

## Nut en noodzaak van de tussentijdse inspectie van legionella-kweekplaten tijdens de incubatieperiode

*Adrie Atsma (Vitens N.V.), Esther van Harmelen-Vrins (SGI Compliance Environmental Control), Jo Klaessens (StatAlike), Laura Mout (Stichting Koninklijk Nederlands Normalisatie Instituut)*

Een van de aanpassingen in de internationale standaard voor het aantonen van legionella in water is de introductie van een tussentijdse inspectie van legionella-kweekplaten gedurende de vereiste kweekperiode van 7 tot 10 dagen. Laboratoria in Nederland die deze norm hanteren hebben onderzoek gedaan naar de toegevoegde waarde van deze tussentijdse inspectie in relatie tot de analyse van legionella in water. De conclusie van dit onderzoek is dat deze handeling, bij onderzoek van de meest frequent onderzochte watertypes (zoals drinkwater), voor de Nederlandse situatie geen toegevoegde waarde heeft.

De standaard voor het aantonen van legionella in water is de kweekmethode zoals beschreven in de norm NEN-EN-ISO 11731:2017 'Water - Telling van *Legionella*' [1]. Als toelichting op deze norm is in 2019 de Nederlandse Praktijkrichtlijn (NPR 6278) gepubliceerd [2]. Een van de aanpassingen is de uitvoering van een tussentijdse inspectie van de legionella-kweekplaten. Met een tussentijdse inspectie wordt bedoeld dat de kweekplaten gedurende de kweekperiode tussentijds worden geïnspecteerd op overgroei van 'niet-legionella-soorten', ook wel stoorflora genoemd. Deze stoorflora kan groei van eventueel aanwezige legionella-soorten verhinderen (zie afbeelding 1).



*Afbeelding 1. Voorbeelden van kweekplaten met veel stoorflora, waardoor eventueel aanwezige legionellabacteriën geen kans krijgen om op de kweekmedia te groeien*

Wanneer bij de tussentijdse inspectie blijkt dat een kweekmonster veel stoorflora bevat, kan dit als 'Niet Te Bepalen' (NTB) aan de klant gemeld worden. De klant kan van de betreffende locatie een nieuw monster nemen en de legionella-analyse laten herhalen. Dit zou een tijdwinst kunnen opleveren van twee tot vijf dagen ten opzichte van de situatie waarbij geen tussentijdse inspectie wordt uitgevoerd. De definitieve conclusie wordt pas gerapporteerd zodra de complete incubatietijd van de legionellakweek is verstreken, ook als het monster bij de tussentijdse inspectie NTB is bevonden.

### Twijfels over nut en noodzaak tussentijdse inspectie

Gedurende het herzien van NEN-EN-ISO 11731:2017 en met name bij het schrijven van de NPR 6278 ontstond binnen de Nederlandse (drinkwater)laboratoria een discussie over het nut en de noodzaak van de genoemde tussentijdse inspectie. De laboratoria gaven aan dat deze handeling nadelige gevolgen heeft voor de bedrijfsvoering en onevenredig veel tijd kost. Het gaat dan om ongeveer 1.300 arbeidsuren extra per jaar, naar rato verdeeld over vijftien verschillende laboratoria (zie kader).

#### Toelichting op hoeveelheid inspanning op de uitvoer van tussentijdse inspectie

Om de vraag te kunnen beantwoorden hoeveel tijd de tussentijdse inspectie in beslag neemt, heeft het Waterexpertisecentrum van Vitens N.V. gedurende een maand de duur van de tussentijdse inspectie bijgehouden. Deze inspectie is uitgevoerd door 10 analisten voor rond de 3.500 monsters die afkomstig zijn van matrix A (monsters met weinig stoorflora, zoals drinkwater) en matrix B (monsters met veel stoorflora, zoals proceswater). Geconcludeerd kan worden dat een tussentijdse inspectie gemiddeld ongeveer 20 minuten per 100 monsters duurt. Jaarlijks zou een tussentijdse inspectie dan neerkomen op het volgende (gebaseerd op het totaal aantal monsters van de 15 deelnemende laboratoria):

Matrix A:  $\frac{370.500 \text{ monsters per jaar}}{100 \text{ monsters}} \times 20 \text{ minuten} = \frac{74.100 \text{ minuten}}{60 \text{ minuten}} = 1.235 \text{ uur}$

Matrix B:  $\frac{26.100 \text{ monsters per jaar}}{100 \text{ monsters}} \times 20 \text{ minuten} = \frac{5.220 \text{ minuten}}{60 \text{ minuten}} = 87 \text{ uur}$

In totaal komt het erop neer dat een tussentijdse inspectie ongeveer 1.322 uur per jaar in beslag neemt, naar rato verdeeld over de 15 deelnemende laboratoria. Ter illustratie; voor een laboratorium dat jaarlijks ongeveer 6.000 monsters voor legionella inzet, is deze handeling bijvoorbeeld 20 uur per jaar en voor een laboratorium dat jaarlijks 60.000 monsters inzet, rond de 200 uur per jaar.

