door het waterleidinglaboratorium na monsternamen koel naar KWR getransporteerd. Op de monsternamen dag voor 17.00 aanleveren, of voor 9.00 's ochtends de volgende dag.

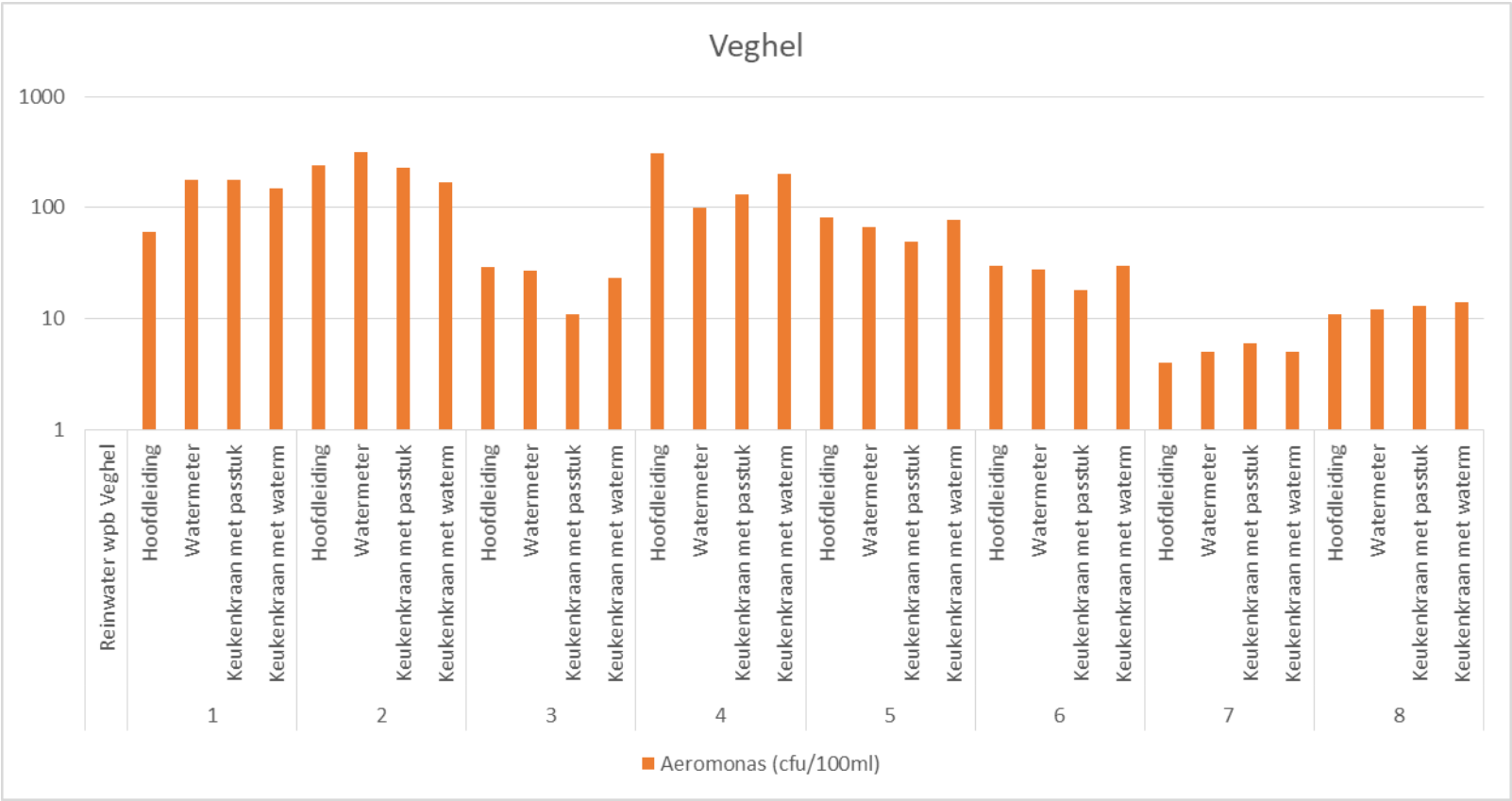
Bijlage III Resultatentabel

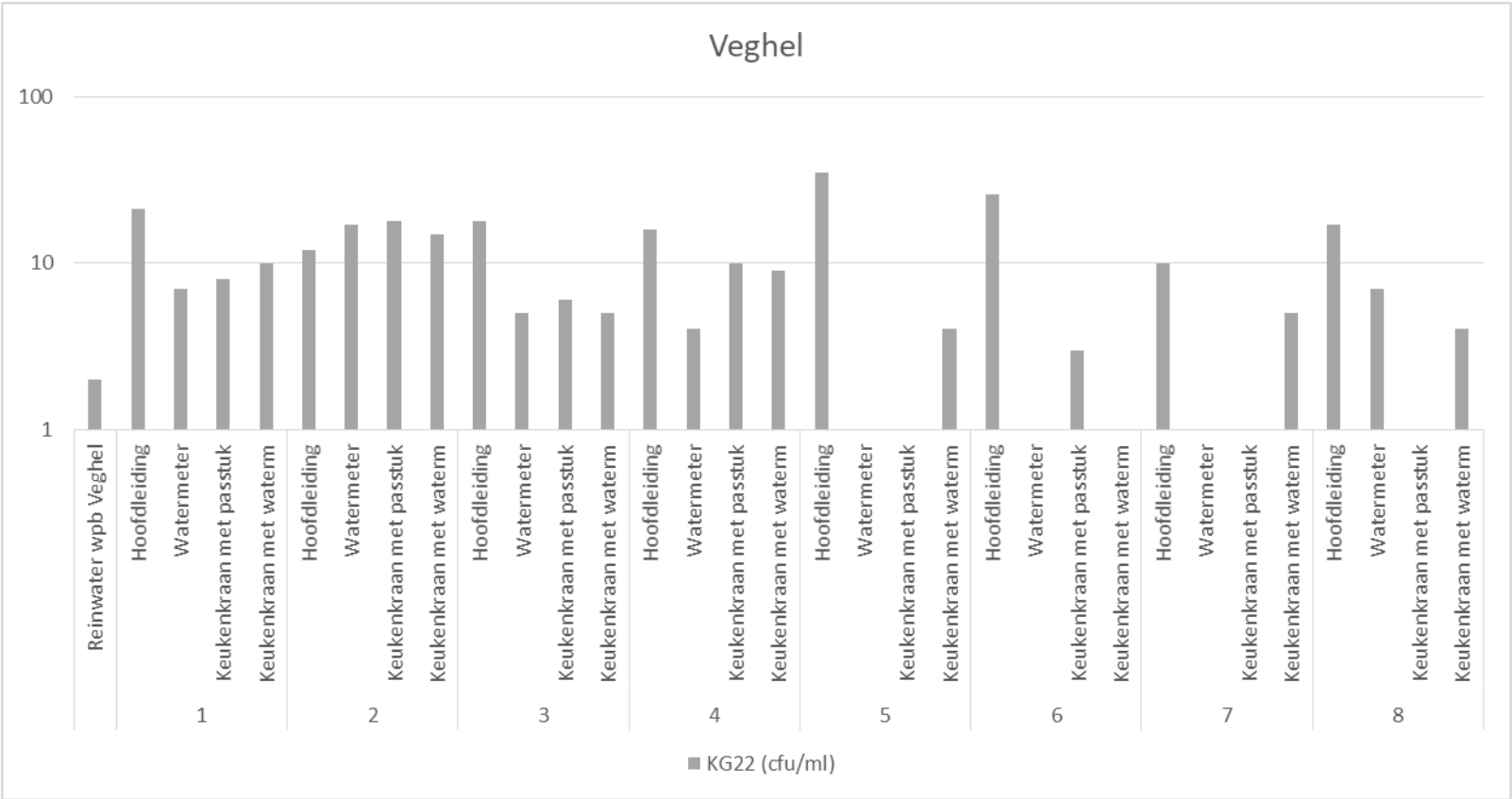
Productielocatie Veghel

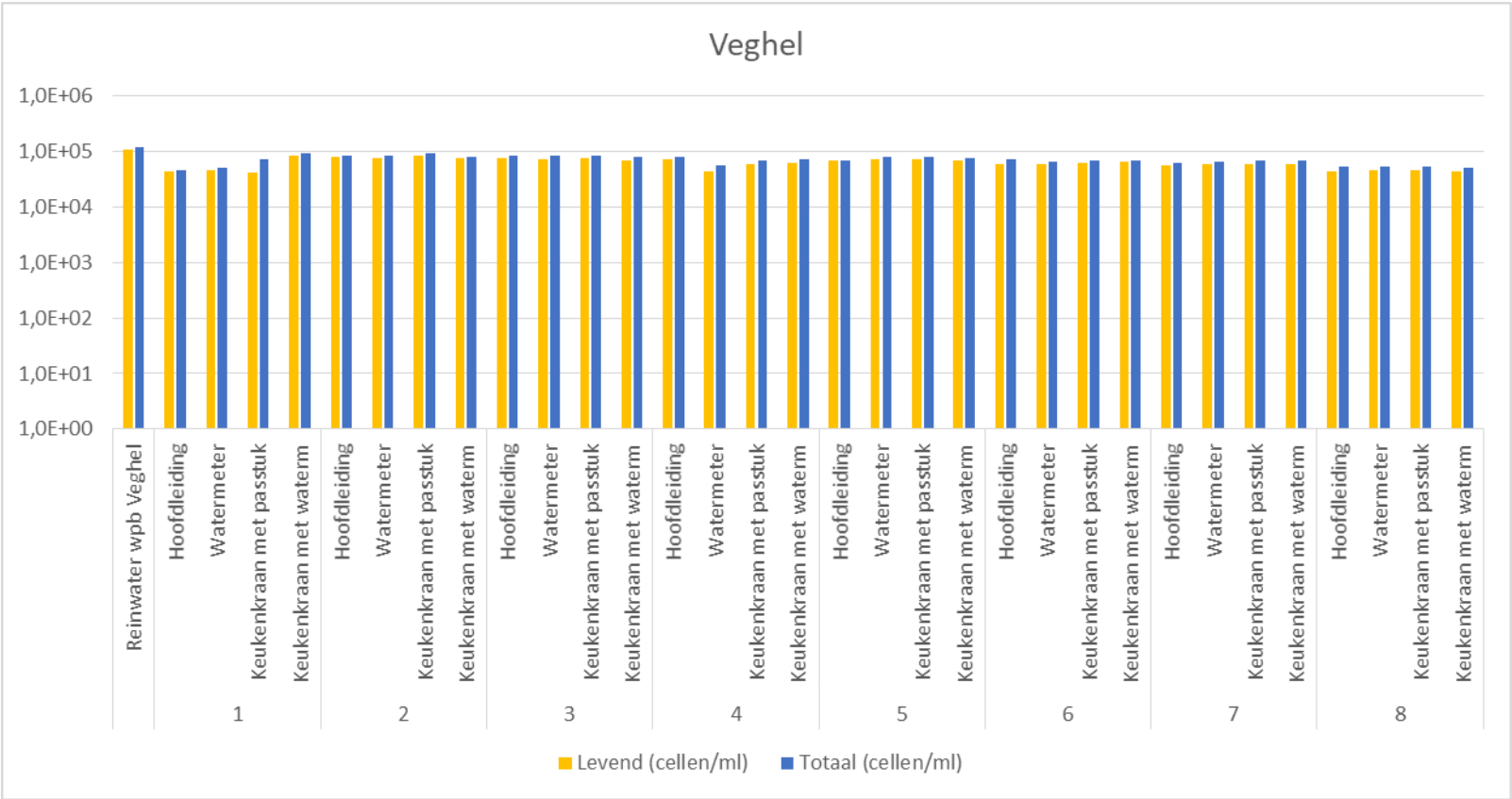
Locatie	Monsterpunt	ATP (pg/ml)	ATP stdev	Aeromonas (kve/100ml)	Legionella (kve/l)	KG22 (kve/ml)	FCM (cellen/ml)		
							levend	dood	totaal
1	Reinwater wpb Veghel	3,3	0,74	1	<100	2	1,10E+05	1,40E+04	1,20E+05
	Hoofdleiding	2,1	0,15	60	<100	21	4,30E+04	3,30E+03	4,70E+04
	Watermeter	1,8	0,89	180	<100	7	4,60E+04	3,90E+03	5,00E+04
	Keukenkraan met passtuk	2	0,59	180	<100	8	4,10E+04	3,20E+04	7,30E+04
2	Keukenkraan met waterm	1,4	0,59	150	<100	10	8,50E+04	6,80E+03	9,20E+04
	Hoofdleiding	2,6	0,3	240	<100	12	7,90E+04	6,80E+03	8,60E+04
	Watermeter	2,7	0,74	320	<100	17	7,80E+04	6,80E+03	8,50E+04
	Keukenkraan met passtuk	2,7	0,15	230	100	18	8,40E+04	8,80E+03	9,30E+04
3	Keukenkraan met waterm	2,2	0	170	<100	15	7,50E+04	5,00E+03	8,00E+04
	Hoofdleiding	3,3	0,15	29	<100	18	7,50E+04	1,10E+04	8,60E+04
	Watermeter	3	0,3	27	<100	5	7,30E+04	9,40E+03	8,30E+04
	Keukenkraan met passtuk	2,7	0,15	11	<100	6	7,50E+04	9,00E+03	8,40E+04
4	Keukenkraan met waterm	3,2	0	23	<100	5	7,00E+04	8,80E+03	7,90E+04
	Hoofdleiding	3,7	0,59	310	<100	16	7,30E+04	7,90E+03	8,10E+04
	Watermeter	3,5	0,3	100	<100	4	4,30E+04	1,20E+04	5,60E+04
	Keukenkraan met passtuk	3,2	0	130	<100	10	6,10E+04	7,70E+03	6,80E+04

