



## *Legionella pneumophila* in natte gebouwegebonden koeltorens

Analytisch onderzoek in een selectie van  
koelwatersystemen in Nederland

**KWR 09.077**  
**Februari 2010**

# *Legionella pneumophila* in natte gebouwgebonden koeltorens

Analytisch onderzoek in een selectie van  
koelwatersystemen in Nederland

**KWR 09.077**  
**Januari 2010**

© 2010 KWR

Alle rechten voorbehouden.

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

# Colofon

**Titel**

*Legionella pneumophila* in natte gebouwgebonden koeltorens

**Projectnummer**

A308185

**Projectmanager**

Harm Veenendaal

**Opdrachtgever**

VROM-Inspectie

**Kwaliteitsborger**

Dick van der Kooij

**Auteurs**

Frank Oesterholt, Harm Veenendaal, Bart Wullings, Daniëlle van der Linde

**Verzonden aan**

Ing. H.R. (Hans) de Vries (VROM-Inspectie)

Dit rapport is niet openbaar en slechts verstrekt aan de opdrachtgevers van het adviesproject. Eventuele verspreiding daarbuiten vindt alleen plaats door de opdrachtgever zelf.

# Samenvatting

In de nazomer van 2009 (augustus/september) zijn 50 gebouwgebonden koelwatersystemen in zes grote steden onderzocht op aanwezigheid van *Legionella pneumophila*. Uitgaande van bestaande informatie bij VROM-Inspectie en de betreffende gemeenten aangevuld met informatie van de beheerders, die is verkregen via toezending van een vragenlijst, is geprobeerd om een zo representatief mogelijke selectie van koelwatersystemen te maken.

De geselecteerde koelwatersystemen zijn in een onaangekondigd bezoek bemonsterd. Bij het bezoek was een vertegenwoordiger van de gemeente aanwezig. Afhankelijk van de lokale omstandigheden en praktische mogelijkheden is voor de bemonstering van een koelwatersysteem de volgende voorkeursvolgorde gehanteerd: bemonstering van het vallende water onder het koeltorenpakket (n = 7), bemonstering van het koelwater via een schepmonster uit het koelwaterbassin (n = 36) en bemonstering van het koelwater via een monsternamepunt bij de koeltoren (n = 7). Tijdens monstername is op het monsternamepunt de temperatuur van het koelwater gemeten.

De koelwatermonsters zijn geanalyseerd op aanwezigheid van *Legionella pneumophila* via Q-PCR conform ontwerp-NEN 6254. Op een beperkt aantal monsters is ook een specifieke kweekmethode voor *Legionella pneumophila* toegepast. Daarnaast is een aantal fysisch-chemische parameters bepaald.

Na de monstername is de beheerders van de 50 bemonsterde koelwatersystemen gevraagd detailinformatie te verstrekken over het onderhoud en beheer van hun systemen. De respons op de vragenlijst was 88 % (n = 44).

De resultaten van het analytisch onderzoek en de inventarisatie van gegevens via vragenlijsten kunnen als volgt worden samengevat:

- Gebouwgebonden koelwatersystemen zijn vrijwel uitsluitend van het type verdampingscondensor (C1), tegenstroomkoeler (C2) of kruisstroomkoeler (C3). Adiabiatische koeltorens en hybride koeltorens worden nauwelijks toegepast in de praktijk.
- In alle onderzochte koelwatersystemen wordt een vorm van desinfectie toegepast. Bij het merendeel (91 %) vindt desinfectie plaats door dosering van een biocide (oxiderend of niet oxiderend). In de overige gevallen (9 %) wordt een fysische techniek toegepast.
- De dosering van een biocide verloopt continu (52 %) of discontinu via een shockdosering (39 %). In een beperkt aantal gevallen (9 %) vindt de desinfectie alleen plaats als het systeem buiten bedrijf is (offline desinfectie).
- In vrijwel alle koelwatersystemen wordt gemonitord op aanwezigheid van *Legionella* via de klassieke kweekmethode NEN 6265 (bepaling alle kweekbare *Legionella*). De frequentie waarmee dat gebeurt, loopt echter sterk uiteen van eens per twee jaar tot twee keer per maand.
- Op grond van de historische legionelladata blijkt dat in 36 % (16 uit 44) van de onderzochte koelwatersystemen in het verleden ten minste één keer *Legionella* is aangetroffen. In de helft van die systemen (8 uit 16) is ook in dit onderzoek *Legionella* aangetroffen (via de Q-PCR-methode).
- Voor een steekproef van 50 systemen die een goede weergave vormt van alle gebouwgebonden koelwatersystemen in Nederland is, via detectie met Q-PCR, vastgesteld dat in 16 van de 50 onderzochte systemen (32 %) *Legionella pneumophila* wordt aangetroffen. In 24 % van de onderzochte systemen ligt het gehalte, op het moment van de meting, boven 1.000 kopieën per liter. En in 14 % ligt het gehalte boven 10.000 kopieën per liter.
- Slechts een beperkt aantal monsters (n = 18) is onderzocht via een specifieke kweekmethode voor *Legionella pneumophila*. Bij 4 van deze 18 monsters, die volgens de Q-PCR positief bleken, kon slechts in één geval met de kweekmethode de levensvatbaarheid van de aangetroffen *Legionella pneumophila* worden bevestigd.

Samen met de resultaten van het statistisch onderzoek leidt dit tot de volgende conclusies:

1. Zowel op grond van actuele data verkregen in dit onderzoek als op grond van historische gegevens blijkt dat in gemiddeld 34 % van de gebouwgebonden koelwatersystemen *Legionella pneumophila* kan worden aangetroffen.

2. Op grond van de resultaten van de Q-PCR methode blijkt dat toepassing van desinfectie en uitbesteding van het onderhoud en beheer bij een derde partij met de huidige werkvoorschriften geen garantie bieden voor een systeem dat vrij is van *Legionella pneumophila*.
3. Met de dataset in dit onderzoek is geen statistisch significante relatie aangetoond tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* in de koelwatersystemen en de drinkwatersoort waarmee wordt gesuppleerd, het ATP-gehalte van het koelwater, het type koeltoren, de temperatuur van het koelwater, het type desinfectie en het desinfectieregime (continue of discontinue desinfectie). Hierbij moet worden opgemerkt dat de onderzochte relaties mogelijk worden verstoord door de toepassing van biociden in het merendeel van de onderzochte koelwatersystemen.
4. In dit onderzoek is wel een statistisch significante relatie aangetoond tussen het gehalte organische stof in het koelwater en de aanwezigheid van *Legionella pneumophila*.
5. In koelwatersystemen gebouwd tussen 1990 en 2000 wordt significant vaker *Legionella pneumophila* aangetroffen dan in koelwatersystemen uit de periode voor 1990 of na 2000. Hiervoor is geen directe verklaring te geven.

Wellicht de meest opvallende conclusie van dit onderzoek is dat het toepassen van een desinfectie blijkbaar geen garantie geeft voor afwezigheid van *Legionella pneumophila* in een gebouwgebonden koelwatersysteem. Terwijl juist in koelwatersystemen het toepassen van een desinfectie beschouwd wordt als een belangrijk instrument voor het legionellabeheer. Ongeacht het feit dat slechts in één monster de levensvatbaarheid van de *Legionella pneumophila* bacteriën door middel van kweek kon worden aangetoond, duidt het aantreffen van DNA via Q-PCR op onvoldoende beheersing van de groei van *Legionella pneumophila* in (delen van) de betreffende systemen. Dat geldt in ieder geval bij continue dosering van een desinfectiemiddel. Bij periodieke dosering van een desinfectiemiddel is het cruciaal of de groei heeft plaatsgevonden voordat het desinfectiemiddel werd gedoseerd (en met de Q-PCR gedode cellen worden aangetoond) of dat deze groei nog plaatsvindt tijdens de dosering. Om antwoord te vinden op de vraag wanneer desinfectie van koelwatersystemen effectief is en wanneer niet, wordt aanbevolen om de verschillende desinfectieprocedures van gebouwgebonden koelwatersystemen in de praktijk nader onder de loep te nemen. De volgende vragen moeten daarbij worden beantwoord. Welk biocide wordt gebruikt? Op welke positie, wanneer en hoe wordt het gedoseerd? Hoe wordt gecontroleerd op aanwezigheid van voldoende biocide in het recirculerend koelwater? Waar is de temperatuur van het circulerende koelwater het hoogst? Is op die positie (nog) voldoende biocide aanwezig? Wat is de effectiviteit van de biocide ten opzichte van legionellabacteriën in de biofilm?

In verband hiermee wordt tevens aanbevolen om de relatie tussen de koelwatertemperatuur en de aanwezigheid van *Legionella pneumophila* in gebouwgebonden koelwatersystemen nader te onderzoeken door meting van de hoogst bereikte koelwatertemperaturen in het systeem tussen de warmtewisselaar en de koeltoren.

In dit onderzoek is een statistisch significante relatie gevonden tussen de aanwezigheid van *Legionella pneumophila* en het gehalte aan organische stof in het koelwatersysteem. De organische stof kan mogelijk de biofilmvorming bevorderen en/of een remmende invloed hebben op de effectiviteit van de toegepaste biocide. Aangezien er een verband bestaat tussen het gehalte aan organische stof en de gehanteerde indikkingsgraad of verversingsgraad, geldt het advies voor beheerders om het gehalte organische stof niet te ver te laten oplopen bij het instellen van de koelwaterspui. Welke waarde daarbij gehanteerd moet worden, is een onderwerp voor nadere studie. Voorlopig zou een TOC-waarde in het recirculerende koelwater van maximaal 10 mg/l kunnen worden aangehouden.

De uitkomst van dit onderzoek toont nog eens aan dat gebouwgebonden koelwatersystemen in potentie belangrijke bronnen kunnen zijn voor de verspreiding van *Legionella pneumophila* naar de omgeving. Een goede registratie van bestaande en nieuwe gebouwgebonden koelwatersystemen is dan ook essentieel voor een snelle bronopsporing. Beheerders van gebouwgebonden koelwatersystemen moeten in de praktijk meer aandacht hebben voor de effectiviteit van het toegepaste desinfectieregime op het voorkomen van groei van *Legionella pneumophila* op alle momenten en op alle posities in het koelwatersysteem. Hiertoe zou een verplichte periodieke monitoring (met Q-PCR) kunnen worden overwogen.

# Inhoud

<b>Samenvatting</b>	<b>1</b>
<b>Inhoud</b>	<b>3</b>
<b>1 Aanleiding en doel</b>	<b>5</b>
<b>2 Methoden</b>	<b>7</b>
2.1 Onderzoeksmethode	7
2.2 Analysemethoden	7
2.3 Statistische analyse	8
<b>3 Resultaten</b>	<b>9</b>
3.1 Selectie van koelwatersystemen	9
3.2 Analyseresultaten	10
3.3 Resultaten vragenlijst 2	12
<b>4 Discussie en conclusies</b>	<b>15</b>
4.1 Analyse van de dataset	15
4.2 Representativiteit van de dataset	17
4.3 Conclusies en aanbevelingen	18
<b>5 Referenties</b>	<b>21</b>
I Mailing 1/Vragenlijst deel 1	23
II mailing 2/vragenlijst deel 2	26
III Overzicht gegevens monsternamen en analyseresultaten	28
IV Respons vragenlijst deel 2	31
V Statistische analyse	33



# 1 Aanleiding en doel

Koeltorens spelen een rol bij blootstelling aan *Legionella*. Gegevens over de mate waarin dit in Nederland het geval is ontbreken, in het bijzonder voor de kleine niet-industriële, veelal gebouwgebonden koeltorens. In 2001 heeft KWR in opdracht van het ministerie van SZW onderzoek uitgevoerd naar de omvang en preventie van vermeerdering van *Legionella* in koeltorens en luchtbehandelingsapparatuur<sup>1</sup>. Op grond van een algemene risicoanalyse en op basis van casebeschrijvingen uit de literatuur werd de conclusie getrokken dat gebouwgebonden koeltorens prioriteit zouden moeten krijgen in de voorgenomen aanpak via de Arbowet. Uiteindelijk heeft dit onderzoek voor koeltorens geresulteerd in de Arbobeleidsregel 4.87a waarbij overigens geen onderscheid is gemaakt tussen industriële en gebouwgebonden koeltorens. In 2007 hebben verschillende ministeries vastgesteld dat de “veiligheid van de omgeving van koeltorens” onvoldoende geborgd is met de Arbobeleidsregel, die zich immers in het bijzonder richt op de bescherming van de werknemer. Bovendien is vastgesteld dat er nog veel onduidelijkheid is over de betekenis van gebouwgebonden koeltorens bij het vóórkomen van legionellose in Nederland. Op grond hiervan is de Wet Milieubeheer van toepassing verklaard op risico's van koeltorens voor de omgeving, waarbij de focus ligt op gebouwgebonden koeltorens. De VROM-Inspectie heeft een algemene verantwoordelijkheid bij de uitvoering van de Wet Milieubeheer. In verband hiermee is een volgende stap om meer informatie te verkrijgen over de mate waarin *Legionella pneumophila* aanwezig is in gebouwgebonden koeltorens en de factoren die van invloed zijn op de groei van *Legionella pneumophila* in deze koeltorens. Naast de ondersteuning bij het uitvoeren van het toezicht kan deze informatie ook worden gebruikt om te adviseren over de bedrijfsvoering van gebouwgebonden koeltorens, zodat een substantieel lager niveau groei door *Legionella pneumophila* wordt verkregen en een lagere milieubelasting door effectievere toepassing van desinfectiemiddelen (biociden).

