



Frank Oesterholt, Kiwa Water Research
 Harm Veenendaal, Kiwa Water Research
 Dick van der Kooij, Kiwa Water Research

Invloed van de watertemperatuur op het gedrag van *Legionella* in leidingen van divers materiaal

De watersamenstelling en de aard van de toegepaste leidingmaterialen zijn van invloed op de biofilmvorming in drinkwaterleidingen. Een toename van de biofilm bij temperaturen tussen 25 en 45°C vergroot de kans op aanwezigheid van legionellabacteriën. In een proefleidinginstallatie met een huishoudelijk tappatroon, in leidingen van vier verschillende materialen (koper, RVS, PEX of PVC-C), is het effect onderzocht van de temperatuur (25, 45, 55 en 60°C) op de concentratie van *Legionella pneumophila* in de biofilm en in het water. Het onderzoek is uitgevoerd in opdracht van Uneto-VNI, Copper Benelux en Arnomij Leidingssystemen²⁾ in het laboratorium van Kiwa Water Research in Nieuwegein met het daar beschikbare drinkwater. Uit de resultaten blijkt dat de aard van het leidingmateriaal geen invloed heeft wanneer men zich houdt aan het thermisch beheer (koud water <25°C en warm water >60°C). Voor woninginstallaties wordt in NEN 1006 een warmwatertemperatuur voorgeschreven van 55°C of hoger. Alleen bij koper was sprake van voldoende thermische desinfectie bij een temperatuur van 55°C. Bij de andere materialen was dit het geval bij een temperatuur van 60°C. Voor woninginstallaties wordt daarom aanbevolen de norm van 55°C te verhogen tot 60°C.

Uit eerder onderzoek met een experimentele warmtapwaterinstallatie met een huishoudelijk tappatroon kwam naar voren dat legionellabacteriën zich vermeerderen in de biofilms van RVS, koper en cross-linked polyethyleen PE-Xa³⁾. Inmiddels is eenduidig aangetoond dat *Legionella pneumophila* zich in biofilms uitsluitend vermeerdert in protozoa¹⁾. Dit betekent dat het voorkómen en bestrijden van de biofilmvorming in leidingwaterinstallaties de basis vormt voor de bestrijding van *Legionella*. Gebruik van water en materialen met een geringe biofilmvormingspotentie hoort dan ook een onderdeel te zijn van een structurele aanpak gericht op de beperking van de groei van *Legionella* in leidingwaterinstallaties.

In het onderzoek uit 2002 werd een optimale groeitemperatuur voor *Legionella* (37°C) toegepast. Een belangrijke vraag die blijft voor de toepassing van verschillende leidingmaterialen in de praktijk, is of de keuze van

het leidingmateriaal van belang is als men zich houdt aan het thermisch beheer. Met andere woorden hoe ontwikkelt *Legionella* zich in het water en de biofilm van leidingen van verschillende materialen als de watertemperatuur consequent lager is dan 25°C en hoger dan 55°C of 60°C? De temperaturen van 55°C en 60°C verwijzen naar de eisen in NEN 1006 voor warm water in respectievelijk woninginstallaties en collectieve leidingwaterinstallaties. Omdat een installateur in een bouwproject bij voorkeur met één type leidingmateriaal werkt, is het antwoord op deze vraag relevant voor de installatiepraktijk.

Voor de beantwoording van de vraag is in 2004 een onderzoek gestart met een proefleidinginstallatie met leidingen van verschillende materialen: koper, RVS, nagechloroerd of gehard PVC (PVC-C) en cross-linked polyethyleen (PE-Xa). Deze leidingen, met een lengte van 15 meter,

werden doorstroomd met leidingwater van verschillende temperaturen (25°C, 37°C, 55°C en 60°C). In de proefinstallatie is huishoudelijk gebruik van water gesimuleerd volgens NEN 5128 klasse 1 (basistappatroon met één douchetapping).