Daarnaast is uit een eerder onderzoek, uitgevoerd in 2018 door vier Nederlandse (drinkwater)laboratoria, gebleken dat bij matrix A het percentage monsters met stoorflora kleiner is dan 1%. Volgens ditzelfde onderzoek is het percentage bij matrix B hoger, te weten tussen de 0 en 5,2%. Kanttekening op dit eerdere onderzoek is dat deze percentages zijn verkregen op kweken die zijn ingezet met NEN 6265:2007 'Water - Detectie en telling van *Legionella*', dus vanuit de 'oude situatie' en voor de introductie van de nieuwe norm. Met die introductie is een zuurbehandeling aan de analysemethode toegevoegd. Deze zuurbehandeling is bedoeld om eventuele stoorflora te elimineren, waardoor de eventueel aanwezige legionellabacteriën de ruimte krijgen om op de kweekmedia kolonies te vormen. De verwachting is dat er met de inzet van de zuurbehandeling nog minder stoorflora wordt waargenomen, waardoor het percentage monsters met hinderlijke stoorflora volgens de in NEN-EN-ISO 11731 beschreven methode lager zal zijn.

Naar aanleiding van dit onderzoek is op initiatief van de drinkwaterlaboratoria de toegevoegde waarde van de tussentijdse inspectie van kweekplaten besproken in de NEN-normsubcommissie Microbiologische parameters [3]. Hierin is afgesproken het percentage overgroeide monsters die

tijdens de tussentijdse inspectie worden verkregen vast te stellen, om van daaruit met statistiek te onderbouwen of de tussentijdse inspectie daadwerkelijk van toegevoegde waarde is. Dit landelijke onderzoek is gestart na de introductie van NEN-EN-ISO 11731:2017.

### **Plan van aanpak onderzoek**

Het doel van dit onderzoek is inzicht verkrijgen of de tussentijdse inspectie van toegevoegde waarde is voor het eerder vaststellen van een legionellabesmetting in het kader van legionellapreventie in Nederland. Om dit vast te stellen zijn in 2019 gegevens verzameld van vijftien Nederlandse laboratoria, die NEN-EN-ISO 11731 toepassen.

Deze laboratoria hebben voor matrix A en B (zie kader) voor de periode van 1 januari tot en met 31 augustus 2019, de volgende informatie beschikbaar gesteld:

- Herkomst van het geanalyseerde water (drinkwater, zwembadwater, oppervlaktewater, koeltorenwater, enzovoort).
- Aantal uren incubatie van de kweken waarop de tussentijdse inspectie is uitgevoerd.
- Type medium dat voor de kweek wordt gebruikt.
- Totaal aantal ingezette legionella-analyses.
- Aantal monsters die bij de tussentijdse inspectie als overgroeid (NTB) zijn beoordeeld.

De gegevens zijn door de laboratoria aangeleverd bij de Stichting Koninklijk Nederlands Normalisatie Instituut (NEN), dat deze informatie vervolgens geanonimiseerd in tabellen heeft gerangschikt. Uit deze gegevens zijn de percentages NTB bij de tussentijdse inspectie en bij de eindbeoordeling bepaald. Alle verkregen gegevens zijn vervolgens onafhankelijk beoordeeld en statistisch geëvalueerd door statistiebureau StatAlike.

### **Resultaten**

De vijftien laboratoria gaven aan dat 99 procent van de geanalyseerde monsters uit Nederland afkomstig is. Nederland gebruikt voor de distributie van drinkwater nagenoeg geen chloordesinfectie, zoals wel in bijvoorbeeld Groot-Brittannië of Frankrijk. De verwachting is dat zonder chloordesinfectie de kans op de aanwezigheid van stoorflora groter is.

De procedures waarop de legionellakweek wordt ingezet, wordt benoemd in een 'decision matrixtabel' J.1 van NEN-EN-ISO 11731:2017 [1]. Alle laboratoria gebruikten bij de legionellakweek ten tijde van dit onderzoek de procedures 8, 9 en 10 van deze 'decision matrix'.

De totale aantallen monsters en het aantal monsters NTB bij de tussentijdse inspectie, afkomstig van de vijftien laboratoria, zijn in de eerste drie regels van tabel 1 weergegeven.