## Doel

Het doel van dit onderzoek is te bepalen in welke mate en onder welke condities *Legionella pneumophila* aanwezig is in gebouwgebonden koeltorens. In het onderzoek is de focus gelegd op detectie van *Legionella pneumophila* als verreweg de belangrijkste veroorzaker van legionellose<sup>3</sup>.





## 2 Methoden

### 2.1 Onderzoeksmethode

Voor de selectie van koelwatersystemen ten behoeve van het analytisch onderzoek is de volgende methode gehanteerd:

- In overleg met de opdrachtgever is een keuze gemaakt voor een beperkt aantal grote gemeenten waar het analytisch onderzoek uitgevoerd zal gaan worden. De keuze voor een beperkt aantal gemeenten had vooral een praktische insteek. De “registratie van natte koeltorens” zoals door VROM aan gemeenten en provincies is verzocht, vormde hierbij de basis<sup>2</sup>. Aandachtspunt bij de keuze was voldoende spreiding van de onderzoekslocaties over het land. Aangezien de gebouwgebonden koelwatersystemen worden gesuppleerd met drinkwater ligt het voor de hand verschillende drinkwaterkwaliteiten in het onderzoek te betrekken.
- De contactpersonen van de geselecteerde gemeenten zijn door VROM-Inspectie verzocht de beheerders van alle door hun geregistreerde koelwatersystemen per brief aan te schrijven en medewerking te vragen aan het onderzoek. In eerste instantie is gevraagd een korte vragenlijst in te vullen en te retourneren naar KWR. De brief en vragenlijst (deel 1) zijn opgenomen in bijlage I. Dit deel van de vragenlijst richtte zich op de inventarisatie van de volgende aspecten:
  - Locatiegegevens en contactpersoon.
  - Aantal gebouwgebonden koelwatersystemen op de locatie inclusief het bouwjaar.
  - Type koeltoren dat in de verschillende koelwatersystemen is toegepast.
  - De bedrijfsperiode van de koelwaterinstallatie.
- Op basis van de respons heeft KWR een selectie gemaakt van koelwatersystemen voor het analytisch onderzoek, waarna de koelwatersystemen in een onaangekondigd bezoek zijn bemonsterd. Hierbij was iemand van de gemeente als bevoegd gezag aanwezig. De monsters zijn dezelfde dag aan het laboratorium aangeboden voor analyse (zie paragraaf 2.2.)
- De beheerders van de bemonsterde koelwatersystemen is vervolgens per brief verzocht om deel 2 van de vragenlijst in te vullen (zie bijlage II). Dit deel van de vragenlijst richtte zich op de inventarisatie van de volgende aspecten per koelwatersysteem:
  - De toegepaste materialen in de koeltoren.
  - Type desinfectie en desinfectieregime.
  - Beheers- en onderhoudsregime.
  - Dimensionering van het koelwatersysteem.
  - Analyseresultaten voor *Legionella* van de afgelopen 2 jaar.
- Verwerking en interpreteren van de verkregen data.

Opmerking: in dit rapport wordt consequent gesproken over aantallen koelwatersystemen in plaats van aantallen koeltorens. Een gebouwgebonden koelwatersysteem is gedefinieerd als een systeem dat bestaat uit één of meerdere bassins met koelwater die met elkaar verbonden zijn en vanwaar uit gebouwgebonden processen (klimaatbeheersing) worden gekoeld. Een koelwatersysteem kan dus beschikken over meerdere koeltorens.

### 2.2 Analysemethoden

Alle bemonsteringen zijn uitgevoerd aan het eind van de zomerperiode (augustus/september 2009). Er is één monster genomen per koelwatersysteem. Bij het nemen van het monster is de volgende voorkeursvolgorde gehanteerd:

- bemonstering van het vallende water onder het koeltorenpakket (PAK);
- bemonstering van het koelwater via een schepmonster vanuit het koelwaterbassin (BAS);
- bemonstering van het koelwater via een monsternamepunt bij de koeltoren (PNT).

Deze voorkeursvolgorde is vastgesteld in overleg met experts uit de industrie als onderdeel van een onderzoeksproject gericht op bemonstering van industriële koeltorens voor detectie van *Legionella pneumophila* (KWR 2009, OPIW15)<sup>4</sup>.

Per koelwatermonster is het volgende analyseprogramma uitgevoerd:

#### microbiologische parameters

- Q-PCR *Legionella pneumophila* (conform ontwerp-NEN 6254).
- Kweekmethode specifiek voor *Legionella pneumophila*. Deze methode is gebaseerd op concept ontwerp NEN 6253 en is beschreven in de literatuur<sup>5</sup>. Bij deze methode zijn de condities van het agarmedium en de incubatie zodanig aangepast dat de kweekmethode specifiek wordt voor de bepaling van *Legionella pneumophila*. Voor dit onderzoek is de beschreven methode aangepast voor koelwatermonsters door gebruik te maken van het MWY-medium zoals beschreven in NEN 6265:2007<sup>6</sup>.
- ATP.

De specifieke kweekmethode voor *Legionella pneumophila* is volgens afspraak met de opdrachtgever slechts op een selectie van monsters toegepast. Die selectie is gemaakt vóór aanvang van de detectie via Q-PCR.

#### Fysisch-chemische parameters

- geleidbaarheid
- pH
- redox
- temperatuur (gemeten op locatie)
- troebelheid
- vrij chloor
- NPOC (gehalte organische stof)
- chlorofyl-a (conform NEN 6520)

De analyse op chlorofyl-a is uitgevoerd door Aqualab Zuid BV. De overige analyses zijn uitgevoerd door KWR conform gestandaardiseerde methoden.

### **2.3 Statistische analyse**

Mogelijke relaties tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* in koelwatersystemen en andere karakteristieken van het koelwater of het koelwatersysteem zijn via verschillende statistische methoden onderzocht. Een overzicht van de gehanteerde methoden en de resultaten van de statistische analyse is opgenomen in bijlage V.

# 3 Resultaten

## 3.1 Selectie van koelwatersystemen

In overleg met VROM-Inspectie is besloten de volgende gemeenten bij het onderzoek te betrekken:

- Enschede;
- Hengelo;
- Amsterdam;
- Rotterdam;
- Utrecht;
- Den Haag.

Van deze gemeenten is bekend dat ze een inventarisatie en registratie van gebouwgebonden koelwatersystemen hebben uitgevoerd. Verder is bij de selectie van deze gemeenten rekening gehouden met een verdeling van koelwatersystemen over voorzieningsgebieden met drinkwater afkomstig uit oppervlaktewater als bron (Den Haag, Rotterdam en Amsterdam) en voorzieningsgebieden met drinkwater afkomstig uit grondwater als bron (Utrecht, Enschede en Hengelo). Van het drinkwater bereid uit grondwater in de laatste groep mag worden verwacht dat het een hogere biologische stabiliteit heeft.

In tabel 1 is de respons samengevat van de eerste mailing aan de eigenaren van koelwatersystemen binnen deze gemeenten op basis van de ontvangen vragenlijst deel 1.

Tabel 1 Respons van de verschillende eigenaren van koelwatersystemen op de eerste mailing en de vragenlijst deel 1

Gemeente	aantal locaties <sup>#</sup>	respons	aantal bruikbare locaties*	totaal aantal koelwatersystemen op locaties
Enschede	22	12 (54 %)	6	7
Hengelo	6	6 (100 %)	2	3
Amsterdam	60	26 (43 %)	18	27
Rotterdam	45	9 (20 %)	7	14
Utrecht	22	7 (32 %)	6	7
Den Haag	26	13 (50 %)	12	21
<i>totaal</i>	<i>181</i>	<i>73 (40 %)</i>	<i>51</i>	<i>79</i>

# betreft aantal locaties zoals bij de gemeente reeds bekend bij start van het onderzoek

\* locaties met alleen industriële koeling zijn uitgezonderd van dit onderzoek

Voor de 79 koelwatersystemen gelden de volgende karakteristieken:

- 26 (33 %) koelwatersystemen hebben recirculerende open koeltorens met een interne warmtewisselaar (verdampingscondensor, type C1);
- 30 (38 %) systemen hebben recirculerende open koeltorens met een horizontaal vullichaam (tegenstroomkoeler, type C3);
- 22 (28 %) systemen hebben recirculerende open koeltorens met een verticaal vullichaam (kruisstroomkoeler, type C4);
- Van 1 koelwatersysteem is het type koeltoren onbekend en de typen C2 (hybride condensor) en C5 (adiabatische koeltoren) komen niet voor binnen deze groep;
- 24 (30 %) koelwatersystemen bezitten koeltorens die zijn gebouwd na 2000;
- 15 (19 %) koelwatersystemen bezitten koeltorens die zijn gebouwd van 1990 tot en met 2000;
- 27 (34 %) koelwatersystemen bezitten koeltorens die dateren van voor 1990, de oudste koelwatersystemen dateren uit 1975.
- Van 13 (17 %) koelwatersystemen is het exacte bouwjaar van de koeltorens niet opgegeven.

De selectie van 50 koelwatersystemen voor het analytisch onderzoek is gemaakt uitgaande van een evenredige verdeling over de zes gemeenten, waarbij tevens rekening is gehouden met een verdeling naar type en bouwjaar in overeenstemming met de hierboven berekende percentuele verdeling. In tabel 2 is een overzicht gegeven van de aantal geselecteerde koelwatersystemen per gemeente. In de tabel is tevens de respons aangegeven op de tweede vragenlijst.

Tabel 2 Overzicht selectie koelwatersystemen per gemeente en respons op vragenlijst deel 2

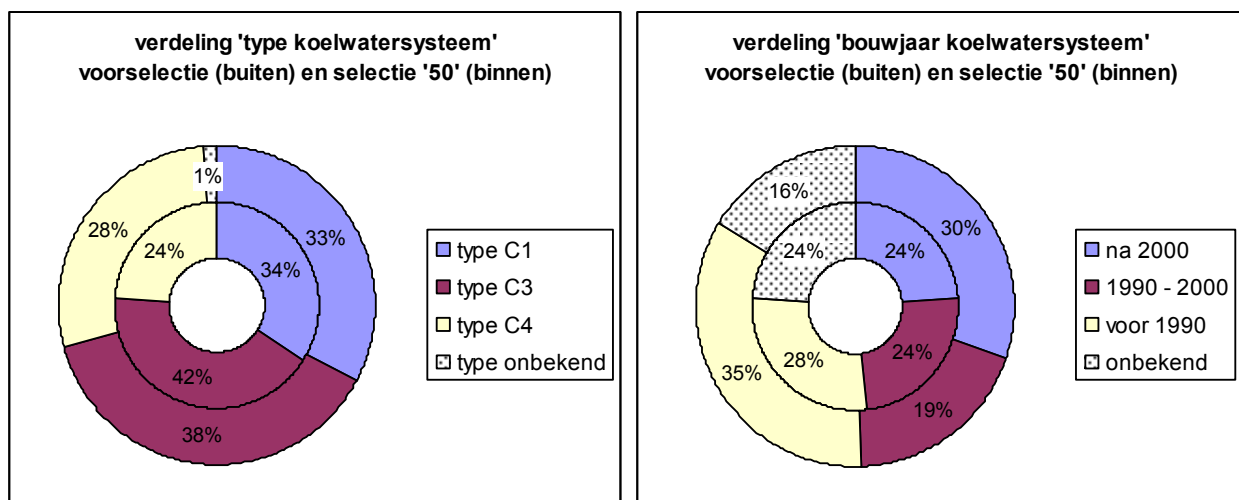
Gemeente	aantal geselecteerde locaties	totaal aantal koelwatersystemen op locaties	respons vragenlijst 2
Enschede	5	5	4 (80 %)
Hengelo	2	3	3 (100 %)
Amsterdam	10	12	11 (92 %)
Rotterdam	7	12	10 (83 %)
Utrecht	4	5	5 (100 %)
Den Haag	7	13	11 (85 %)
<i>totaal</i>	35	50	44 (88 %)

Voor de 50 geselecteerde koelwatersystemen gelden de volgende karakteristieken:

- type C1: 17 (33 %) systemen
- type C3: 21 (42 %) systemen
- type C4: 12 (24 %) systemen
- 12 (24 %) koelwatersystemen bezitten koeltorens die zijn gebouwd na 2000;
- 12 (24 %) koelwatersystemen bezitten koeltorens die zijn gebouwd van 1990 tot en met 2000;
- 14 (28 %) koelwatersystemen bezitten koeltorens die dateren van voor 1990
- Van 12 ( 24 %) koelwatersystemen is het bouwjaar niet opgegeven.