5	Keukenkraan met waterm	4,4	0,44	200	<100	9	6,40E+04	7,70E+03	7,20E+04
	Hoofdleiding	2,3	0,74	81	<100	35	6,90E+04	<1000	6,90E+04
	Watermeter	2,2	0,59	67	<100	<1	7,40E+04	6,40E+03	8,10E+04
6	Keukenkraan met passtuk	3,3	0,15	49	<100	1	7,30E+04	7,10E+03	8,00E+04
	Keukenkraan met waterm	3	1,2	77	<100	4	7,10E+04	7,00E+03	7,80E+04
	Hoofdleiding	3	0,3	30	<100	26	6,10E+04	1,30E+04	7,40E+04
7	Watermeter	2,4	0	28	<100	<1	6,00E+04	6,10E+03	6,60E+04
	Keukenkraan met passtuk	2,7	0,15	18	<100	3	6,20E+04	6,90E+03	6,90E+04
	Keukenkraan met waterm	2,7	0,15	30	500	1	6,50E+04	6,30E+03	7,10E+04
8	Hoofdleiding	4,3	0,3	4	<100	10	5,60E+04	6,80E+03	6,30E+04
	Watermeter	2,3	0,15	5	<100	<1	6,00E+04	7,80E+03	6,70E+04
	Keukenkraan met passtuk	3,8	0,74	6	<100	1	6,10E+04	7,70E+03	6,90E+04
	Keukenkraan met waterm	2,7	0,74	5	<100	5	6,00E+04	8,10E+03	6,80E+04
	Hoofdleiding	2,5	0,15	11	<100	17	4,50E+04	7,50E+03	5,30E+04
	Watermeter	2,2	0,59	12	<100	7	4,70E+04	6,70E+03	5,30E+04
	Keukenkraan met passtuk	2,5	0,15	13	<100	1	4,60E+04	9,40E+03	5,50E+04
	Keukenkraan met waterm	3,5	0,59	14	<100	4	4,40E+04	7,30E+03	5,10E+04









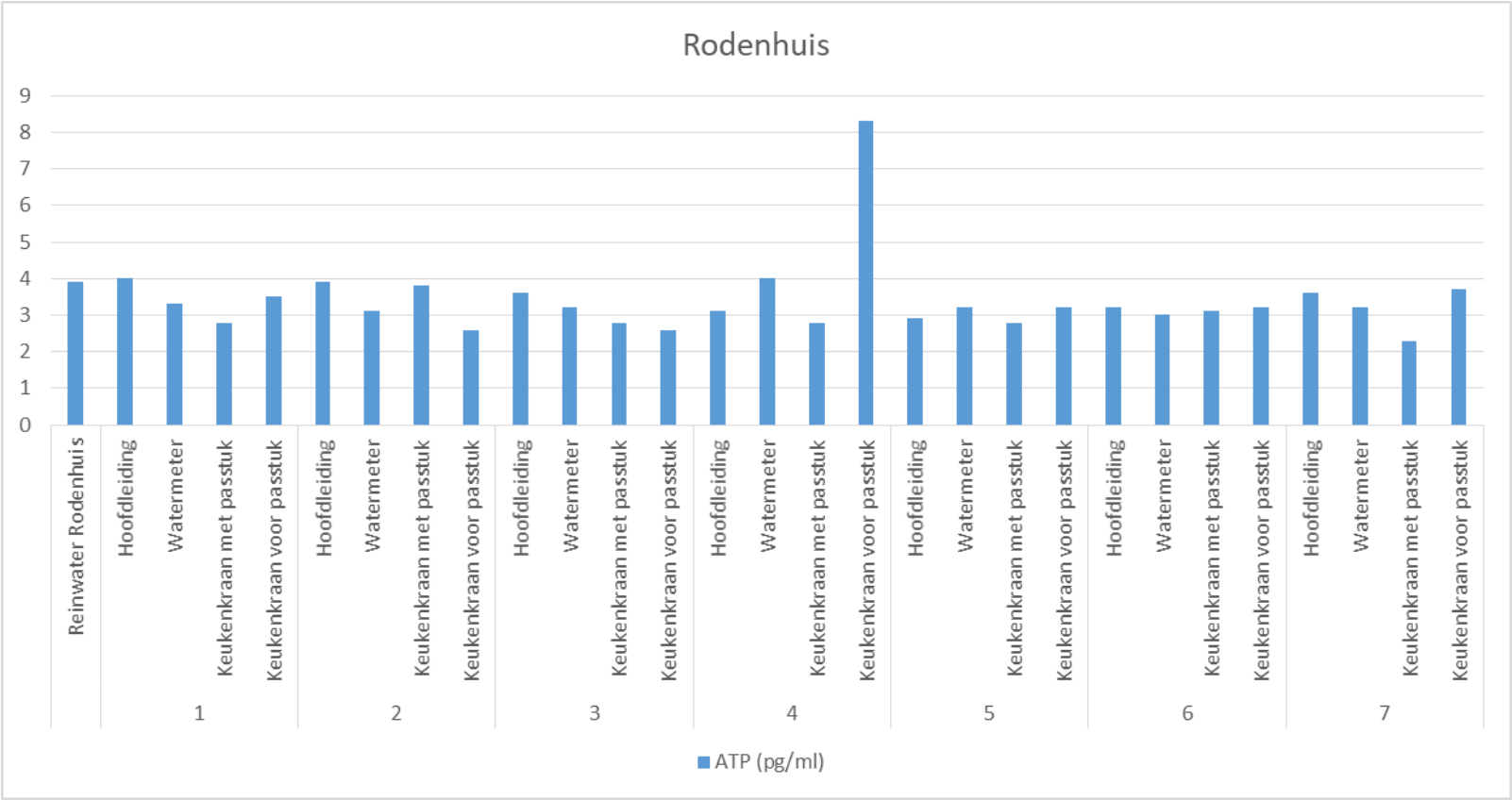
Locatie	Monsterpunt	<i>L. pneumophila</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium spp.</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>Legionella spp.</i>	<i>Hyphomicrobium</i>
1	Reinwater Veghel	<130	<210	1,7E+04	<210	<1,1E+03	3,1E+05	3,1E+05
	Keukenkraan met waterm	<130	<210	7,6E+04	<210	<1,0E+03	6,6E+04	9,3E+04
	Keukenkraan met passtuk	<120	<200	1,0E+05	<200	<1,0E+03	4,9E+04	7,7E+04
	Watermeter	<130	<220	1,9E+05	<220	<1,1E+03	1,1E+05	1,2E+05
2	Hoofdleiding	<120	<200	7,5E+04	<200	<1,0E+03	6,9E+04	1,1E+05
	Keukenkraan met waterm	<140	<230	8,1E+04	<230	<1,2E+03	1,5E+05	2,3E+05
	Keukenkraan met passtuk	<130	<220	5,9E+06	<220	<1,1E+03	2,5E+05	2,3E+05
	Watermeter	<140	<230	9,7E+04	<230	<1,1E+03	2,3E+05	2,4E+05
3	Hoofdleiding	<140	<240	8,1E+04	<240	<1,2E+03	1,3E+05	2,4E+05
	Keukenkraan met waterm	<120	<200	7,8E+04	<200	<1,0E+03	1,3E+05	2,4E+05
	Keukenkraan met passtuk	<110	<190	1,9E+05	<190	<950	2,0E+05	2,5E+05
	Watermeter	<110	<180	9,5E+04	<180	<900	2,2E+05	2,8E+05
4	Hoofdleiding	<110	<190	8,2E+04	<190	<930	1,3E+05	2,6E+05
	Keukenkraan met waterm	<100	<170	5,2E+04	<170	<840	2,1E+05	2,5E+05
	Keukenkraan met passtuk	<110	<180	6,9E+04	<180	<890	1,7E+05	2,3E+05
	Watermeter	<120	<200	4,0E+04	<200	<1,0E+03	2,3E+05	2,5E+05
5	Hoofdleiding	<94	<160	2,2E+05	<160	<780	2,0E+05	4,3E+05
	Keukenkraan met waterm	<100	<170	6,4E+04	<170	<870	2,5E+05	2,6E+05
	Keukenkraan met passtuk	<120	<190	1,1E+06	680	<970	2,9E+05	2,6E+05
	Watermeter	<110	<180	6,2E+04	<180	<900	1,5E+05	2,2E+05
6	Hoofdleiding	<120	<200	6,3E+04	<200	<1,0E+03	2,7E+05	2,6E+05
	Keukenkraan met waterm	<110	<180	5,2E+06	<180	<900	1,9E+05	3,1E+05
	Keukenkraan met passtuk	<120	<200	1,5E+05	<200	<1,0E+03	1,8E+05	2,9E+05
	Watermeter	<120	<190	2,8E+04	<190	<970	1,6E+05	2,5E+05
	Hoofdleiding	<130	<220	2,3E+04	<220	<1,1E+03	1,7E+05	2,9E+05

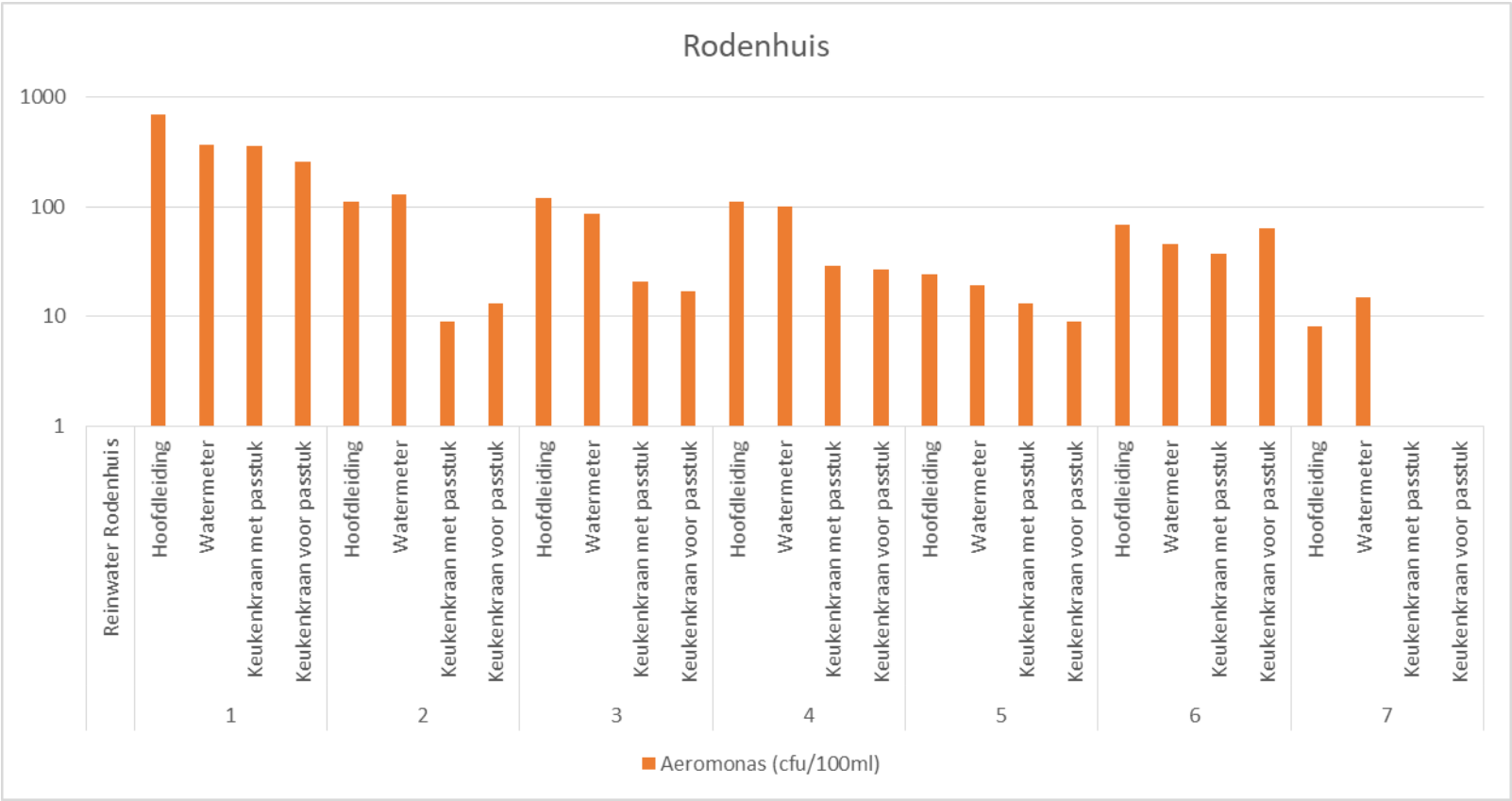
7	Keukenkraan met waterm	<120	<200	1,8E+07	<200	<1,0E+03	1,7E+05	3,6E+05
	Keukenkraan met passtuk	<120	<200	1,8E+07	<200	<990	1,5E+05	3,8E+05
	Watermeter	<110	<180	2,0E+05	<180	<900	1,9E+05	2,9E+05
	Hoofdleiding	<130	<220	4,2E+04	<220	<1,1E+03	1,7E+05	3,7E+05
8	Keukenkraan met waterm	<120	<200	9,0E+05	<200	<1,0E+03	9,4E+04	4,6E+05
	Keukenkraan met passtuk	<130	<210	8,9E+05	<210	<1,0E+03	8,7E+04	4,0E+05
	Watermeter	<120	<200	8,4E+04	<200	<990	6,3E+04	4,0E+05
	Hoofdleiding	<130	<210	1,0E+05	<210	<1,1E+03	6,9E+04	4,6E+05

