



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Potentiële maatregelen tegen verspreiding van Legionella uit afvalwaterzuiveringsinstallaties

RIVM Briefrapport 2019-0194
W.J. Lodder et al.



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Potentiële maatregelen tegen verspreiding van Legionella uit afvalwaterzuiveringsinstallaties

RIVM Briefrapport 2019-0194
W.J. Lodder et al.

Colofon

© RIVM 2019

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

DOI 10.21945/RIVM-2019-0194

W.J. Lodder (auteur), RIVM
H.H.J.L. van den Berg (auteur), RIVM
R.C. van Leerdam (auteur), RIVM
A.M. de Roda Husman (auteur), RIVM

Contact:

W.J. Lodder
Centrum voor Zoönose en Omgevingsmicrobiologie
willemijn.lodder@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van het ministerie van IenW in het kader van het project Legionella in AWZI's en RWZI's, M/270053/01/MA

Dit is een uitgave van:
**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu**
Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven
Nederland
www.rivm.nl

Publiekssamenvatting

Potentiële maatregelen tegen verspreiding van Legionella uit afvalwaterzuiveringsinstallaties

Legionellabacteriën kunnen zich via de lucht verspreiden en een longontsteking veroorzaken als mensen ze inademen. Ze komen meestal in de lucht via installaties die water vernevelen, zoals bubbelbaden en natte koeltorens. De afgelopen jaren bleken afvalwaterzuiveringsinstallaties in Nederland de bron te zijn van meerdere gevallen van deze vorm van longontsteking. Het RIVM heeft daarom verkend welke maatregelen kunnen voorkomen dat het aantal legionellabacteriën in afvalwaterzuiveringsinstallaties stijgt en ze zich verspreiden. Ook is van een paar maatregelen onderzocht of ze goed werken.

De meeste maatregelen hebben effect, al is het lastig om precies aan te geven in hoeverre ze het aantal legionellabacteriën verminderen. In het algemeen is onduidelijk of de afname voldoende is om te voorkomen dat werknemers of mensen die in de buurt wonen een longontsteking door Legionella kunnen krijgen. Daarvoor is meer duidelijkheid nodig hoeveel legionellabacteriën onder welke omstandigheden een gezondheidsrisico kunnen vormen.

Een van de mogelijke maatregelen is de temperatuur van het afvalwater tijdens het zuiveringsproces te verlagen tot onder de 25 graden Celsius. Bij hogere temperaturen kunnen legionellabacteriën zich snel vermenigvuldigen. Een andere mogelijkheid is de bassins waarin het afvalwater wordt belucht, een onderdeel van het zuiveringsproces, af te dekken. Dit kan bijvoorbeeld door een zeil over het bassin te spannen of door ballen of andere vormen op het water te laten drijven. De lucht uit een afgesloten beluchtingsbassin kan ook nog worden afgezogen en daarna worden gefiltreerd en ontsmet met UV-straling.

Bij de meeste onderzochte maatregelen nam het aantal legionellabacteriën in de lucht af. Een afdekking voorkomt dat legionella zich via de lucht verspreidt, zolang er geen scheuren of openingen in het zeil zitten. Het water afdekken met ballen bleek weinig effect te hebben. Door de afgevoerde lucht te filtreren en met UV-straling te behandelen, nam het aantal legionellabacteriën in de lucht voor een groot deel af.

De meeste afvalwaterzuiveringsinstallaties verschillen in soort en grootte, waardoor het effect van een maatregel per installatie kan verschillen. Het is daarom belangrijk om de processen en kenmerken van de afvalwaterzuiveringen goed in kaart te brengen. Daarnaast is duidelijkheid nodig over welke stappen mogelijk zijn als een afvalwaterzuiveringsinstallatie een risico lijkt te vormen. Verder is het wenselijk een platform in te richten om van elkaars ervaringen te kunnen leren.

Kernwoorden: afvalwater, proceswater, legionellose, monitoring, detectie, lucht, water

Synopsis

Potential measures against the spread of legionella from waste water treatment facilities

Legionella bacteria can spread via the air and cause pneumonia if people inhale them. They are usually released into the air via installations that nebulise water, such as bubble baths and wet cooling towers. In recent years it has emerged that waste water treatment facilities in the Netherlands have been the source of multiple cases of this type of pneumonia. RIVM has therefore investigated measures to prevent the legionella bacteria in waste water treatment facilities from multiplying and spreading. Some of the measures were also tested to see whether they work.

Most of the measures are effective although it is difficult to establish the precise extent to which they reduce the number of legionella bacteria. Generally speaking, it is not clear whether the decrease is sufficient to prevent workers or local residents from contracting pneumonia due to legionella. This is why more clarification is needed regarding how many legionella bacteria, under what conditions, form a health risk.

One of the potential measures is to keep the temperature of the waste water below 25 degrees Celsius during the treatment process because legionella bacteria can multiply rapidly at higher temperatures. Another possibility is to cover the basins in which aeration of the waste water takes place during the treatment process. This can, for example, be realised by stretching a tarpaulin over the basin or by allowing balls or other objects to float on the surface of the water. The air can also be extracted from closed aeration basins and subsequently filtered and disinfected with UV radiation.

Most of the measures tested reduced the number of legionella bacteria in the air. Covering the basin prevented legionella from spreading via the air, as long as there were no tears or openings in it. Covering the water with balls had little effect. Filtering the extracted air and treating it with UV radiation greatly reduced the number of legionella bacteria in the air.

Waste water treatment facilities vary in type and size so that the effect of a measure will differ accordingly. That is why it is important to identify and analyse the processes and characteristics of waste water treatment installations thoroughly. In addition, clarity is required regarding the steps that should be taken if it appears that a waste water treatment installation seems to form a risk. It would, furthermore, be advisable to set up a platform to enable parties to learn from one another's experiences.

Keywords: waste water, process water, Legionnaires' disease, monitoring, detection, air, water

Inhoudsopgave

Samenvatting – 9

1 Introductie – 13

- 1.1 Doelstelling – 13
- 1.2 Leeswijzer – 13

2 Achtergrond – 15

- 2.1 Legionella – 15
- 2.2 AWZI's – 16

3 Legionellabemonstering – 19

- 3.1 Risicoanalyse en beheersplan – 19
- 3.2 Vaststellen van effectiviteit maatregelen – 20
- 3.3 Legionellabemonstering voor modellering – 20
- 3.4 Bronopsporing – 21

4 Detectie van Legionella – 23

- 4.1 Kweekmethoden – 23
 - 4.1.1 Kweek op voedingsbodems – 23
 - 4.1.2 Kweek in amoeben – 23
- 4.2 Moleculaire methoden – 25
 - 4.2.1 Detectie van Legionella DNA – 25
 - 4.2.2 Typering van Legionella – 25
 - 4.2.3 Whole genome sequencing – 26
- 4.3 Detectie van Legionella in proces- en afvalwater – 26
- 4.4 Detectie van Legionella in lucht – 27
 - 4.4.1 Luchtbemonstering met een filtratie methode – 28
 - 4.4.2 Luchtbemonstering met een impactie methode – 28

5 Potentiële maatregelen om legionellagroei in en verspreiding vanuit een afvalwaterzuivering te voorkomen – 31

- 5.1 Maatregelen om Legionellagroei in een AWZI te voorkomen of te beperken – 31
 - 5.1.1 Het verlagen of verhogen van de procestemperatuur – 31
 - 5.1.2 Desinfectie door biociden of biologisch beheer – 31
 - 5.1.3 Desinfectie AWZI – 32
- 5.2 Maatregelen om verspreiding van Legionella via de lucht te voorkomen of te reduceren – 32
 - 5.2.1 Afdekking van de AWZI – 32
 - 5.2.2 Aanpassing van het beluchtingsproces – 34
- 5.3 Praktijkonderzoek naar de effectiviteit van maatregelen tegen verspreiding van Legionella via de lucht – 34
 - 5.3.1 Afdekking met een zeil – 35
 - 5.3.2 Afdekking met een tent – 38
 - 5.3.3 Afdekking met pontons – 39
 - 5.3.4 Afdekking met ballen – 39
 - 5.3.5 Afdekking met blokken – 41
 - 5.3.6 Desinfectie van de lucht met behulp van filtratie en UV-straling – 41
- 5.4 Maatregelen om verspreiding van Legionella via het gezuiverde afvalwater te voorkomen of te reduceren – 42

6 Discussie – 43

7 Conclusies en aanbevelingen – 49

7.1 Conclusies – 49

7.2 Aanbevelingen – 50

7.3 Beleidsadviezen – 51

Dankwoord – 53

Referenties – 55

Samenvatting

Naar aanleiding van een aantal clusters van legionellose die konden worden herleid naar afvalwaterzuiveringsinstallaties (AWZI's) (Loenenbach et al., 2018) werd een kennisinventarisatie uitgevoerd naar legionellarisico's bij AWZI's (Bartels et al., 2019). Als vervolg op deze kennisinventarisatie worden in dit rapport maatregelen besproken en voor enkele AWZI's met een (zeer) aannemelijk risico voor legionellagroei en -verspreiding naast de genomen beheersmaatregelen ook de gemeten effectiviteit door legionellabemonstering.

Legionellabemonstering

Er zijn verschillende redenen om bij een AWZI bemonsteringen uit te voeren voor de detectie van Legionella, bijvoorbeeld:

- Voor het maken van een risicoanalyse en het uitvoeren van een beheersplan.
Een eerste stap hierbij is het uitvoeren van een systeemanalyse, een gedetailleerde en actuele beschrijving van de complete zuivering. Hierbij worden de eigenschappen van de verschillende zuiveringsstappen beschreven. Indien de systeemanalyse uitwijst dat de AWZI mogelijk als risicovol kan worden beschouwd is het wenselijk om een operationele monitoring van de AWZI op te starten en een bemonsteringsplan op te stellen en uit te voeren.
- Het bepalen van de effectiviteit van een potentiële maatregel.
Het is van belang wanneer een AWZI een maatregel neemt om legionellagroei en -verspreiding te voorkomen om te bepalen of deze maatregel effectief is. Hierbij kunnen de concentraties Legionella in water- en luchtmonsters op locatie gemeten worden voor en na de maatregel.
- Als input en validatie van modellen voor bronopsporing van legionellosegevallen en verspreiding van legionellabacteriën via de lucht.
- Uitvoeren van bronopsporing.
Wanneer er bij de GGD een patiënt wordt gemeld met legionellose is het van belang dat de bron waardoor de patiënt mogelijk is geïnfecteerd, wordt geïdentificeerd om maatregelen te kunnen nemen om verdere verspreiding van Legionella en toekomstige gevallen van legionellose te kunnen voorkomen. AWZI's in de nabijheid van de patiënt worden nu meegenomen in de bronopsporing, die wordt uitgevoerd door BEL (Bronopsporings Eenheid Legionella-pneumonie).

Detectie van Legionella

De standaard voor de detectie van legionellabacteriën in een watermonster is de NEN-EN-ISO 11731:2017 (Anoniem, 2017) waarin wordt beschreven welke voedingsbodems met verschillende samenstellingen kunnen worden gebruikt. Voor toepassing in kraanwater en andere relatief schone watermonsters werkt dit goed. De analyse van afvalwatermonsters is echter complex vanwege de vaak in hoge concentraties aanwezige stoorflora die de analyse en de beoordeling bemoeilijken.

Hoewel diverse luchtbemonsteringsmethoden gebruikt kunnen worden, zijn momenteel nog geen gestandaardiseerde protocollen beschikbaar voor de bemonstering van lucht met daarin aanwezige legionellabacteriën bij bijvoorbeeld aerosolvormende processen bij AWZI's.

Maatregelen

Er zijn diverse maatregelen beschreven om legionellagroei in en -verspreiding vanuit een AWZI te verminderen of te voorkomen. Bij een aantal AWZI's zijn bij aerosolvormende processen luchtmetingen uitgevoerd om de effectiviteit te bepalen van de toegepaste maatregelen.

- Na het afdekken van het beluchtingsbassin, met bijvoorbeeld een zeil- en tentconstructie, pontons of drijvende afdekkingen (ballen) werden sterk wisselende reducties van het aantal legionellabacteriën in de lucht gevonden. Bij de afdekkingen met behulp van een zeil, pontons of een tent waren in de meeste gevallen nog openingen aanwezig wat de effectiviteit van de afdekking duidelijk verminderde. Bij de AWZI waarbij het beluchtingsbassin werd afgedekt met ballen leek weinig reductie van Legionella in de lucht te zijn opgetreden;
- Bij een afgesloten systeem waarbij de afgevoerde lucht werd gefiltreerd en gedesinfecteerd door middel van UV-straling een reductie van >99% worden gerealiseerd.

Conclusies

Bij risicovolle AWZI's zijn diverse maatregelen mogelijk die genomen kunnen worden om legionellagroei en -verspreiding te voorkomen, bijvoorbeeld het verlagen van de proces temperatuur tot onder de 25 °C, het afdekken van biologische beluchtingsbassins en het zuiveren van het effluent. Onduidelijk is echter nog wat de toepasbaarheid en de effectiviteit hiervan is bij de vele verschillende soorten AWZI's die in Nederland aanwezig zijn. De resultaten van de luchtmetingen na het toepassen van diverse soorten afdekkingen om legionellaverspreiding via de lucht te voorkomen, zoals in dit rapport beschreven, laten een grote variatie zien in de effectiviteit. Na de meeste getroffen maatregelen was er een reductie in legionellabacteriën waar te nemen. Onduidelijk is nog of de reductie voldoende is om te voorkomen dat werknemers en/of omwonenden legionellose kunnen oplopen. Diverse detectiemethoden zijn beschikbaar om legionellabacteriën in water- en luchtmonsters aan te tonen. Hierbij is het van belang dat een gedegen monsternameplan wordt opgesteld en de verkregen resultaten op de juiste waarde kunnen worden beoordeeld.

Aanbevelingen

Om de risico's van de verspreiding van legionella uit AWZI's beter vast te kunnen stellen zijn vervolgstappen nodig. Er wordt aanbevolen om processen en kenmerken van verschillende soorten afvalwaterzuiveringen gedetailleerder in kaart te brengen, zodat mogelijk additionele risicovolle industrieën (vroeg)tijdig kunnen worden geïdentificeerd.

Ook is het van belang dat er handvaten voor AWZI's komen zodat deze een juiste inschatting kunnen maken of hun zuivering mogelijk risicovol

is en wat de juiste vervolgstappen door verschillende belanghebbenden zijn indien dit zo is:

- Het op een adequate manier kunnen (laten) uitvoeren van legionella-analyses op monsters uit diverse zuiveringsprocessen en de resultaten op een juiste manier kunnen interpreteren;
- Toepassen van effectieve maatregelen en kunnen bepalen of deze afdoende gezondheidsbescherming geven;
- Vaststellen van een acceptabel risiconiveau om gezondheid van medewerkers en omwonenden te kunnen beschermen;
- Een platform voor belanghebbenden of zogenaamde 'community of practice' is wenselijk om monitoringsplannen, maatregelen en ervaringen te kunnen bespreken.