In figuur 1 is een vergelijking gemaakt tussen de oorspronkelijke dataset van 79 koelwatersystemen en de 50 geselecteerde koelwatersystemen voor het type koelwatersysteem en het bouwjaar.

Figuur 1 Vergelijking karakteristieken dataset voorselectie en definitieve selectie van 50 koelwatersystemen



### 3.2 Analyseresultaten

De bemonsteringen zijn uitgevoerd in de periode van 12 augustus tot en met 28 september 2009. Per monsternamen zijn het tijdstip, de positie van de monsternamen en de vastgestelde temperatuur van het koelwater op het monsternamenpunt geregistreerd. In tabel 3 is een overzicht gegeven van de monsternamengegevens en de analyseresultaten voor *Legionella pneumophila* via Q-PCR en de specifieke

kweekmethode. Voor een volledig overzicht van de monsternamengegevens en analyseresultaten wordt verwezen naar bijlage III.

Tabel 3 Monsternamengegevens en analyseresultaten voor *Legionella pneumophila* via Q-PCR en kweekmethode voor 50 geselecteerde gebouwgebonden koelwatersystemen

locatie-code	type koeltoren	monsternamengegevens			analysegegevens		
		datum	tijdstip	positie#	temperatuur koelwater °C	Legionella pneumophila	
						Q-PCR volgens ontwerp NEN 6254 n/liter	Kweekmethode volgens ontwerp NEN 6253 (MWY-medium) kve/l
U3	C3	12-8-2009	16:20	PAK	30,9	923.000	430.000
U4	C1	12-8-2009	12:20	BAS	14,2	< 630	<100
U5	C4	12-8-2009	11:40	BAS	20,2	<1300	<100
U7-I	C4	12-8-2009	14:50	BAS	19,4	<310	<100
U7-II	C3	12-8-2009	14:35	BAS	21,6	7.300	<100
DH1-A	C3	18-8-2009	09:30	BAS	24,1	<240	n.g.
DH1-B	C3	18-8-2009	09:40	BAS	25,3	<250	n.g.
DH2-A	C4	18-8-2009	12:05	BAS	22,4	19.600	n.g.
DH2-B	C3	18-8-2009	12:15	PAK	23,6	<250	n.g.
DH6-A	C4	18-8-2009	14:50	BAS	23,4	54.300	n.g.
DH6-B	C4	18-8-2009	14:40	BAS	21,5	39.600	n.g.
DH12	C3	18-8-2009	14:05	PAK	23,4	<800	n.g.
DH13-A	C1	18-8-2009	13:00	BAS	19,1	<350	n.g.
DH13-B	C1	18-8-2009	13:05	BAS	21,6	<370	n.g.
DH13-C	C1	18-8-2009	13:10	BAS	22,3	<280	n.g.
A8	C1	20-8-2009	12:10	PNT	-	<1600	n.g.
A9-A	C3	20-8-2009	9:30	PAK	27,6	<530	n.g.
A9-B	C3	20-8-2009	9:40	PAK	18,8	<420	n.g.
A10	C4	20-8-2009	11:15	PNT	27,6	12.700	n.g.
A12	C3	20-8-2009	13:29	PAK	27,7	<290	n.g.
A15	C1	20-8-2009	14:15	BAS	23,7	<290	n.g.
A19	C1	20-8-2009	10:25	PNT	28,2	< 150.000 <sup>R</sup>	n.g.
H1-A	C4	26-8-2009	9:00	BAS	15,2	<630	<100
H1-B	C4	26-8-2009	9:05	BAS	15,6	<550	<100
H2	C3	26-8-2009	10:15	BAS	23,4	<330	<100
E12	C4	26-8-2009	11:55	BAS	23,4	<210	<100
E1	C4	26-8-2009	12:10	BAS	21,3	<220	<100
E4	C1	26-8-2009	12:45	PNT	21,6	750	<100
E9	C1	26-8-2009	14:35	BAS	24,6	<340	<100
E11	C1	26-8-2009	15:20	BAS	19,6	<600	<100
R1	C3	27-8-2009	9:20	BAS	30,2	<1110	n.g.
R10-A	C4	27-8-2009	10:05	BAS	22,9	<250	n.g.
R10-B	C4	27-8-2009	10:10	BAS	21,0	<860	n.g.
R4-A	C1	27-8-2009	11:00	BAS	25,2	<430	n.g.
R4-B	C1	27-8-2009	11:05	BAS	18,8	3.800	n.g.
R7	C1	27-8-2009	11:40	BAS	27,3	910	n.g.
R2-A	C3	27-8-2009	12:30	BAS	20,5	<320	n.g.
R2-B	C3	27-8-2009	12:40	BAS	19,1	980	n.g.
R8-A	C1	27-8-2009	13:15	PNT	28,5	1.030	n.g.
R8-B	C1	27-8-2009	13:20	PNT	19,6	5.220	n.g.
R3-A	C3	27-8-2009	14:10	BAS	23,7	< 2.500 <sup>R</sup>	n.g.
R3-B	C3	27-8-2009	14:15	BAS	23,5	< 2.500 <sup>R</sup>	n.g.
A1	C3	15-9-2009	10:30	PNT	22,7	<480	<100
A4	C1	15-9-2009	12:10	BAS	18,4	<380	<100
A13-A	C3	15-9-2009	11:20	BAS	18,3	<710	<100
A13-B	C3	15-9-2009	11:25	BAS	20,9	<670	<100
A22-A	C3	15-9-2009	12:35	BAS	24,4	880	<100
DH8-A	C3	28-9-2009	11:00	BAS	17,4	12.100	n.g.
DH8-B	C3	28-9-2009	11:05	BAS	24,3	696.000	n.g.
DH3	C1	28-9-2009	11:45	PAK	31,8	1.130	n.g.

# PAK = uitstromend water onder pakket; BAS = uit het koelwaterbassin; PNT = uit een monsterpunt

<sup>R</sup> = hoge detectiegrens door remming in het onverdunde monster. (Bij deze monsters is op basis van het verdunde monster (waar geen remming was) de detectiegrens bepaald)

n.g. = niet geanalyseerd

De resultaten uit tabel 3 kunnen als volgt worden samengevat:

- In 16 van 50 (32 %) koelwatersystemen wordt met Q-PCR *Legionella pneumophila* aangetroffen;
- In 4 systemen (8 %) is het gehalte kleiner dan 1.000 n/liter (gele kleur)
- In 5 systemen (10 %) ligt het gehalte tussen 1.000 en 10.000 n/liter (rode kleur);
- In 7 systemen (14 %) is het gehalte groter dan 10.000 n/liter (roze kleur);
- Bij 3 monsters is remming opgetreden tijdens de bepaling in het onverdunde monster waardoor de detectiegrens is verhoogd (witte kleur).
- In 1 systeem is zowel met de Q-PCR methode als met de kweekmethode de aanwezigheid van *Legionella pneumophila* aangetoond. Omdat de kweekmethode slechts op 18 monsters is toegepast, is dit percentage 5,5 %;
- Er zijn 3 systemen (uit 18; 17 %) waarin er wel met de Q-PCR *Legionella pneumophila* is gedetecteerd terwijl de uitslag van de kweekmethode negatief is. Het betreft de systemen U7-II, E4 en A22-A.

Voor de analysesresultaten van de fysisch-chemische parameters wordt verwezen naar bijlage III.

De fysisch-chemische parameters geven vooral een indicatie voor de bedrijfsvoering van het koelwatersysteem. In dat opzicht springen er een aantal systemen uit (bijvoorbeeld A19 en in mindere mate de systemen A10, A9-A, E12 en R8-A) met verhoogde waarden voor de zuurgraad, soortelijke geleiding, zoutconcentraties, troebelheid en het gehalte aan organisch koolstof. Deze verhoogde waarden wijzen op een (te) hoge indikkingsfactor die bijvoorbeeld het gevolg kan zijn van een defecte spuiregeling. In de praktijk betekent dit dat er een verhoogde kans is op de vorming van neerslagen van zouten in het systeem (bijvoorbeeld kalksteen) en de afzetting hiervan samen met vuil in het koeltorenpakket en het koelwaterbassin. Door het hoge gehalte organische stof is er bovendien een verhoogde kans op biofilmvorming. Beide aspecten verklaren wellicht dat in het monster uit systeem A19 sprake was van remming bij de Q-PCR bepaling (resultierend in een hoge detectiegrens) en in de monsters uit de systemen A10 en R8-A *Legionella pneumophila* kon worden gedetecteerd.

Uit de analyse van chlorofyl blijkt dat in het recirculerende koelwater van de meeste systemen de aanwezigheid van algen niet kan worden aangetoond. Slechts in vier systemen kon chlorofyl worden vastgesteld in relatief lage concentraties tussen 5 en 17 µg/l. Ook door de monsternemer is slechts sporadisch bewijs gevonden van algengroei op bijvoorbeeld het lamellenpakket van de koeltoren (systeem R1). Dit wijst mogelijk op een geringe instraling van zonlicht bij de relatief compacte gebouwgebonden koelwatersystemen en/of een goed beheer op dit punt.

Eveneens in vier systemen is bij de analyse vrij chloor aangetroffen. Bij drie van de vier systemen wordt inderdaad gebruik gemaakt van een continue dosering met een oxiderend biocide (F3/G3 op vragenlijst 2). Van één systeem is de vragenlijst niet ontvangen. Opvallend is dat in twee van de vier systemen (U7-B en DH-8A) ondanks de aanwezigheid van chloor in het koelwater ook DNA van *Legionella pneumophila* is aangetroffen. In het systeem U7-B was overigens het resultaat van de kweekmethode negatief.

### 3.3 Resultaten vragenlijst 2

De tweede vragenlijst is door 44 (88 %) beheerders van de geselecteerde koelwatersystemen geretourneerd. In tabel 4 is een samenvatting gegeven van de data die via deze vragenlijst is verkregen (zie bijlage IV).

Uit de gegevens van de onderzochte koelwatersystemen in tabel 4 blijkt dat in de meeste koeltorens een kunststof vulpakket wordt toegepast (93 %). In alle koelwatersystemen wordt een bepaalde vorm van desinfectie toegepast, waarbij in meer dan 90 % van de systemen gebruik wordt gemaakt van een biocide, al dan niet oxiderend. Bij meer dan 90 % van de koelwatersystemen wordt het systeem gedesinfecteerd tijdens bedrijf, al dan niet continu. Slechts in 9 % van de systemen wordt alleen gedesinfecteerd als het systeem uit bedrijf is genomen.