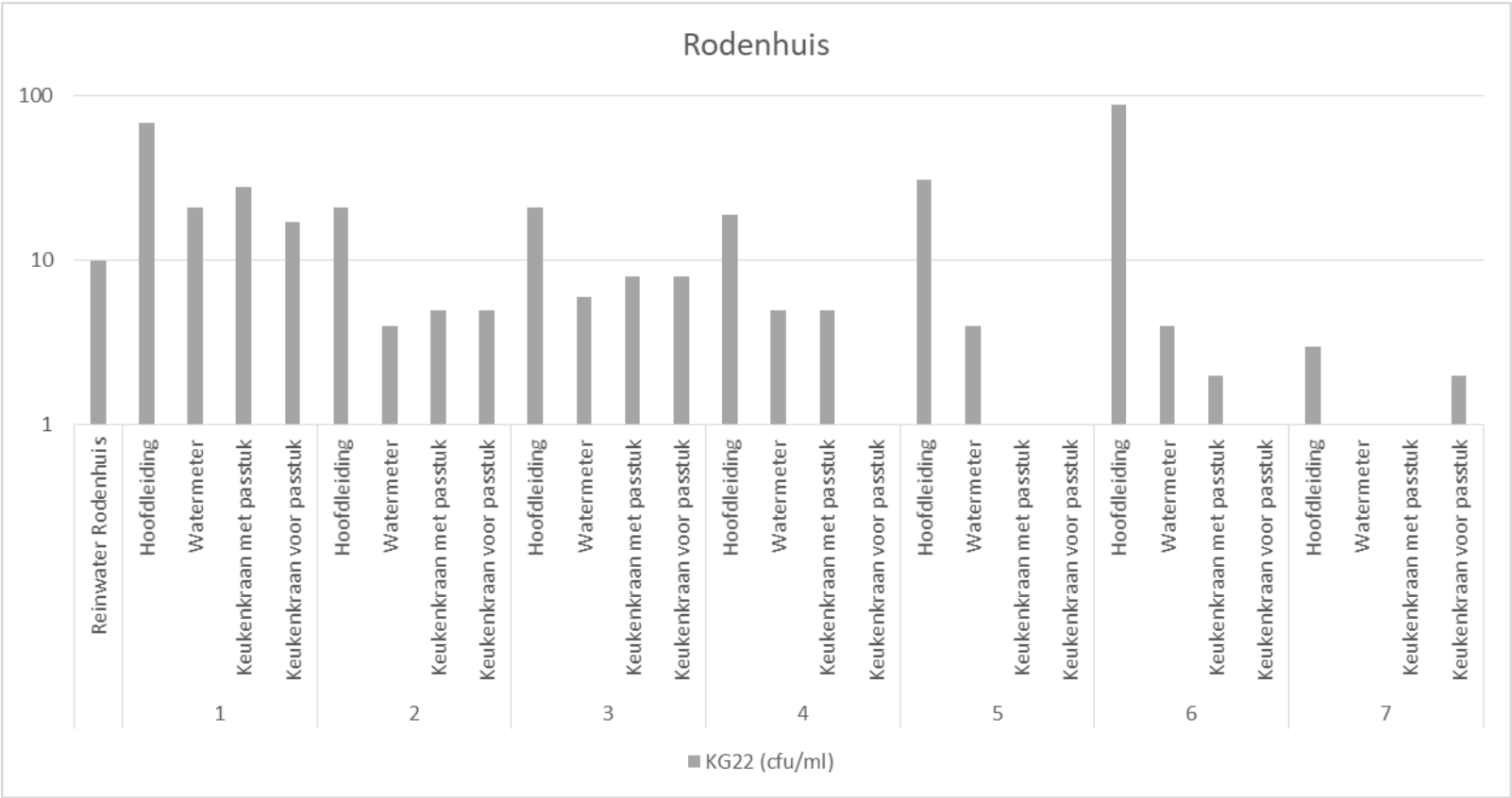
Productielocatie Rodenhuis

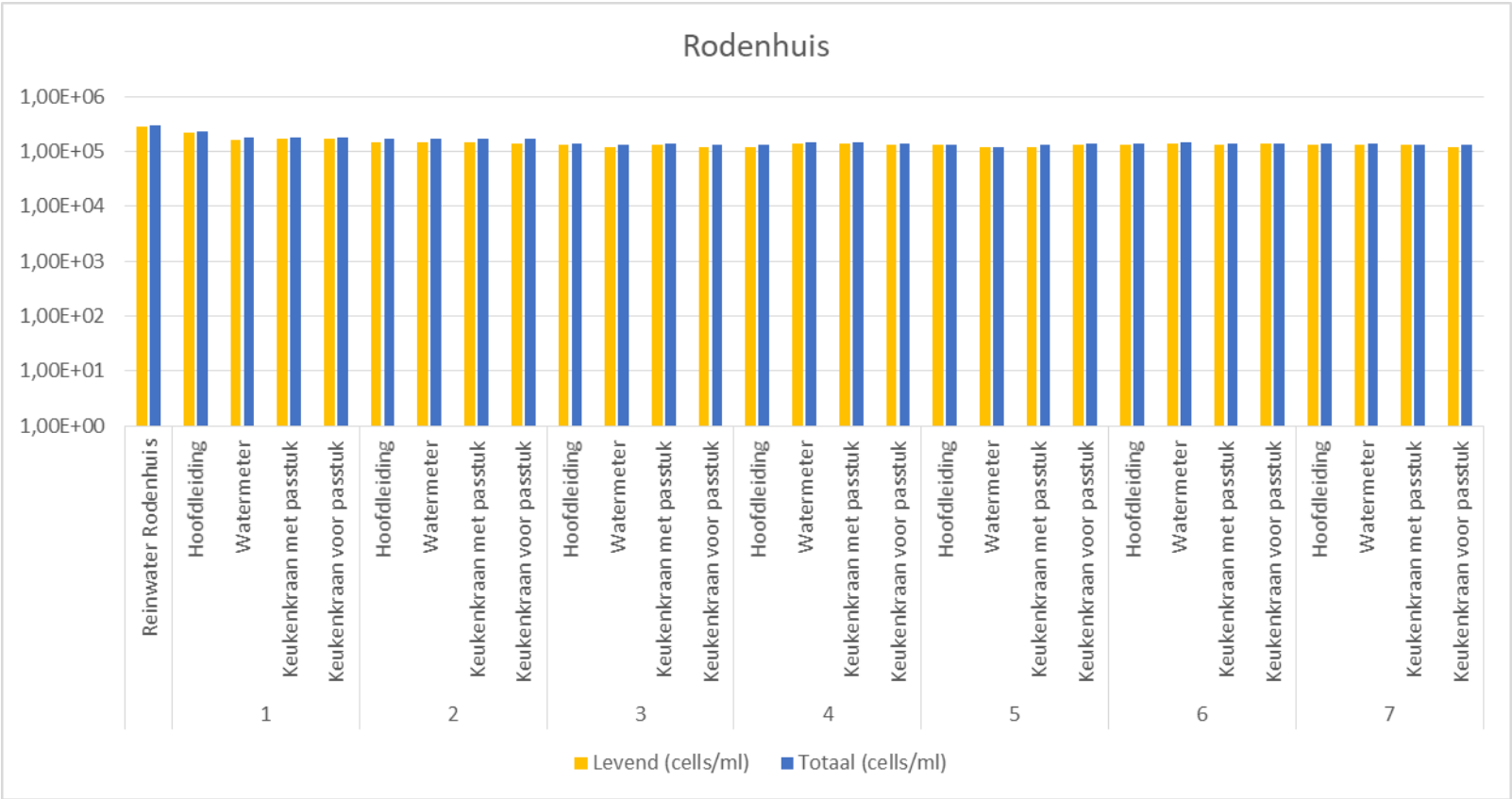
Locatie	Monsterpunt	ATP (pg/ml)	ATP stdev	Aeromonas (kve/100ml)	Legionella (kve/l)	KG22 (kve/ml)	FCM (cellen/ml)		
							levend	dood	totaal
1	Reinwater Rodenhuis	3,9	0	1	<100	10	2,80E+05	1,40E+04	3,00E+05
	Hoofdleiding	4	1,3	700	<100	69	2,20E+05	1,10E+04	2,30E+05
	Watermeter	3,3	0,15	370	<100	21	1,60E+05	1,50E+04	1,80E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,8	0	360	<100	28	1,70E+05	1,30E+04	1,80E+05
2	Keukenkraan voor passtuk	3,5	0,3	260	<100	17	1,70E+05	1,50E+04	1,80E+05
	Hoofdleiding	3,9	0,59	110	<100	21	1,50E+05	1,20E+04	1,70E+05
	Watermeter	3,1	1	130	<100	4	1,50E+05	1,70E+04	1,70E+05
	Keukenkraan na passtuk	3,8	0,44	9	<100	5	1,50E+05	2,20E+04	1,70E+05
3	Keukenkraan voor passtuk	2,6	0,3	13	<100	5	1,40E+05	2,20E+04	1,70E+05
	Hoofdleiding	3,6	0,44	120	<100	21	1,30E+05	6,80E+03	1,40E+05
	Watermeter	3,2	0,3	86	<100	6	1,20E+05	7,00E+03	1,30E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,8	0	21	<100	8	1,30E+05	1,20E+04	1,40E+05
4	Keukenkraan voor passtuk	2,6	0,3	17	<100	8	1,20E+05	1,10E+04	1,30E+05
	Hoofdleiding	3,1	0,44	110	<100	19	1,20E+05	6,20E+03	1,30E+05
	Watermeter	4	1	100	<100	5	1,40E+05	7,10E+03	1,50E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,8	0	29	400	5	1,40E+05	9,80E+03	1,50E+05
5	Keukenkraan voor passtuk	8,3	0,3	27	100	1	1,30E+05	1,10E+04	1,40E+05
	Hoofdleiding	2,9	0,15	24	<100	31	1,30E+05	4,40E+03	1,30E+05
	Watermeter	3,2	0,59	19	<100	4	1,20E+05	4,80E+03	1,20E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,8	0,3	13	<100	<1	1,20E+05	7,50E+03	1,30E+05
6	Keukenkraan voor passtuk	3,2	0,89	9	<100	1	1,30E+05	9,40E+03	1,40E+05
	Hoofdleiding	3,2	0,3	68	<100	88	1,30E+05	6,80E+03	1,40E+05

7	Watermeter	3	0,59	46	<100	4	1,40E+05	7,80E+03	1,50E+05
	Keukenkraan na passtuk	3,1	0,74	37	<100	2	1,30E+05	7,00E+03	1,40E+05
	Keukenkraan voor passtuk	3,2	0,89	63	<100	1	1,40E+05	7,40E+03	1,40E+05
	Hoofdleiding	3,6	0,44	8	<100	3	1,30E+05	5,90E+03	1,40E+05
	Watermeter	3,2	0,3	15	<100	<1	1,30E+05	5,70E+03	1,40E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,3	1	1	<100	1	1,30E+05	8,90E+03	1,30E+05
	Keukenkraan voor passtuk	3,7	0,59	1	<100	2	1,20E+05	9,10E+03	1,30E+05









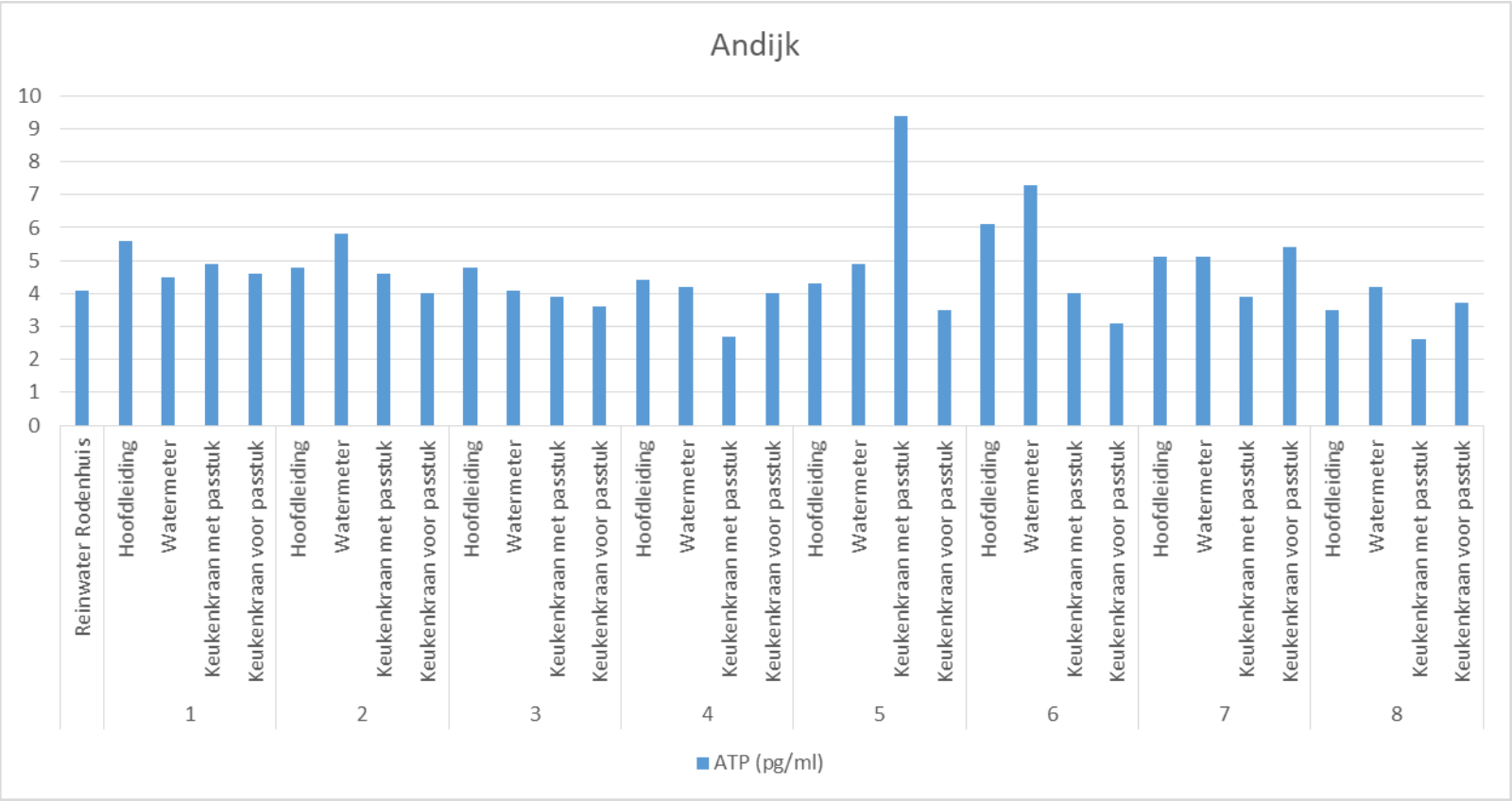
Locatie	Monsterpunt	<i>L. pneumophila</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium spp.</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>Legionella spp.</i>	<i>Hyphomicrobium</i>
1	Reinwater	<190	<320	2,9E+04	<320	<1,6E+03	4,5E+04	1,3E+06
	Keukenkraan met waterm	<180	<300	1,1E+05	<300	<1,5E+03	6,3E+04	1,0E+06
	Keukenkraan met passtuk	<160	<270	1,2E+05	<270	<1,4E+03	8,3E+04	9,9E+05
	Watermeter	<200	<330	9,9E+04	<330	<1,6E+03	6,3E+04	9,8E+05
2	Hoofdleiding	<200	<340	1,6E+05	<340	<1,7E+03	4,7E+04	1,1E+06
	Keukenkraan met waterm	<180	<290	6,1E+05	<290	<1,5E+03	8,2E+04	9,7E+05
	Keukenkraan met passtuk	R te laag	R te laag	Aangetoond	R te laag	R te laag	Aangetoond	Aangetoond
	Watermeter	<170	<280	1,7E+05	<280	<1,4E+03	6,2E+04	9,0E+05
3	Hoofdleiding	<170	<280	1,3E+05	<280	<1,4E+03	1,1E+05	1,2E+06
	Keukenkraan met waterm	<160	<270	7,0E+04	<270	<1,4E+03	9,5E+04	1,0E+06
	Keukenkraan met passtuk	<160	<270	7,2E+04	<270	<1,3E+03	4,9E+04	8,9E+05
	Watermeter	<170	<280	6,1E+04	<280	<1,4E+03	8,6E+04	9,7E+05
4	Hoofdleiding	<160	<260	6,4E+04	<260	<1,3E+03	4,8E+04	9,2E+05
	Keukenkraan met waterm	<150	<260	9,6E+04	<260	<1,3E+03	1,1E+05	6,3E+05
	Keukenkraan met passtuk	<150	<250	3,7E+05	<250	<1,2E+03	1,2E+05	6,4E+05
	Watermeter	<150	<260	1,4E+05	<260	<1,3E+03	1,6E+05	7,2E+05
5	Hoofdleiding	<200	<330	1,4E+05	<330	<1,6E+03	9,8E+04	9,9E+05
	Keukenkraan met waterm	<150	<250	8,0E+04	<250	<1,3E+03	7,7E+04	6,4E+05
	Keukenkraan met passtuk	<140	<230	3,5E+05	<230	<1,2E+03	1,0E+05	7,1E+05
	Watermeter	<150	<240	1,0E+05	<240	<1,2E+03	8,5E+04	6,5E+05
6	Hoofdleiding	<190	<320	7,7E+04	<320	<1,6E+03	5,0E+03	7,3E+05
	Keukenkraan met waterm	170*	<220	1,0E+05	<220	<1,1E+03	8,9E+04	6,4E+05
	Keukenkraan met passtuk	<150	<250	8,9E+05	<250	<1,3E+03	3,3E+04	7,7E+05
	Watermeter	<140	<230	8,1E+04	<230	<1,1E+03	8,3E+04	6,5E+05
	Hoofdleiding	<150	<250	9,8E+04	<250	<1,3E+03	4,9E+04	6,9E+05