1 Introductie

In opdracht van het Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat (IenW) is in het voorjaar van 2019 een kennisinventarisatie uitgevoerd om de legionellarisico's bij afvalwaterzuiveringsinstallaties (AWZI's) in kaart te brengen (Bartels et al., 2019). Aanleiding voor de AWZI kennisinventarisatie was een aantal clusters van legionellose die konden worden herleid naar IWZI's in onder andere Boxtel (Loenenbach et al., 2018). Uit een inventarisatie door omgevingsdiensten (OD'en) en STOWA die aan de kennisinventarisatie vooraf ging, zijn in totaal 709 AWZI's geïdentificeerd, zowel rioolwaterzuiveringsinstallaties (RWZI's) als industriële waterzuiveringsinstallaties (IWZI's). Van 567 AWZI's waren voldoende eigenschappen bekend om een risico-inschatting te kunnen uitvoeren. Uit deze risico-inschatting bleek dat de kans op legionellagroei en -verspreiding voor:

- 81 AWZI's aannemelijk tot zeer aannemelijk;
- 346 AWZI's mogelijk;
- 140 AWZI's niet aannemelijk was.

Bij deze risico-inschatting is niet meegenomen of deze, al dan niet risicovolle AWZI's, al effectieve maatregelen hebben genomen om verspreiding van Legionella via de lucht of via het gezuiverde afvalwater dat de zuiveringsinstallatie verlaat (effluent) tegen te gaan. Dit omdat deze informatie niet bekend was of omdat niet bepaald kon worden of de genomen maatregelen effectief zijn.

1.1 Doelstelling

Als vervolg op deze kennisinventarisatie (Bartels et al., 2019), worden in dit rapport maatregelen besproken die kunnen worden toegepast bij AWZI's om legionellagroei en -verspreiding te verminderen of te voorkomen. Het doel van dit onderzoek is om de reductie van legionellabacteriën door maatregelen te meten. Daarnaast wordt in dit rapport de meest recente informatie gegeven over beschikbare detectiemethoden om legionellabacteriën aan te tonen en te typeren in water en lucht. Ook wordt aangegeven waarvoor en hoe legionellabemonstering bij AWZI's kan worden uitgevoerd en wat de betekenis van de analyseresultaten zijn.

1.2 Leeswijzer

In het eerste hoofdstuk wordt de aanleiding voor het onderzoek beschreven en de doelstelling geformuleerd. Het tweede hoofdstuk geeft achtergrondinformatie die relevant is voor het verdere rapport, zoals informatie over AWZI's alsmede factoren die in het zuiveringsproces kunnen zorgen voor legionellagroei en mogelijke verspreiding. In hoofdstuk 3 wordt beschreven om welke redenen een legionellabemonstering bij een AWZI kan worden uitgevoerd. In het vierde hoofdstuk worden de verschillende detectiemethoden van Legionella in water en lucht uitgelegd en ook de voor- en nadelen van deze technieken. In Hoofdstuk 5 wordt besproken welke potentiële maatregelen, die in de literatuur worden beschreven of uit de praktijk situatie komen, bij AWZI's kunnen worden genomen en voor een

aantal van de genomen maatregelen is de effectiviteit bepaald. Dit om legionellagroei en/of -verspreiding naar de omgeving te kunnen verminderen en mogelijk zelfs te kunnen voorkomen. In de discussie (hoofdstuk 6) komen de kennishiaten en de beperkingen van het uitgevoerde onderzoek aan bod. In hoofdstuk 7 worden de conclusies, ontbrekende informatie en aanbevelingen besproken.

In dit rapport worden met de term AWZI twee typen afvalwaterzuiveringsinstallaties bedoeld:

- De rioolwaterzuiveringsinstallaties (RWZI's), die huishoudelijk en industrieel afvalwater zuiveren. Die zijn in beheer bij de waterschappen.
- De industriële waterzuiveringsinstallaties (IWZI's), die het proces- of afvalwater van één of meerdere industrieën zuiveren.

2 Achtergrond

2.1 Legionella

Legionellabacteriën komen van nature, in veelal lage concentraties, voor in de bodem en in water (Steinert et al., 2002). Ook in door de mens gemaakte watersystemen kunnen de bacteriën voorkomen, soms in hoge concentraties. De legionellabacterie is gram negatief, beweeglijk en staafvormig, en kan onder aerobe omstandigheden goed groeien bij een pH tussen 5,5-9,2 (Wadowsky et al., 1985). Deze bacterie kan tot ziekte leiden wanneer er zeer kleine waterdruppeltjes (aerosolen) met daarin legionellabacteriën worden ingeademd. Een infectie veroorzaakt door legionellabacteriën wordt 'legionellose' genoemd. Een infectie met Legionella heeft niet altijd een longontsteking als gevolg en veel mensen worden helemaal niet ziek. Het gebeurt regelmatig dat mensen alleen griepverschijnselen krijgen die binnen enkele dagen vanzelf weer overgaan (bekend als Pontiac koorts). Longontsteking veroorzaakt door Legionella wordt veteranenziekte genoemd. Veteranenziekte is een meldingsplichtige ziekte, door de arts en het laboratorium moet deze gemeld worden aan de GGD. Hoewel Legionella overal in water- en bodemsystemen voorkomt, is het risico op blootstelling het grootst wanneer legionellabacteriën worden ingeademd nadat ze zijn vermeerderd in en worden verneveld vanuit watersystemen (Steinert et al., 2002).

In diverse soorten kunstmatige waterinstallaties kunnen soms hoge concentraties van Legionella voorkomen doordat de temperatuur voor vermeerdering gunstig is en doordat de concurrentie van andere bacteriën laag is (Steinert et al., 2002). Vooral waterinstallaties zoals (natte) koeltorens, douches en bubbelbaden kunnen aerosolen met daarin legionellabacteriën produceren die vervolgens bij personen die deze inademen kunnen leiden tot een infectie en mogelijk veteranenziekte. Het is afhankelijk van verschillende factoren hoe lang legionellabacteriën in de lucht in waterdruppeltjes kunnen overleven, bijvoorbeeld van de omgevingstemperatuur, de relatieve luchtvochtigheid en de grootte van de aerosolen waarin ze zitten (Bartels et al., 2013; Caicedo et al., 2016; Prussin et al., 2017). In water- en luchtmonsters kunnen de aanwezige legionellabacteriën worden gedetecteerd met verschillende methoden zoals beschreven in Hoofdstuk 4.

Ongeveer 90% van de gediagnosticeerde legionella-infecties wordt veroorzaakt door *L. pneumophila* (Fields et al., 2002; Reukers et al., 2018). Omdat de overige Legionella-soorten minder vaak worden geïdentificeerd als ziekteverwekker worden deze overige soorten vaak collectief '*Legionella non-pneumophila*' genoemd.

L. pneumophila kan worden onderverdeeld in 16 serogroepen (sg'en), sg1 is de meest frequente verwekker van ziekte. Op basis van genotypering kunnen deze *L. pneumophila* sg 1 nog weer verder onderverdeeld worden in 'sequence types' (ST). Er zijn al meer dan 2500 verschillende ST's vastgesteld (www.ewgli.org). Dit gebeurt met behulp van verschillende technieken: een 'amplified fragment length

polymorphism' (ALFP) of 'sequence based typing' (SBT). De in de patiënten en mogelijke bronnen aangetroffen ST's kunnen vervolgens met elkaar vergeleken worden, een zogenaamde bronopsporing: hiermee kan op basis van ST worden bepaald of de legionellabacterie waarvan de patiënt ziek is geworden, overeenkomt met de legionellabacterie die bij een mogelijke bron is aangetoond.

2.2 AWZI's

Wat is een AWZI?

AWZI's kunnen worden onderverdeeld in RWZI's en IWZI's. Een RWZI zuivert communaal afvalwater, het afvalwater is afkomstig van huishoudens, bedrijven en industrieën en ook hemelwater dat via wegverhardingen via het riool wordt afgevoerd. Een IWZI zuivert het proces- of afvalwater van één of meerdere industrieën. De processen bij een AWZI kunnen bestaan uit biologische of fysisch-chemische zuiveringsstappen, of uit een combinatie hiervan. De biologische zuiveringsprocessen van een IWZI zijn vaak vergelijkbaar met de biologische zuiveringsprocessen van een RWZI. Het inkomende afvalwater (influent) wordt in een aantal stappen gezuiverd en het gezuiverde water (effluent) wordt geloosd op het oppervlaktewater. Bij grote industrieën of op industrieterreinen kunnen bedrijven hun eigen afvalwater in een IWZI op eigen terrein zuiveren. Het effluent kan vervolgens worden geloosd op het rioolstelsel zodat verdere behandeling bij de ontvangende RWZI plaatsvindt of wordt direct op het oppervlaktewater geloosd.

Hoe kan Legionella zich verspreiden vanuit een AWZI?

Legionella kan zich op verschillende manieren verspreiden vanuit een AWZI:

- Via de lucht door processen in de zuivering, zoals beluchting tijdens het zuiveringsproces met actief slib, slibscheidingstechnieken of schoonmaakwerkzaamheden met besmet effluent. In welke mate legionellabacteriën vanuit het afvalwater in de lucht terechtkomen is een belangrijke vraag. Op deze vraag bestaat helaas geen eenduidig antwoord, dit blijkt van veel factoren afhankelijk te zijn (Vermeulen et al., 2019).
- Via het effluent kan Legionella direct in het oppervlaktewater terecht komen of geloosd worden op het riool waardoor het bij een RWZI komt.

Een AWZI kan een directe of indirecte bron zijn van Legionella waaraan werknemers en omwonenden via de lucht kunnen worden blootgesteld. In de literatuur zijn verschillende voorbeelden beschreven waarbij buitenlandse AWZI's direct of indirect de bron waren van legionellose bij werknemers en omwonenden (Allestam et al., 2006; Blatny et al., 2008; Gregersen et al., 1999; Isozumi et al., 2005; Kusnetsov et al., 2010; Maisa et al., 2015; Nguyen et al., 2006; Nogueira et al., 2016). Ook in Nederland zijn 2 legionella-uitbraken gerelateerd aan een AWZI, namelijk een IWZI in Boxtel en een IWZI in Son (Loenenbach et al., 2018).

Op basis van de beschreven legionella-uitbraken die gerelateerd zijn aan een AWZI is er een viertal risicocriteria opgesteld. Hiermee is het

mogelijk een risico-inschatting te maken van de groei in en verspreiding van legionellabacteriën vanuit een AWZI (Bartels et al., 2019). Dit zijn de volgende vier kenmerken:

- Type zuivering: biologisch;
- Type industrie: industrieën met proces- of afvalwater dat eiwitrijk is en veel organische verbindingen zoals aminozuren bevat. Dit is het geval bij verschillende types afvalwater van de levensmiddelenindustrie (o.a. vleesverwerking, brouwerij); papier- en houtindustrie; destructiebedrijven (verwerking kadavers) en petrochemische bedrijven;
- Temperatuur van het proceswater: vermeerdering van *L. pneumophila* kan plaatsvinden bij een temperatuur van 25-45 °C, met een optimale temperatuur tussen 30-38 °C;
- Aanwezigheid van een beluchtingsstap: door beluchting van afvalwater kunnen aerosolen worden gevormd waarin legionellabacteriën aanwezig zijn. Deze kunnen zich verspreiden over een afstand van meer dan 1,5 km.

3 Legionellabemonstering

Er zijn verschillende redenen om bij een AWZI legionellabemonstering op te zetten, bijvoorbeeld:

- Ten behoeve van een risicoanalyse en beheersplan;
- Bepalen van de effectiviteit van (genomen) maatregelen;
- Ten behoeve van modellering;
- Uitvoeren van bronopsporing.

Afhankelijk van het doel van de bemonstering is de aanpak verschillend.

3.1 Risicoanalyse en beheersplan

Systeemanalyse

Legionellabemonstering van proceswater kan een systeemanalyse, een gedetailleerde en actuele beschrijving van de complete zuivering, informeren. Dergelijke analyses van legionellabacteriën van het ingaande water tot en met het gezuiverde water dat geloosd wordt kan bevestigen of legionella al dan niet kan groeien in een bepaald systeem. Informatie die opgenomen kan worden in een systeembeschrijving zijn: kenmerken van het influent; beschrijvingen van de zuiveringsstappen; open of gesloten systemen; kenmerken van het gezuiverde water en hydrologische- en stroomschema's van onder andere water, slib en lucht.

Op basis van een gedetailleerde en actuele systeembeschrijving en legionellabemonstering kan de risicoschatting voor legionellagroei en -verspreiding worden uitgevoerd. Naast legionella-analyses kunnen ook eenvoudig te bepalen of online parameters zoals temperatuur en pH het functioneren van het systeem beschrijven.

Operationele monitoring van de AWZI

Bij AWZI's kunnen snelle, eenvoudige en routinematige controles bevestigen of het systeem werkt binnen gestelde grenzen. Dergelijke operationele monitoring is idealiter preventief, dat wil zeggen een vroege indicatie dat een stap in de zuivering verstoord is, of deze binnenkort zelfs gaat falen, zodat op tijd corrigerende maatregelen kunnen worden genomen. Het is ook belangrijk om mogelijk relevante procesparameters voor legionellagroei zoals temperatuur, pH, stikstofwaardes en slibretentietijd regelmatig, bijvoorbeeld dagelijks, te meten en te registreren. Ook met betrekking tot legionellagroei en -verspreiding kritische parameters, zoals doorslag bij membranen, waarden van de UV-dosering of het chloorgehalte dienen regelmatig gemonitord en geregistreerd te worden.

Opstellen en uitvoeren van een bemonsteringsplan

Wanneer een AWZI een verhoogd risico loopt op het verspreiden van Legionella, door de lucht of via het effluent, kan legionellabemonstering worden toegepast om de aanwezigheid van Legionella in de installatie te controleren. Legionellamonsters kunnen worden genomen vanuit diverse processen bijvoorbeeld van water op plekken waar de kans op legionellaverspreiding aanwezig is zoals van proceswater uit het beluchtingsbassin en van het effluent. Indien het water uit de AWZI

positief is getest op de aanwezigheid van Legionella kan additioneel door middel van luchtmetingen worden nagegaan of de legionellabacteriën zich verspreiden via de lucht naar de omgeving. Bijvoorbeeld in geval er geen maatregelen zijn genomen om de verspreiding van de aerosolen vanuit het beluchtingsproces naar de omgeving te voorkomen.

3.2 Vaststellen van effectiviteit maatregelen

Legionellabemonstering kan ook worden toegepast om de effectiviteit van een maatregel vast te stellen. Dit kan worden uitgevoerd onder laboratoriumomstandigheden of in een proefinstallatie. Ook wanneer een maatregel bij een AWZI wordt toegepast in de praktijk moet worden getoetst of de vooraf vastgestelde effectiviteit kan worden bereikt. De effectiviteit kan worden vastgesteld door het meten van de concentraties Legionella voor en na het nemen van de maatregel. En in geval dat de maatregel een bepaald proces betreft kunnen legionellaconcentraties in ingaand water worden vergeleken met behandeld water. Of in geval van een afdekking binnen en buiten de afdekking. Van belang bij het vaststellen van effectiviteit van een maatregel voor het tegengaan van groei en verspreiding van legionellabacteriën is het meten van deze bacteriën en niet van zogenaamde indicatorbacteriën zoals bijvoorbeeld bacteriën van de coligroep.