Tabel 4 Overzicht resultaten vragenlijst 2 op basis van 44 geretourneerde vragenlijsten

<b>omvang koelwatersysteem</b>			
		gemiddeld	range
I1	circulerend koelwaterdebiet in m <sup>3</sup> /uur	210	4 - 1.710
I2	totale koelcapaciteit in kW	3.350	160 -18.500
<b>Materiaal van de koeltoren</b>			
E1	Alle onderdelen RVS	2	5 %
E2	Filmpakket/ vullichaam van kunststof	41	93 %
E3	Filmpakket/ vullichaam van hout	0	0 %
	onbekend/niet ingevuld	1	2 %
<b>Type desinfectie</b>			
F1	geen desinfectie	0	0 %
F2	fysische techniek	4	9 %
F3	oxiderend biocide	27	61 %
F4	niet-oxiderend biocide	13	30 %
<b>Desinfectieregime</b>			
G1	Alleen offline desinfectie	4	9 %
G2	Discontinue desinfectie	17	39 %
G3	Continue desinfectie	23	52 %
<b>Beheer- en onderhoudsregime</b>			
H1	In eigen beheer, < 2 keer per jaar	4	9 %
H2	In eigen beheer > 2 keer per jaar	2	5 %
H3	Uitbesteed, < 2 keer per jaar	11	25 %
H4	Uitbesteed, > 2 keer per jaar	27	61 %
<b>Monitoring Legionella</b>			
J	Legionellamonitoring in afgelopen 24 maanden	ja, 43 locaties (98 %)	
	Aantal bemonsteringen	11 gemiddeld	range 1 - 48
	Aantal malen positief	ja, 16 locaties (36 %)	

Voor 86 % van de koelwatersystemen is het beheer en onderhoud uitbesteed aan een externe firma en bij 61 % van de koelwatersystemen komt die externe firma vaker dan 2 keer per jaar langs. Op vrijwel alle locaties (één locatie uitgezonderd) wordt gecontroleerd op aanwezigheid van *Legionella* als onderdeel van het reguliere monitoringsprogramma. Het aantal bemonsteringen varieert van eens per twee jaar tot twee keer per maand (gemiddeld eens per 2 maanden). Bij al deze bemonsteringen is in 36 % van de koelwatersystemen wel eens *Legionella* aangetroffen. De concentratieniveaus variëren daarbij tussen 300 en 500.000 kvel/liter met een mediaan van 2.900 kve/liter.





## 4 Discussie en conclusies

### 4.1 Analyse van de dataset

In dit onderzoek is een selectie gemaakt van 50 koelwatersystemen die vervolgens in een periode van ruim 6 weken zijn bemonsterd. De monsters zijn onderzocht via Q-PCR op aanwezigheid van *Legionella pneumophila*. In 16 koelwatersystemen (32 %) kon DNA afkomstig van *Legionella pneumophila* worden gedetecteerd. Omdat maar een beperkt aantal monsters is onderzocht via de kweekmethode is er slechts bij 4 van de 16 'positieve' koelwatersystemen ook een kweekmethode toegepast. Slechts in één geval (locatie U3) kon de detectie van *Legionella pneumophila* via Q-PCR (923.000 n/l) met de kweekmethode worden bevestigd (430.000 kve/l). Dit betekent dat in de drie andere koelwatersystemen het aangetroffen DNA niet afkomstig was van kweekbare (levensvatbare) bacteriën. Dit kan worden verklaard door afdoding van de bacteriën door toepassing van een biocide in de bewuste koelwatersystemen. Omdat daardoor de cellen niet meer levensvatbaar maar nog steeds intact zijn, wordt de cel (en daarmee het DNA) tijdens de filtratie voorafgaand aan de Q-PCR methode toch afgescheiden en meegenomen in de analyse.

Ongeacht de uitslag van de kweekmethode, betekent een positieve Q-PCR dat *Legionella pneumophila* in het systeem aanwezig is of is geweest (bijvoorbeeld in een periode tussen twee desinfecties of in delen van het koelwatersysteem). In beide situaties betekent dit dat het beheer van het koelwatersysteem onvoldoende is om groei van *Legionella pneumophila* te voorkómen.

De koelwatersystemen in Den Haag, Rotterdam en Amsterdam worden gesuppleerd met drinkwater dat is bereid uit oppervlaktewater, terwijl de systemen in Utrecht, Hengelo en Enschede worden gesuppleerd met drinkwater dat is bereid uit grondwater. Om te toetsen of er een relatie is tussen de watersoort en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila* is een chikwadraat-toets toegepast (zie bijlage V). Uit de toets blijkt dat geen statistisch significante relatie is aangetoond.

Van de 16 koelwatersystemen waarin *Legionella pneumophila* is aangetroffen, zijn er 6 van het type C1 (37,5 %), 6 van het type C3 (37,5 %), en 4 van het type C4 (25 %). Om te toetsen of er een relatie is tussen het type koeltoren en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila* is een chikwadraat-toets toegepast (zie bijlage V). Die toets toont aan dat er geen statistisch significante relatie is aangetoond tussen het type koeltoren en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila*.

Als wordt gekeken naar het bouwjaar van de 16 positief bevonden koelwatersystemen dan blijkt de helft gebouwd te zijn in de periode tussen 1990 en 2000 (8 systemen; 50 %). Zowel in de periode voor 1990 als in de periode na 2000 is het percentage lager dan in de totale selectie. Ook in dit geval is een chikwadraat-toets toegepast om de relatie te onderzoeken tussen het bouwjaar en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila* (zie bijlage V). Uit de toets blijkt dat sprake is van een statistisch significante relatie waarbij vooral in koelwatersystemen gebouwd tussen 1990 en 2000 vaker *Legionella pneumophila* wordt aangetroffen. Hierbij past echter wel de kanttekening dat de chikwadraat-toets minder goed functioneert door de relatief kleine dataset. Dit betekent dat meer data nodig zijn om de gevonden relatie te onderbouwen. Overigens is geen directe reden aanwijsbaar voor de gevonden relatie.

Voor 8 van de 16 systemen waarbij in dit onderzoek *Legionella pneumophila* is aangetroffen via Q-PCR, blijkt uit de data in tabel 4 en bijlage IV dat ze al een legionellahistorie hebben voor de laatste 48 maanden. In 7 systemen was in de afgelopen jaren geen *Legionella* aangetroffen en van één systeem is geen vragenlijst ontvangen.

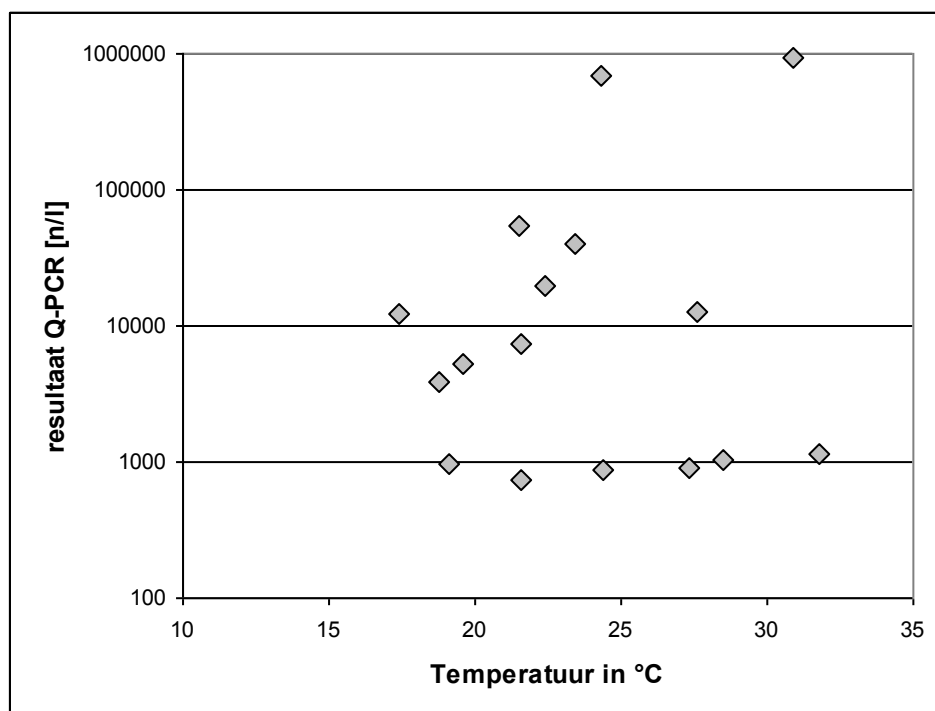
Tijdens de bemonstering is om praktische redenen alleen de temperatuur van het bemonsterde koelwater gemeten. In de meeste gevallen gaat het hierbij om koelwater dat de koeltoren is gepasseerd, zodat er al sprake is van een afkoelend effect aan de lucht. Hierdoor is de meting niet direct maatgevend voor de groeiomstandigheden op de locaties in het koelwatersysteem met de hoogste temperaturen, de facto in

het deel van het koelwatercircuit tussen de warmtewisselaar en de koeltoren. Uit de metingen blijkt niettemin dat de gemiddelde temperatuur van het koelwater in de systemen waarin *Legionella pneumophila* is aangetroffen net iets hoger ligt dan de gemiddelde temperatuur van de overige systemen, maar de verschillen zijn gering (zie tabel 5).

Tabel 5. Gemiddelde gemeten koelwatertemperatuur tijdens monstername

	T in °C	standaarddeviatie
gemiddeld alle systemen (n = 50)	22,0	5,1
gemiddelde temperatuur koelwater in positieve systemen (n = 16)	23,8	4,8
gemiddelde temperatuur koelwater in negatieve systemen (n = 34)	21,8	3,2

In figuur 2 is voor de 16 koelwatersystemen waarin met de Q-PCR *Legionella pneumophila* is aangetroffen de gemeten temperatuur uitgezet tegen de gedetecteerde aantallen DNA-kopieën. Om objectief vast te kunnen stellen of de temperaturen van het koelwater in koelwatersystemen waarin geen *Legionella pneumophila* is aangetroffen, verschillen met die van systemen waarin deze wel is aangetroffen, is met de dataset een statistische analyse uitgevoerd (zie bijlage V). Hieruit blijkt dat er geen sprake is van een statistisch significante relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* en de temperatuur van het koelwater. Bovendien geldt voor die systemen waarin wel *Legionella pneumophila* is aangetroffen dat er geen statistisch significante relatie is tussen de temperatuur en de aangetroffen concentratie. Het is van belang hierbij te beseffen dat een eventuele relatie tussen temperatuur en het (al dan niet) aantreffen van *Legionella pneumophila* in meer of mindere mate verstoord kan zijn door het gebruik van biociden in een groot aantal van de koelwatersystemen. Dit kan bijvoorbeeld de onderste lijn van punten verklaren in figuur 2.



Figuur 2. Resultaat van de Q-PCR als functie van de gemeten koelwatertemperatuur in 17 positief bevonden koelwatersystemen

Naast de temperatuur is ook voor het ATP-gehalte en het gehalte aan organische stof in het koelwater (NPOC) de relatie onderzocht met het al dan niet aantreffen van *Legionella pneumophila*. Het ATP-gehalte is een maat voor de totale hoeveelheid biomassa in het recirculerende koelwater. Een hoog ATP-gehalte duidt op microbiologische groei in het systeem en daarmee op onvoldoende desinfectie. Omdat de

meting eenvoudig is en snel kan worden uitgevoerd, wordt de meting van ATP door beheerders gebruikt voor het bewaken van de 'algehele' microbiologische koelwaterkwaliteit. Hierbij is in de praktijk een afwijking van de trend belangrijker dan het absolute getal. Een plotselinge toename van het ATP-gehalte wijst dan bijvoorbeeld op een defect aan de doseerinstallatie voor de biocide of een lekkage in de warmtewisselaar. Uit een statistische analyse met de dataset uit bijlage III blijkt dat in dit onderzoek geen statistisch significante relatie is gevonden voor het aantreffen van *Legionella pneumophila* en het ATP-gehalte. Dit betekent dat een hoog ATP-gehalte niet direct gerelateerd is aan een hoge concentratie legionellabacteriën. Bij bewaking van koelwatersystemen is dus naast monitoring van ATP ook de specifieke analyse op *Legionella pneumophila* van belang.

Voor het gehalte aan organische stof (NPOC of DOC) is die statistisch significante relatie wel aangetoond. De steekproefmediane NPOC-waarde van de koelwatersystemen waarin geen *Legionella pneumophila* is aangetroffen, bedraagt 7,1 mg/l, terwijl die waarde 13,0 mg/l bedraagt voor de systemen waarin de bacterie wel is aangetroffen. Een statistische toets toont aan dat dit verschil significant is. Dit betekent dat systemen met hogere gehalten aan organische stof in het koelwater een verhoogde kans hebben op groei van *Legionella pneumophila*. Dit lijkt volgens verwachting aangezien meer organische stof de kans verhoogd op biofilmvorming en daarmee de kans op groei van *Legionella*. Maar een andere verklaring voor de gevonden relatie is de remmende werking van organische stof op de effectiviteit van een toegepast biocide door toename van het biocideverbruik als gevolg van oxidatiereacties.

Het gehalte aan organische stof in het koelwater van open recirculerende koelwatersystemen wordt door veel factoren bepaald zoals de gehanteerde indikkingsfactor, de kwaliteit van het suppletiewater, de intrek van organisch belaste lucht, de inwaai van organisch materiaal en/of de aanwezigheid van (kleine) lekkages in de warmtewisselaar. Aangezien er geen statistisch significante relatie is gevonden met de drinkwatersoort die als suppletiewater wordt toegepast, kan worden vastgesteld dat de bijdrage van het suppletiewater aan het gehalte aan organische stof blijkbaar beperkt is.