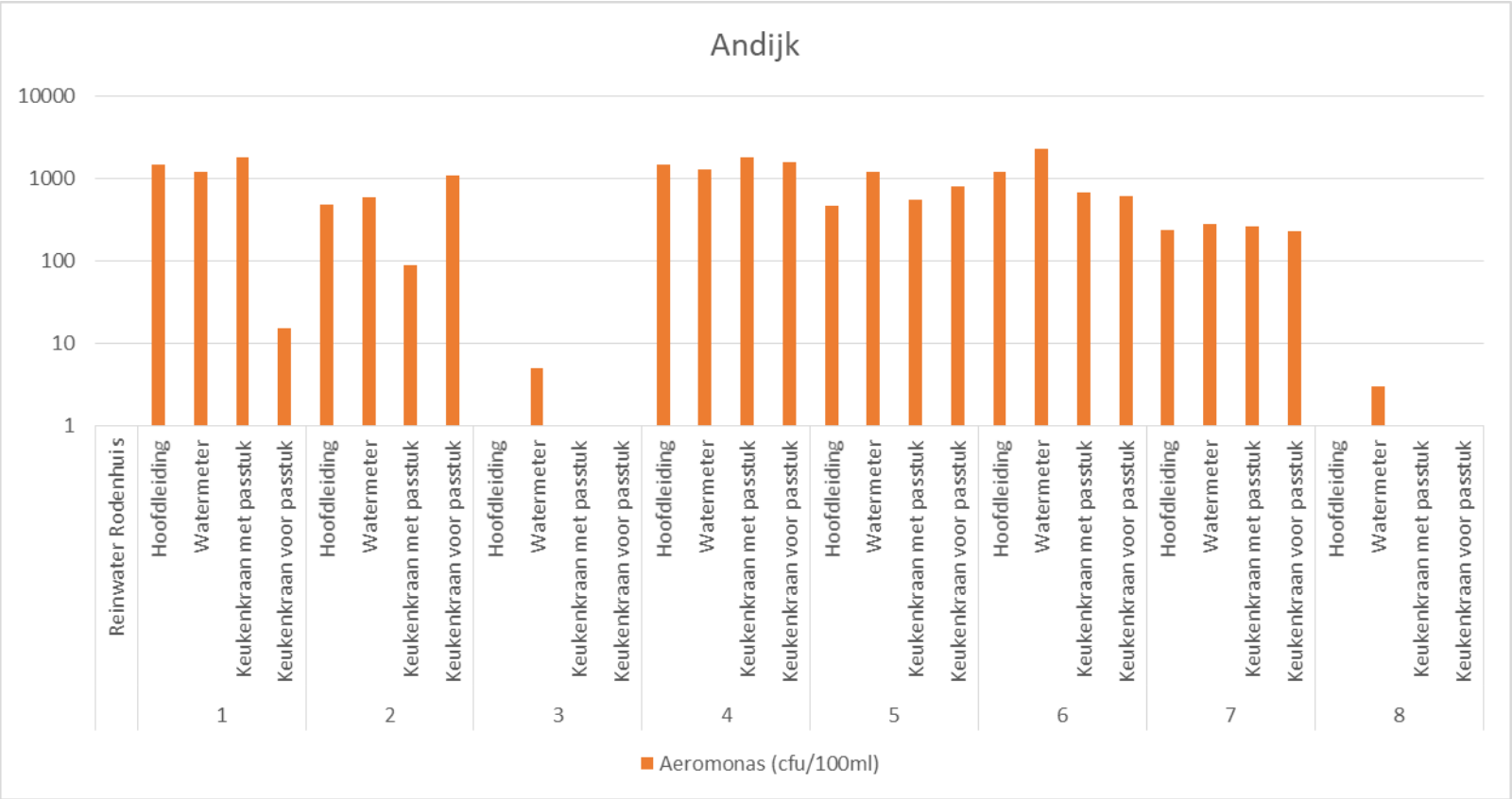
7	Keukenkraan met waterm	<150	<250	9,8E+04	<250	<1,3E+03	8,2E+04	6,4E+05
	Keukenkraan met passtuk	<150	<250	1,2E+05	<250	<1,3E+03	6,8E+04	7,3E+05
	Watermeter	<160	<270	7,3E+04	<270	<1,3E+03	5,9E+04	6,2E+05
	Hoofdleiding	<170	<280	6,7E+04	<280	<1,4E+03	6,2E+04	6,5E+05