De effectiviteit van de in Hoofdstuk 5 beschreven maatregelen, kan worden bepaald door:

- Concentraties legionellabacteriën in het water te analyseren voor en na de genomen maatregel, zoals voor en na UV behandeling of dosering van een chlooroplossing;
- Luchtmetingen uit te voeren voor en na de genomen maatregel bij aerosolvormende processen (bijvoorbeeld onder en buiten een afdekking van een beluchtingsbassin);
- Meten van concentraties legionellabacteriën voor en na de introductie van groei remmende maatregelen, zoals het toepassen van een temperatuurverlaging in het zuiveringsproces tot onder de 25 °C.

3.3 Legionellabemonstering voor modellering

Monitoring van legionellabacteriën kan voor risico- en verspreidingsmodellen benodigde data aanleveren zodat deze uitgevoerd en gevalideerd kunnen worden.

Modellering kan voor verschillende doeleinden worden ingezet:

- Bij bronopsporing kan vanuit de patiënte clusters worden vastgesteld waar de meest waarschijnlijk bron zich bevindt (Loenenbach et al. 2018). Vervolgens kan bij de meest waarschijnlijke bron onderzoek gedaan worden naar de aanwezigheid van Legionella, en indien deze positief is voor Legionella middels typering vergelijken met de legionellastam gevonden bij de patiënten;
- Ook kan met behulp van verspreidingsmodellering worden nagegaan of het aannemelijk is dat in de afgelopen jaren verspreiding van legionellabacteriën vanuit AWZI's legionellose heeft veroorzaakt bij omwonenden (Vermeulen et al., 2019). Dergelijke modellering is eerder overtuigend ingezet om

geitenhouderijen op te sporen als bron van Q-koorts (van Leuken et al., 2015).

3.4 Bronopsporing

Als bij de GGD een melding is gedaan van een patiënt met legionellose, probeert de GGD te achterhalen waar de patiënt is geïnfecteerd. Door de bron van de infectie te achterhalen, en door het nemen van maatregelen om verdere verspreiding bij deze bron te voorkomen, kan voorkomen worden dat meer legionella-infecties door deze bron worden veroorzaakt. Bij een dergelijke bronopsporing worden meerdere mogelijke bronnen van besmetting in de buurt van de patiënt geïnventariseerd en bemonsterd. Voorbeelden hierbij zijn blootstelling aan risicovolle waterinstallaties in gebouwen en/of andere bronnen, zoals ziekenhuizen, sauna's en koeltorens maar ook de bezochte accommodaties bij reizen naar het buitenland. In Hoofdstuk 4 staat beschreven welke detectiemethoden voor Legionella beschikbaar zijn. Bij slechts één op de vijf patiënten lukt het om met behulp van kweek de legionellabacterie uit het patiëntmateriaal te isoleren en vervolgens te typeren. Het ontbreken van informatie over het type Legionellabacterie bij het merendeel van de patiënten bemoeilijkt de bronopsporing. Wanneer er van de patiënten wel informatie over de legionellabacterie beschikbaar is en men mogelijke bronnen in de omgeving van de patiënt heeft bemonsterd, wordt toch maar zelden de besmettingsbron gevonden. Deze bronopsporing wordt uitgevoerd door de Bronopsporings Eenheid Legionella-pneumonie (BEL). In de periode 2002-2012 konden maar 41 van de 1.991 gemelde patiënten (2%) gekoppeld worden aan een bron (Den Boer et al., 2015).

4 Detectie van Legionella

Er zijn verschillende methoden voor de detectie van legionellabacteriën in water- of luchtmonsters (Schalk and De Roda Husman, 2010). Behalve het aantonen van de aanwezigheid van legionellabacteriën in water of lucht, kunnen ook de concentraties en de typen van de aangetroffen legionellabacteriën worden bepaald. De detectiemethoden die hier worden besproken zijn gebaseerd op de volgende principes:

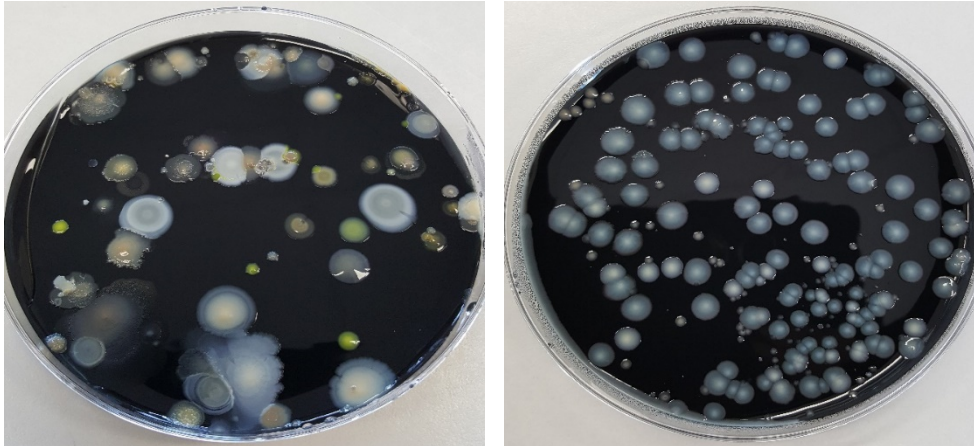
- Het vermeerderen van legionellabacteriën op een voedingsbodem of in amoeben (kweekmethoden);
- Het moleculair aantonen van genetisch materiaal van Legionella (moleculaire methoden).

Deze methoden kunnen worden toegepast voor zowel de detectie van Legionella in water- als in luchtmonsters.

4.1 Kweekmethoden

4.1.1 Kweek in amoeben

Met behulp van een kweek in amoeben kunnen de legionellabacteriën zich snel repliceren, ook in aanwezigheid van andere bacteriën, en kunnen ook de legionellabacteriën die in een VBNC staat verkeren zich repliceren (La Scola et al., 2001; Rowbotham, 1983; Schalk et al., 2012). Hiervoor wordt een *Acanthamoeba* specie gebruikt, en dit is vaak de *A. castellanii*. Nadat legionellabacteriën zich in amoeben hebben vermeerderd, worden deze vervolgens aangetoond op (selectieve) voedingsbodems zoals hierboven beschreven of wordt het genetisch materiaal aangetoond met moleculaire detectiemethoden (zie paragraaf 4.2). Het toepassen van kweek in amoeben verhoogt de gevoeligheid van de uitgevoerde analyse (Afbeelding 4.2.). De resultaten na amoebekweek worden kwalitatief weergegeven, te weten de aan- of afwezigheid van Legionella in het onderzochte monster. Het toepassen van een amoebekweek methode kan ook helpen in het opsporen van mogelijke bronnen zoals Schalk et al. beschreven in 2014 (Schalk et al., 2014). Hier kon *L. pneumophila* (ST47) na een amoebekweekstap worden aangetoond in grondmonsters.



Afbeelding 4.2. Luchtmonster direct uitgeplaat (links) en na amoebekweek verdund uitgeplaat (rechts) (Bron: RIVM)

4.1.2 Kweek op voedingsbodems

De standaard methode is de detectie van legionellabacteriën in een watermonster met behulp van kweek op selectieve voedingsbodems (NEN-EN-ISO 11731:2017). In dit gestandaardiseerde zogenaamde ISO protocol staat beschreven welke voedingsbodem, met verschillende samenstellingen en toevoeging van verschillende antibiotica, gebruikt kunnen worden bij de verschillende typen watermonsters. Legionella heeft voor groei specifieke voedingseisen, zo zijn L-cysteïne en ijzer essentieel om te kunnen vermenigvuldigen. Naast het gebruik van voedingsbodems met selectieve antibiotica zijn er ook additionele behandelingen (met zuur of door pasteurisatie) die toegepast kunnen worden om de bij- en overgroei van andere bacteriën in het monster te onderdrukken. Door de overgroei door andere bacteriën die aanwezig zijn in een watermonster wordt een herhaalbare kwantificatie bemoeilijkt. Ook kunnen met deze kweekmethode de 'viable but non-culturable' (VBNC's) legionellabacteriën niet worden gedetecteerd. Legionellakolonies op een voedingsbodem hebben een karakteristieke morfologie, namelijk een korrelige structuur en matglazen uiterlijk, ook zijn er diverse kleurvariaties beschreven van de kolonies (Afbeelding 4.1.). Om te bevestigen dat het inderdaad om Legionella gaat, wordt een kolonie afgeënt op een voedingsbodem met en zonder L-cysteïne. Indien het inderdaad een legionellabacterie betreft zal geen groei optreden bij de plaat zonder L-cysteïne. Ook kan de kolonie bevestigd worden door een PCR uit te voeren (zie paragraaf 4.2). Ook met behulp van een serologische test (latex agglutinatie) kan op een kolonie snel onderscheid gemaakt worden tussen *L. pneumophila* serogroep 1, 2 tot en met 14 en Legionella non-pneumophila. Na bevestiging kan er vervolgens een typering worden uitgevoerd om extra informatie over de gevonden legionellabacterie te verkrijgen (zie paragraaf 4.2.2).

De kweekmethode is een kwantitatieve methode, waarbij het aantal legionellabacteriën in een onderzocht volume kan worden bepaald. De doorlooptijd van de kweekmethode is lang, na 7 dagen worden de platen afgelezen waarbij de platen tussentijds, 3-5 dagen, kunnen worden beoordeeld op mate van bijgroei.



Afbeelding 4.1. Controle voedingsbodem met alleen legionellabacteriën, *L. pneumophila* (Bron: RIVM)

4.2 Moleculaire methoden

4.2.1 Detectie van *Legionella* DNA

Met moleculaire methoden kan snel en heel gevoelig het genetisch materiaal (DNA) van een legionellabacterie worden aangetoond. Het grote nadeel van deze methoden is dat geen informatie wordt verkregen over de levensvatbaarheid van de legionellabacterie waaruit dit DNA afkomstig is. Zelfs vrij DNA kan hiermee worden aangetoond, dat zich niet meer in een volledige bacterie bevindt.

Dit kan door PCR assays te ontwikkelen, door gebruik te maken van bekende informatie van de DNA sequentie van het legionella genoom, waarmee het aanwezige legionella DNA kan worden aangetoond. Dergelijke (real-time) PCR assays zijn zeer snel en geven binnen een paar uur resultaat.

Er zijn diverse PCR assays beschreven die zijn gericht tegen verschillende delen van het genoom, om *Legionella spp.* en *L. pneumophila* te detecteren. Ook zijn er PCR assays beschreven om meer specifiek *L. pneumophila* serogroep 1 en specifiek voor *L. pneumophila* ST47 te detecteren (Mentasti et al., 2017).

Moleculaire detectiemethoden van *Legionella* kunnen zowel kwalitatief als kwantitatief worden toegepast, en bij een kwantitatieve uitslag wordt deze weergegeven in genoom kopieën per liter. De NEN6254:2013 (Anoniem, 2013) beschrijft hoe de detectie en kwantificering van *L. pneumophila* en de ISO/TS 12869:2019 (Anoniem, 2019) beschrijft hoe zowel voor *Legionella spp.* als *L. pneumophila* kan worden uitgevoerd.

4.2.2 Typering van *Legionella*

Moleculaire technieken worden ook gebruikt om legionellakolonies te typeren, dit wordt meestal uitgevoerd met behulp van SBT volgens protocollen oorspronkelijk beschreven door de EWGLI (nu European Study Group for Legionella Infections (ESGLI), www.ewgli.org). Voor de SBT, om *Legionella pneumophila* serogroep 1 stammen te typeren, zijn

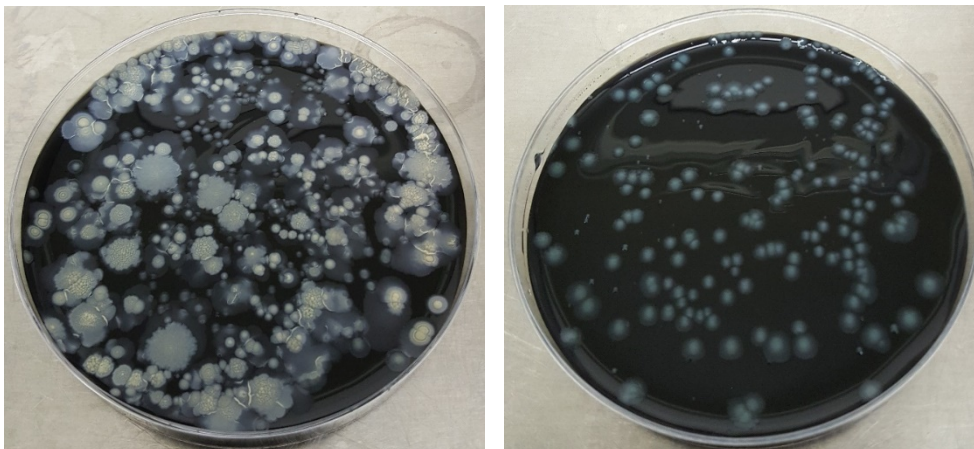
PCR assays ontwikkeld (Gaia et al., 2005; Ratzow et al., 2007). Door de DNA sequentie van 7 genen gedeeltelijk te sequencen kan met behulp van een typeringstool op deze website het allel profiel en het bijbehorende ST bepaald worden. Het is een sterke aanwijzing dat stammen met eenzelfde ST overeenkomstige bacteriën zijn, maar zoals ook beschreven staat in een recente review (Herwaldt and Marra, 2018) kan wellicht geen onderscheid gemaakt worden op meer detail in de genoom (DNA) sequentie, dus bijvoorbeeld geen onderscheid tussen stammen die wel of niet gerelateerd zijn aan een uitbraak. Ook beschrijven de auteurs dat SBT geen informatie verschaft over mogelijke veranderingen die binnen een ST over tijd plaatsvinden. Typering is essentieel voor bronopsporing om legionellabacteriën uit patiënten te kunnen vergelijken met die geïsoleerd uit een mogelijke bron.

4.2.3 *Whole genome sequencing*

Whole genome sequencing (WGS) technieken worden steeds meer gebruikt om het complete (DNA) genoom van een legionellabacterie in kaart te brengen in uitbraak onderzoek (Herwaldt en Mara, 2018), omdat dit veel meer informatie oplevert over de genetische samenstelling van de aangetroffen legionellabacterie. Herwaldt en Mara beschrijven ook dat hierbij mogelijk meerdere Legionella stammen worden gedetecteerd in monsters van één uitbraak, wat de cluster identificatie bemoeilijkt. Bij de analyse, en verslaglegging, van een watermonster moet een aantal zaken in ogenschouw worden genomen: onder andere volume monster, tijd en techniek van monsternamen. De resultaten geven weer wat er op dat moment in een bepaald systeem (monster) aan legionellabacteriën aanwezig is, met aandacht voor het genomen en geanalyseerde volume, en ook dat de toegepaste analyse techniek een bepaalde gevoeligheid (detectiegrens) heeft.