Uit de antwoorden van de beheerders van de bemonsterde koelwatersystemen op de vragenlijsten blijkt dat in alle systemen een of andere vorm van desinfectie wordt toegepast. In 91 % van de systemen wordt een biocide toegepast en in meer dan de helft van de gevallen gebeurt dat continu. Als de dosering van een biocide discontinu verloopt, is niet altijd bekend wanneer de laatste shockdosering heeft plaatsgevonden. Overigens is die vraag gesteld tijdens de monsternamen en niet via de vragenlijst. Als wel antwoord is gegeven, valt op dat shockdoseringen in de tijd ver uiteen kunnen liggen. Zo is bijvoorbeeld systeem R4-B dat op 27 augustus werd bemonsterd op 9 juli voor het laatst gedesinfecteerd via een shockdosering.

Ook in 13 van de 16 positief bevonden koelwatersystemen wordt desinfectie toegepast met een oxiderend (n = 12) of een niet-oxiderend (n = 1) biocide. In 2 systemen wordt een fysische techniek toegepast en van 1 systeem zijn geen gegevens ontvangen. In 9 systemen wordt het biocide continu gedoseerd en in 4 systemen wordt gewerkt met een shockdosering (discontinue). Op grond hiervan kan worden vastgesteld dat toepassing van een bepaalde vorm van desinfectie blijkbaar geen garantie biedt voor een legionellavrij systeem. Via een chikwadraat-toets is statistisch onderzocht of er een relatie is tussen het type desinfectie (F-vraag) of het desinfectieregime (G-vraag) met het aantreffen van *Legionella pneumophila* (zie bijlage V). In beide gevallen zijn er geen statistisch significante relaties aangetoond, waarbij moet worden opgemerkt dat de statistische toets minder goed functioneert door de relatief kleine dataset. De relatie tussen de combinatie van F- en G-vraag en het al dan niet aantreffen van *Legionella pneumophila* is ook onderzocht, maar door het grotere aantal combinaties is de hoeveelheid data per combinatie zo klein dat de statistische toets niet kan worden uitgevoerd.

Ook het uitbesteden van het beheer aan een externe firma biedt met de bestaande werkvoorschriften geen garantie voor een legionellavrij systeem. Bij 9 van de 16 positief bevonden koelwatersystemen (56 %) wordt het beheer uitbesteed aan een externe partij die minstens twee maal per jaar de installatie bezoekt.

## 4.2 Representativiteit van de dataset

Dit onderzoek is zodanig opgezet dat verwacht mag worden dat de selectie van 50 koelwatersystemen representatief is voor de gebouwgebonden koelwatersystemen in Nederland. Om te beginnen zijn 6 steden geselecteerd met een redelijke geografische spreiding over het land (met uitzondering van

Noord- en Zuid-Nederland). Aangezien gebouwgebonden koelwatersystemen worden gesuppleerd met drinkwater is hierbij vooral ook gelet op verschillen in drinkwaterkwaliteit. Deze verschillen worden onder andere bepaald door de herkomst van het drinkwater waarbij globaal een onderscheid kan worden gemaakt tussen grondwater (Hengelo, Enschede en Utrecht) en oppervlaktewater (Amsterdam, Rotterdam en Den Haag). Daarnaast is bij het maken van de selectie gelet op een verdeling naar 'type koelwatersysteem' en 'bouwjaar' die zoveel mogelijk overeenstemt met de verdeling in de oorspronkelijke dataset (zie figuur 1). Ten slotte blijkt uit de resultaten van vragenlijst 2 in tabel 4 voor wat betreft het circulerend koelwaterdebiet en de koelcapaciteit dat er een brede range koelwatersystemen is geselecteerd. De geselecteerde groep varieert van zeer kleine systemen (koelcapaciteit < 500 kW en circulerend debiet < 50 m<sup>3</sup>/uur) tot zeer omvangrijke systemen (capaciteit > 15 MW; circulerend debiet > 1.000 m<sup>3</sup>/uur).

Op grond hiervan kan worden vastgesteld dat de geselecteerde groep koelwatersystemen een goede weergave vormt van de gebouwgebonden koelwatersystemen in Nederland. Hiermee is overigens niet de vraag beantwoord of de omvang van de steekproef van 50 koelwatersystemen groot genoeg is geweest om een voldoende nauwkeurige schatting te krijgen.

### 4.3 Conclusies en aanbevelingen

De resultaten van het analytisch onderzoek en de inventarisatie van gegevens via vragenlijsten kunnen als volgt worden samengevat:

- Gebouwgebonden koelwatersystemen zijn vrijwel uitsluitend van het type verdampingscondensor (C1), tegenstroomkoeler (C2) of kruisstroomkoeler (C3). Adiabiatische koeltorens en hybride koeltorens worden nauwelijks toegepast in de praktijk.
- In alle onderzochte koelwatersystemen wordt een vorm van desinfectie toegepast. Bij het merendeel (91 %) vindt desinfectie plaats door dosering van een biocide (oxiderend of niet oxiderend). In de overige gevallen (9 %) wordt een fysische techniek toegepast.
- De dosering van een biocide verloopt continu (52 %) of discontinu via een shockdosering (39 %). In een beperkt aantal gevallen (9 %) vindt de desinfectie alleen plaats als het systeem buiten bedrijf is (offline desinfectie).
- In vrijwel alle koelwatersystemen wordt gemonitord op aanwezigheid van *Legionella* via de klassieke kweekmethode NEN 6265 (bepaling alle kweekbare *Legionella*). De frequentie waarmee dat gebeurt, loopt echter sterk uiteen van eens per twee jaar tot twee keer per maand.
- Op grond van de historische legionelladata blijkt dat in 36 % (16 uit 44) van de onderzochte koelwatersystemen in het verleden ten minste één keer *Legionella* is aangetroffen. In de helft van die systemen (8 uit 16) is ook in dit onderzoek *Legionella* aangetroffen (via de Q-PCR-methode).
- Voor een steekproef van 50 systemen die een goede weergave vormt van alle gebouwgebonden koelwatersystemen in Nederland is, via detectie met Q-PCR, vastgesteld dat in 16 van de 50 onderzochte systemen (32 %) *Legionella pneumophila* wordt aangetroffen. In 24 % van de onderzochte systemen ligt het gehalte, op het moment van de meting, boven 1.000 kopieën per liter. En in 14 % ligt het gehalte boven 10.000 kopieën per liter.
- Slechts een beperkt aantal monsters (n = 18) is onderzocht via een specifieke kweekmethode voor *Legionella pneumophila*. Bij 4 van deze 18 monsters, die volgens de Q-PCR positief bleken, kon slechts in één geval met de kweekmethode de levensvatbaarheid van de aangetroffen *Legionella pneumophila* worden bevestigd.

Samen met de resultaten van het statistisch onderzoek leidt dit tot de volgende conclusies:

1. Zowel op grond van actuele data verkregen in dit onderzoek als op grond van historische gegevens blijkt dat in gemiddeld 34 % van de gebouwgebonden koelwatersystemen *Legionella pneumophila* kan worden aangetroffen.
2. Op grond van de resultaten van de Q-PCR methode blijkt dat toepassing van desinfectie en uitbesteding van het onderhoud en beheer bij een derde partij met de huidige werkvoorschriften geen garantie bieden voor een systeem dat vrij is van *Legionella pneumophila*.

3. Met de dataset in dit onderzoek is geen statistisch significante relatie aangetoond tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* in de koelwatersystemen en de drinkwatersoort waarmee wordt gesuppleerd, het ATP-gehalte van het koelwater, het type koeltoren, de temperatuur van het koelwater, het type desinfectie en het desinfectieregime (continue of discontinue desinfectie). Hierbij moet worden opgemerkt dat de onderzochte relaties mogelijk worden verstoord door de toepassing van biociden in het merendeel van de onderzochte koelwatersystemen.
4. In dit onderzoek is wel een statistisch significante relatie aangetoond tussen het gehalte organische stof in het koelwater en de aanwezigheid van *Legionella pneumophila*.
5. In koelwatersystemen gebouwd tussen 1990 en 2000 wordt relatief vaker *Legionella pneumophila* aangetroffen dan in koelwatersystemen uit de periode voor 1990 of na 2000. Hiervoor is geen directe verklaring te geven.

Wellicht de meest opvallende conclusie van dit onderzoek is dat het toepassen van een desinfectie blijkbaar geen garantie geeft voor afwezigheid van *Legionella pneumophila* in een gebouwgebonden koelwatersysteem. Terwijl juist in koelwatersystemen het toepassen van een desinfectie beschouwd wordt als een belangrijk instrument voor het legionellabeheer. Ongeacht het feit dat slechts in één monster de levensvatbaarheid van de *Legionella pneumophila* bacteriën door middel van kweek kon worden aangetoond, duidt het aantreffen van DNA via Q-PCR op onvoldoende beheersing van de groei van *Legionella pneumophila* in (delen van) de betreffende systemen. Dat geldt in ieder geval bij continue dosering van een desinfectiemiddel. Bij periodieke dosering van een desinfectiemiddel is het cruciaal of de groei heeft plaatsgevonden voordat het desinfectiemiddel werd gedoseerd (en met de Q-PCR gedode cellen worden aangetoond) of dat deze groei nog plaatsvindt tijdens de dosering. Om antwoord te vinden op de vraag wanneer desinfectie van koelwatersystemen effectief is en wanneer niet, wordt aanbevolen om de verschillende desinfectieprocedures van gebouwgebonden koelwatersystemen in de praktijk nader onder de loep te nemen. De volgende vragen moeten daarbij worden beantwoord. Welk biocide wordt gebruikt? Op welke positie, wanneer en hoe wordt het gedoseerd? Hoe wordt gecontroleerd op aanwezigheid van voldoende biocide in het recirculerend koelwater? Waar is de temperatuur van het circulerende koelwater het hoogst? Is op die positie (nog) voldoende biocide aanwezig? Wat is de effectiviteit van de biocide ten opzichte van legionellabacteriën in de biofilm?

In verband hiermee wordt tevens aanbevolen om de relatie tussen de koelwatertemperatuur en de aanwezigheid van *Legionella pneumophila* in gebouwgebonden koelwatersystemen nader te onderzoeken door meting van de hoogst bereikte koelwatertemperaturen in het systeem tussen de warmtewisselaar en de koeltoren.

In dit onderzoek is een statistisch significante relatie gevonden tussen de aanwezigheid van *Legionella pneumophila* en het gehalte aan organische stof in het koelwatersysteem. De organische stof kan mogelijk de biofilmvorming bevorderen en/of een remmende invloed hebben op de effectiviteit van de toegepaste biocide. Aangezien er een verband bestaat tussen het gehalte aan organische stof en de gehanteerde indikkingsgraad of verversingsgraad, geldt het advies voor beheerders om het gehalte organische stof niet te ver te laten oplopen bij het instellen van de koelwaterspui. Welke waarde daarbij gehanteerd moet worden, is een onderwerp voor nadere studie. Voorlopig zou een TOC-waarde in het recirculerende koelwater van maximaal 10 mg/l kunnen worden aangehouden (zie boxplot in bijlage V op blz. 38).

De uitkomst van dit onderzoek toont nog eens aan dat gebouwgebonden koelwatersystemen in potentie belangrijke bronnen kunnen zijn voor de verspreiding van *Legionella pneumophila* naar de omgeving. Een goede registratie van bestaande en nieuwe gebouwgebonden koelwatersystemen is dan ook essentieel voor een snelle bronopsporing. Beheerders van gebouwgebonden koelwatersystemen moeten in de praktijk meer aandacht hebben voor de effectiviteit van het toegepaste desinfectieregime op het voorkomen van groei van *Legionella pneumophila* op alle momenten en op alle posities in het koelwatersysteem. Hiertoe zou een verplichte periodieke monitoring (met Q-PCR) kunnen worden overwogen.