Per materiaaltype was een boiler aanwezig die tijdens het hele onderzoek op 70°C stond afgesteld, een voedingsleiding voor koud water, een instelbaar thermostatisch mengventiel en vervolgens een leidingset met twee identieke leidingen van hetzelfde materiaal (één onderzoeks- en één controleleiding) van elk 15 meter lengte. Aan het eind van elke leiding bevonden zich achtereenvolgens uitneembare leidingstukjes voor biofilmonderzoek, een T-stuk met aansluiting op een circulatiepomp, een magneetklep die werd aangestuurd door het tapprogramma, een monsternamelpunt voor watermonsters, een regelafluiser en een flowmeter (vaste instelling op 3,5 liter/minuut).

Opkweken en onderzoek

Bij de start van het project, maar ook na een onderzoekfase waarin de legionellabacteriën waren verdwenen, werden biofilm en legionellabacteriën opgekweekt. Hiertoe werd de installatie geënt door het plaatsen van een stukje siliconenslang met biofilm en *L. pneumophila* in de leidingen bij de uitneembare leidingstukjes. Vervolgens werd met behulp van een circulatiepomp het water continu gecirculeerd over de twee leidingen van hetzelfde materiaal. Om uitspoeling van legionellabacteriën tijdens opkweek te voorkomen, is een tapprogramma gehanteerd waarbij per leidingset eens per uur twee liter water is verversd (ongeveer 40 procent van de inhoud). Tijdens een opkweekfase stond het thermostatisch mengventiel ingesteld op 40°C. Omdat geen circulatie mogelijk is via de boiler en de verversing beperkt was, werd in de leidingset de optimale groeitemperatuur voor *L. pneumophila* niet bereikt. Het kweken van legionellabacteriën in de proefinstallatie kostte dan ook veel tijd. Bovendien moest in de koperen leidingset per opkweekfase vaak meerdere malen worden geënt om uiteindelijk voldoende groei van *L. pneumophila* te krijgen.

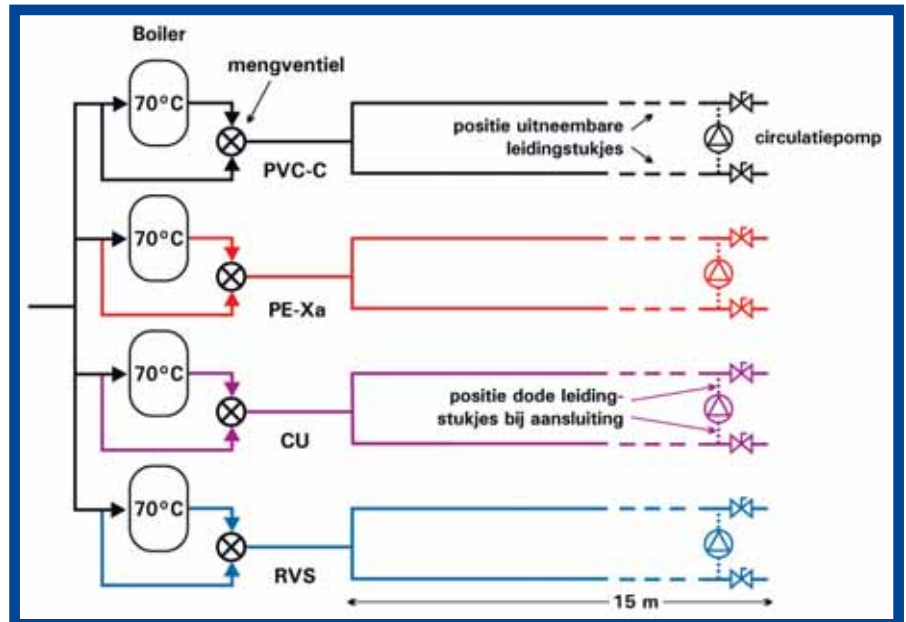
Na het afronden van een opkweekfase werd achtereenvolgens de circulatie gestaakt, het entstukje verwijderd, de afsluiters in de verbindingsleidingen naar de circulatiepomp dichtgedraaid, het thermostatisch mengventiel ingesteld op de onderzoektemperatuur en het tapprogramma aangepast. Vervolgens is het effect onderzocht van het doorstromen van de leidingen volgens een huishoudelijk tappatroon met water van een vast ingestelde temperatuur op de legionellaconcentraties in de biofilm en in de waterfase. De onderzoeksduur per temperatuurinstelling varieerde van één tot enkele maanden. Bij iedere temperatuurinstelling zijn watermonsters en ook leidingstukjes onderzocht waarvan de biofilm met steriele wattenstaafjes werd verwijderd. Water en biofilm zijn vervolgens geanalyseerd op meerdere parameters, waaronder ATP en *Legionella* (zie tabel 1).