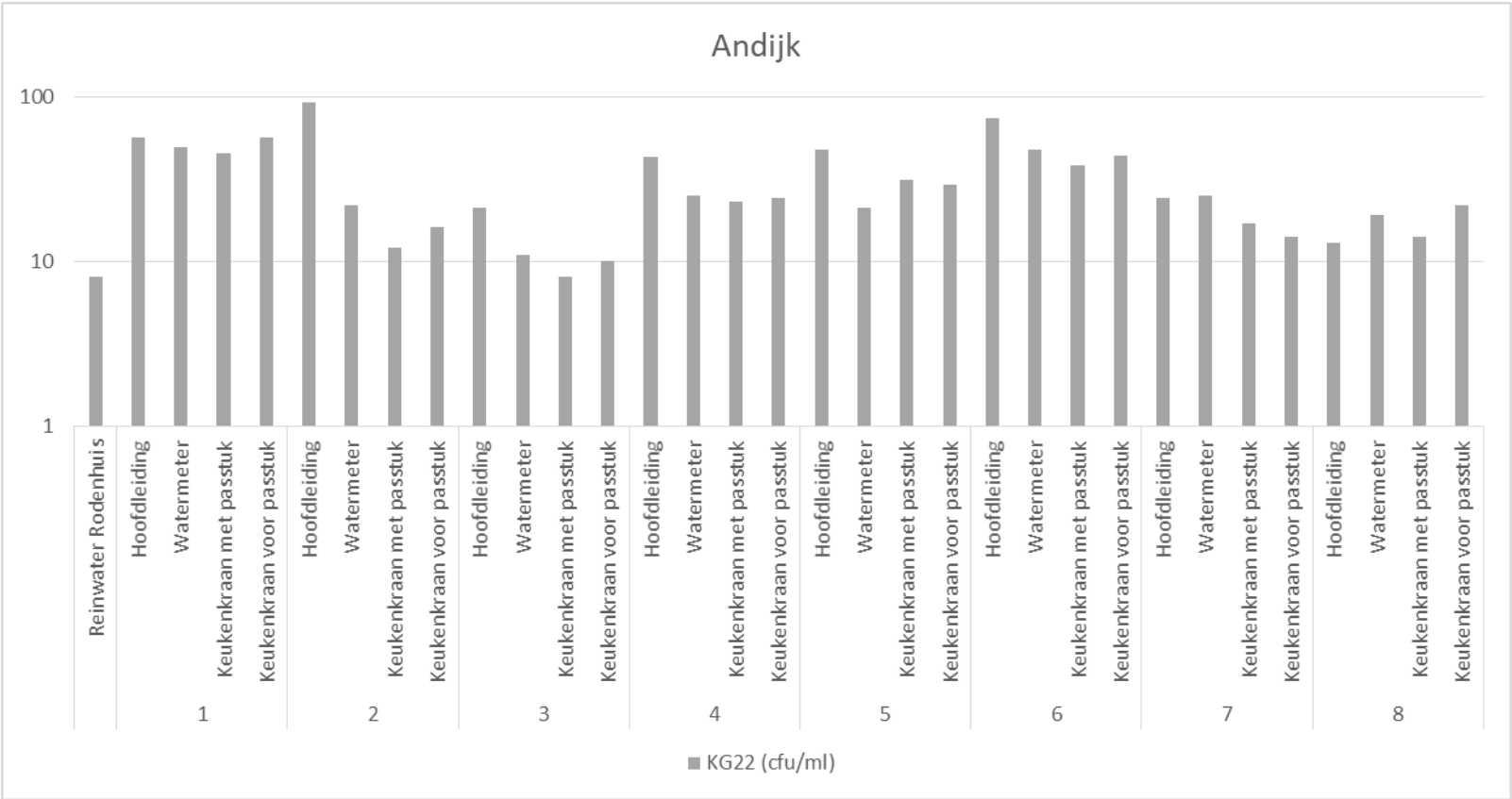
Productielocatie Andijk

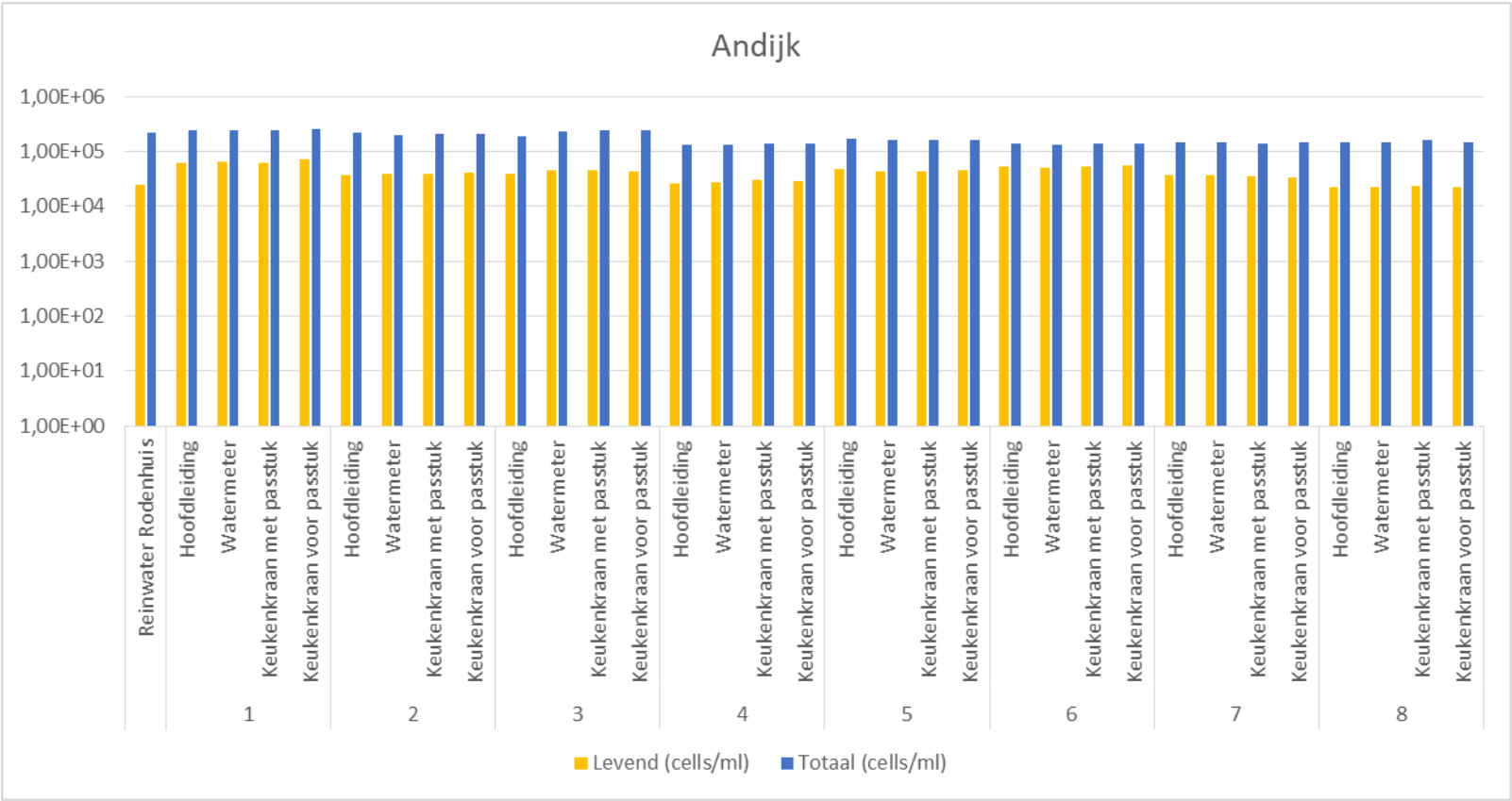
Locatie	Monsterpunt	ATP (pg/ml)	ATP stdev	Aeromonas (kve/100ml)	Legionella (kve/l)	KG22 (kve/ml)	FCM (cellen/ml)		
							levend	dood	totaal
1	Reinwater	4,1	0,59	<1	<100	8	2,50E+04	2,00E+05	2,20E+05
	Hoofdleiding	5,6	0,15	1500	<100	56	6,20E+04	1,80E+05	2,50E+05
	Watermeter	4,5	0	1200	<100	49	6,60E+04	1,80E+05	2,40E+05
	Keukenkraan na passtuk	4,9	0,59	1800	<100	45	6,30E+04	1,80E+05	2,40E+05
2	Keukenkraan voor passtuk	4,6	0,74	15	<100	56	7,10E+04	1,90E+05	2,60E+05
	Hoofdleiding	4,8	0,44	490	<100	93	3,80E+04	1,80E+05	2,20E+05
	Watermeter	5,8	1,2	600	<100	22	3,90E+04	1,60E+05	2,00E+05
	Keukenkraan na passtuk	4,6	0,15	90	<100	12	4,00E+04	1,70E+05	2,10E+05
3	Keukenkraan voor passtuk	4	0,15	1100	<100	16	4,10E+04	1,70E+05	2,10E+05
	Hoofdleiding	4,8	0,15	1	<100	21	4,00E+04	1,50E+05	1,90E+05
	Watermeter	4,1	0,3	5	<100	11	4,50E+04	1,90E+05	2,30E+05
	Keukenkraan na passtuk	3,9	0	<1	<100	8	4,60E+04	2,00E+05	2,40E+05
4	Keukenkraan voor passtuk	3,6	0,15	<1	<100	10	4,30E+04	2,00E+05	2,50E+05
	Hoofdleiding	4,4	0,44	1500	<100	43	2,60E+04	1,00E+05	1,30E+05
	Watermeter	4,2	0,15	1300	<100	25	2,70E+04	1,00E+05	1,30E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,7	0,44	1800	<100	23	3,00E+04	1,10E+05	1,40E+05
5	Keukenkraan voor passtuk	4	0,44	1600	<100	24	2,90E+04	1,10E+05	1,40E+05
	Hoofdleiding	4,3	0,3	460	<100	48	4,90E+04	1,20E+05	1,70E+05
	Watermeter	4,9	0,3	1200	<100	21	4,40E+04	1,10E+05	1,60E+05
	Keukenkraan na passtuk	9,4	3,1	550	<100	31	4,30E+04	1,10E+05	1,60E+05
6	Keukenkraan voor passtuk	3,5	0,59	800	<100	29	4,50E+04	1,10E+05	1,60E+05
	Hoofdleiding	6,1	0,15	1200	<100	74	5,30E+04	8,80E+04	1,40E+05

7	Watermeter	7,3	3,4	2300	<100	48	5,10E+04	8,10E+04	1,30E+05
	Keukenkraan na passtuk	4	0,15	670	<100	38	5,20E+04	9,10E+04	1,40E+05
	Keukenkraan voor passtuk	3,1	0,15	620	<100	44	5,50E+04	8,90E+04	1,40E+05
	Hoofdleiding	5,1	0,59	240	<100	24	3,70E+04	1,10E+05	1,50E+05
8	Watermeter	5,1	0	280	<100	25	3,70E+04	1,20E+05	1,50E+05
	Keukenkraan na passtuk	3,9	0	260	<100	17	3,60E+04	1,10E+05	1,40E+05
	Keukenkraan voor passtuk	5,4	0,44	230	<100	14	3,30E+04	1,10E+05	1,50E+05
	Hoofdleiding	3,5	0,59	<1	<100	13	2,20E+04	1,30E+05	1,50E+05
	Watermeter	4,2	0,15	3	<100	19	2,20E+04	1,30E+05	1,50E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,6	0	<1	<100	14	2,40E+04	1,40E+05	1,60E+05
	Keukenkraan voor passtuk	3,7	0,3	<1	<100	22	2,20E+04	1,30E+05	1,50E+05









Locatie	Monsterpunt	<i>L. pneumophila</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium spp.</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>Legionella spp.</i>	<i>Hyphomicrobium</i>
1	Reinwater	240*	<250	8,5E+04	<250	<1,2E+03	2,2E+05	9,1E+05
	Keukenkraan met waterm	R te laag	R te laag	Aangetoond	R te laag	R te laag	Aangetoond	Aangetoond
	Keukenkraan met passtuk	<170	<280	1,4E+06	<280	<1,4E+03	7,6E+05	2,0E+06
	Watermeter	<160	<270	1,1E+06	<270	<1,3E+03	8,1E+05	2,3E+06
2	Hoofdleiding	<160	<270	1,2E+06	<270	<1,3E+03	7,3E+05	2,4E+06
	Keukenkraan met waterm	<160	<270	1,1E+06	<270	<1,4E+03	6,7E+05	2,0E+06
	Keukenkraan met passtuk	<160	<270	3,3E+06	<270	<1,3E+03	7,3E+05	1,9E+06
	Watermeter	<150	<260	1,1E+06	<260	<1,3E+03	8,7E+05	2,4E+06
3	Hoofdleiding	<170	<290	1,6E+06	<290	<1,4E+03	5,6E+05	2,3E+06
	Keukenkraan met waterm	<170	<290	1,5E+06	<290	<1,5E+03	8,9E+05	2,8E+06
	Keukenkraan met passtuk	<170	<280	1,8E+06	<280	<1,4E+03	7,7E+05	2,7E+06
	Watermeter	<170	<290	1,6E+06	<290	<1,4E+03	9,4E+05	2,9E+06
4	Hoofdleiding	<140	<240	1,5E+06	<240	<1,2E+03	1,1E+06	2,8E+06
	Keukenkraan met waterm	<160	<270	9,3E+05	<270	<1,3E+03	9,4E+05	2,1E+06
	Keukenkraan met passtuk	<110	<190	9,8E+05	<190	<950	7,2E+05	1,7E+06
	Watermeter	<130	<220	8,6E+05	<220	<1,1E+03	6,8E+05	1,6E+06
5	Hoofdleiding	<130	<220	8,3E+05	<220	<1,1E+03	6,7E+05	1,5E+06
	Keukenkraan met waterm	<140	<240	8,8E+05	<240	<1,2E+03	1,3E+06	2,1E+06
	Keukenkraan met passtuk	<140	<230	1,6E+06	<230	<1,2E+03	2,0E+06	2,5E+06
	Watermeter	<130	<220	1,0E+06	<220	<1,1E+03	1,3E+06	2,1E+06
6	Hoofdleiding	<130	<220	8,9E+05	<220	<1,1E+03	1,2E+06	1,9E+06
	Keukenkraan met waterm	<130	<220	1,6E+06	<220	<1,1E+03	9,1E+05	2,5E+06
	Keukenkraan met passtuk	<150	<260	1,3E+06	<260	<1,3E+03	7,6E+05	2,2E+06
	Watermeter	<130	<220	1,4E+06	<220	<1,1E+03	9,4E+05	2,7E+06
	Hoofdleiding	<140	<230	2,1E+06	<230	<1,1E+03	7,6E+05	2,4E+06

7	Keukenkraan met waterm	<130	<210	3,0E+07	<210	<1,1E+03	8,3E+05	1,7E+06
	Keukenkraan met passtuk	<130	<220	1,0E+06	<220	<1,1E+03	5,5E+05	2,0E+06
	Watermeter	<130	<210	8,9E+05	<210	<1,0E+03	6,4E+05	2,1E+06
	Hoofdleiding	<130	<220	1,0E+06	<220	<1,1E+03	6,8E+05	2,3E+06
8	Keukenkraan met waterm	<130	<220	2,3E+06	<220	<1,1E+03	4,6E+05	4,8E+06
	Keukenkraan met passtuk	<140	<230	1,6E+06	<230	<1,2E+03	4,5E+05	5,5E+06
	Watermeter	<140	<240	1,7E+06	<240	<1,2E+03	4,1E+05	4,4E+06
	Hoofdleiding	<140	<230	1,8E+06	<230	<1,2E+03	4,4E+05	4,9E+06