4.3 **Detectie van Legionella in proces- en afvalwater**

Milieumonsters zoals proces- en afvalwatermonsters van AWZI's bevatten veel andere micro-organismen, afkomstig uit het te zuiveren afvalwater en het actief slib dat gebruikt wordt voor de zuivering. Het is daardoor erg lastig om legionellabacteriën in dit type water aan te tonen. Dergelijke vieze watermonsters moeten worden voorbehandeld (door pasteurisatie bij 50 °C en/of door middel van een zuurbehandeling) om de overgroei van deze andere bacteriën (stooflora) te onderdrukken zoals beschreven staat in de NEN-EN-ISO 11731:2017 (Anoniem, 2017), om legionellabacteriën te kunnen detecteren. Daarnaast beschrijft deze norm, dat voor monsters met extreem hoge aantallen stooflora, zoals afvalwater, ook diverse verdunningen moeten worden ingezet (Afbeelding 4.3.).



Afbeelding 4.3. Voedingsbodem met Legionella en veel achtergrondflora (links) en hetzelfde watermonster na pasteurisatie en zuurbehandeling op een selectieve voedingsbodem waarbij de legionellabacteriën beter zijn te onderscheiden (rechts) (Bron: RIVM)

Bij de analyse van dergelijke afvalwatermonsters kan maar een klein volume van het monster worden onderzocht, vanwege de voorbehandelingen en het uitplaten van verdunningen van het oorspronkelijke monster. De consequentie hiervan is dat de kweekmethode van afvalwater een erg hoge detectie grens heeft, deze is op dergelijke watermonsters minimaal 10.000 kolonievormende eenheden per liter (kve/L), en dat is heel veel hoger dan de detectiegrens van Legionella in drinkwater (< 100 kve/L). Ook is beschreven door Caicedo et al (2019) dat dergelijke voorbehandelingen kunnen leiden tot meer legionellabacteriën die zich in een VBNC staat bevinden. Deze zullen niet meer kunnen groeien op de voedingsbodem en niet worden aangetoond in de analyse.

Watermonsters worden idealiter ingezet volgens de NEN-EN-ISO 11731:2017 (Anoniem, 2017) omdat de amoebekweek geen kwantitatieve gegevens oplevert en PCR een grove overschatting geeft van de aanwezigheid van mogelijke levende legionellabacteriën in een watermonster door de detectie van het genetische materiaal van Legionella.

4.4 Detectie van Legionella in lucht

Om Legionella in de lucht te kunnen aantonen is het noodzakelijk om een aanzienlijk volume lucht, met daarin aanwezige legionellabacteriën, te bemonsteren. Er zijn nog geen gestandaardiseerde protocollen beschikbaar voor luchtbemonstering en er is nog weinig informatie over de detectiegrens om legionellabacteriën in dergelijke monsters aan te kunnen tonen.

Bij het nemen van een luchtmonster zijn diverse aspecten van belang:

- Locatie monstername, bijvoorbeeld op de plek waar veel aerosolen worden gevormd (boven de beluchtingsbassin);
- Weersomstandigheden, bijvoorbeeld windsnelheid, windrichting en luchtvochtigheid;
- Temperatuur;
- Monstername snelheid en volume.

Om uit te sluiten dat de legionellabacteriën afkomstig zijn van een andere locatie kan ook een monster bovenwinds van de te bemonsteren locatie worden genomen, als negatieve controle.

Voor luchtbemonstering zijn verschillende methoden beschikbaar, gebaseerd op verschillende principes: bijvoorbeeld filtratie en impactie.

4.4.1 *Luchtbemonstering met een filtratie methode*

Bij deze methode wordt de bemonsterde lucht over een filter met een bepaalde poriegrootte geleid waardoor de bacteriën aanwezig in de lucht achterblijven op het filter, omdat ze niet door de poriën kunnen. Ook kunnen meerdere grootte fracties, van aerosolen of andere deeltjes, worden verzameld met aflopende poriegroottes in het bemonsteringsapparaat. Dergelijke luchtmonsters zijn niet geschikt voor analyse gebaseerd op kweektechnieken, omdat de bacteriën snel uitdrogen en zullen afsterven. Dergelijke monsters kunnen alleen gebruikt worden voor analyses gebaseerd op moleculair detectietechnieken wat geen informatie geeft of de gedetecteerde bacteriën levend waren of al dood.

4.4.2 *Luchtbemonstering met een impactie methode*

Voor luchtbemonstering met behulp van zogenaamde impactie zijn twee methoden beschikbaar:

- de bemonsterde lucht wordt direct over een voedingsbodem gevoerd;
- de bemonsterde lucht wordt door een vloeistof geleid.

Impactie, lucht over een voedingsbodem

Hierbij wordt de bemonsterde lucht direct over een selectieve voedingsbodem voor Legionella gevoerd. Bij de bemonstering van lucht direct op een voedingsbodem kan een relatief klein volume (100-250 liter) aan lucht worden bemonsterd, omdat anders de voedingsbodem te veel uitdroogt. Vervolgens wordt de voedingsbodem geïncubeerd om aanwezige legionellabacteriën in de bemonsterde lucht te detecteren, meestal is de detectiemethode gebaseerd op de kweekmethode. Er zijn ook studies beschreven waarbij de bemonsterde bacteriën van de plaat worden gespoeld en het monster vervolgens wordt onderzocht met behulp van een moleculaire detectiemethode (Medema et al., 2004). Voorbeelden van dergelijke luchtbemonsteringsapparaten zijn de MAS-100 (Merck) en de SAS (PBI International).

Impactie, lucht door een vloeistof

Wanneer de lucht door een vloeistof wordt geleid zullen de in de lucht aanwezige deeltjes, inclusief micro-organismen zoals legionellabacteriën, worden verzameld en geconcentreerd in de vloeistof, dit proces heet 'liquid impingement'. Met een dergelijke luchtbemonstering kunnen grote hoeveelheden lucht worden bemonsterd, gemiddeld 1.500-3.000 liter. De detectie van Legionella wordt uitgevoerd op de vloeistof met behulp van kweekmethoden maar kan ook worden uitgevoerd met andere technieken, zoals moleculaire detectiemethoden. Voorbeelden van dergelijk monsternamen apparaten zijn de Coriolis (Bertin Technologies), SKC Biosampler (Arelco) en de SASS (Research International).

De micro-organismen ondervinden hiermee echter wel een grote mate van stress waardoor waarschijnlijk een gedeelte van de bacteriën in het luchtmonster toch zullen afsterven. Hoogstwaarschijnlijk is de aangetoonde hoeveelheid bacteriën in een luchtmonster dus een onderschatting van de werkelijke hoeveelheid aanwezige bacteriën in de lucht. Onduidelijk is nog wat hierbij de exacte mate van afsterving is.

5 Potentiële maatregelen om legionellagroei in en verspreiding vanuit een afvalwaterzuivering te voorkomen

In de literatuur zijn verschillende maatregelen beschreven om legionellagroei en -verspreiding bij een AWZI tegen te gaan, er is echter nog veel onduidelijk over de effectiviteit van mogelijke maatregelen. Een belangrijke reden hiervoor is dat AWZI's pas recentelijk zijn geïdentificeerd als bron van het veroorzaken van legionellose bij patiënten. Het gaat dan bijvoorbeeld om maatregelen om de vermeerdering van legionellabacteriën in een AWZI, van verspreiding van legionellabacteriën uit beluchtingsbassins te voorkomen, en het zo veel mogelijk beperken van de verspreiding van legionella via het effluent. Bij AWZI's die eerder in de literatuur zijn beschreven als waarschijnlijke bron van legionellose zijn verschillende tijdelijke en permanente maatregelen genomen. De voorbeelden van maatregelen die in Nederland zijn toegepast, zijn afkomstig van bemonsterde AWZI's die besmet waren met de legionellabacterie en meestal als risicovol zijn geïdentificeerd (volgens de risicocriteria zoals deze beschreven zijn in het RIVM rapport 2019-061). Uiteraard moet er Legionella in het water aanwezig zijn om vermindering van legionellabacteriën door een bepaalde maatregel te kunnen vaststellen, dit geldt ook bij het uitvoeren van luchtmetingen.

5.1 Maatregelen om Legionellagroei in een AWZI te voorkomen of te beperken

Legionellabeheer zou zich idealiter moeten richten op het voorkomen of beperken van legionellagroei in AWZI's. Dat is ook de conclusie van Caicedo et al (2019). Hierbij geven de auteurs diverse voorbeelden hoe dit gerealiseerd kan worden: door bijvoorbeeld het aanpassen van het type AWZI, het aanpassen van de procestemperatuur van de zuivering, het behandelen van het slib of door het uitvoeren van biologisch beheer. Echter, de effectiviteit en uitvoerbaarheid bij de verschillende type zuiveringen is nog niet duidelijk (Bartels et al., 2019) en wordt in dit rapport verder niet onderzocht.

5.1.1 *Het verlagen of verhogen van de procestemperatuur*

De optimale groeitemperatuur van *L. pneumophila* bevindt zich tussen 30-38 °C. Om legionellagroei in een AWZI te voorkomen, is een mogelijke procesmaatregel om de temperatuur van het zuiveringsproces hier onder of boven te brengen. Het is nog onduidelijk wat het effect is van een temperatuurverlaging in het afvalwaterproces van een aantal graden Celsius op de mate van groei van de legionellabacteriën. Om dit beter in kaart te brengen is meer onderzoek nodig.

5.1.2 *Desinfectie door biociden of biologisch beheer*

Een andere mogelijkheid die genoemd is om legionella af te doden in een AWZI is het toedienen van (biologische) biociden (Messi et al., 2017; Nogueira et al., 2016). De conclusie uit deze studies was dat de gebruikte biociden niet geschikt lijken te zijn omdat de systemen niet goed meer werken en een andere oplossing moet worden gevonden om

legionellagroei in afvalwaterzuiveringssystemen te voorkomen of te beperken.

5.1.3 *Desinfectie AWZI*

Een extreme maatregel kan zijn om de gehele AWZI te legen en de bassins te desinfecteren en hierna de zuivering weer opnieuw te starten (enten van de biologische zuivering met nieuw/schoon entslib). Echter wanneer de procesvoering hetzelfde blijft, en er nog steeds optimale groeiomstandigheden voor de legionellabacteriën zijn, is de kans groot dat opnieuw besmetting van de zuivering plaats zal vinden.

5.2 **Maatregelen om verspreiding van Legionella via de lucht te voorkomen of te reduceren**

Legionellabacteriën kunnen zich in de lucht via aerosolen verspreiden nadat deze tijdens een zuiveringsproces uit het besmette afvalwater zijn verneveld. Diverse maatregelen uit de praktijk, om de verspreiding van Legionella via de lucht uit beluchtingsbassins bij een AWZI te voorkomen of te beperken, worden hierna beschreven.

5.2.1 *Afdekking van de AWZI*

Door afdekking van het beluchtingsbassin kan verspreiding van Legionella via aerosolen in de lucht worden voorkomen of worden beperkt. Afdekking is op dit moment de meest toegepaste maatregel om aerosolverbreiding uit AWZI's te voorkomen. Om geuroverlast naar de omgeving te voorkomen worden al veel verschillende soorten afdekkingen toegepast bij beluchtingsbassins van AWZI's. Hierbij wordt gebruikt gemaakt van verschillende materialen en constructies. De keuze voor een bepaald type afdekking hangt onder meer af van de mate van beïnvloeding van het proces: een afdekking kan leiden tot een verhoging van de temperatuur in het zuiveringsproces, wat de efficiëntie nadelig kan beïnvloeden. Daarnaast spelen onderhoudstechnische en economische argumenten een rol. Hierbij kan worden gedacht aan permanente afdekkingen middels (dak)constructies van hard materiaal zoals glasvezel of staal, of aan meer flexibele afdekmogelijkheden zoals zeil-, tentconstructies, drijvende pontons of drijvende afdekkingen zoals (hexa)ballen.

Een procesmaatregel zoals afdekking is effectief wanneer deze zorgt voor volledige afsluiting en de aerosolen (met legionellabacteriën) niet naar de buitenlucht kunnen ontsnappen. Door openingen, zoals kieren en gaten, kunnen aerosolen nog buiten de afdekking komen, wat de effectiviteit van de afdekking vermindert.

In de volgende paragrafen worden kort verschillende soorten afdekkingen besproken, en hierbij wordt aangegeven wat het effect van de maatregelen is op de vermindering van de legionellabacteriën in de lucht.

Zeil

Het aanbrengen van een (tijdelijk) zeil boven het beluchtingsbassin om legionellaverspreiding via de lucht te voorkomen kan zeer effectief zijn. Belangrijk hierbij is dat het zeil goed is vastgemaakt, het beluchtingsbassin volledig afsluit en er dus geen openingen zijn of

komen wanneer de beluchting volledig in bedrijf is. Indien er openingen aanwezig zijn, zal de effectiviteit van de genomen procesmaatregel middels afdekking minder zijn dan bij volledige afdekking. De lucht die vrijkomt bij het proces moet gecontroleerd worden afgevoerd en vrij worden gemaakt van aerosolen door bijvoorbeeld het plaatsen van een filter.

Tent

Ook kan een tentconstructie boven een beluchtingsbassin worden geplaatst waarbij net als bij het plaatsen van een zeil moet worden voorkomen dat er kieren en openingen zijn.

Gesloten systemen

Bovenstaande voorbeelden hadden betrekking op beluchtingssystemen die (zonder maatregelen) rechtstreeks in contact staan met de buitenlucht. Geheel afgesloten systemen dus geplaatst in een behuizing van bijvoorbeeld beton zijn ook mogelijk, waarbij het van belang is dat de afgevoerde lucht vrij is van legionellabacteriën in de lucht.

Pontons

Andere sluitende afdekkingen zoals pontons zijn ook mogelijk maar hierbij moet wel ruimte overblijven om de lucht af te voeren. Eventueel aanwezige aerosolen in de afgevoerde lucht moeten worden weggevangen door het plaatsen van bijvoorbeeld filters anders neemt de effectiviteit van de afdekking af.

(Hexa)ballen

Er zijn diverse drijvende afdekkingen beschikbaar die gebruikt worden op waterbassins om bijvoorbeeld warmteverlies, verdamping en stankoverlast tegen te gaan. Voorbeelden hiervan zijn hexacovers, hexaballen, holle ballen van verschillende materialen en ballen half gevuld met water. Belangrijk bij het kiezen van drijvende afdekkingen is dat deze het gehele beluchtingsbassin blijven afdekken wanneer de beluchting volledig in bedrijf is. In de praktijk is dit niet altijd het geval (Afbeelding 5.1.).



Afbeelding 5.1. Voorbeeld van een beluchtingsbassin waarbij de hexacovers naar de zijkant drijven toen de beluchting werd aangezet.

In een laboratoriumopstelling is de effectiviteit van drijvende ballen van diverse groottes in een beluchtingsbak voor de verwijdering van *E. coli* in aerosolen onderzocht (Hung et al., 2010). De conclusie van dit onderzoek was dat de ballen voor een reductie van 50% tot bijna 100% van aerosolen met bacteriën zorgden, bij een concentratie van 1×10^4 houdt dit in dat er geen tot en met 5×10^3 bacteriën in de aerosolen overblijven. Het hebben van meerdere lagen en ook kleinere ballen was het meest effectief. Aanvullend onderzoek is nodig om te bepalen of dergelijke afdekkingen effectief zijn bij het voorkomen van aerosolen met daarin *Legionella* bij AWZI's. Bij diverse AWZI's wordt momenteel al gebruikt gemaakt van dergelijke drijvende afdekkingen in de beluchtingsbassins.