Invloed van dode leidingstukjes

Tijdens het onderzoek is vastgesteld dat de relatief kleine 'dode' leidingstukjes met een lengte van enkele centimeters, die ontstonden bij het dichtdraaien van de afsluiters rond de circulatiepomp aan het eind van een opkweekfase, verantwoordelijk waren voor een onjuist beeld van de concentratie legionellabacteriën in het getapte water. Terwijl in de onderzoeksfase bij 60°C in de biofilm al langere tijd geen legionellabacteriën meer werden aangetroffen, bevatte het getapte water nog steeds legionellabacteriën. Na demontage werd de inhoud van de dode leidingstukjes bemonsterd en geanalyseerd. Hierbij werden zeer hoge concentraties *L. pneumophila* vastgesteld (tot 2×10^6 kve/l). Het vermoeden ontstond dat een klein deel van de legionellabacteriën vanuit deze dode leidingstukjes in de watermonsters terecht waren gekomen, waardoor het resultaat niet meer representatief is voor het water in de bemonsterde leiding. Deze



De gebruikte proefleidinginstallatie met huishoudelijk tappatroon.



Schematische weergave van de proefleidinginstallatie. Het thermostatisch mengventiel is voor het onderzoek ingesteld op respectievelijk 25, 45, 55 en 60°C.

waarneming maakte het noodzakelijk om delen van het onderzoek te herhalen, waarbij na een opkweekfase consequent de dode leidingstukjes werden verwijderd. Hiertoe werden de T-stukken die de verbinding vormden naar de circulatiepomp, vervangen door een recht stuk leiding.

Resultaten

In algemene zin zijn weinig verschillen waargenomen tussen de prestaties van de verschillende materialen in dit onderzoek, met uitzondering van koper. De legionellaconcentraties in de waterfase en in de biofilm waren bij koper tijdens het gehele onderzoek lager dan bij de andere materialen, met uitzondering van de onderzoeksfase bij 37°C. Een mengwatertemperatuur van 37°C - de referentiesituatie voor het onderzoek uit 2002 - in combinatie met een huishoudelijk

tappatroon leidde bij de verschillende materialen tot legionellaconcentraties in de waterfase tussen 1×10^4 en 1×10^5 kve/l. Het ATP-gehalte en de concentratie *L. pneumophila* in de biofilm lagen voor alle materialen in de range van 300 tot 660 pg/cm², respectievelijk 23.700 tot 95.500 kve/cm² (zie tabel 2 en 3).

In de onderzoeksfase bij een mengwatertemperatuur van 25°C in combinatie met een huishoudelijk tappatroon handhaafden zich de legionellabacteriën bij RVS, PVC-C en PE-X gedurende een periode van bijna 100 dagen, zowel in de biofilm als in de waterfase in relatief lage concentraties. Bij koper daarentegen was aan het eind van de onderzoeksperiode *L. pneumophila* niet meer aantoonbaar in de biofilm en de waterfase (zie tabel 3).