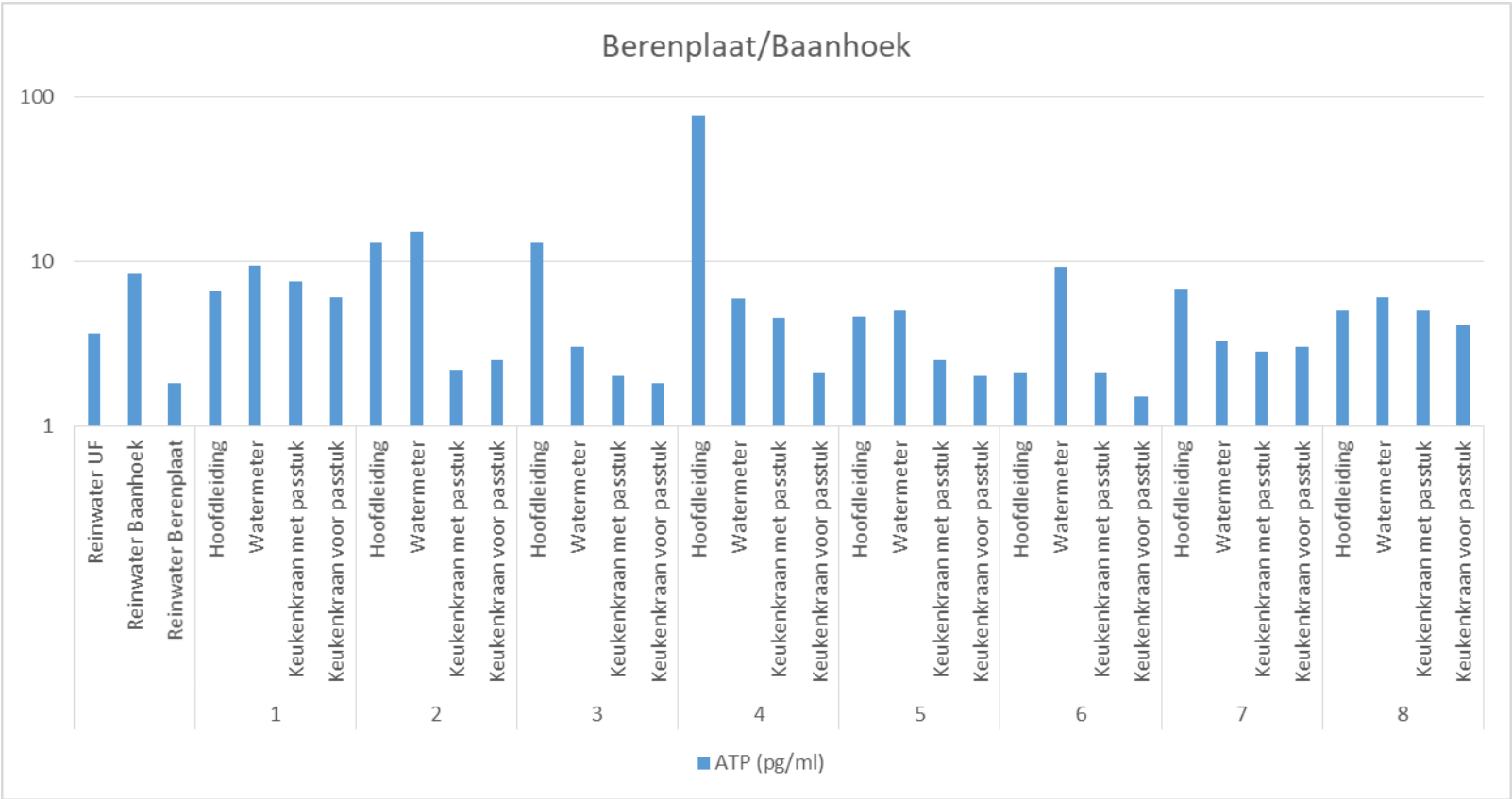
* concentratie is indicatief

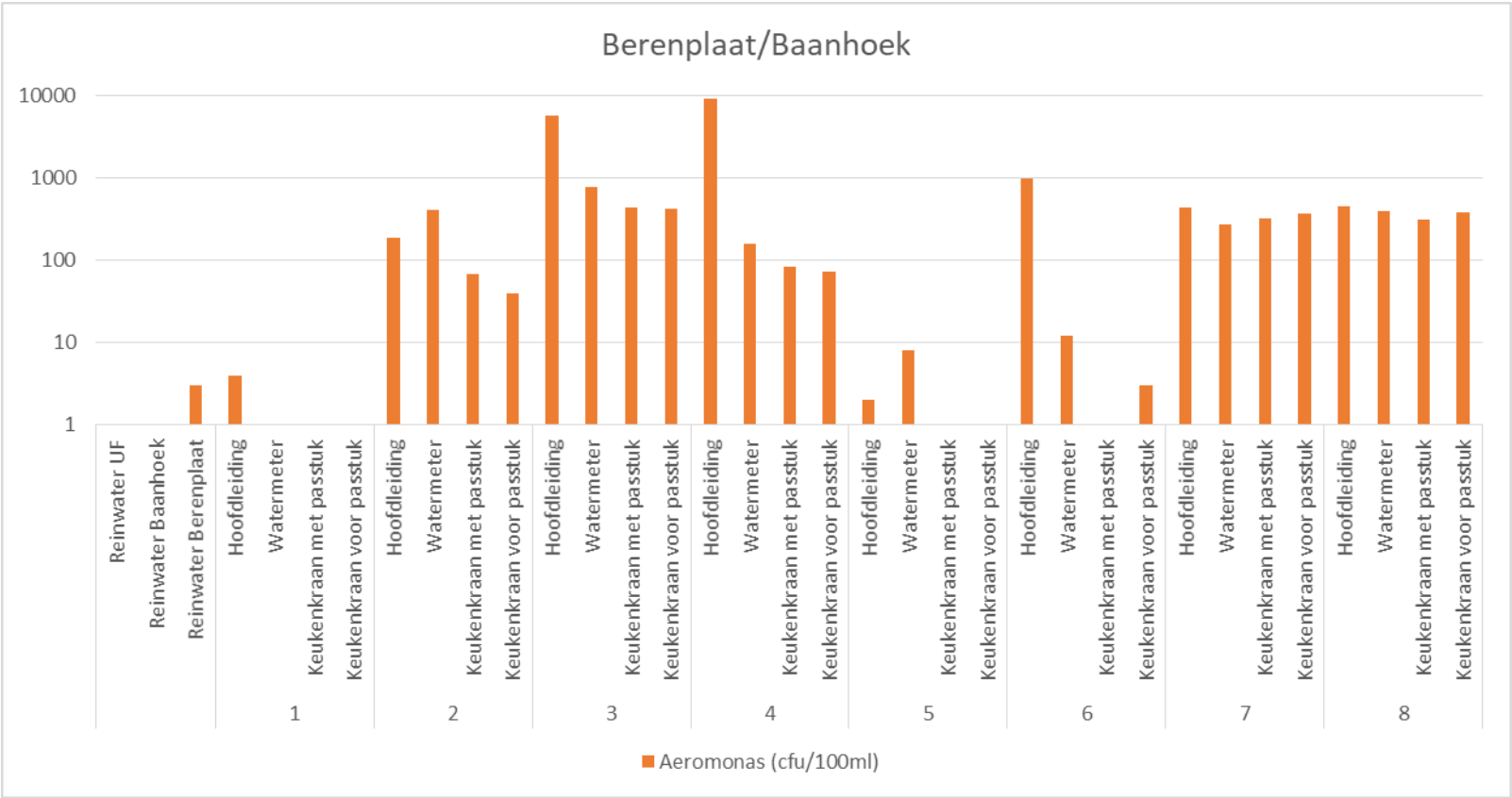
Productielocatie Berenplaat/Baanhoek/UF

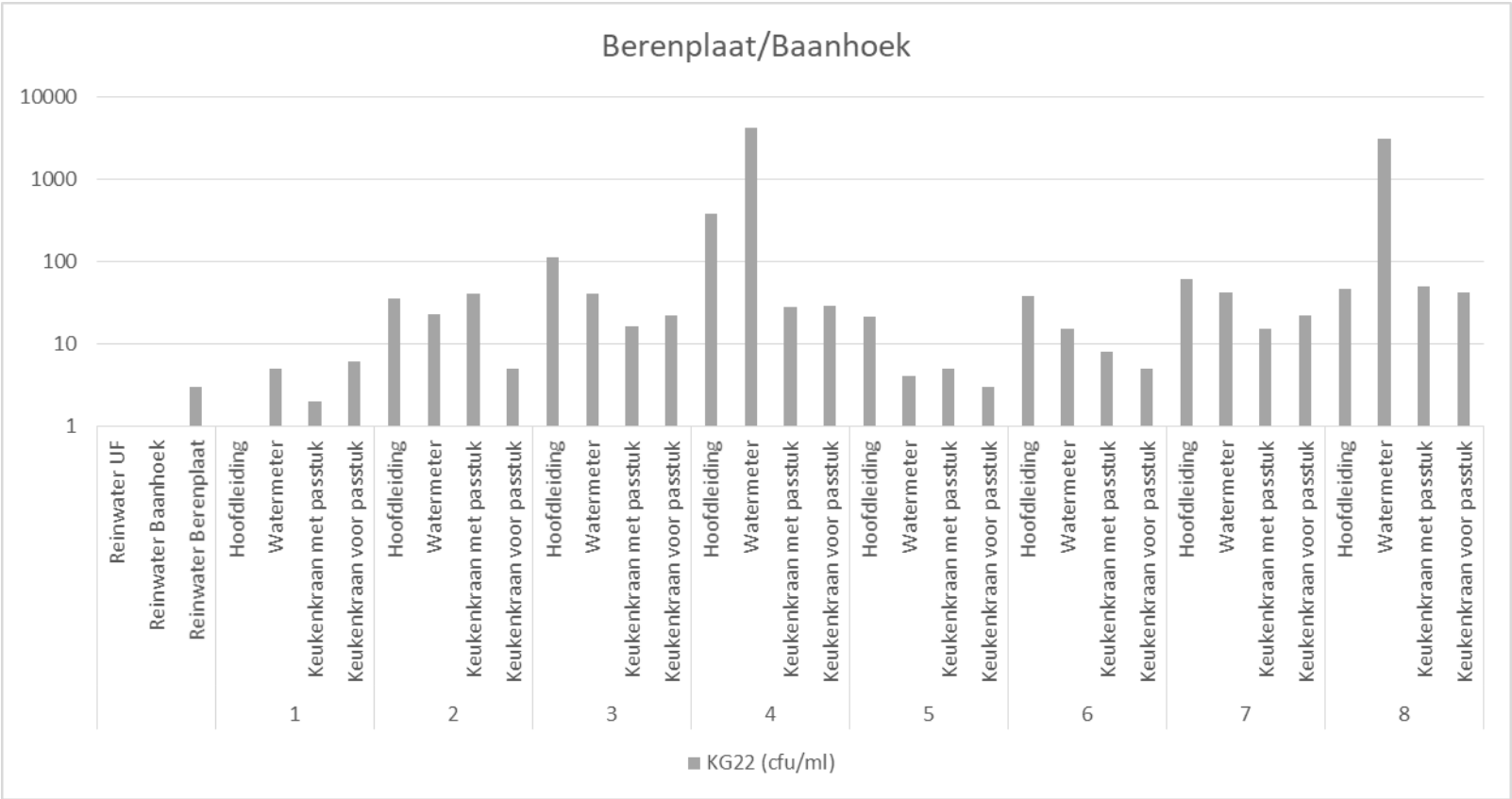
Locatie	Monsterpunt	ATP (pg/ml)	ATP stdev	Aeromonas (kve/100ml)	Legionella (kve/l)	KG22 (kve/ml)	FCM (cellen/ml)		
							levend	dood	totaal
1	Reinwater UF	3,6	0	1	<100	1	6,40E+03	2,00E+03	8,40E+03
	Reinwater Baanhoek	8,4	0,3	<1	<100	1	1,60E+05	8,00E+05	9,60E+05
	Reinwater Berenplaat	1,8	0,44	3	<100	3	5,90E+05	7,40E+05	1,30E+06
	Hoofdleiding	6,6	0,15	4	<100	1	5,80E+04	9,70E+03	6,70E+04
	Watermeter	9,4	2,1	1	<100	5	6,20E+04	1,10E+04	7,30E+04
	Keukenkraan na passtuk	7,5	3,8	1	<100	2	5,40E+04	9,70E+03	6,30E+04
2	Keukenkraan voor passtuk	6	0,44	<1	<100	6	5,70E+04	1,10E+04	6,80E+04
	Hoofdleiding	13	0,74	190	<100	35	8,60E+04	1,90E+04	1,10E+05
	Watermeter	15	0,44	410	<100	23	1,10E+05	3,30E+04	1,40E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,2	0,15	68	<100	40	9,30E+04	2,60E+04	1,20E+05
3	Keukenkraan voor passtuk	2,5	0	40	<100	5	8,80E+04	2,50E+04	1,10E+05
	Hoofdleiding	13	0,74	5800	<100	110	1,30E+05	1,40E+05	2,70E+05
	Watermeter	3	0,74	770	<100	40	1,40E+05	1,50E+05	2,90E+05
	Keukenkraan na passtuk	2	0,15	440	<100	16	1,40E+05	1,60E+05	2,90E+05
4	Keukenkraan voor passtuk	1,8	0,15	430	<100	22	1,10E+05	1,80E+05	2,90E+05
	Hoofdleiding	77	1,2	9300	NO	380	2,30E+05	2,50E+05	4,70E+05
	Watermeter	5,9	1,8	160	NO	4,20E+03	1,20E+05	1,70E+05	2,80E+05
	Keukenkraan na passtuk	4,5	0,74	84	<100	28	1,30E+05	1,60E+05	2,90E+05
5	Keukenkraan voor passtuk	2,1	0,89	72	<100	29	1,20E+05	1,60E+05	2,80E+05
	Hoofdleiding	4,6	0,3	2	<100	21	2,00E+05	6,20E+05	8,20E+05
	Watermeter	5	1,5	8	<100	4	1,90E+05	6,20E+05	8,10E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,5	0,3	<1	<100	5	1,60E+05	6,40E+05	8,00E+05

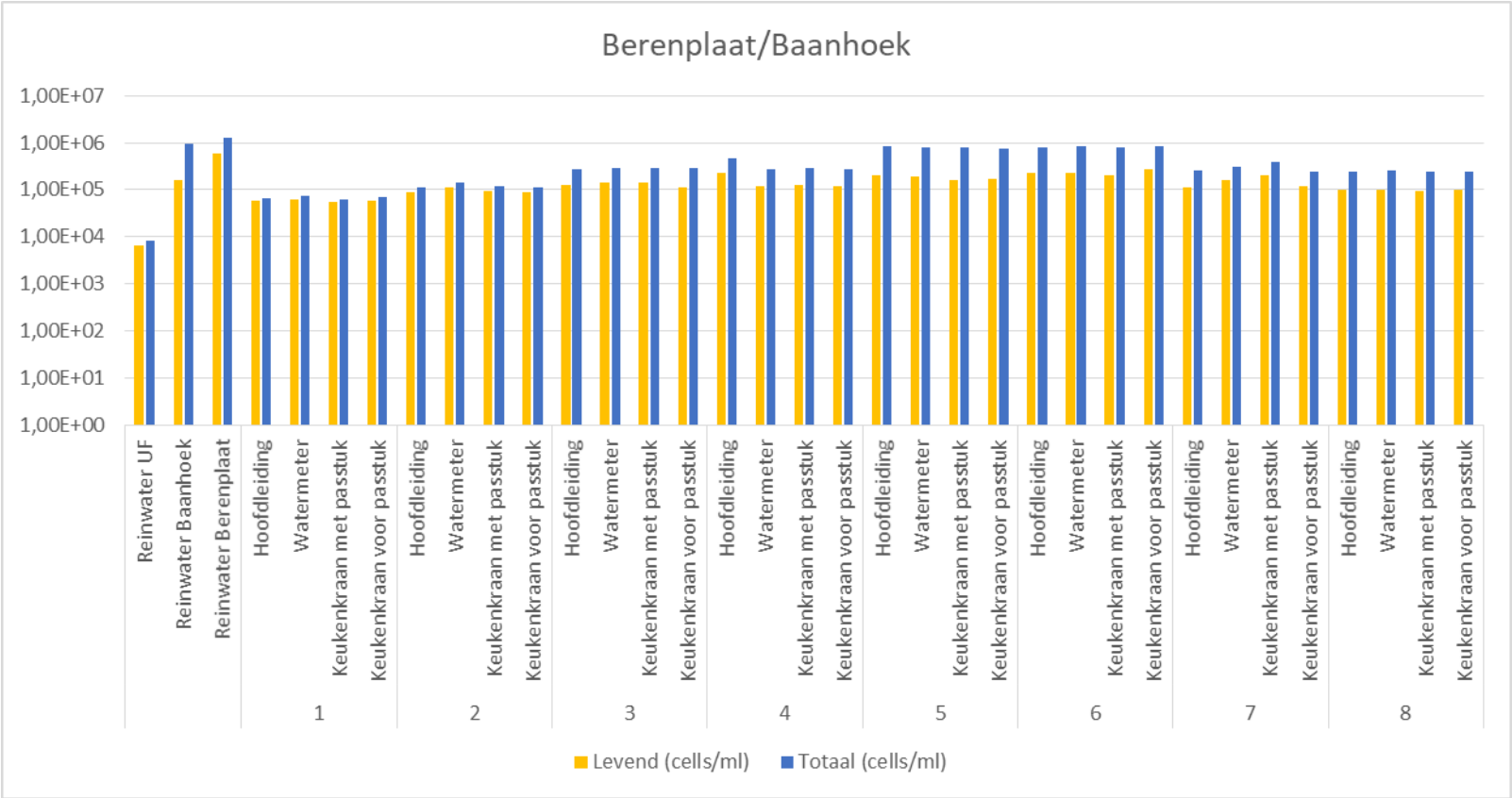
6	Keukenkraan voor passtuk	2	0,74	1	<100	3	1,70E+05	5,90E+05	7,60E+05
	Hoofdleiding	2,1	0	1000	<100	38	2,30E+05	5,70E+05	7,90E+05
	Watermeter	9,2	2,4	12	<100	15	2,30E+05	5,90E+05	8,20E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,1	1,2	<1	<100	8	2,00E+05	6,00E+05	8,00E+05
7	Keukenkraan voor passtuk	1,5	0,59	3	<100	5	2,80E+05	5,60E+05	8,40E+05
	Hoofdleiding	6,8	0,74	440	<100	60	1,10E+05	1,40E+05	2,50E+05
	Watermeter	3,3	0,3	270	<100	42	1,60E+05	1,40E+05	3,00E+05
	Keukenkraan na passtuk	2,8	0,74	320	<100	15	2,00E+05	1,80E+05	3,80E+05
8	Keukenkraan voor passtuk	3	1,3	370	<100	22	1,20E+05	1,20E+05	2,40E+05
	Hoofdleiding	5	0,59	450	<100	46	1,00E+05	1,40E+05	2,40E+05
	Watermeter	6	0,15	400	<100	3,10E+03	9,80E+04	1,60E+05	2,50E+05
	Keukenkraan na passtuk	5	0,59	310	<100	50	9,60E+04	1,40E+05	2,40E+05
	Keukenkraan voor passtuk	4,1	0,15	380	<100	41	9,90E+04	1,40E+05	2,40E+05