Afzuiging en desinfectie van lucht (filters en UV)

Wanneer een beluchtingsbassin dicht of afgedekt is, wordt de lucht mogelijk actief afgezogen. Dan is het van belang dat deze lucht wordt gefiltreerd of gedesinfecteerd, bijvoorbeeld door middel van UV-straling. Mogelijk kunnen luchtwassers worden gebruikt (Bartels et al., 2013) en zijn andere desinfectiemethoden van lucht ook effectief maar hier moet nader onderzoek naar worden verricht.

5.2.2 *Aanpassing van het beluchtingsproces*

In de literatuur worden diverse studies beschreven waarin fijne bellenbeluchting tot minder aerosolvorming leidt dan beluchting met grotere bellen (Korzeniewska, 2011; Michalkiewicz and Kruszelnicka, 2018). Weer een andere studie toonde aan dat bij beluchtingssystemen waarbij het afvalwater mechanisch in beweging wordt gebracht, zoals met horizontale rotoren en oppervlakteturbines, meer aerosolen gevormd worden dan bij systemen die gebruik maken van luchtdiffusie (Sánchez-Monedero et al. (2008)).

Studies naar het ontstaan van aerosolen met *Legionella* vanuit AWZI's met verschillende beluchtingssystemen zijn niet bekend. Dergelijke studies zijn nodig om te kunnen bepalen of het veranderen van het beluchtingssysteem een procesmaatregel is die genomen kan worden zodat aerosolvorming wordt verminderd.

Door gebruik te maken van zuivere zuurstof bij de beluchting worden ook minder aerosolen gevormd, doordat voor dezelfde hoeveelheid zuurstof een kleinere hoeveelheid nodig is. Maar het effect hiervan op de verspreiding van *legionella* uit de AWZI zal onderzocht moeten worden, evenals het effect op de menging van het afvalwater.

5.3 **Praktijkonderzoek naar de effectiviteit van maatregelen tegen verspreiding van *Legionella* via de lucht**

Hieronder zijn enkele voorbeelden uit de praktijk uitgewerkt waarbij bij verschillende AWZI's, na de detectie van legionellabacteriën in de zuivering, een afdekking is aangebracht over of op de beluchtingsbassins. Bij één AWZI werd de afgevoerde lucht gedesinfecteerd. Luchtmonsters zijn genomen met de Coriolis airsampler (zie 4.4.2), en de monsters zijn met verschillende detectiemethoden onderzocht. Niet bij alle voorbeelden konden door de aanwezigheid van stoorflora kwantitatieve kweekgegevens worden verkregen, vaak konden dan wel kwalitatieve gegevens worden verkregen met amoebekweek (zie 4.1.2) en/of PCR (zie 4.2.1). Dit staat dan bij het

voorbeeld vermeld. Indien kwantitatieve kweekgegevens beschikbaar zijn worden de kwalitatieve resultaten niet vermeld, omdat kwantitatieve gegevens gebruikt worden om de efficiëntie van de maatregel te bepalen.

Bij de voorbeelden waarbij de effectiviteit van een getroffen maatregel wordt beschreven, worden geen specificaties van de zuiveringsinstallaties en -processen beschreven. Ook moet worden opgemerkt dat de gemeten legionellaconcentraties en de aangetoonde verwijdering een momentopname is en van diverse factoren afhankelijk, zoals verschillende meteorologische factoren: de omgevingstemperatuur, luchtvochtigheid en windsnelheid. Op een ander moment kan de mate van reductie weer anders zijn.

5.3.1 Afdekking met een zeil

Er is bij vier verschillende AWZI's die hun beluchtingsbassin hadden afgesloten met een zeil gemeten wat de concentraties legionellabacteriën in de lucht onder en buiten de afdekking was.

Voorbeeld 1

Het beluchtingsproces van deze AWZI werd volledig afgesloten met een zeil, hierbij werd in het afvalwater van het beluchtingsproces $7,0 \times 10^6$ kve/L Legionella aangetoond. Direct boven de beluchtingsbassin (onder het zeil) kon met kweek, door de hoge concentratie aan stoorflora, geen Legionella worden aangetoond, maar wel met de amoebekweek/qPCR. Net buiten het beluchtingsbassin kon met geen van de gebruikte detectiemethoden Legionella worden aangetoond. Bij deze AWZI lijkt de volledige afdekking met een zeil te voorkomen dat de legionellabacteriën zich vanuit de zuivering via aerosolen door de lucht verder kunnen verspreiden.

Voorbeeld 1:

April 2018:

- Afvalwater beluchtingsproces: $7,0 \times 10^6$ kve/L water
- Luchtmeting in beluchtingsproces:
 - Legionella niet met kweek aangetoond*
 - Legionella met amoebekweek/qPCR aangetoond
- Luchtmeting buiten afgedekt beluchtingsproces:
 - Geen Legionella aangetoond

* hoge concentratie aan stoorflora

Voorbeeld 2

Bij deze AWZI werd het beluchtingsproces afgesloten met een zeil, hierbij werd in het afvalwater van het beluchtingsproces hoge concentraties aan legionellabacteriën aangetoond. Direct boven de beluchtingsbassin was de concentratie in de lucht $1,1 \times 10^3$ kve/100L. Omdat net buiten het beluchtingsbassin nog enige legionellabacteriën in de lucht konden worden gedetecteerd is verspreiding via de lucht naar de directe omgeving aannemelijk. Op een aantal meter buiten de afdekking kon nog 2 kve/100L lucht worden aangetoond (een 2,7 logreductie¹ van legionellabacteriën). In dit voorbeeld werd door het

¹ Voor de reductie van het aantal legionellabacteriën wordt gebruik gemaakt van logreductie in Log₁₀ eenheden. Bij 1 logreductie wordt het aantal legionellabacteriën (of andere micro-organismen) met een factor 10 verminderd. Bijvoorbeeld 1 logreductie is 90% reductie van de bacteriën en 2 logreductie is 99% vermindering.

aanbrengen van de afdekking >99% reductie van Legionella in de lucht gerealiseerd.

Voorbeeld 2:

April 2019:

- Afvalwater beluchtingsproces: $3,8 \times 10^9$ kve/L water
- Luchtmeting in/direct boven beluchtingsproces: $1,1 \times 10^3$ kve/100L lucht
- Luchtmeting buiten afgedekt beluchtingsproces: 2 kve/100L lucht



Voorbeeld 3

Ook bij deze AWZI werd het beluchtingsproces afgesloten met een zeilconstructie waarbij enkele kleine openingen aanwezig waren. In het afvalwater werd $1,0 \times 10^6$ kve/L aan legionellabacteriën aangetoond. Bij de luchtmeting in het beluchtingsproces kon door de hoge concentratie aan stoorflora geen Legionella worden gekweekt. Legionella kon wel worden aangetoond met amoebekweek/qPCR en directe qPCR. Bij een kleine opening net buiten het afgedekte beluchtingsproces kon geen Legionella worden aangetoond met kweek maar wel met amoebekweek/qPCR en directe qPCR. Deze bevinding geeft aan dat een afdekking de hoeveelheden legionellabacteriën in de lucht zullen reduceren maar dat deze door openingen toch ook via de lucht de zuivering kunnen verlaten.

Voorbeeld 3:

December 2018:

- Afvalwater beluchtingsproces: $1,0 \times 10^6$ kve/L water
- Luchtmeting in beluchtingsproces:
 - Legionella niet met kweek aangetoond*
 - Legionella met PCR & met amoebekweek/PCR aangetoond
- Luchtmeting buiten afgedekt beluchtingsproces, bij opening:
 - Legionella niet met kweek aangetoond
 - Legionella met PCR & met amoebekweek/PCR aangetoond

* hoge concentratie aan stoorflora

Voorbeeld 4

Bij de AWZI van voorbeeld 4 waren 2 aparte beluchtingsbassins aanwezig die beide (gedeeltelijk) werden afgedekt door een zeil. Bij deze twee bassins zijn aparte luchtmetingen uitgevoerd. In het afvalwater van beluchtingsbassin 1 konden hoge concentraties aan Legionella worden aangetoond. In het luchtmonster boven dit beluchtingsbassin kon met kweek Legionella worden aangetoond, maar kon door de hoge achtergrond geen accurate telling worden uitgevoerd. In het afvalwater van beluchtingsbassin 2 werden lagere concentraties aan Legionella aangetoond en boven dit beluchtingsbassin kon met kweek geen Legionella worden aangetoond. Er werd wel Legionella aangetoond met de amoebekweek/qPCR als ook met de directe qPCR. Door het gebrek aan kwantitatieve resultaten kan bij deze AWZI niet worden aangegeven wat de reductie is van de legionellabacteriën in de lucht door de (gedeeltelijke) afdekking met behulp van een zeil. Wel kan worden vastgesteld dat deze afdekking niet voorkomt dat Legionella in aerosolen zich via de lucht kunnen verspreiden, wat te verwachten was omdat de zeilen de beluchtingsbassins niet volledig afdekten.

Voorbeeld 4: WZI

Mei 2019:

Beluchtingsbassin 1

- Afvalwater beluchtingsbassin 1: $3,5 \times 10^8$ kve/L water
- Luchtmeting buiten half afgedekt beluchtingsbassin 1:
 - Legionella met kweek aangetoond*
 - Legionella met directe PCR & amoebekweek op plaat & amoebekweek/PCR aangetoond



Beluchtingsbassin 2

- Afvalwater beluchtingsbassin 2: 1×10^6 kve/L water
- Luchtmeting buiten afgedekt beluchtingsbassin 2:
 - Legionella niet met kweek aangetoond
 - Legionella met directe PCR & amoebekweek op plaat & amoebekweek/PCR aangetoond

* door hoge achtergrond groei kon geen telling worden uitgevoerd

5.3.2 Afdekking met een tent

Bij de AWZI van voorbeeld 5 is twee maal onder dezelfde omstandigheden gemeten. Het betreffende beluchtingsbassin werd afgedekt met een tent waarin diverse openingen zaten. Bij beide monsternames werd in het afvalwater van het beluchtingsproces hoge concentraties aan Legionella aangetoond. Bij de eerste monstername direct boven het beluchtingsbassin was de concentratie in de lucht $1,5 \times 10^3$ kve/100L. Een aantal meter van de tent af, naast een grote opening kon nog $5,2 \times 10^2$ kve/100L lucht worden aangetoond (een 0,5 logreductie van legionellabacteriën). Bij de tweede monstername was direct boven het beluchtingsbassin de legionellaconcentratie in de lucht $1,9 \times 10^4$ kve/100L. Een aantal meter buiten de opening kon nog $1,3 \times 10^2$ kve/100L lucht worden aangetoond (een 2,2 logreductie van legionellabacteriën). Omdat net buiten de tent nog legionellabacteriën konden worden gedetecteerd, is verspreiding via de lucht naar de omgeving wel aannemelijk. In dit voorbeeld werd door het plaatsen van de tent een reductie van Legionella in de lucht gerealiseerd, variërend van 0,5–2,2 logreductie.

Voorbeeld 5:

Na toepassen van een maatregel, plaatsen van een tent over het beluchtingsbassin, om legionellaverspreiding via de lucht te voorkomen, is twee keer bij deze AWZI gemeten.



November 2018 (meting 1):

- Afvalwater beluchtingsproces: $1,5 \times 10^9$ kve/L water
- Luchtmeting in beluchtingsproces: $1,5 \times 10^3$ kve/100L lucht
- Luchtmeting een aantal meter buiten bij de opening van de tent (boven beluchtingsproces): $5,2 \times 10^2$ kve/100L lucht

Maart 2019 (meting 2):

- Afvalwater beluchtingsproces: $1,8 \times 10^8$ kve/L water
- Luchtmeting in beluchtingsproces: $1,9 \times 10^4$ kve/100L lucht
- Luchtmeting een aantal meter buiten bij de opening van de tent (boven beluchtingsproces): $1,3 \times 10^2$ kve/100L lucht

5.3.3 *Afdekking met pontons*

Bij de AWZI van voorbeeld 6 werd het beluchtingsproces grotendeels afgesloten door pontons maar er waren nog wel enkele openingen aanwezig. In het afvalwater kon $6,0 \times 10^6$ kve/L aan legionellabacteriën worden aangetoond en boven de pontons die het bassin niet volledig afsloten kon in de lucht geen kweekbare Legionella worden aangetoond. Na een extra amoebekweek stap kon wel Legionella worden aangetoond met kweek en met qPCR en ook met directe qPCR. Deze resultaten geven aan dat door de aanwezigheid van de openingen nog legionellabacteriën in de lucht konden komen en zich nog verder via de lucht kunnen verspreiden.

Voorbeeld 6:

Maart 2019:

- Afvalwater beluchtingsproces: $6,0 \times 10^6$ kve/L water
- Luchtmeting na afdekking pontons (niet volledig afgesloten):
 - Legionella niet met kweek aangetoond*
 - Legionella met directe PCR & amoebekweek op plaat & amoebekweek/PCR aangetoond

* hoge concentratie aan stoorflora

5.3.4 *Afdekking met ballen*

Bij de AWZI van voorbeeld 7 waren twee aparte beluchtingsbassins aanwezig, welke twee keer onderzocht werden: meting 1 zonder afdekking (juli 2019) en meting 2 met afdekking (augustus 2019). Voordat er maatregelen waren genomen bij deze AWZI werden tijdens de eerste meting, in het afvalwater van het beluchtingsbassin 1 hoge concentraties aan Legionella aangetoond, en direct boven het open beluchtingsbassin was de concentratie in de lucht 21 kve/100L. Nadat het beluchtingsbassin met ballen was afgedekt is een tweede luchtmeting uitgevoerd, waarbij wel legionellakolonies op plaat gezien werden, maar kon er door de hoge achtergrond flora geen kwantificatie worden uitgevoerd. Bij beluchtingsbassin 2 kon direct boven het open beluchtingsbassin een legionellaconcentratie in de lucht van 5 kve/100L worden aangetoond.

Nadat de beluchtingsbassins waren afgedekt met ballen werd bij de tweede meting direct boven het beluchtingsbassin 2 een concentratie van 2 kve/100L in de lucht worden aangetoond. Dit voorbeeld geeft aan dat de toegepaste maatregel hier niet heeft geleid tot het geheel voorkomen van verspreiding van aerosolen met daarin legionellabacteriën vanuit de betreffende beluchtingsbassins.