Ook een mengwatertemperatuur van 55°C in combinatie met een huishoudelijk tappatroon leidde bij RVS, PVC-C en PE-X tot geen of slechts een zeer geringe afdoding van legionellabacteriën in de waterfase (maximaal 0,57 log-verwijdering in 18 dagen). In de koperen leidingen verdween onder deze omstandigheden *L. pneumophila* wel volledig. Een mengwatertemperatuur van 60°C in combinatie met een huishoudelijk tappatroon leidde ook bij RVS, PVC-C en PE-X tot een snelle, volledige eliminatie van *L. pneumophila*. De onderlinge verschillen tussen de materialen zijn hierbij gering (gemiddeld 2,8 log-verwijdering in zes dagen). De berekende logverwijderingen bij 55°C en 60°C tonen aan dat de legionellabacteriën in de biofilm zich in de perioden tussen de tappingen (gedeeltelijk) kunnen herstellen. De langste periode waarin niet werd getapt, bedroeg zeven uur (nachtperiode). In totaal werd dagelijks 36 minuten getapt. De langste tapping duurde 800 seconden (douchetapping). Daarnaast waren er meerdere kortere tappingen, variërend in duur van 8,5 tot 84 seconden.

Overigens blijkt uit de resultaten (zie tabel 2)

dat de biofilmconcentratie op het materiaal na verloop van tijd vooral wordt bepaald door de samenstelling van het water. De verschillen in groeibevorderende eigenschappen van de materialen blijken in het toegepaste watertype dus van ondergeschikt belang. Het onderzoek is uitgevoerd met drinkwater, bereid uit anaeroob grondwater met een gehalte opgeloste organische koolstof van ongeveer 2 mg/l. De remmende werking van koper op micro-organismen in de biofilm is waarschijnlijk de oorzaak van de geringere groei van *L. pneumophila* bij dat materiaal, alhoewel bij een temperatuur van 37°C juist bij koper de hoogste concentraties zijn gemeten (zie tabel 3).

Conclusies

Dit onderzoek bevestigt de algemeen geformuleerde eis in NEN 1006, dat in een collectieve warmwaterinstallatie een temperatuur moet worden bereikt aan de tappunten van tenminste 60°C voor het realiseren van voldoende thermische desinfectie in de leidingen van die installatie. Het type leidingmateriaal heeft dan geen invloed. Tegelijkertijd toont dit onderzoek aan dat de vergelijkbare eis van 55°C voor warm

water in woninginstallaties waarschijnlijk leidt tot onvoldoende thermische desinfectie bij normaal huishoudelijk gebruik, zolang geen koper wordt toegepast. Voor deze kleinschalige leidingwaterinstallaties is echter geen specifiek beleid ontwikkeld op het gebied van legionellapreventie, omdat het legionellarisico van deze installaties daarvoor niet groot genoeg wordt geacht. In de afgelopen jaren zijn toch regelmatig legionellabacteriën aangetroffen in woninginstallaties, waarbij in enkele gevallen ook sprake is van een identificatie als infectiebron⁵. Daarom wordt aanbevolen om de norm van 55°C die via NEN 1006 en het Bouwbesluit is geïntroduceerd, voor deze categorie te wijzigen naar 60°C. Voorwaarde blijft uiteraard dat verbranding moet worden voorkomen.

In koudwaterleidingen die - tijdens tappingen - werden doorstroomd met water van 25°C kon *L. pneumophila* zich bij alle materialen (behalve koper) weliswaar handhaven, maar er was geen sprake van een toename van de concentratie in het water en de concentratie in de biofilm bleef laag.

Dit onderzoek toont verder aan dat stagnatie van water in relatief kleine 'dode' leidingstukjes (maximaal circa vijf maal de inwendige diameter) een bron vormt voor 'herbesmetting' van leidingwaterinstallaties, waardoor de doeltreffendheid van het thermisch beheersconcept wordt ondermijnd.