N0 = platen niet te beoordelen





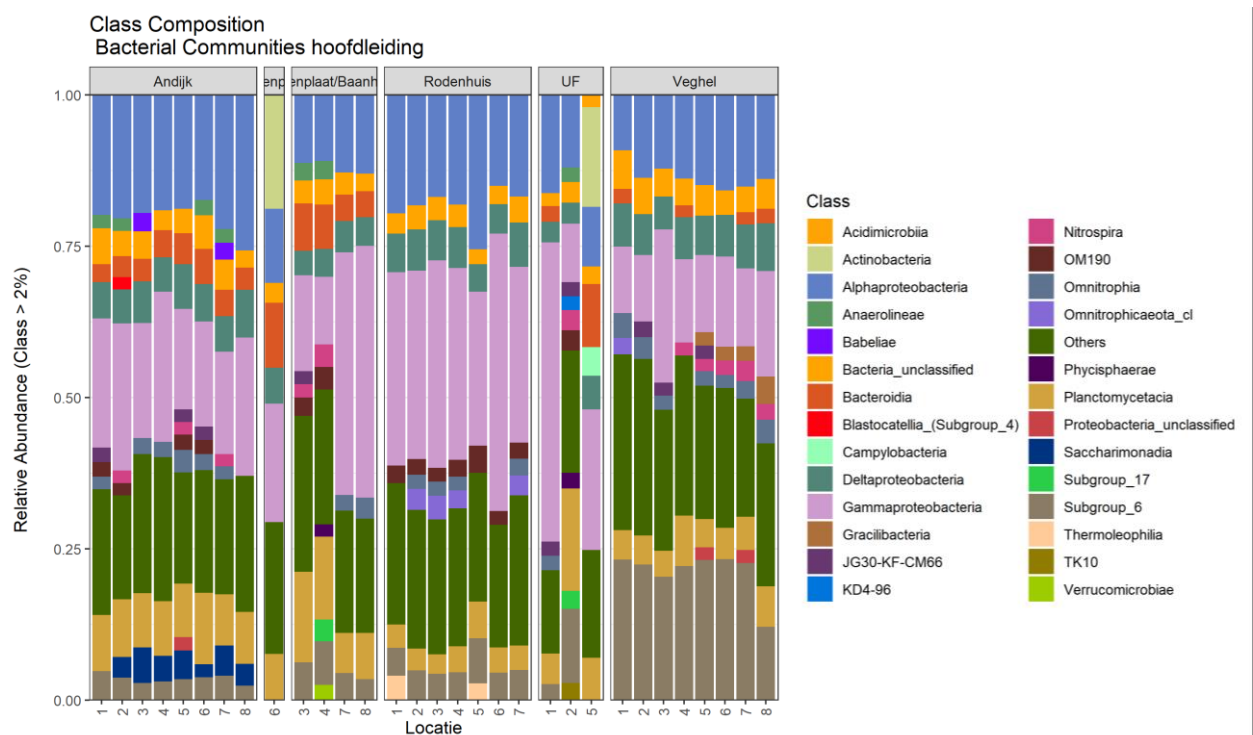
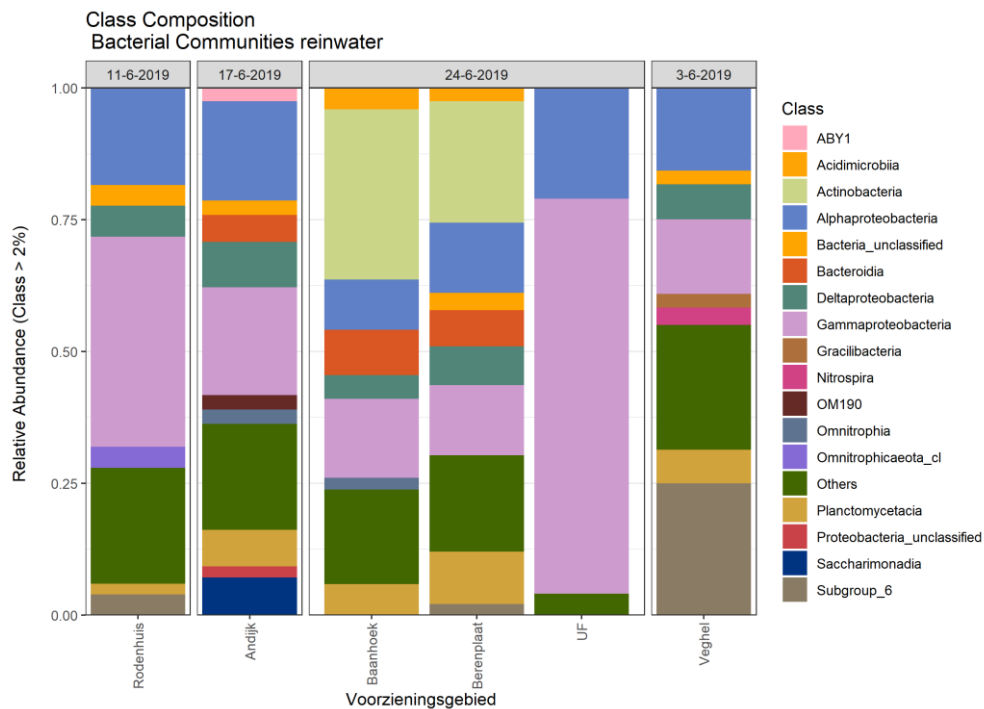


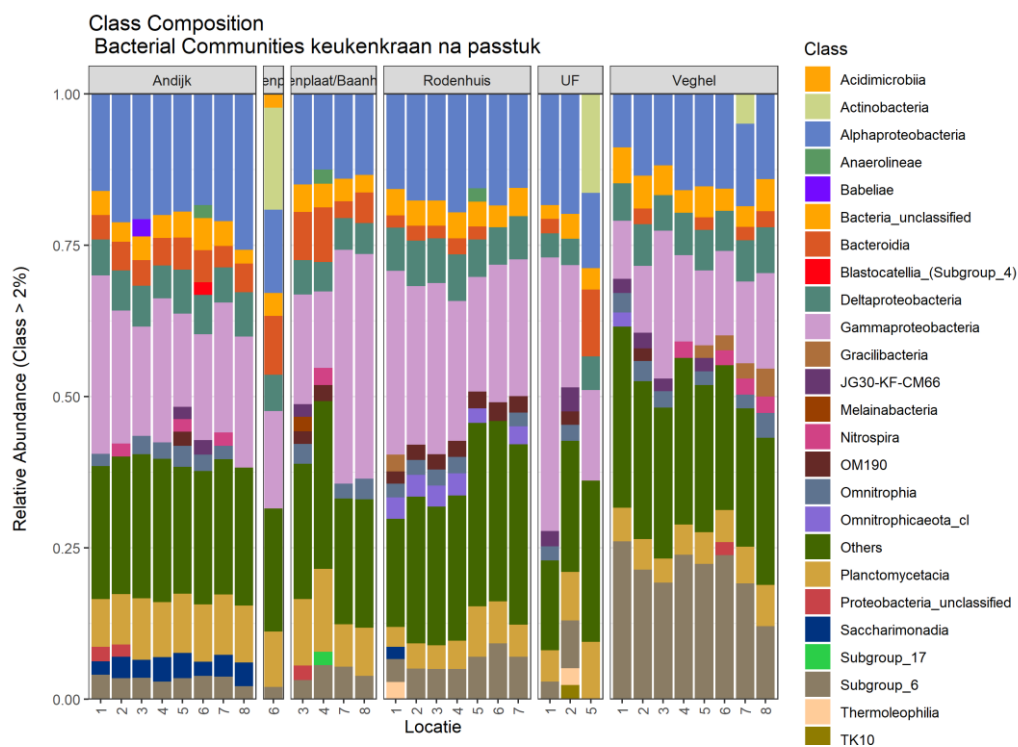
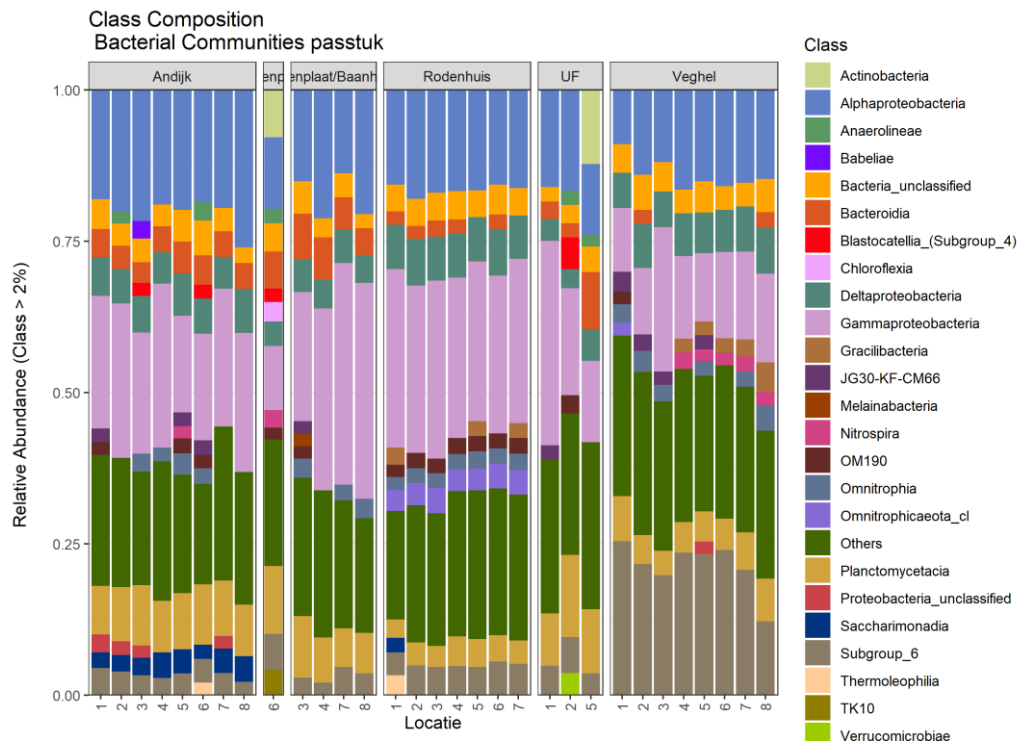