Voorbeeld 7:

Juli 2019 (meting 1) zonder afdekking:

- Afvalwater beluchttingsproces 1: $1,2 \times 10^8$ kve/L water
- Luchtmeting boven open beluchttingsproces 1: 21 kve/100L lucht
- Afvalwater beluchttingsproces 2: $4,0 \times 10^7$ kve/L
- Luchtmeting boven open beluchttingsproces 2: 5 kve/100L lucht



Augustus 2019 (meting 2) met afdekking met ballen:

- Afvalwater beluchttingsproces 1: $1,7 \times 10^8$ kve/L water
- Luchtmeting boven beluchttingsproces 1:
 - Legionella met kweek aangetoond*
 - Legionella met directe PCR & amoebekweek op plaat & amoebekweek/PCR aangetoond
- Afvalwater beluchttingsproces 2: $4,8 \times 10^7$ kve/L water
- Luchtmeting boven beluchttingsproces 2: 2 kve/100L lucht

* door hoge achtergrond groei kon geen telling worden uitgevoerd



5.3.5 *Afdekking met blokken*

Bij de AWZI van voorbeeld 8 is het beluchtingsproces afgedekt met een laag blokken. In het afvalwater van het beluchtingsproces, kon $2,0 \times 10^5$ kve/L Legionella worden aangetoond, en direct boven de beluchtingsbassin konden met de gebruikte detectiemethoden geen legionellabacteriën worden aangetoond. Onduidelijk is of de afdekking 100% effectief was in het voorkomen van aerosolen met daarin legionellabacteriën of dat de concentratie in het water te laag was om dit te kunnen vaststellen.

Voorbeeld 8:

Juli 2019:

- Afvalwater beluchtingsproces: 2×10^5 kve/L water
- Luchtmeting boven beluchtingsproces met blokken: Legionella niet aangetoond



5.3.6 *Desinfectie van de lucht met behulp van filtratie en UV-straling*

Bij de AWZI van voorbeeld 9 werd de lucht uit het afgesloten beluchtingsproces actief afgezogen door een filtratie eenheid en gedesinfecteerd met behulp van UV-straling. In het afvalwater van het beluchtingsproces werd Legionella aangetoond. Direct boven de beluchtingsbassin was de concentratie in de lucht $1,9 \times 10^4$ kve/100L. Buiten, nadat de lucht gefiltreerd was en na UV-desinfectie, kon nog 9 kve/100L lucht worden aangetoond (een 3,3 logreductie van legionellabacteriën), er vond hierbij dus geen volledige verwijdering plaats. De combinatie van de filtratie van de lucht en UV-desinfectie leverde wel een reductie op van >99% van de legionellabacteriën in de afgezogen lucht.

Voorbeeld 9: WZI

Maart 2018:

- Afvalwater beluchtingsbassin: $1,8 \times 10^8$ kve/L water
- Luchtmeting boven beluchtingsbassin: $1,9 \times 10^4$ kve/100L lucht
- Luchtmeting na filtratie/UV desinfectie lucht: 9 kve/100L lucht

5.4 Maatregelen om verspreiding van Legionella via het gezuiverde afvalwater te voorkomen of te reduceren

De hoeveelheid legionellabacteriën in het effluent (gezuiverde water dat de AWZI verlaat) kan worden gereduceerd door middel van desinfectie, bijvoorbeeld met behulp van UV-straling, een ozon-behandeling, door middel van het toevoegen van een chlooroplossing of door een extra zuiveringsstap zoals membraan- of zandfiltratie. Dit is vooral van belang wanneer het effluent of het oppervlaktewater waarop het effluent wordt geloosd, gebruikt wordt voor vernevelende processen zoals schoonmaakwerk op de AWZI of als koelwater in een koeltoren. Er moet worden afgewogen of de reductie van Legionella in het effluent opweegt tegen de lozing en/of vorming van mogelijk (eco)toxische chloorverbindingen bij het gebruik van chemische desinfectiemiddelen. In het RIVM rapport 2019-061 (Bartels et al., 2019) staat uitgebreider beschreven wat er bekend is over mogelijke aanvullende behandelingsmethoden van het effluent.

6 Discussie

Uitvoeren van een risicoanalyse

De risicocriteria die aangeven welke kenmerken van een AWZI leiden tot een verhoogd risico op legionellagroei en –verspreiding zijn eind 2018 gepostuleerd op basis van literatuurgegevens (Bartels et al. 2019). Voor deze eerste risicobepaling voor AWZI's in Nederland zijn al geïmplementeerde maatregelen zoals afdekking van het beluchte afvalwaterproces niet uitgevraagd en daarom niet meegenomen in de analyse. Getroffen maatregelen om legionellaverspreiding te voorkomen, zoals bijvoorbeeld een afdekking met een zeil of met ballen, kunnen bijdragen aan een lager risico. Wanneer meer informatie over het type beluchting bekend is, kunnen meer data verzameld worden over het ontstaan van aerosolen, met hierin legionellabacteriën, en de mogelijke afstand waarover deze kunnen worden verspreid. Daarnaast is het onduidelijk of andere risicocriteria, die momenteel nog niet zijn geïdentificeerd, ook een mogelijke rol spelen bij legionellagroei en -verspreiding bij AWZI's. Mogelijk speelt het type legionellabacterie ook een rol en kan het ST1646, dat in legionellose patiënten in Boxtel werd aangetroffen, onder bepaalde omstandigheden beter groeien in dergelijk proceswater in vergelijking met andere ST's. Ook is nog niet bekend, behalve van de locaties in Boxtel en Son, welke van de tot dan toe geïdentificeerde AWZI's in de afgelopen jaren hebben geleid tot legionellose gevallen in relatie tot de risicoclassificatie.

Ook kan het zijn dat andere industrieën die niet in de casuïstiek zijn beschreven (Bartels et al., 2019) een verhoogd risico hebben op legionellagroei en –verspreiding. Daarom is het aan te raden dat andere industrieën ook een risicoschatting uitvoeren van hun zuivering. Als de conclusie van de risicoanalyse is dat de AWZI als risicovol kan worden aangemerkt is het wenselijk dat er zowel een operationele monitoring van de AWZI in gang wordt gezet en een bemonsteringsplan wordt opgesteld en uitgevoerd, een zogenoemd beheersplan.

Detectie van Legionella in afvalwater

Voor het bepalen van het aantal legionellabacteriën in water moet de NEN-EN-ISO 11731 (2017) gevolgd worden, maar bij toepassing op afvalwater kan een grote spreiding in de resultaten optreden. Ook is gebleken dat wanneer analyses door verschillende laboratoria op hetzelfde afvalwater monsters worden uitgevoerd er grote discrepanties zijn in zowel aanwezigheid van legionellabacteriën als de aangetroffen concentraties. Dit komt omdat het moeilijk is om legionellabacteriën aan te tonen in het zeer vervuilde afvalwater vanwege de aanwezigheid van zogenaamde stoorflora, bacteriën die je niet wil aantonen, en ook door de hoge detectiegrens in vergelijking met drinkwater. Wanneer Legionella niet kan worden aangetoond in een afvalwatermonster betekent dit dat er geen óf minder dan 10.000 kve/L legionellabacteriën in het onderzochte monster aanwezig zijn.

Onbekend is bij hoeveel AWZI's de hoge detectiegrens leidt tot vals negatieve uitslagen. Dat wil zeggen dat, ondanks de aanwezigheid van Legionella, met de gebruikte detectiemethode geen legionellabacteriën

kunnen worden aangetoond, omdat ze in lagere aantallen dan 10.000 kve/L in het water aanwezig zijn. Dit kan plaatsvinden ongeacht de expertise van het uitvoerende laboratorium. In geval van dergelijke vals negatieve uitslagen kan het zijn dat maatregelen effectiever lijken dan ze zijn of dat er geen maatregelen worden genomen terwijl dat wel zou moeten (Caicedo et al. 2019).

Bij industrieën en waterschappen is er behoefte aan een goede duiding van de resultaten van legionellametingen in AWZI's. Zowel positieve als negatieve resultaten geven regelmatig aanleiding tot vragen. Er is behoefte aan meer duidelijkheid omtrent het te volgen analyseprotocol en hoe analyseresultaten op een juiste manier moeten worden beoordeeld. In een platform of zogenaamde 'community of practice' kunnen dergelijke aspecten besproken worden. Eén platform om over legionella in afvalwater van gedachten te wisselen is er op dit moment nog niet hoewel er wel verschillende werkgroepen bestaan om bijvoorbeeld methoden voor het bepalen van zwemwater- of drinkwaterkwaliteit te bespreken.

Naast het uitvoeren van de kweekmethode als detectiemethode van Legionella in afvalwater kan ook gebruik gemaakt worden van moleculaire detectiemethoden zoals PCR. Het grote voordeel van de PCR is dat deze snel een uitslag kan geven over de aanwezigheid van Legionella DNA in een monster. Dit kost een paar uur in tegenstelling tot de kweekmethode die tot 3-7 dagen duurt. Echter bij de moleculaire detectiemethoden kan niets worden gezegd over de levensvatbaarheid van de aangetoonde legionellabacteriën. Deze kunnen in de verschillende stadia van het zuiveringsproces zijn afgestorven of de bacteriën kunnen al geïnactiveerd het zuiveringsproces zijn binnengekomen. Het kan zelfs zijn dat het aangetoonde DNA zich niet in een intacte bacterie bevond maar als vrij DNA. PCR is dus niet geschikt om de effectiviteit van maatregelen zoals zuiveringsmethoden vast te stellen. Dergelijke moleculaire detectiemethoden zullen de aantallen levensvatbare legionellabacteriën en daarmee het risico van de aanwezigheid van Legionella in een mogelijke bron op de volksgezondheid dus overschatten. Maar moleculaire methoden kunnen wel gebruikt worden om aan te tonen of in een bron eenzelfde type Legionella wordt aangetroffen als bij een patiënt met legionellose. Zoals beschreven in de review van Caicedo et al. (2018) zijn er veel studies die met moleculaire detectiemethoden (PCR) significant hogere aantallen positieve monsters hebben gevonden dan met kweek op voedingsbodems. En daarmee kunnen meer bronnen worden opgespoord.

Detectie van Legionella in de lucht

Onduidelijk is nog in welke mate legionellabacteriën vanuit een besmet AWZI in aerosolen in de lucht kunnen komen. Er zijn maar een paar studies die een aanzet hebben gemaakt dit beter in kaart te brengen. Allegra et al. (2016) hebben in een laboratoriumopstelling Legionella verneveld en bij de geteste omstandigheden bepaald dat 7% van de oorspronkelijke bacterieoplossing zich bevond in aerosolen die de juiste afmetingen hebben om te kunnen worden ingeademd.

Ook is er een studie beschreven die gebruik gemaakt heeft van indicatororganismen om het proces van aerosolvorming met daarin micro-organismen in kaart te brengen, maar onduidelijk is in welke

mate deze representatief zijn voor Legionella (Moore et al., 2015). Wanneer meer informatie over de mate van de verneveling van Legionella kan worden verkregen zal dit helpen om de risico's van het verspreiden van legionellabacteriën vanuit een besmet AWZI en het veroorzaken van legionellose beter in te kunnen schatten.

Er is nog geen gestandaardiseerd protocol voor het nemen van luchtmonsters voor de detectie van legionellabacteriën in lucht met kweek- en/of moleculaire methoden. Er zijn in de literatuur verschillende studies beschreven die legionellabacteriën in luchtmonsters aantonen bij verschillende bronnen, bijvoorbeeld in douches (Collins et al., 2017; Wiik and Krovel, 2014), bij warm tapwater in zorginstellingen (Montagna et al., 2017), bij koeltorens (Ishimatsu et al., 2001) en bij AWZI's (Blatny et al., 2008; Medema et al., 2004; Mirzaee et al., 2015; Pascual et al., 2001; Roll and Fujioka, 1995).

In deze studies, waarbij verschillende luchtbemonsteringsapparatuur werd gebruikt, werden grote verschillen in efficiëntie waargenomen, vooral wanneer kweekmethoden voor de detectie werden gebruikt. Bij twee studies waarbij op luchtmonsters zowel een kweekmethode als PCR werden uitgevoerd, werd een groot verschil in het aantal positieve monsters beschreven. Roll en Fujioka (1995) vonden met kweek 3 van de 9 monsters positief (*Legionella spp.*) en met PCR 7 van de 9 monsters positief (*Legionella spp.*). Medema et al. (2004) vonden met kweek geen van de 5 monsters positief en met PCR 3 van de 5 monsters positief. Uit onderhavige studie werd duidelijk dat liquid impingement vooral in combinatie met kweek succesvol kan worden toegepast om maatregelen te evalueren.

Het voordeel van een 'liquid impingement' methode waarbij de lucht door een vloeistof wordt geleid, is dat naast een kweekmethode het monster ook goed kan worden gebruikt in moleculaire detectiemethoden. Er zijn verschillende factoren naast het gebruikte monsternameapparaat die de monstername efficiëntie beïnvloeden, zoals de plaats van monstername, omgevingsfactoren (luchtvochtigheid, wind etc.) aanzuigsnelheid van de lucht en duur van monstername. Ishimatsu et al (2001) beschrijven dat de efficiëntie van de luchtbemonstering van kweekbare legionellabacteriën met een 'liquid impingement' apparaat in grote mate afhangt van de gebruikte opvangvloeistof.

Voor de luchtbemonstering zijn nog een aantal zaken onduidelijk:

- Het is nog onduidelijk wat de efficiëntie (en detectiegrens) van luchtbemonstering met verschillende apparaten is. Met de huidige luchtbemonstering geven de verkregen resultaten hoogst waarschijnlijk een onderschatting aan van de werkelijke hoeveelheid Legionella aanwezig in de bemonsterde lucht;
- Veel van de luchtbemonsteringsapparatuur is schadelijk voor de bemonsterde micro-organismen, waarbij dus mogelijk een gedeelte van deze micro-organismen geïnactiveerd zal worden. Onduidelijk is welk percentage legionellabacteriën in dergelijke bemonsteringen wordt geïnactiveerd;
- Het is niet duidelijk hoeveel van de legionellabacteriën, die in het water zitten van het bemonsterde proces, als aerosolen in de lucht terecht komen.

Gemeten concentraties in de lucht kunnen een belangrijke bijdrage leveren aan modellering van mogelijke verspreiding van Legionella vanuit een AWZI (Vermeulen et al. 2019).

Maatregelen

Zowel in het RIVM-rapport 2019-061 als in voorliggend rapport worden diverse maatregelen beschreven die kunnen worden genomen om de legionellagroei en -verspreiding bij AWZI's te verminderen of zelfs te voorkomen. De aandacht voor legionellabeheer zou zich moeten richten op het voorkomen of beperken van legionellagroei in AWZI's om ook medewerkers zo goed mogelijk te beschermen, echter vooralsnog zijn de meeste maatregelen gericht op het voorkomen van legionellaverspreiding bij AWZI's via de lucht. Bij een aantal van de bedrijven, zowel met als zonder legionellaproblemen, is de AWZI al gedeeltelijk of geheel afgedekt, of worden initiatieven geïnventariseerd en genomen om de zuivering af te dekken, met behulp van een zeilconstructie of met behulp van (meerdere lagen) ballen. Er zijn ook AWZI's die toch proberen de temperatuur van het zuiveringsproces te verlagen (tot onder de 25 °C) om de AWZI minder risicovol te maken voor groei en vervolgens verspreiding van legionellabacteriën. De praktijk zal nog moeten uitwijzen welke van de genomen beheersmaatregelen werkelijk bijdragen aan een reductie van legionellagroei en een verminderde legionellaverspreiding, via zowel de lucht als via het effluent, zonder de gestelde zuiveringsdoelstelling van de AWZI teveel te benadelen.