## 5 Referenties

1. Kiwa Water Research. Omvang en preventie van vermeerdering van *Legionella* in koeltorens en luchtbehandelingsapparatuur. Elsevier bedrijfsinformatie. 2001
2. VROM-Inspectie. De registratie van natte koeltorens. Quick-scan van de registratie van en het toezicht op natte koeltorens. 2008.
3. Van der Kooij D., G. Wubbels en G. Veenendaal (2007). Legionella-bacteriën in leidingwaterinstallaties behoren meestal tot de ongevaarlijke soort *Legionella anisa*. H2O nr. 5, pag. 33-35.
4. Oesterholt F., L. Paping, D. van der Kooij en H. Veenendaal. (2009) Combinatie Q-PCR en specifieke kweekmethode efficiënt voor screening proceswatermonsters op *Legionella*. H2O nr. 24, pag. 40 - 43.
5. Veenendaal H. en D. van der Kooij (2007). Een specifieke kweekmethode voor *Legionella pneumophila*. H2O nr. 5, pag. 36 - 38.
6. NEN 6265(2007). Water - detectie en telling van *Legionella*.





# I Mailing 1/Vragenlijst deel 1



VROM-Inspectie  
Ministerie van Volkshuisvesting,  
Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer

> Retouradres Postbus 30020 9700 RM Groningen

de beheerder van een gebouw  
met natte koeltoren

**VROM-Inspectie**  
Directie Uitvoering  
Programma Schoon en  
Veilig water

Cascadeplein 10  
Postbus 30020  
9700 RM Groningen  
www.vrom.nl

**Contactpersoon**  
Ing. H.R. de Vries  
T 050-5992700  
M 06-21522771  
F 050-5992699

Datum

Betreft onderzoek naar aerosolvormende (natte) koeltorens

**Kenmerk**  
20090025595-HDV-N

Geachte heer of mevrouw,

U bent eigenaar of beheerder van een gebouw met een aerosolvormende (natte) koeltoren. Deze brief van de VROM-Inspectie (VI) ontvangt u via de contactpersoon van uw gemeente.

In 2006 heeft in Amsterdam een grootschalige legionellabesmetting plaatsgevonden die werd veroorzaakt door een slecht onderhouden koeltoren. Na dit incident heeft de Minister van Volkshuisvesting Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer (VROM) bij alle gemeenten en provincies erop aangedrongen om een registratie bij te houden van alle aanwezige koeltorens in het gemeentelijk grondgebied.

Met deze brief wil ik uw medewerking vragen aan het technisch-wetenschappelijk onderzoek dat de VI in samenwerking met KWR Water Research Institute in de zomer van 2009 uitvoert naar de omvang van de risico's van natte koeltorens.

Om een uitspraak te kunnen doen op de vraag hoe vaak legionellabacteriën in natte gebouwgebonden koeltorens voorkomen, wil de VI in 2009 de watermonsters van een vijftigtal natte koeltorens laten analyseren. Dit onderzoek heeft de VI opgedragen aan KWR Watercycle Research Institute. Om een goede steekproef te kunnen maken van de natte gebouwgebonden koeltorens is een basisinventarisatie van koeltorens van zes grote gemeenten in Nederland gehanteerd. Hiermee is de kans het grootst dat verschillende types koeltorens kunnen worden geselecteerd in de steekproef om later een gefundeerde uitspraak te kunnen doen.

Momenteel worden de bemonstering en analyse voorbereid. Hiervoor vraag ik uw medewerking door het invullen van bijgevoegd vragenformulier. Nadat alle ingevulde vragenformulieren zijn geretourneerd, wordt de steekproef bepaald en wordt bekend welke natte koeltorens binnen de steekproef van het onderzoek vallen.

Gezien het gezondheidsbelang dat samenhangt met een goed beheer en onderhoud van de natte koeltorens wil ik u verzoeken medewerking te verlenen aan dit onderzoek door het vragenformulier in te vullen en te retourneren. Mocht u inhoudelijke vragen hebben over het vragenformulier dat u verzocht wordt in te vullen, dan kunt u telefonisch contact opnemen met Frank Oesterholt (030-6069575) of bij zijn afwezigheid met Harm Veenendaal (030-6069567). Voor algemene vragen over het onderzoek kunt u bellen met de projectleider van de VROM-Inspectie, Hans de Vries (06-21522771).

**VROM-Inspectie**  
Directie Uitvoering  
Programma Schoon en  
Veilig water

**Kenmerk**  
20090025595-HDV-N

Graag zie ik het ingevulde vragenformulier (alleen deel 1 van het formulier (zie bijlage)) uiterlijk 30 juni 2009 retour. De eventuele bemonstering zal zoveel mogelijk in de maanden juli en augustus 2009 plaatsvinden. De vragenlijst (deel 1) kunt u rechtstreeks retour zenden aan:

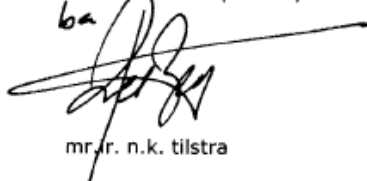
**KWR Waterrecycle Research Institute**  
**T.a.v. de Heer F. Oesterholt**  
**Postbus 1072**  
**3430 BB Nieuwegein**

**scannen mag ook: [frank.oesterholt@kwrwater.nl](mailto:frank.oesterholt@kwrwater.nl)**

Dit onderzoek van de VI heeft geen handhavend karakter. Als de bemonstering ook daadwerkelijk bij uw gebouw wordt uitgevoerd, dan zullen de resultaten ook aan u bekend worden gemaakt. Toch kan het voorkomen dat bij bemonstering hoge concentraties legionellabacteriën worden aangetroffen. Vanuit gezondheidsoogpunt is het dan van belang om maatregelen te nemen. Deze maatregelen hangen af van de ernst van de situatie op dat moment en het gevaar dat aanwezig is voor de volksgezondheid.

Ik hoop dat u het belang van dit onderzoek ondersteunt en dank u bij voorbaat voor uw medewerking.

Hoogachtend,  
de directeur-inspecteur,

ba  
  
mr./r. n.k. tilstra

Toelichting:

- Deze vragenlijst bestaat uit twee delen.
- Dit onderzoek richt zich alleen op gebouwgebonden koeltorens voor klimaatbeheersing (comfortkoeling). Op voorhand is voor een locatie niet altijd duidelijk of het gaat om comfortkoeling of industriële koeling of eventueel om beide. Vandaar de opmerking bovenaan de vragenlijst.
- Deel 1 betreft vragen die de beheerder naar grote waarschijnlijkheid direct kan beantwoorden cq. vragen die belangrijk zijn voor het maken van een selectie van koelwatersystemen voor de bemonstering. Dit deel wordt via de contactpersonen bij de gemeenten toegezonden aan de beheerders van de gebouwgebonden koelwatersystemen met het verzoek om deel 1 van de vragenlijst in te vullen.
- Deel 2 van de vragenlijst bevat detailvragen over onderhoud en beheer. Die vragen worden beantwoord na het doen van de selectie, eventueel bij het bezoek aan de locatie voor het uitvoeren van de bemonstering. Dit deel wordt dus op voorhand nog niet toegezonden aan de beheerders.

Aangenomen wordt dat de beheerders de ingevulde lijsten terugzenden aan de contactpersoon van de betreffende gemeente. De gemeente dient de verzamelde vragenlijsten te retourneren aan:

KWR Watercycle Research Institute  
t.a.v. Frank Oesterholt  
Postbus 1072  
3430 BB Nieuwegein

Vragenlijst gebouwgebonden koelwatersystemen

**Opmerking vooraf:** dit onderzoek richt zich uitsluitend op zogenaamde gebouwgebonden koelwatersystemen. Dat zijn koelwatersystemen die gekoppeld zijn aan de klimaatbeheersing in een utiliteitsgebouw (comfortkoeling). Kenmerk van dit soort systemen is dat ze meestal worden gevoed met leidingwater. Als u uitsluitend industriële koelwatersystemen op uw locatie toepast dan kunt u volstaan met deel A en de opmerking “alleen industriële koeling” onderaan de bladzijde.

		Code (in te vullen door KWR)		
<b>Deel 1</b>		Vul in:		
A	A1 Locatiegegevens koeltorensysteem <i>(adres, postcode, gemeente)</i>			
	A2 Gegevens contactpersoon of beheerder <i>(naam, telefoonnummer en e-mailadres)</i>			
B	B1 Aantal gebouwgebonden koelwatersystemen op locatie <i>(Opmerking: meerdere koeltorens boven hetzelfde koelwaterbassin is gedefinieerd als één koelwatersysteem)</i> B2 Bouwjaar van het systeem/de systemen			
C	Type koeltoren	Vul in aantal:		
	C.1 Recirculerend open koeltoren met interne warmtewisselaar (verdampingscondensator)	C1		
	C.2 Recirculerend open koeltoren met extra interne warmtewisselaar op de uittredende lucht (hybride condensator)	C2		
	C.3 Recirculerend open koeltoren met horizontaal vullichaam (tegenstroomkoeler)	C3		
	C.4 Recirculerend open koeltoren met verticaal vullichaam (kruisstroomkoeler)	C4		
	C.5 Adiabatische koeltoren waarbij alleen bij een grote koelvraag water wordt verneveld in de aangezogen lucht (systeem zonder opslag van water in een bassin)	C5		
<i>(Indien het voor u niet mogelijk is om deze vraag te beantwoorden, kunt u hiernaast opgave doen van de merknaam en het modelnummer (codering) van de koeltoren(s). Is ook die informatie niet beschikbaar, dan kunt u aangeven bij wie uw koelwatersysteem in beheer/onderhoud is (bedrijf, contactpersoon, telefoonnummer) zodat het voor ons mogelijk is om via die weg bovenstaande informatie te achterhalen.</i>				
D	Bedrijfsperiode koelwaterinstallatie	Kruis aan:		
	D.1 gehele jaar continu in bedrijf	D1		
	D.2 alleen in de zomermaanden in bedrijf	D2		
	D.3 wisselend gebruik door het hele jaar	D3		
	ruimte voor opmerkingen:			

## II mailing 2/vragenlijst deel 2

Aan de deelnemers aan het VROM-Inspectie onderzoek naar  
gebouwgebonden koelwatersystemen

Opdrachtnummer A308185  
Onderwerp Verzoek tot invullen deel 2 vragenlijst  
Informatie Frank Oesterholt KWR  
E-mail frank.oesterholt@kwrwater.nl  
Datum 12 augustus 2009  
Kenmerk FO/BS/0901583

Geachte mevrouw, mijnheer,

Onlangs hebben wij bij u – samen met iemand van de Gemeente – één of meerdere koelwatersystemen bemonsterd ten behoeve van technisch-wetenschappelijk onderzoek dat VROM-Inspectie in samenwerking met KWR uitvoert naar de omvang van de risico's van natte koeltorens. U bent daarover in een eerder stadium door de Gemeente en VROM-Inspectie geïnformeerd. U hebt in dat verband ook deel 1 van een vragenlijst ingevuld.

Wij willen u nu vragen om voor elk van de bemonsterde koelwatersystemen deel 2 van de vragenlijst in te vullen. Op de vragenlijst is een code vermeld en een zo duidelijk mogelijke omschrijving van het bemonsterde koelwatersysteem (voor zover er sprake is van meerdere systemen). De code zal door ons verder worden gehanteerd om alle resultaten te anonimiseren in de rapportage van het onderzoek.

Deel 2 van de vragenlijst is bedoeld om de analyseresultaten te kunnen relateren aan detailgegevens van de koelwatersystemen die te maken hebben met de toegepaste materialen, het desinfectieregime en het toegepaste onderhoud en beheer. Wij zouden het op prijs tellen als u de vragenlijst – eventueel met hulp van de beheerder van het systeem – naar waarheid zou kunnen invullen en binnen twee weken aan ons terugsturen. Hiervoor kunt u gebruik maken van bijgevoegde antwoordenvolp.