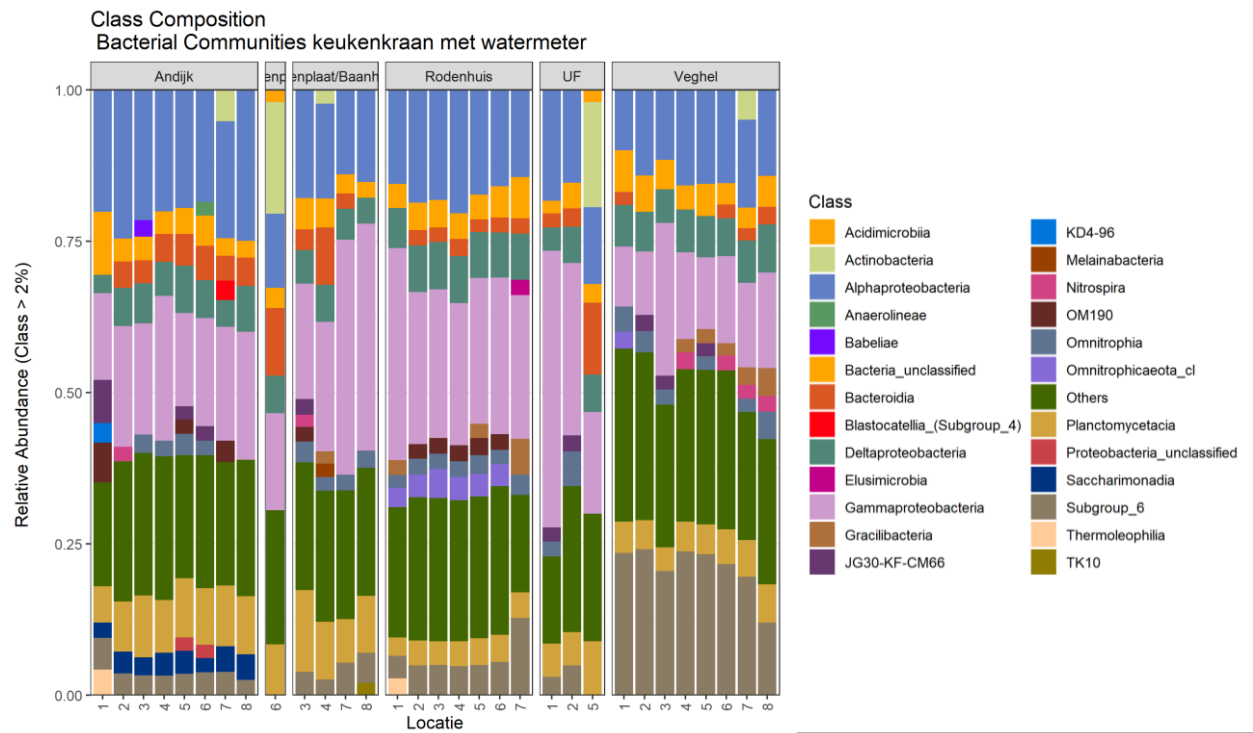
Locatie	Monsterpunt	<i>L. pneumophila</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium spp.</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>Legionella spp.</i>	<i>Hyphomicrobium</i>
1	Reinwater Hoeksche Waard	<120	<200	6,1E+04	<200	<1,0E+03	8,9E+03	8,4E+04
	Reinwater Baanhoek	<110	<190	1,4E+06	<190	<940	9,4E+04	1,2E+06
	Reinwater Berenplaat	<120	<200	7,5E+04	<200	<1,0E+03	1,3E+05	7,3E+05
	Keukenkraan met waterm	<120	<210	2,5E+05	<210	<1,0E+03	6,6E+04	7,5E+05
	Keukenkraan met passtuk	<110	<190	1,8E+05	400	<950	9,2E+04	8,0E+05
2	Watermeter	<120	<200	2,8E+06	<200	<1,0E+03	1,7E+05	1,2E+06
	Hoofdleiding	<130	<210	1,7E+05	<210	<1,1E+03	1,4E+05	8,0E+05
	Keukenkraan met waterm	<150	<250	6,0E+05	<250	<1,2E+03	2,5E+05	7,5E+05
	Keukenkraan met passtuk	<150	<250	2,7E+05	<250	<1,2E+03	4,0E+04	8,7E+05
	Watermeter	<130	<220	5,0E+06	<220	<1,1E+03	7,7E+04	4,8E+06
3	Hoofdleiding	<170	<280	6,1E+06	<280	<1,4E+03	1,1E+04	4,3E+06
	Keukenkraan met waterm	<150	<240	3,9E+05	<240	<1,2E+03	1,9E+05	1,7E+06
	Keukenkraan met passtuk	<100	<170	3,2E+05	<170	<830	2,5E+05	1,2E+06
	Watermeter	<110	<190	2,4E+05	<190	<930	2,9E+05	1,3E+06
	Hoofdleiding	<98	<160	4,3E+06	<160	1,1E+03	2,1E+05	3,7E+06
4	Keukenkraan met waterm	<86	<140	2,1E+05	<140	<720	1,8E+05	1,3E+06
	Keukenkraan met passtuk	<110	<180	2,9E+06	<180	<880	2,1E+05	2,8E+06
	Watermeter	<120	<200	3,1E+05	<200	1,2E+03	2,6E+05	1,8E+06
	Hoofdleiding	<320	<540	3,9E+07	<540	3,0E+03	2,9E+05	2,2E+07
	Keukenkraan met waterm	<100	<170	1,9E+05	<170	9,4E+02	2,2E+05	1,6E+06
5	Keukenkraan met passtuk	<110	<180	3,5E+05	1,6E+03	1,1E+03	1,8E+05	1,5E+06
	Watermeter	<100	<170	6,9E+05	<170	<830	1,2E+05	1,5E+06
	Hoofdleiding	<110	<180	2,1E+05	<180	<890	1,2E+05	1,1E+06
	Keukenkraan met waterm	<110	<180	2,0E+05	<180	<900	1,4E+05	1,1E+06
	Keukenkraan met passtuk	<120	<190	3,0E+05	<190	<970	1,4E+05	1,2E+06

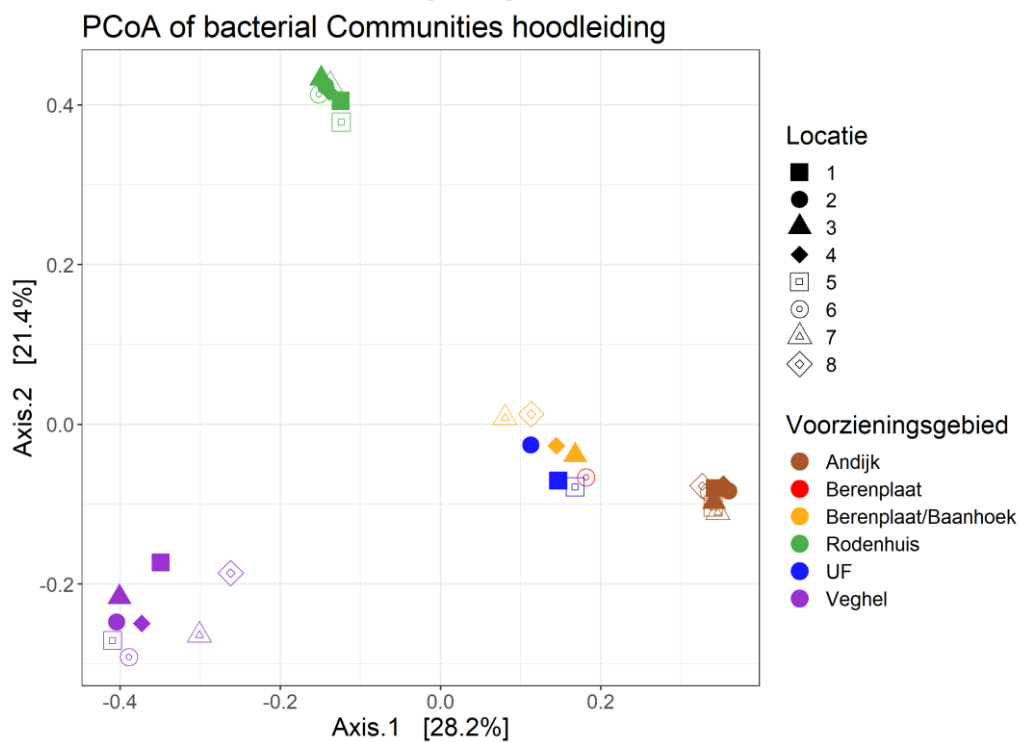
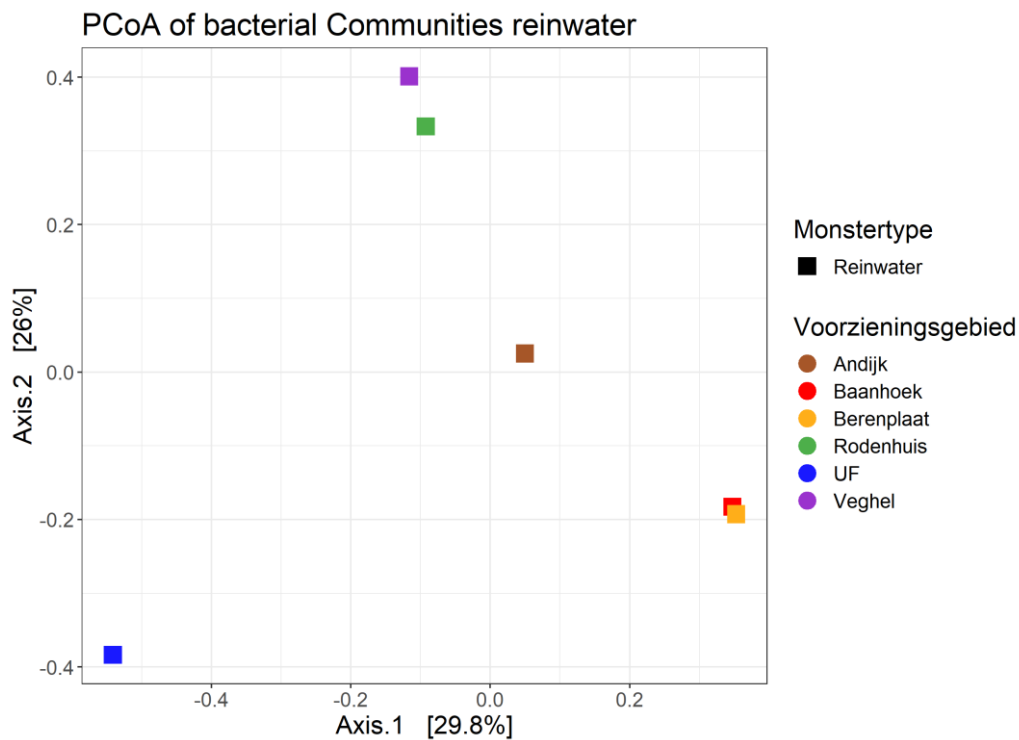
7	Watermeter	<100	<170	2,2E+06	<170	<840	1,8E+05	1,9E+06
	Hoofdleiding	<100	<170	1,8E+05	210	<870	1,2E+05	1,2E+06
	Keukenkraan met waterm	<120	<200	2,2E+05	<200	<990	1,4E+05	1,1E+06
	Keukenkraan met passtuk	<110	<190	1,9E+05	<190	<950	1,2E+05	1,1E+06
8	Watermeter	<100	<170	3,5E+05	<170	<860	1,2E+05	1,0E+06
	Hoofdleiding	<120	<190	1,9E+05	<190	<970	1,5E+05	1,3E+06
	Keukenkraan met waterm	<140	<230	3,5E+05	<230	<1,2E+03	6,1E+04	1,4E+06
	Keukenkraan met passtuk	<100	<190	3,6E+05	<190	<950	1,7E+05	1,4E+06
	Watermeter	<130	<210	3,5E+05	<210	<1,0E+03	1,2E+05	1,3E+06
	Hoofdleiding	<120	<200	3,7E+05	<200	<990	3,5E+04	1,2E+06

Bijlage IV Bargraphs en PCoA plots

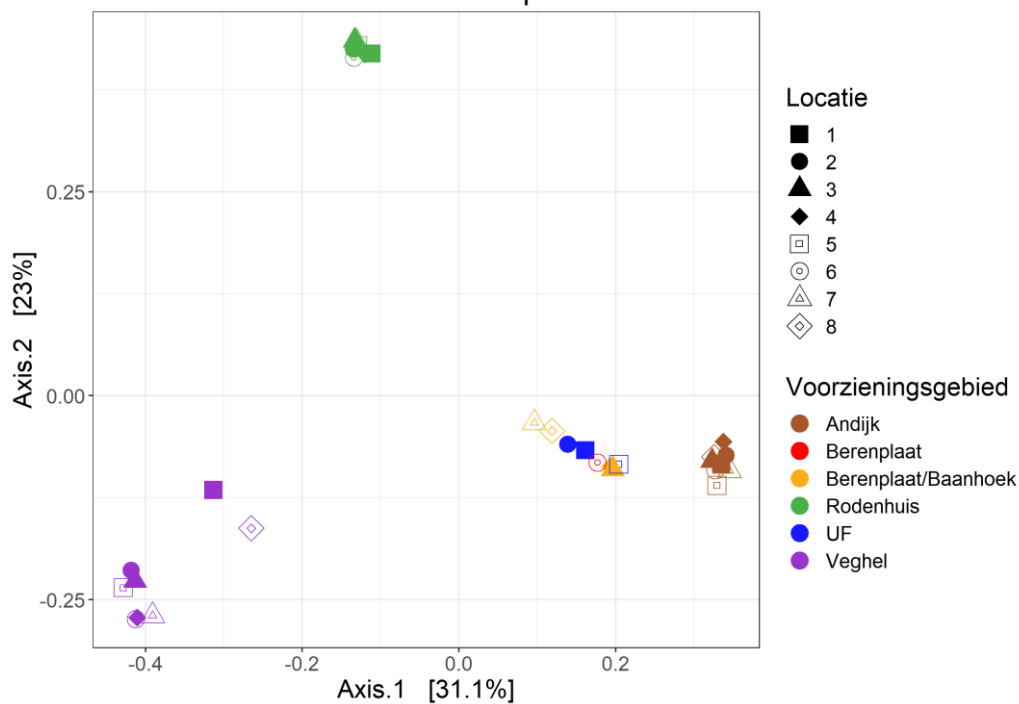




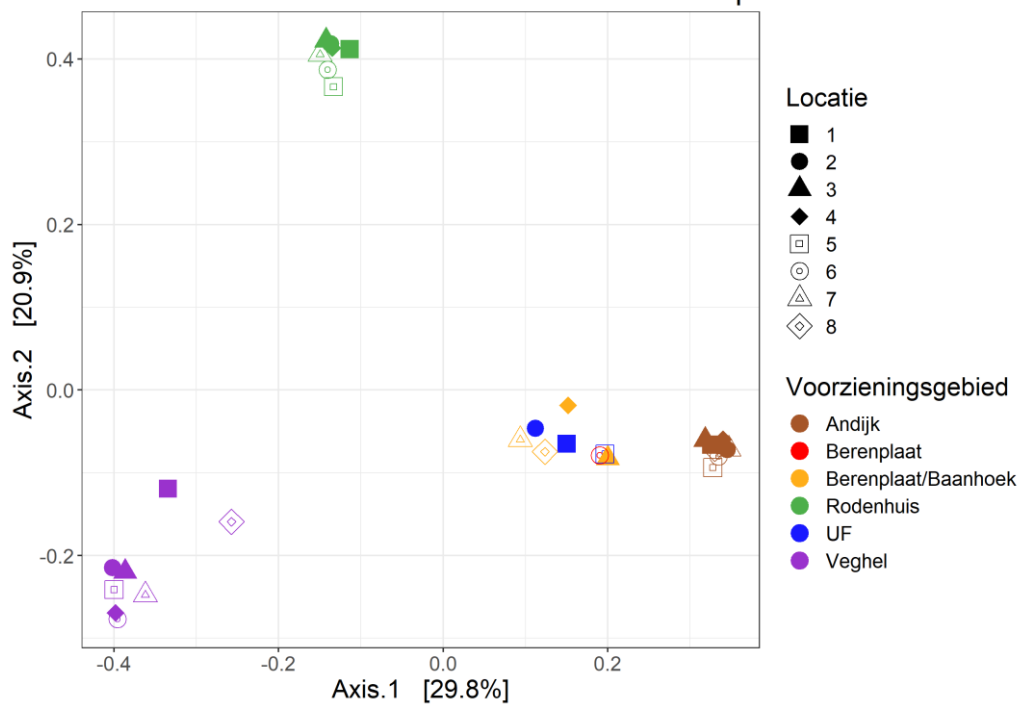




PCoA of bacterial Communities passtuk



PCoA of bacterial Communities keukenkraan na passtuk



PCoA of bacterial Communities keukenkraan met watermeter