Bovenstaande leidt tot de conclusie dat in collectieve installaties, waarin thermisch beheer voor legionellapreventie op de juiste wijze wordt toegepast, de keuze van het leidingmateriaal een ondergeschikte rol speelt. Van goed thermisch beheer is sprake als water kouder is dan 25°C of warmer dan 60°C en geen stagnatie optreedt. In die situatie is het voor installateurs dus niet nodig om te differentiëren in het gebruik van materialen voor waterleidingen. Hiermee is de onderzoeksvraag die nog resteerde uit het onderzoek van 2002, beantwoord.

LITERATUUR

- 1) Kuiper M., B. Wullings en D. van der Kooij (2005). *Legionella pneumophila* groeit in biofilms uitsluitend in protozoa. H₂O nr. 7, pag. 51-53.
- 2) Oesterholt F., H. Veenendaal en D. van der Kooij (2007). Invloed van de watertemperatuur op de groei van *Legionella* in een proefleidinginstallatie met verschillende leidingmaterialen. KWR-rapport 06.110.
- 3) Van der Kooij D., H. Veenendaal en W. Scheffer (2003). Biofilmvorming en groei van *Legionella* op leidingmaterialen in een experimentele warmtapwaterinstallatie. H₂O nr. 11, pag. 19-21.
- 4) Van der Kooij D., P. Baggelaar, H. Veenendaal, L. Moulin, C. Carfitzen, H. Albrechtsen, D. Holt en B. Hamsch (2006). Standardising the biomass production potential method for determining the enhancement of microbial growth by construction product in contact with drinking water. Interlaboratory testing. Report EC Grant Agreement nbr. SI2.403889.
- 5) Versteegh J., P. Brandsema, N. van der Aa, H. Dik en G. de Groot (2007). Evaluatie Legionellapreventie Waterleidingwet. RIVM-rapport 703719020.

Tabel 1: Overzicht van de verschillende fasen van het onderzoek.

variatie in watertemperatuur per fase	start (dag)	eind (dag)
fase 1: vermeerdering van <i>L. pneumophila</i> bij 37°C	114	298
fase 2: afdoding van <i>L. pneumophila</i> bij 55 en 60°C	299	351
fase 3: gedrag van <i>L. pneumophila</i> bij 25°C	452	556
fase 4: afdoding van <i>L. pneumophila</i> bij 55 en 60°C	820	941

Tabel 2: Biofilmconcentratie op de verschillende leidingmaterialen tijdens het onderzoek en in de statische BPP-test.

tijdstip monsterneming	biofilmconcentratie in pg ATP/cm ²			
	PE-X	PVC-C	RVS	koper
referentie BPP-test*	520	260	150	410
na eerste opkweekfase (dag 112)	645	520	180	170
eind onderzoeksfase bij 37°C (dag 295)	460	660	300	340
eind onderzoeksfase bij 60°C (dag 351)	910	805	755	360
eind onderzoeksfase bij 25°C (dag 547)	1.160	800	1.400	565
eind onderzoeksfase bij 60°C (dag 946), herhaling	7.900	8.000	6.000	3.500

* De test op biomassa-productiepotentie voor de verschillende toegepaste materialen is uitgevoerd voorafgaand aan het onderzoek volgens Europese standaard⁴.

Tabel 3: Legionellaconcentratie in de biofilm op de verschillende leidingmaterialen tijdens het onderzoek.

tijdstip monsterneming	<i>L. pneumophila</i> in kve/cm ²			
	PE-X	PVC-C	RVS	koper
na eerste opkweekfase (dag 112)	8.900	12.800	345	3
eind onderzoeksfase bij 37°C (dag 295)	34.000	27.200	23.700	95.500
eind onderzoeksfase bij 60°C (dag 351)	<1	<1	<1	<1
eind onderzoeksfase bij 25°C (dag 547)	5	575	980	<3
eind tweede onderzoeksfase bij 60°C (dag 946)	<0,1	<0,1*	<0,1	<0,1

* In de controleleiding van PVC-C is op dag 946 nog 34 kve/cm² aangetoond.