Met vriendelijke groet,

KWR, Watercycle Research Institute

Frank Oesterholt  
senior onderzoeker KIW

		Code (in te vullen door KWR)	
<b>Deel 2; detailgegevens aanvullend op deel 1</b>			
E	Materiaal van de koeltoren	Kruis aan:	
	E.1 Alle onderdelen RVS (inclusief filmpakket/vullichaam)	E1	
	E.2 Filmpakket/vullichaam van kunststof	E2	
	E.3 Filmpakket/vullichaam (deels) van hout (splashbars)	E3	
F	Type desinfectie	Kruis aan:	
	F.1 Geen desinfectie	F1	
	F.2 Fysische techniek	F2	
	F.3 Chemisch met oxiderend biocide (chloor, chloorverbindingen, ozon, peroxyde, perazijnzuur, anodische oxydatie, etcetera)	F3	
	F.4 Chemisch met niet oxiderend-biocide (koper/zilver; organische biociden)	F4	
G	Desinfectieregime bij chemische desinfectie	Kruis aan:	
	G.1 Alleen desinfectie als installatie buiten gebruik (offline desinfectie bijvoorbeeld bij start/stop)	G1	
	G.2 Discontinue desinfectie (shockdosering) volgens waterbehandelingsprogramma	G2	
	G.3 Continue desinfectie volgens waterbehandelingsprogramma	G3	
H	Beheers- en onderhoudsregime	Kruis aan:	
	H.1 Inspectie, onderhoud en reiniging in eigen beheer (< 2 x per jaar)	H1	
	H.2 Inspectie, onderhoud en reiniging in eigen beheer (> 2 x per jaar)	H2	
	H.3 Inspectie, onderhoud en reiniging: extern bedrijf (< 2 x per jaar)	H3	
	H.4 Inspectie, onderhoud en reiniging: extern bedrijf (> 2 x per jaar)	H4	
I	Dimensionering koelwatersysteem	Vul in:	
	I.1 Circulerend koelwaterdebiet $Q_w$ in m <sup>3</sup> /uur	m <sup>3</sup> /uur	
	I.2 Totale koelcapaciteit in kW	kW	
J	Zijn er in de afgelopen 24 maanden legionellabemonsteringen uitgevoerd?	ja/nee	
	Zo ja, hoeveel bemonsteringen zijn er uitgevoerd?	bemonsteringen	
	In hoeveel gevallen is daarbij legionella aangetoond ?	gevallen	
	Wat was de concentratierange (min - max) ?	kve/l	
K	Bedrijf en naam contactpersoon verantwoordelijk voor het beheer van de koelwaterinstallaties (bedrijfsnaam, naam contactpersoon, telefoonnummer)		
ruimte voor opmerkingen:			



### **III Overzicht gegevens monstername en analyseresultaten**

Monsterneming						
locatiecode	datum	tijdstip	positie <sup>#</sup>	temperatuur koelwater °C	tijdstip laatste desinfectie	opvallende zaken
1 U3	12-8-2009	16:20	PAK	30,9	zie opm.	6 juli alles bemonsterd en gedesinfecteerd
2 U4	12-8-2009	12:20	BAS	14,2	continue	kleur lichtwit, systeem stond op verwarmen (omgekeerd)
3 U5	12-8-2009	11:40	BAS	20,2	zie opm.	dosering aan suppletiewater
4 U7-I	12-8-2009	14:50	BAS	19,4	continue	ruikt naar chloor
5 U7-II	12-8-2009	14:35	BAS	21,6	continue	dosering van verschillende chemicalien
6 DH1-A	18-8-2009	9:30	BAS	24,1	continue	
7 DH1-B	18-8-2009	9:40	BAS	25,3	continue	
8 DH2-A	18-8-2009	12:05	BAS	22,4	continue	
9 DH2-B	18-8-2009	12:15	PAK	23,6	continue	
10 DH6-A	18-8-2009	14:50	BAS	23,4	continue	
11 DH6-B	18-8-2009	14:40	BAS	21,5	continue	dosis biocide verhoogd na L bij laatste bemonstering
12 DH12	18-8-2009	14:05	PAK	23,4	continue	
13 DH13-A	18-8-2009	13:00	BAS	19,1	continu	ozon
14 DH13-B	18-8-2009	13:05	BAS	21,6	continu	ozon
15 DH13-C	18-8-2009	13:10	BAS	22,3	continu	ozon
16 A8	20-8-2009	12:10	PNT	-	continue	T-meter laten liggen op vorige locatie
17 A9-A	20-8-2009	9:30	PAK	27,6	continue	witte aanslag
18 A9-B	20-8-2009	9:40	PAK	18,8	continue	witte aanslag
19 A10	20-8-2009	11:15	PNT	27,6	continue	
20 A12	20-8-2009	13:29	PAK	27,7	continue	1 systeem met 2 torens
21 A15	20-8-2009	14:15	BAS	23,7	continue	1 systeem met 6 gekoppelde torens
22 A19	20-8-2009	10:25	PNT	28,2	continue	
23 H1-A	26-8-2009	9:00	BAS	15,2	onbekend	
24 H1-B	26-8-2009	9:05	BAS	15,6	onbekend	
25 H2	26-8-2009	10:15	BAS	23,4	continue Cu/Ag	chloordosering na overschrijding (5 mg/l)/ Cu/Ag staat uit
26 E12	26-8-2009	11:55	BAS	23,4	continue	3 koeltorens vormen 1 systeem
27 E1	26-8-2009	12:10	BAS	21,3	continue	
28 E4	26-8-2009	12:45	PNT	21,6	continue	monsterkraan op beg.grnd. Koeltoren staat op dak (+2)
29 E9	26-8-2009	14:35	BAS	24,6	continue	
30 E11	26-8-2009	15:20	BAS	19,6	continue	afblaas zit verderop
31 R1	27-8-2009	9:20	BAS	30,2	begin seizoen	algen + kalkaangroei lamellenpakket
32 R10-A	27-8-2009	10:05	BAS	22,9	onbekend	kalk op buitenlamellen en opvangbak
33 R10-B	27-8-2009	10:10	BAS	21	onbekend	kalk op buitenlamellen en opvangbak
34 R4-A	27-8-2009	11:00	BAS	25,2	10-jul-09	visueel schoon systeem
35 R4-B	27-8-2009	11:05	BAS	18,8	9-jul-09	deel van de koeltoren wordt maar gebruikt
36 R7	27-8-2009	11:40	BAS	27,3	onbekend	lichte kalkafzetting buitenlamellen en buitenzijde opvangbak
37 R2-A	27-8-2009	12:30	BAS	20,5	apr-09	algen onder koeltoren
38 R2-B	27-8-2009	12:40	BAS	19,1	jun-09	helder
39 R8-A	27-8-2009	13:15	PNT	28,5	onbekend	
40 R8-B	27-8-2009	13:20	PNT	19,6	onbekend	
41 R3-A	27-8-2009	14:10	BAS	23,7	onbekend	
42 R3-B	27-8-2009	14:15	BAS	23,5	onbekend	
43 A1	15-9-2009	10:30	PNT	22,7	onbekend	
44 A4	15-9-2009	12:10	BAS	18,4	continue	Slecht onderhoud. Lamellenpakket hangt in het water en deels verwijderd. Zoutkristallen groeien in de bak.
45 A13-A	15-9-2009	11:20	BAS	18,3	continue	Schotten in koeltoren
46 A13-B	15-9-2009	11:25	BAS	20,9	continue	
47 A22-A	15-9-2009	12:35	BAS	24,4	continue	
48 DH8-A	28-9-2009	11:00	BAS	17,4	continue	Continue monitoring van pH, corrosie, indikking, chloor
49 DH8-B	28-9-2009	11:05	BAS	24,3	continue	
50 DH3	28-9-2009	11:45	PAK	31,8	continue	

50 systemen

PAK = vallend water onder pakket

BAS = water uit bassin

PNT = water uit monsterpunt

**Analysegegevens**

locatiecode	Monsternummer	ATP (ng/l)	Q-PCR [n/l]	Kweek Lp [kve/l]	Zuurgraad [pH]	Carbonaat [mg/l]	Waterstofcarbonaat [mg/l]	Soortelijke geleiding [ $\mu$ S/cm]	Temp. meting Soortelijke geleiding [°C]	Froeibingsgraad [FNE]	Niet-purgeerbare organisch koolstof [mg/l]	Chloor vrij mg/(NEN-EN-ISO 7393-1)**	Chlorofyl-A [ $\mu$ g/l]	Feofytine [ $\mu$ g/l]	ratio430/410
U3	M092264	49	923000	4,30E+05	8,3	< 6,0	125	715	20,7	0,15	1,8	< 0,03	<2	<2	1,01
U4	M092265	197	<630	<100	8,3	< 6,0	235	780	20,7	5,6	15	< 0,03	<2	<2	#
U5	M092266	60	<1300	<100	8,8	41	400	850	20,7	1,7	6,1	< 0,03	<2	<2	1,28
U7-I	M092267	18	<310	<100	8,8	21	290	980	20,7	1,5	25	3,4	<2	<2	#
U7-II	M092268	84	7300	<100	8,3	< 6,0	155	545	20,8	0,77	12	0,66	<2	<2	#
DH1-A	M092336	59	<240		8,7	24	360	1235	21,7	1,0	9,6	< 0,03	4	<2	1,22
DH1-B	M092337	167	<250		8,7	15	260	1275	21,6	0,90	7,5	< 0,03	<2	<2	1,23
DH2-A	M092338	75	19600		8,8	21	320	1035	21,4	1,2	20	< 0,03	<2	<2	#
DH2-B	M092339	9	<250		8,8	27	355	1200	21,2	0,79	31	3,4	<2	<2	#
DH6-A	M092340	112	54300		8,9	20	330	1150	21,2	1,4	16	< 0,03	<2	<2	1,02
DH6-B	M092341	122	39600		8,8	10	245	855	21,2	0,81	11	< 0,03	<2	<2	#
DH12	M092342	366	<800		8,6	8,4	250	840	21,2	1,8	12	< 0,03	<2	<2	0,98
DH13-A	M092343	1	<350		8,8	11	290	1035	21,2	0,75	1,6	< 0,03	<2	<2	0,82
DH13-B	M092344	3	<370		8,8	12	295	1035	21,2	0,71	1,6	< 0,03	<2	<2	#
DH13-C	M092345	28	<280		8,9	12	310	1100	21,8	1,0	1,8	< 0,03	<2	<2	1,3
A8	M092348	297	<1600		8,7	16	355	1500	22,6	10	1,7	< 0,03	<2	<2	0,82
A9-A	M092349	563	<530		9,0	48	470	1800	22,5	1,3	15	< 0,03	<2	<2	0,8
A9-B	M092350	524	<420		8,7	12	310	1140	22,3	1,2	6,7	< 0,03	<2	<2	0,86
A10	M092351	128	12700		9,0	47	435	1700	22,6	5,3	11	< 0,03	<2	<2	#
A12	M092352	58	<290		8,8	14	260	950	22,6	1,3	5,1	< 0,03	<2	<2	#
A15	M092353	37	<290		8,7	11	265	1235	22,5	0,83	7,4	< 0,03	<2	<2	#
A19	M092354	166	<150000*		9,1	175	1240	5600	22,8	50	130	< 0,03	<2	<2	1,23
H1-A	M092378	174	<630	<100	8,8	15	410	1400	23,8	1,7	7,1	< 0,03	<2	<2	0,87
H1-B	M092379	210	<550	<100	8,8	14	340	1155	23,7	1,5	5,9	< 0,03	<2	<2	0,79
H2	M092380	35	<330	<100	8,6	6,2	195	725	23,8	0,66	11	< 0,03	<2	<2	#
E12	M092385	43	<210	<100	8,8	44	510	2200	23,9	0,46	17	< 0,03	<2	<2	0,96
E1	M092381	59	<220	<100	8,6	19	300	895	23,8	0,64	9,8	< 0,03	<2	<2	1,13
E4	M092382	4	750	<100	8,8	< 6,0 (5,5)	155	520	23,7	0,4	7,1	< 0,03	<2	<2	1,02
E9	M092383	17	<340	<100	8,8	16	305	1160	23,7	0,25	3,7	< 0,03	<2	<2	1,01
E11	M092384	182	<600	<100	9	29	355	1095	23,7	6,2	7,4	< 0,03	17	3	1,09
R1	M092397	104	<1111		8,8	26	395	1500	21,9	2,4	6,8	< 0,03	<2	<2	1,14
R10-A	M092407	178	<250		8,8	24	265	990	22	0,71	5,9	< 0,03	<2	<2	0,83
R10-B	M092408	178	<860		8,8	15	285	1025	22	0,94	6	< 0,03	<2	<2	0,7
R4-A	M092402	37	<430		8,9	20	245	995	21,9	0,36	3,3	< 0,03	<2	<2	0,95
R4-B	M092403	33	3800		8,5	< 6,0 (1,2)	160	605	22	0,75	3	< 0,03	<2	<2	78
R7	M092404	364	910		8,9	24	300	1120	22,1	0,88	14	< 0,03	<2	<2	0,82
R2-A	M092398	130	<320		8,8	26	310	1190	21,8	0,35	4,8	< 0,03	<2	<2	1,06
R2-B	M092399	77	980		8,8	22	330	1220	21,9	1	19	< 0,03	11	3	1,16
R8-A	M092405	69	1030		9,1	58	415	1600	22	0,66	10	< 0,03	<2	<2	1,05
R8-B	M092406	37	5220		8,8	27	400	1600	21,9	0,73	24	< 0,03	<2	<2	0,97
R3-A	M092400	105	<2500*		8,8	13	250	960	22,1	11	6,7	< 0,03	<2	<2	0,89
R3-B	M092401	119	<2700*		8,8	15	255	955	22	9,4	6,2	< 0,03	<2	<2	0,86
A1	M092620	19	<480	<100	8,9	27	345	1300	17,2	0,8	7,3	< 0,03	<2	<2	0,74
A4	M092621	21	<380	<100	8,8	21	350	1300	17,1	0,2	2,8	< 0,03	<2	<2	0,67
A13-A	M092622	183	<710	<100	8,8	21	320	1200	17,2	7,5	10	< 0,03	<2	<2	1,05
A13-B	M092623	234	<670	<100	8,8	14	340	1300	17,5	1,3	16	< 0,03	5	<2	1,22
A22-A	M092624	362	876	<100	8,9	13	275	1000	17,5	1,5	4,2	< 0,03	<2	<2	0,45
DH8-A	M092727	46	12100		8,8	28	395	1400	20,8	3,2	26	1,9	<2	<2	0,84
DH8-B	M092728	113	696000		8,9	51	415	1600	20,6	4,1	22	<0,03	<2	<2	1,15
DH3	M082729	32	1130		9	37	310	1000	20,4	0,64	18	<0,03	<2	<2	1,13