Naast het meten en vastleggen van diverse procesparameters zijn visuele inspecties ook belangrijk, zoals controleren of een afdekking de installatie nog goed afsluit. Bij operationele monitoring is het testen op de aanwezigheid van (ongewenste) micro-organismen, zoals Legionella, minder goed toepasbaar omdat de detectiemethode met kweek een lange doorlooptijd heeft (ca 7 dagen) en gedurende deze tijd de zuivering mogelijk niet goed functioneert en dus niet tijdig passende corrigerende maatregelen kunnen worden toegepast.

Bepalen effectiviteit van genomen maatregelen

Er zijn bij een aantal AWZI's, waarbij preventieve maatregelen waren genomen, kwantitatieve gegevens verkregen over de hoeveelheden legionellabacteriën in de lucht:

- Bij een met een zeil afgesloten beluchtingsbassin werd een 99% reductie van legionellabacteriën waargenomen, maar er werden toch ook nog levensvatbare Legionella buiten de afdekking aangetoond. Deze lagere concentratie in de lucht is grotendeels te danken aan de afdekking, maar ook de afstand tot de bron (beluchtingsbassin) was groter;
- Bij een beluchtingsbassin dat werd bedekt door een tent waarbij nog openingen aanwezig waren, werd twee keer gemeten. Waarbij beide keren nog redelijk hoge concentraties aan legionellabacteriën in de buitenlucht werd aangetoond, respectievelijk $5,2 \times 10^2$ kve/100L lucht en $1,3 \times 10^2$ kve/100L lucht. Ondanks dat de tent moest voorkomen dat aerosolen met daarin legionellabacteriën zich naar de omgeving konden verspreiden kon dit door de opening toch plaatsvinden;

- Bij dezelfde AWZI is de afgezogen lucht, vanuit het beluchtingsbassin, gezuiverd door middel van filtratie en desinfectie met behulp van UV-straling. Hierbij werd meer dan 99% reductie van de legionellabacteriën aangetoond, maar ook hier konden nog levensvatbare Legionella worden aangetoond: er had dus geen volledige verwijdering plaatsgevonden;
- Bij de AWZI waarbij ongeveer dezelfde concentraties aan legionellabacteriën in de lucht werd bepaald, zowel zonder afdekking als na het nemen van een maatregel (afdekking met behulp van ballen), suggereert dat deze maatregel niet effectief is voor het verminderen van de legionellaverspreiding via aerosolen in de lucht vanuit de betreffende AWZI;
- Bij de AWZI waarbij 2×10^5 kve/L aan legionellabacteriën in het proceswater aanwezig was, kon in de lucht boven het beluchtingsproces, dat werd afgedekt door blokken, geen Legionella worden aangetoond. Onduidelijk is of de afdekking 100% effectief was in het voorkomen van aerosolen met daarin legionellabacteriën of dat de concentratie in het water te laag was om dit te kunnen vaststellen.

Bij de voorbeelden waarbij de efficiëntie van een genomen maatregel wordt beschreven, moet worden opgemerkt dat de gemeten legionellaconcentraties en de aangetoonde verwijdering een momentopname is en van diverse factoren afhankelijk is, zoals verschillende meteorologische factoren (omgevingstemperatuur, luchtvochtigheid en windsnelheid). Op een ander moment kan de mate van reductie weer anders zijn. Door regelmatig te meten, kan het legionellarisico nauwkeuriger worden vastgesteld.

Acceptabel risiconiveau

Duiding van de resultaten van legionellametingen houdt ook in dat moet worden ingeschat hoe hoog de concentraties aan legionellabacteriën in afvalwater en lucht acceptabel zijn als het gaat om risico's door blootstelling van medewerkers en omwonenden. Bij welke aantallen in water of lucht lopen mensen een infectie op en worden ziek? Een goede risicomodellering zoals voor blootstelling aan ziekteverwekkende bacteriën, virussen en protozoaire parasieten door drinken van kraanwater wordt in Nederland al wel toegepast om tot een acceptabel aantal geïnfecteerden te komen. Voor blootstelling door gebruik van whirlpools werd eerder een dergelijke risicoschatting uitgevoerd (Bouwknegt et al. 2013) maar niet voor blootstelling aan Legionella bevattende aerosolen uit AWZI's. Nader onderzoek kan de huidige onzekerheden en aannames in Legionella risicoschatting wegnemen (Whiley et al. 2014). Het genoemde acceptabel infectierisico is een beleidskeuze en moet tot stand komen vanuit overleg tussen belanghebbenden. Van daaruit zou kunnen worden vastgesteld onder welke concentraties legionellabacteriën in afvalwater en lucht zouden moeten blijven om tot een acceptabel risiconiveau te komen. Voor het bepalen van de effectiviteit van de genomen maatregelen om legionellaverspreiding via de lucht te voorkomen waren we afhankelijk van AWZI's waarbij Legionella in het proceswater was aangetoond en waarbij vervolgens ook maatregelen waren of werden genomen. Om een beter inzicht in de effectiviteit van bovenstaande maatregelen, maar ook andere maatregelen, te verkrijgen, is het van belang om meer

onderzoek te doen na het nemen van maatregelen bij AWZI's waarbij Legionella in het proceswater is aangetoond.

Er moet meer duidelijkheid komen over de mate van verneveling van aerosolen met daarin legionellabacteriën vanuit specifieke afvalwaterzuiveringssystemen. Daarnaast is het van belang om preventieve en beheersmaatregelen te implementeren om te voorkomen dat medewerkers en direct omwonenden worden blootgesteld en mogelijk ziek worden. Dit geldt zeker voor installaties waarbij Legionella is aangetoond maar ook voor andere risicovolle installaties waarbij na introductie van Legionella in het zuiveringsproces groei en verspreiding kunnen ontstaan. Ook is er nog veel onduidelijk over de effectiviteit van te nemen preventieve maatregelen, zoals afdekken, maar dit zal zeker leiden tot een reductie van de aerosolen die de AWZI zullen verlaten. Ook is het belangrijk om operationele monitoring te blijven uitvoeren om te controleren of ingevoerde beheersmaatregelen nog juist zijn toegepast. Voorbeelden hiervan zijn het visueel controleren of een laag ballen de zuivering volledig afdekt, controle of een afdekking met zeil nog op zijn plaats zit en of de troebelheid na een filtratiestap continu gemeten wordt. Bovenal moet vooropgesteld worden dat systeemanalyses en risicoanalyses worden uitgevoerd en een Legionella bemonsterings- en beheersplan moet worden opgesteld.

7 Conclusies en aanbevelingen

7.1 Conclusies

Het verkrijgen van meetgegevens over de aanwezigheid van legionellabacteriën in relatie tot procesparameters bij mogelijk risicovolle afvalwaterzuiveringsinstallaties is wenselijk, en dit kan uitgevoerd worden door regelmatig monsters te laten analyseren uit diverse zuiveringsprocessen bij een AWZI op aanwezigheid van Legionella.

Detectiemethoden

De kweekmethode uitgevoerd op afvalwatermonsters, volgens de NEN-EN-ISO 11731:2017, die vaak een hoge concentratie aan stoorflora bevat, heeft expertise van het uitvoerende laboratorium en heeft een hoge detectiegrens (10.000 kve/L). Dit houdt in dat concentraties onder de 10.000 kve/L niet worden gedetecteerd en een AWZI als negatief wordt bestempeld terwijl er wel degelijk lagere concentraties aan legionellabacteriën aanwezig kunnen zijn (vals negatieve resultaten), die mogelijk bij gunstige groeiomstandigheden kunnen uitgroeien tot hoge concentraties. In combinatie met de slechte reproduceerbaarheid van de kweekmethode op dergelijke vervuilde afvalwatermonsters is het van belang dat een monsternameschema wordt opgesteld om een trend van de aan- en afwezigheid van legionellabacteriën in een installatie te verkrijgen.

Maatregelen en bepalen effectiviteit

Er zijn diverse mogelijke maatregelen die bij een risicovolle AWZI kunnen worden genomen om legionellagroei en -verspreiding te voorkomen. Uit de luchtmetingen blijkt dat de effectiviteit van dergelijke maatregelen wisselend is. Hierbij is het van belang te blijven monitoren of de toegepaste maatregel nog optimaal wordt toegepast. Tot welke niveaus gereduceerd moet worden om aan een acceptabel risico te voldoen moet nog worden vastgesteld.

Er zijn diverse mogelijke maatregelen die bij een risicovolle AWZI kunnen worden genomen om legionellagroei en -verspreiding te voorkomen. Onduidelijk is echter nog wat de toepasbaarheid en de effectiviteit van dergelijke maatregelen zijn bij de vele verschillende soorten AWZI's die in Nederland aanwezig zijn.

Belangrijk is wel dat er gemonitord wordt wat de mate van effectiviteit van de genomen maatregel is. Dit kan worden uitgevoerd door de legionellaconcentraties voor en na het nemen van de maatregel te meten. Voorbeelden van maatregelen zijn het afdekken van het beluchtingsbassin met verschillende soorten afdekkingen en UV-desinfectie van de afgevoerde lucht. Er wordt bij de diverse maatregelen verschillen in de efficiëntie gevonden: 0,5 tot en met 3,3 logreductie (dit is een reductie met een factor 3 tot een factor 2000) van legionellabacteriën in de onderzochte lucht. Ondanks dat een genomen maatregel misschien niet helemaal 100% voorkómt dat Legionella zich nog kan verspreiden (via water of lucht) zal er mogelijk wel een

aanzienlijke reductie optreden. Hierbij is het van belang te blijven monitoren of de toegepaste maatregel nog juist wordt toegepast.

7.2 Aanbevelingen

Het bepalen van de effectiviteit van maatregelen om Legionellaverspreiding te voorkomen was afhankelijk van AWZI's waarbij Legionella in het proceswater was aangetoond en ook maatregelen waren of werden genomen. Om een beter inzicht in de effectiviteit van bovenstaande maatregelen, maar ook van andere maatregelen, te verkrijgen is het van belang om meer onderzoek te doen na het nemen van maatregelen bij AWZI waarbij Legionella in het proceswater is aangetoond. Vervolgonderzoek is ook gewenst om meer inzicht te krijgen in de verschillende soorten AWZI's, additionele risicovolle industrieën, specifieke procesparameters, mate van verspreiding vanuit positieve zuiveringen en effectiviteit van genomen maatregelen zoals temperatuurverlaging om legionellagroei en -verspreiding te voorkomen.

Het is aan te raden om voor alle AWZI's, ook van andere industrieën dan beschreven in het RIVM-rapport (2019), die mogelijk een verhoogd risico hebben op legionellagroei en -verspreiding door de aanwezigheid nutriëntrijke omstandigheden, een risicoschatting uit te voeren. Indien de conclusie van de systeemanalyse is dat de AWZI risicovol is, wordt aanbevolen om zo spoedig mogelijk te starten met zowel een operationele monitoring van de AWZI en met het opstellen en uitvoeren van een bemonsteringsplan.

Omdat nog veel informatie ontbreekt over de omstandigheden waarbij Legionella optimaal groeit bij AWZI's, en wat de kenmerken van een AWZI zijn waarbij hoge concentraties aan legionellabacteriën kunnen voorkomen, is het van belang om deze beter in kaart te brengen en te vergelijken met andere AWZI's. Hierbij kan gedacht worden aan het regelmatig vastleggen van procesparameters bij, met Legionella besmette en onbesmette, AWZI's, zoals temperatuur, pH, zuurstof- en stikstofwaarden. Doordat analysemethoden voor dergelijke procesparameters vaak eenvoudig zijn, vooral in vergelijking met legionelladetectie, kunnen deze zeer regelmatig gemeten worden waardoor trends gesignaleerd kunnen worden. Er zijn mogelijk aanvullende procesparameters die van belang zijn die nog in kaart moeten worden gebracht. Een expertgroep, kennisinstituut of brancheorganisatie kan hierin een coördinerende rol in vervullen. Daarnaast moet onderzoek naar de groeiomstandigheden worden uitgevoerd, zoals een bepaalde samenstelling en gehalte aan nutriënten in combinatie met een relatief hoge temperatuur en andere gunstige omstandigheden, waarbij ST1646 wordt vergeleken met andere Legionella ST's. Verschillen in bijvoorbeeld optimale groeitemperatuur tussen verschillende Legionella ST zijn eerder beschreven (van der Kooij et al., 2016) maar dat moet voor de specifiek met proceswater geassocieerde Legionella ST's onder toegepaste procescondities verder onderzocht worden. Dit om uiteindelijk te komen tot het gebruik van eenvoudig te meten procesparameters om legionellagroei te kunnen controleren.

Er is behoefte aan meer informatie over het ontstaan van aerosolen met daarin Legionella uit besmette AWZI's met verschillende beluchtingssystemen. Hiermee kan worden geschat of het veranderen van het beluchtingstelsel een effectieve maatregel is om de aerosolvorming te verminderen. Hiervoor dienen de kenmerken van de betreffende installaties alsmede de legionellaconcentraties in de water- en luchtfase in kaart te worden gebracht. Mogelijk kan hier meer informatie over worden verkregen door proefopstellingen of aerosolkamers te gebruiken waarbij Legionella aanwezig in een waterfase gecontroleerd verneveld wordt, bijvoorbeeld met verschillende beluchtingssystemen. Door de lucht met de gevormde aerosolen te analyseren kunnen mogelijke kritische factoren, die ervoor zorgen dat hoge concentraties aan legionellabacteriën zich via de lucht kunnen verspreiden, worden vastgesteld.

Welke weersomstandigheden, met betrekking tot temperatuur en luchtvochtigheid, de aerosolvorming kunnen bevorderen en welke invloed deze weersomstandigheden hebben op de afstand waarover de aerosolen met Legionella zich kunnen verspreiden is nog onduidelijk. Er wordt aanbevolen om dit verder te onderzoeken.

Indien een AWZI een maatregel in de zuivering heeft geïmplementeerd is het van belang om met zowel een risicoanalyse als met aanvullende metingen, in zowel water als lucht, te monitoren wat hiervan de efficiëntie is met betrekking tot het verminderen of verwijderen van Legionella. Dit gebeurt naast het opgestelde bemonsteringsplan waarbij regulier watermonsters uit de zuivering worden onderzocht op de aanwezigheid van Legionella.

Handvaten voor AWZI's zijn nodig zodat een juiste inschatting gemaakt kan worden of de zuivering risicovol is en wat de juiste vervolgstappen zijn indien dit zo is:

- Het op een adequate manier kunnen laten uitvoeren van analyses in diverse zuiveringsprocessen en deze op een juiste manier kunnen interpreteren;
- Toepassen van mogelijke procesmaatregelen die kunnen leiden tot reductie van legionella in het afvalwater of reductie van aerosolen naar de buitenlucht en kunnen bepalen wat de efficiëntie hiervan is;
- Bepalen van acceptabel risiconiveau om gezondheid van medewerkers en omwonenden te kunnen beschermen;
- Een platform of zogenaamde 'community of practice' of een andere al bestaande overlegvorm te gebruiken of anders op te richten, is wenselijk om dergelijke aspecten te kunnen bespreken.