Om het totale aantal verzamelde monsters over geheel 2019 in te kunnen schatten, zijn in januari 2020 de jaaraantallen van de legionellamonsters van heel 2019 van het Waterexpertisecentrum van Vitens N.V. vastgesteld. Deze gegevens zijn door de statisticus van StatAlike gebruikt als richtpunt voor het berekenen van het totale aantal legionellamonsters in Nederland en gewogen geëxtrapoleerd over de andere laboratoria. De duur waarover de gegevens zijn verzameld kan immers per laboratorium verschillen (het ene laboratorium bijvoorbeeld over 7 maanden en de ander over 6 maanden). Ook zijn er laboratoria die bijvoorbeeld relatief weinig monsters hebben geanalyseerd, maar een hoge score aan NTB hebben. Deze 'uitbijters' zijn eveneens gewogen ten opzichte van laboratoria die veel monsters inzetten. Hierdoor ontstaan er verschillen in percentages tussen de tussentijdse inspectie tot

en met augustus 2019 en de berekende percentages over heel 2019. De verschillen zijn overigens klein en hebben geen invloed op het eindresultaat.

De gegevens over geheel 2019 worden weergegeven in de laatste drie regels van tabel 1. Hieruit heeft de statisticus doorberekend hoeveel legionella-kweekmonsters er bij de tussentijdse inspectie NTB zijn.

*Tabel 1. Resultaten inventarisatie NTB bij tussentijdse inspectie*

<b>Op basis van inventarisatie laboratoria, van 1 januari 2019 tot en met augustus 2019</b>		
	<b>Matrix A</b>	<b>Matrix B</b>
Aantal monsters ingezet	199.158	16.832
Aantal monsters NTB bij tussentijdse inspectie	251	138
% NTB bij tussentijdse inspectie	0,13%	0,82%
<b>Geschatte hoeveelheden over geheel 2019</b>		
Aantal monsters ingezet	370.500	26.100
Aantal monsters NTB bij tussentijdse inspectie	334	230
% NTB bij tussentijdse inspectie	0,09%	0,88%

### **Bepaling nut en noodzaak van tussentijdse inspectie**

Om nut en noodzaak van de tussentijdse inspectie vast te stellen moet een afweging gemaakt worden van de opbrengsten en de hieraan gerelateerde kosten (zie kader). Voor de opbrengsten is het doel van deze inspectie op legionella als uitgangspunt genomen: een indicatie krijgen of de genomen beheersmaatregelen tegen legionella effectief zijn. De toegepaste frequentie van monsternamen is in lijn met deze doelstelling. Deze frequentie bedraagt over het algemeen gemiddeld tweemaal per jaar, oftewel met een tussentijd van gemiddeld 183 dagen. De feitelijke opbrengst van de tussentijdse inspectie is dat het bij een kweek met een NTB gemiddeld drie dagen eerder bekend is dat er geen uitspraak kan worden gedaan over de effectiviteit van de legionellabeheersmaatregelen. De opbrengst van de tussentijdse inspectie moet gerelateerd worden aan deze 183 dagen, waarbij de opbrengst zich beperkt tot gevallen met een positief resultaat. Immers, als er nooit positieve resultaten zouden voorkomen, is de opbrengst van de tussentijdse inspectie nul.

De berekeningen om de opbrengst (relatieve tijdswinst) mee te bepalen zijn in tabel 2 in detail weergegeven. Voor deze berekening heeft het Waterexpertisecentrum van Vitens N.V. het percentage legionella-positieve kweekmonsters over 2019 vastgesteld. De opbrengst van de tussentijdse inspectie, uitgedrukt als relatieve tijdswinst, bedraagt voor matrix A 0,00046% en voor matrix B 0,0039%.

Tabel 2. Onderzoeksresultaten en berekening van de toegevoegde waarde van de tussentijdse inspectie bij legionella-gerelateerde besmettingen

T*	Gebruikte gegevens	Matrix A	Matrix B
-	totaal aantal monsters ingezet in 2019	370.500	26.100
-	percentage NTB bij de tussentijdse inspectie over 2019	0,09%	0,88%
-	percentage legionella aangetroffen in monster	30,9%	27,2%
1	aantal monsters positief	114.484	2.556
2	aantal monsters met NTB en potentiële aanwezigheid legionella	103	62
3	som aantal dagen winst na 4 dagen inspectie	309	186
-	frequentie bemonsteringen per jaar	2	2
4	aantal dagen tussen 2 bemonsteringen	183	183
5	totaal aantal dagen tussen 2 bemonsteringen × aantal monsters	6,76E+07	4,76E+06
6	Percentage opbrengst tussentijdse inspectie bij legionella	0,00046%	0,0039%

\*Toelichting op de berekening van de getallen in de tabel:

- 1: aantal monsters positief = percentage positieve monsters bij kweek over het totaal aantal monsters in 2019 (gegevens Vitens; door andere deelnemende laboratoria bevestigd als zijnde representatief).
- 2: aantal monsters waarbij mogelijk sprake is van een legionellabesmetting, maar waarbij het monster dusdanig veel stoorflora bevat dat legionellakolonies niet de kans krijgen om te groeien. Dit is het percentage NTB bij tussentijdse inspectie over 2019 over het aantal monsters positief.
- 3: som van het aantal dagen winst na 4 dagen inspectie (de totale duur van de incubatie is 7 dagen). De gemiddelde tijd wanneer een tussentijdse inspectie wordt uitgevoerd is na 4 dagen. Dit betekent dat er 3 dagen winst wordt behaald. Deze 3 dagen worden gebruikt voor het berekenen van de som van het aantal dagen winst na 4 dagen inspectie, waarbij deze 3 dagen worden vermenigvuldigd met het aantal monsters met NTB en potentiële aanwezigheid legionella.
- 4: aantal dagen tussen 2 bemonsteringen is totaal aantal dagen in een jaar/frequentie bemonsteringen per jaar (is 2) = 183 dagen.
- 5: totaal aantal dagen tussen 2 bemonsteringen alle monsters = 183 dagen × totaal aantal monsters ingezet in 2019.
- 6: percentage opbrengst tussentijdse inspectie =

$$\frac{\text{som aantal dagen winst na 4 dagen inspectie}}{\text{totaal aantal dagen tussen 2 bemonsteringen alle monsters}} \times 100\%$$

### Discussie en conclusie onderzoek

De opbrengst van de tussentijdse inspectie in termen van relatieve tijdswinst is verwaarloosbaar. Deze biedt geen rechtvaardiging voor de extra uitvoeringskosten die met de tussentijdse inspectie gemoeid zijn. De conclusie van dit onderzoek is dat de toegevoegde waarde van de tussentijdse inspectie daarom verwaarloosbaar klein is.

De hier gedefinieerde opbrengst van de tussentijdse inspectie heeft alleen betrekking op analyses die worden uitgevoerd voor de routinematige controle van de installaties. Bij een legionella-uitbraak is dit anders; dan is elke tijdswinst van levensbelang. Het is cruciaal om deze situaties van elkaar te onderscheiden.

Voor de routinematige controle geldt dat het aantal positieve resultaten medebepalend is voor de opbrengst van de tussentijdse inspectie. Dit leidt tot de observatie dat de opbrengst van de tussentijdse inspectie kleiner wordt naarmate de genomen beheersmaatregelen doeltreffender zijn (dat wil zeggen naarmate er minder positieve testresultaten worden verkregen). Dit is gemakkelijk voor te stellen: in het ideale geval dat overal volledig effectieve maatregelen zijn getroffen, maakt het niet uit of de periodieke bevestiging hiervan drie dagen eerder of later wordt verkregen.

Dit onderzoek heeft aangetoond dat een tussentijdse inspectie, waarbij legionellakweken drie dagen voor het verstrijken van de kweektermijn worden gecontroleerd op stoorflora, geen toegevoegde waarde heeft. Bovenstaande conclusies gelden alleen voor matrices A en B, gebruikmakend van procedures 8, 9 en 10 (met de media: MWY, GVPC, BCYE en BCYE+AB), zoals benoemd in tabel J.1 van NEN-EN-ISO 11731:2017. De onderzoeksresultaten en conclusies van dit onderzoek zullen door leden van de NEN-normsubcommissie Microbiologische parameters worden meegenomen bij een toekomstige eventuele herziening van de norm NEN-EN-ISO11731:2017.

### Referenties

1. Koninklijk Nederlands Normalisatie Instituut (2017). *NEN-EN-ISO 11731:2017 'Water - Telling van Legionella'*. <https://www.nen.nl/nen-en-iso-11731-2017-en-234878>
2. Koninklijk Nederlands Normalisatie Instituut (2019). *NPR 6278:2019 'Water - Toelichting bij de telling van Legionella volgens NEN-EN-ISO 11731'*. <https://www.nen.nl/npr-6278-2019-nl-255078>
3. NEN-normsubcommissie Microbiologische parameters. <https://www.nen.nl/normcommissie-microbiologische-parameters>
4. Stichting ISSO, jan. 2020. *BRL6010 Legionella risicoanalyse en beheersplan* <https://open.isso.nl/publicatie/brl-6010/2018?query=6010>
5. J.F.M. Versteegh, J.F.M. et al. (2009). *Betekenis van Legionella-soorten voor preventiebeleid van leidingwaterinstallaties*, Briefrapport 609715003/2009
6. *Drinkwaterbesluit* juli 2018; <https://wetten.overheid.nl/BWBR0030111/2018-07-01>; Hoofdstuk 4