7.3 Beleidsadviezen

Opstellen van een richtsnoer/pakket bouwstenen voor Legionella bij AWZI's, in samenwerking met onder andere (brancheorganisaties van) industrieën met AWZI's, Stowa, omgevingsdiensten en inspecties. Hierin kunnen de volgende onderdelen (bouwstenen) worden opgenomen: systeemanalyse, risico-inschatting, uitvoeren van periodieke

legionellametingen (detectie en typering) en maatregelen. Hierbij moet rekening worden gehouden met zowel omwonenden als medewerkers.

Het is aan te bevelen om AWZI's een risicobeoordeling te laten uitvoeren: indien deze een (zeer) aannemelijk legionellarisico hebben, dienen deze een plan op te stellen waarbij regulier monsters worden genomen, uit diverse processen in de zuivering, en te worden geanalyseerd op de aanwezigheid van Legionella. De frequentie van monsternamen is afhankelijk van de risicobeoordeling.

Er moeten duidelijke protocollen en richtlijnen worden opgesteld met betrekking tot het uitvoeren van legionella-analyses in afvalwater- en luchtmonsters. Laboratoria die deze analyses uitvoeren zouden hiervoor aantoonbaar bekwaam moeten zijn.

Er moeten innovatieve en alternatieve zuiveringstechnieken worden ontwikkeld om AWZI's mogelijkheden te geven om legionellagroei te verminderen of zelfs te voorkomen. Daarnaast zijn handvaten nodig over mogelijke maatregelen, en de efficiëntie hiervan, om legionellaverspreiding via lucht en water te voorkomen. Hiervoor zijn aanvullende meetgegevens nodig waarbij daadwerkelijk Legionella bepaald wordt en niet een surrogaat zoals het totaal kiemgetal of bacteriën van de coligroep.

Dankwoord

Wij willen graag alle betrokken medewerkers van de RWZI's, de betrokken waterschappen en IWZI's bedanken voor hun medewerking en hun vragen en expertise om meer duidelijkheid te krijgen in de Legionella vraagstelling. Verder willen we de omgevingsdiensten, en in het bijzonder Diany Stoel en Mark van Rijn (OD Brabant Noord), bedanken voor het delen van informatie en ervaringen met betrekking tot (positieve) risicovolle IWZI's. Imke Leenen en Cora Uijterlinde (STOWA) voor het samenbrengen van het RIVM met waterschappen die RWZI's hebben met een verhoogd risico. Ook willen we Gretta Lynch en Sharona de Rijk (RIVM) bedanken voor hun uitstekende uitvoerende werk met betrekking tot de luchtbemonstering en laboratoriumanalyses. Alvin Bartels (RIVM) willen we bedanken voor zijn inhoudelijke bijdrage. Ten slotte willen we Jappe Beekman (RIVM) bedanken voor het kritisch doorlezen van het rapport.

Referenties

- Allestam, G., de Jong, B., Langmark, J., 2006. Chapter 119 : Biological Treatment of Industrial Wastewater: a Possible Source of Legionella Infection In: Cianciotto, N., Kwaik, Y., Edelstein, P., Fields, B., Geary, D., Harrison, T., Joseph, C., Ratcliff, R., Stout, J., Swanson, M. (Eds.) Legionella. ASM Press, pp. 493-496.
- Anoniem, 2013. Water - Detectie en telling van Legionella. NEN6254.
- Anoniem, 2017. Water - Telling van *Legionella*. NEN-EN-ISO 11731 2017.
- Anoniem, 2019. Water quality - Detection and quantification of Legionella spp. and/or Legionella pneumophila by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). ISO/TS 12869 2019.
- Bartels, A.A., Schalk, J.A.C., Melse, R.W. 2013. Kunnen luchtwassers legionella verspreiden naar de omgeving? (RIVM).
- Bartels, A.A., van Leerdam, R.C., Lodder, W.J., Vermeulen, L.C., van den Berg, H.H.J.L. 2019. Inventarisatie van legionellarisico's bij afvalwaterzuiveringsinstallaties (RIVM).
- Blatny, J.M., Reif, B.A., Skogan, G., Andreassen, O., Hoiby, E.A., Ask, E., Waagen, V., Aanonsen, D., Aaberge, I.S., Caugant, D.A., 2008. Tracking airborne Legionella and Legionella pneumophila at a biological treatment plant. Environ Sci Technol 42, 7360-7367.
- Caicedo, C., Beutel, S., Scheper, T., Rosenwinkel, K.H., Nogueira, R., 2016. Occurrence of Legionella in wastewater treatment plants linked to wastewater characteristics. Environmental science and pollution research international 23, 16873-16881.
- Collins, S., Stevenson, D., Bennett, A., Walker, J., 2017. Occurrence of Legionella in UK household showers. International journal of hygiene and environmental health 220, 401-406.
- Den Boer, J.W., Euser, S.M., Brandsema, P., Reijnen, L., Bruin, J.P., 2015. Results from the National Legionella Outbreak Detection Program, the Netherlands, 2002-2012. Emerg Infect Dis 21, 1167-1173.
- Fields, B.S., Benson, R.F., Besser, R.E., 2002. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. Clinical microbiology reviews 15, 506-526.
- Gaia, V., Fry, N.K., Afshar, B., Luck, P.C., Meugnier, H., Etienne, J., Peduzzi, R., Harrison, T.G., 2005. Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of Legionella pneumophila. Journal of clinical microbiology 43, 2047-2052.
- Gregersen, P., Grunnet, K., Uldum, S.A., Andersen, B.H., Madsen, H., 1999. Pontiac fever at a sewage treatment plant in the food industry. Scandinavian journal of work, environment & health 25, 291-295.
- Herwaldt, L.A., Marra, A.R., 2018. Legionella: a reemerging pathogen. Current opinion in infectious diseases 31, 325-333.
- Hung, H.F., Kuo, Y.M., Chien, C.C., Chen, C.C., 2010. Use of floating balls for reducing bacterial aerosol emissions from aeration in wastewater treatment processes. Journal of hazardous materials 175, 866-871.

- Ishimatsu, S., Miyamoto, H., Hori, H., Tanaka, I., Yoshida, S., 2001. Sampling and detection of *Legionella pneumophila* aerosols generated from an industrial cooling tower. *Ann Occup Hyg* 45, 421-427.
- Isozumi, R., Ito, Y., Ito, I., Osawa, M., Hirai, T., Takakura, S., Iinuma, Y., Ichiyama, S., Tateda, K., Yamaguchi, K., Mishima, M., 2005. An outbreak of *Legionella pneumonia* originating from a cooling tower. *Scand J Infect Dis* 37, 709-711.
- Korzeniewska, E., 2011. Emission of bacteria and fungi in the air from wastewater treatment plants - a review. *Front Biosci (Schol Ed)* 3, 393-407.
- Kusnetsov, J., Neuvonen, L.K., Korpio, T., Uldum, S.A., Mentula, S., Putus, T., Tran Minh, N.N., Martimo, K.P., 2010. Two Legionnaires' disease cases associated with industrial waste water treatment plants: a case report. *BMC infectious diseases* 10, 343.
- La Scola, B., Mezi, L., Weiller, P.J., Raoult, D., 2001. Isolation of *Legionella anisa* using an amoebic coculture procedure. *Journal of clinical microbiology* 39, 365-366.
- Loenenbach, A.D., Beulens, C., Euser, S.M., van Leuken, J.P.G., Bom, B., van der Hoek, W., Husman, A.M.R., Ruijs, W.L.M., Bartels, A.A., Rietveld, A., den Boer, J.W., Brandsema, P.S., 2018. Two Community Clusters of Legionnaires' Disease Directly Linked to a Biologic Wastewater Treatment Plant, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 24, 1914-1918.
- Maisa, A., Brockmann, A., Renken, F., Luck, C., Pleischl, S., Exner, M., Daniels-Haardt, I., Jurke, A., 2015. Epidemiological investigation and case-control study: a Legionnaires' disease outbreak associated with cooling towers in Warstein, Germany, August-September 2013. *Euro Surveill* 20.
- Medema, G.J., Wullings, B., Roeleveld, P., Van der Kooij, D., 2004. Risk assessment of *Legionella* and enteric pathogens in sewage treatment works. *Water Science & Technology Water Supply* 4, 125-132.
- Mentasti, M., Cassier, P., David, S., Ginevra, C., Gomez-Valero, L., Underwood, A., Afshar, B., Etienne, J., Parkhill, J., Chalker, V., Buchrieser, C., Harrison, T.G., Jarraud, S., 2017. Rapid detection and evolutionary analysis of *Legionella pneumophila* serogroup 1 sequence type 47. *Clin Microbiol Infect* 23, 264.e261-264.e269.
- Messi, P., de Niederhausern, S., Anacarso, I., Iseppi, R., Sabia, C., Bondi, M., 2017. *Legionella pneumophila* in healthcare settings: sensitivity to biocidal treatments in mono- and multi-species biofilms. *The Journal of hospital infection* 97, 200-201.
- Michalkiewicz, M., Kruszelnicka, I., 2018. The Variability of the Concentration of Bioaerosols Above the Chambers of Biological Wastewater Treatment. *ECOL CHEM ENG S.* 25, 267-278.
- Mirzaee, S.A., Nikaeen, M., Hajizadeh, Y., Nabavi, B.F., Hassanzadeh, A., 2015. Detection of *Legionella* spp. by a nested-PCR assay in air samples of a wastewater treatment plant and downwind distances in Isfahan. *Advanced biomedical research* 4, 48-48.
- Montagna, M.T., De Giglio, O., Cristina, M.L., Napoli, C., Pacifico, C., Agodi, A., Baldovin, T., Casini, B., Coniglio, M.A., D'Errico, M.M., Delia, S.A., Deriu, M.G., Guida, M., Lagana, P., Liguori, G., Moro, M., Mura, I., Pennino, F., Privitera, G., Romano Spica, V.,

- Sembeni, S., Spagnolo, A.M., Tardivo, S., Torre, I., Valeriani, F., Albertini, R., Pasquarella, C., 2017. Evaluation of Legionella Air Contamination in Healthcare Facilities by Different Sampling Methods: An Italian Multicenter Study. *International journal of environmental research and public health* 14.
- Moore, G., Hewitt, M., Stevenson, D., Walker, J.T., Bennett, A.M., 2015. Aerosolization of respirable droplets from a domestic spa pool and the use of MS-2 coliphage and *Pseudomonas aeruginosa* as markers for Legionella pneumophila. *Appl Environ Microbiol* 81, 555-561.
- Nguyen, T.M., Ilef, D., Jarraud, S., Rouil, L., Campese, C., Che, D., Haeghebaert, S., Ganiayre, F., Marcel, F., Etienne, J., Desenclos, J.C., 2006. A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers--how far can contaminated aerosols spread? *J Infect Dis* 193, 102-111.
- Nogueira, R., Utecht, K.U., Exner, M., Verstraete, W., Rosenwinkel, K.H., 2016. Strategies for the reduction of Legionella in biological treatment systems. *Water Sci Technol* 74, 816-823.
- Pascual, L., Perez-Luz, S., Amo, A., Moreno, C., Apraiz, D., Catalan, V., 2001. Detection of Legionella pneumophila in bioaerosols by polymerase chain reaction. *Can J Microbiol* 47, 341-347.
- Prussin, A.J., 2nd, Schwake, D.O., Marr, L.C., 2017. Ten Questions Concerning the Aerosolization and Transmission of Legionella in the Built Environment. *Build Environ* 123, 684-695.
- Ratzow, S., Gaia, V., Helbig, J.H., Fry, N.K., Luck, P.C., 2007. Addition of neuA, the gene encoding N-acetylneuraminidase cytidyl transferase, increases the discriminatory ability of the consensus sequence-based scheme for typing Legionella pneumophila serogroup 1 strains. *Journal of clinical microbiology* 45, 1965-1968.
- Reukers, D.F.M., van Asten, L., Brandsema, P.S., Dijkstra, F., Donker, G.A., van Gageldonk-Lafeber, A.B., Hooiveld, M., de Lange, M.M.A., Marbus, S., Teirlinck, A.C., Meijer, A., van der Hoek, W. 2018. Annual report Surveillance of influenza and other respiratory infections: Winter 2017/2018 = Surveillance van griep en andere luchtweginfecties: winter 2017/2018. In RIVM rapport.
- Roll, B., Fujioka, R.S., 1995. Detection of Legionella bacteria in sewage by polymerase chain reaction and standard culture method. *Water Science & Technology* 31, 409-416.
- Rowbotham, T.J., 1983. Isolation of Legionella pneumophila from clinical specimens via amoebae, and the interaction of those and other isolates with amoebae. *Journal of clinical pathology* 36, 978-986.
- Sanchez-Monedero, M.A., Aguilar, M.I., Fenoll, R., Roig, A., 2008. Effect of the aeration system on the levels of airborne microorganisms generated at wastewater treatment plants. *Water Res* 42, 3739-3744.
- Schalk, J.A., Docters van Leeuwen, A.E., Lodder, W.J., de Man, H., Euser, S., den Boer, J.W., de Roda Husman, A.M., 2012. Isolation of Legionella pneumophila from pluvial floods by amoebal coculture. *Appl Environ Microbiol* 78, 4519-4521.
- Schalk, J.A., Euser, S.M., van Heijnsbergen, E., Bruin, J.P., den Boer, J.W., de Roda Husman, A.M., 2014. Soil as a source of Legionella pneumophila sequence type 47. *International journal of*

- infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases 27, 18-19.
- Schalk, J.A.C., De Roda Husman, A.M. 2010. Detectiemethoden voor legionella in water (RIVM).
- Steinert, M., Hentschel, U., Hacker, J., 2002. Legionella pneumophila: an aquatic microbe goes astray. FEMS microbiology reviews 26, 149-162.
- van der Kooij, D., Brouwer-Hanzens, A.J., Veenendaal, H.R., Wullings, B.A., 2016. Multiplication of Legionella pneumophila Sequence Types 1, 47, and 62 in Buffered Yeast Extract Broth and Biofilms Exposed to Flowing Tap Water at Temperatures of 38 degrees C to 42 degrees C. Appl Environ Microbiol 82, 6691-6700.
- van Leuken, J.P.G., van de Kasstele, J., Sauter, F.J., van der Hoek, W., Heederik, D., Havelaar, A.H., Swart, A.N., 2015. Improved correlation of human Q fever incidence to modelled C. burnetii concentrations by means of an atmospheric dispersion model. International Journal of Health Geographics 14, 14.
- Vermeulen, L.C., Brandsema, P.S., Van de Kasstele, J., Bom, B.C.J., Van den Berg, H.H.J.L., De Roda Husman, A.M., 2019. Mogelijke luchtverspreiding van Legionella door waterzuiveringsinstallaties: een patiënt-controle onderzoek. RIVM-rapport 2019-0195.
- Wadowsky, R.M., Wolford, R., McNamara, A.M., Yee, R.B., 1985. Effect of temperature, pH, and oxygen level on the multiplication of naturally occurring Legionella pneumophila in potable water. Appl Environ Microbiol 49, 1197-1205.
- Wiik, R., Krovel, A.V., 2014. Necessity and effect of combating Legionella pneumophila in municipal shower systems. PloS one 9, e114331.

RIVM

De zorg voor morgen begint vandaag