16 32% DNA Lp aangetroffen  
 4 8% < 1000 n/l  
 5 10% 1000<x<10000  
 7 14% > 10000 n/l  
 0 0% Remming van de bepaling

Feofytine = afbraakproduct van chlorophyl A  
 ratio = verhouding tussen extincties van het aangezuurde monster bij 430 en 410 nm gecorrigeerd voor de extinctie van het neutrale monster bij 750 nm

## IV Respons vragenlijst deel 2

Respons op vragenlijst deel 2												
locatiecode	vragenlijst deel 2 retour ?	vraag E	Vraag F	Vraag G	Vraag H	L-bemonsteringen in laatste 24 mnd?	aantal in 24 mnd	aantal gevallen L. aangetroffen	max. concentratie	circulerend koelwaterdebiet m <sup>3</sup> /uur	koelcapaciteit kW	opmerkingen
U3	X	E1	F2	G3	H4	ja		0		60	350	
U4	X	E2	F3	G3	H3	ja	1	0		135	1350	
U5	X	E2	F2	G3	H4	ja	4	0				
U7-I	X	E2	F3	G3	H1	ja	14	0		340	2240	
U7-II	X	E2	F3	G3	H1	ja	20	1	2600	1713	12350	
DH1-A	X	E2	F4	G2	H4	ja	4	0				
DH1-B	X	E2	F4	G2	H4	ja	4	0				
DH2-A												
DH2-B												
DH6-A	X	E2	F3	G3	H1	ja	24	7	170000	230	1750	F3 en F4
DH6-B	X	E2	F3	G3	H1	ja	24	7	170000	230	1750	F3 en F4
DH12	X	E2	F4	G2	H3	ja	6	1	700	90	570	
DH13-A	X	E2	F3	G3	H4	ja	5	0		80	700	ozonsysteem
DH13-B	X	E2	F3	G3	H4	ja	5	0		80	700	ozonsysteem
DH13-C	X	E2	F3	G3	H4	ja	5	0		80	700	ozonsysteem
A8	X	?	F4	G2	H3	nee						Ook desinfectie bij start/stop
A9-A	X	E2	F4	G2	H4	ja	6	0		100	425	
A9-B	X	E2	F4	G2	H4	ja	4	0		100	425	
A10	X	E2	F3	G3	H2	ja	8	3	2900	100	2700	ook RVS onderdelen
A12	X	E2	F3	G3	H4	ja	17	2	1900	300	2400	
A15	X	E2	F2	G1	H4	ja	48	0		720	11000	
A19	X	E2	F3	G3	H4	ja	4	0		360	3800	
H1-A	X	E2	F3	G2	H4	ja	4	1	3700	160	7500	onderhoud eigen beheer
H1-B	X	E2	F3	G2	H4	ja	4	1	300	160	7500	onderhoud eigen beheer
H2	X	E2	F4	G3	H3	ja	48	4	32000	60	1600	
E12	X	E2	F3	G3	H3	ja	48	0		50	7200	
E1	X	E2	F4	G3	H4	ja	48	0		90	2040	
E4	X	E1	F3	G3	H3	ja	2	0				
E9												
E11	X	E2	F3	G3	H4	ja	4	0		4		
R1	X	E2	F3	G2	H2	ja	2	0		200	1200	
R10-A												
R10-B												
R4-A	X	E2	F3	G2	H4	ja	3	0		140	1385	
R4-B	X	E2	F3	G2	H4	ja	7	4	900	154	1611	
R7	X	E2	F4	G2	H4	ja	4	0		266	1670	
R2-A	X	E2	F3	G3	H3	ja	9	0		63	440	
R2-B	X	E2	F3	G3	H3	ja	10	0		20	163	
R8-A	X	E2	F3	G2	H4	ja	4	1	333320	156	900	
R8-B	X	E2	F3	G2	H4	ja	4	1	500000	156	900	
R3-A	X	E2	F4	G2	H4	ja	4	1	1000	143	18500	
R3-B	X	E2	F4	G2	H4	ja	4	0		143	18500	
A1	X	E2	F4	G2	H3	ja	6	1	?			
A4												
A13-A	X	E2	F3	G1	H3	ja	18	2	86000	150	1350	
A13-B	X	E2	F3	G1	H3	ja	12			150	1450	
A22-A	X	E2	F2	G1	H4	ja	5	3	2400	270	1885	
DH8-A	X	E2	F3	G3	H4	ja	6	0		285	1823	
DH8-B	X	E2	F3	G3	H4	ja	6	0		285	1823	
DH3	X	E2	F4	G3	H4	ja	8	0		180	1108	

44

totaal	44 vragenlijste	88%	totaal	44 vragenlijsten retour	88%
E1	2	5% RVS	L. bemonstering in	ja	43 98%
E2	41	93% kunststof	laatste 24 maand	nee	0 0%
E3	0	0% hout	aantal bemonsteringen	min	1
F1	0	0% geen desinfectie	in 24 maanden	gem	11
F2	4	9% fysieke techniek		max	48
F3	27	61% oxiderend biocide	L. vastgesteld ?	ja	16 36%
F4	13	30% niet oxiderend biocide		min	300 kve/l
G1	4	9% alleen indien buiten gebruik		gem	87181 kve/l
G2	17	39% discontinue		max	500000 kve/l
G3	23	52% continue	Vermogen in kW	min	163 kW
H1	4	9% eigen beheer eens per jaar		gem	3345 kW
H2	2	5% eigen beheer meer dan 2 keer per jaar		max	18500 kW
H3	11	25% uitbesteed eens per jaar			
H4	27	61% uitbesteed vaker dan 2 keer per jaar			

# V Statistische analyse

## Vorbewerking gegevens

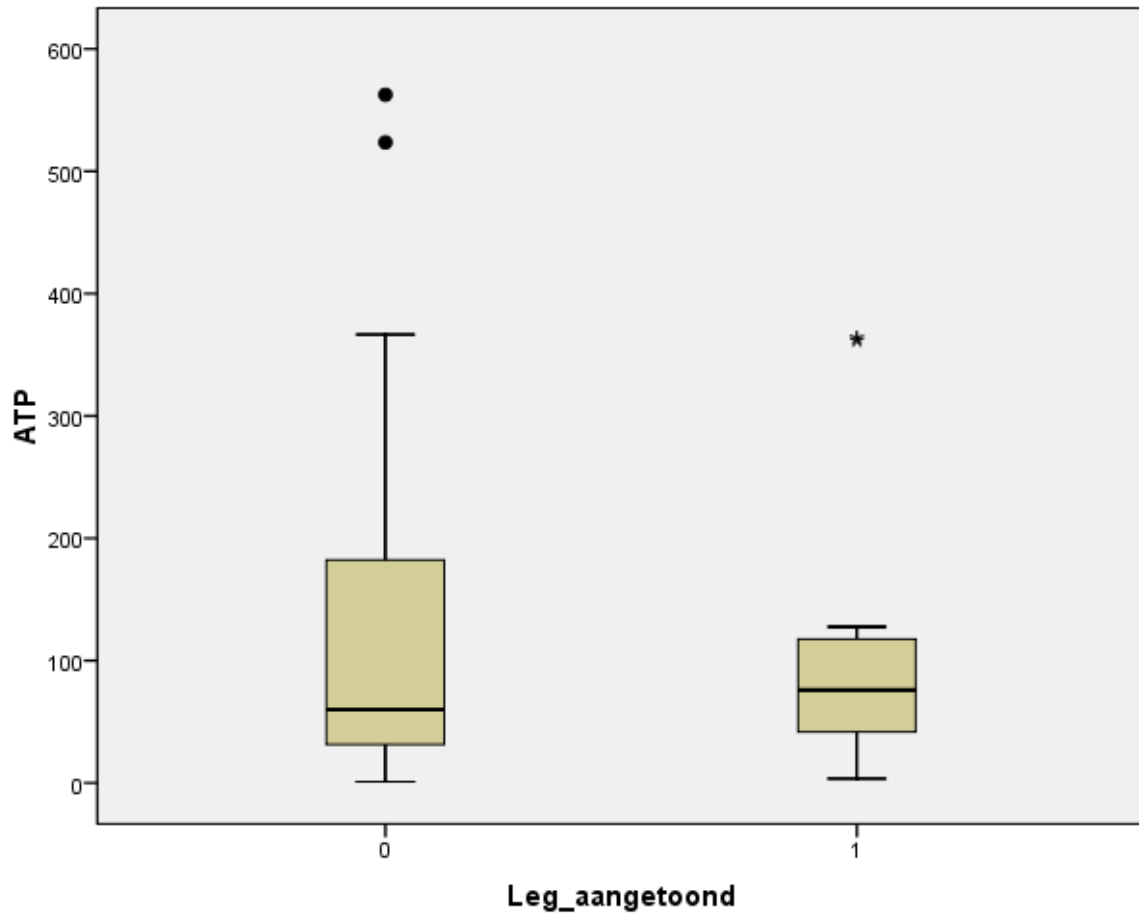
Bij 34 van de 50 onderzochte koelwatersystemen is geen *Legionella pneumophila* onder de detectiegrens aangetoond en resulteerde slechts een gecensureerde waarde (zoals <640 n/l). Maar in 3 van deze gevallen werd er door remming in het onverdunde monster een uitzonderlijk hoge detectiegrens veroorzaakt van respectievelijk 150000, 2700 en 2500 n/l. Hierdoor was het aantonen van *Legionella pneumophila* in deze koelwatersystemen veel moeilijker dan in de andere systemen, zodat we hebben besloten de resultaten van deze 3 koelwatersystemen niet mee te nemen bij de statistische verwerking.

Voor enkele onderdelen van de statistische verwerking dienden gecensureerde waarden – dit zijn semi-kwantitatieve waarden - te worden vervangen door kwantitatieve waarden. Dit betrof de parameters *Legionella pneumophila* en carbonaat.

De (resterende) 31 gecensureerde waarden van *Legionella pneumophila* hebben 27 verschillende detectiegrenzen, die lopen van 210 tot 1600 n/l. Om geen kunstmatige verschillen te introduceren, is elk van de 31 gecensureerde waarden gezet op de helft van de laagste betrokken detectielimiet (105 n/l). Van de (resterende) 47 waarden van carbonaat zijn er 5 gecensureerd, elk met de detectielimiet 6,0 mg/l, waarbij in 2 gevallen ook de ongecensureerde waarde is vermeld, namelijk respectievelijk 1,2 en 5,5 mg/l. Deze laatste twee zijn voor de statistische verwerking op de betreffende ongecensureerde waarde gezet en de overige drie gecensureerde waarden zijn op de helft van de detectiegrens gezet (3,0 mg/l).

Is er een relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* (Lp via Q-PCR) in de koelwatersystemen en het ATP-gehalte?

Onderstaand figuur toont de boxplots van het ATP-gehalte voor de 31 koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond (links) en voor de 16 koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond (rechts).



#### Toelichting op de boxplot

De boxplot, of ook wel box-whisker-plot, is een handzame manier om de kenmerken van een onderzochte populatie zo compact mogelijk grafisch samen te vatten. Het toont de posities van de belangrijkste percentielen van de populatie meetwaarden. Het middendeel, de 'box' (doos), loopt van het 25-percentiel naar het 75-percentiel, terwijl het 50-percentiel, oftewel de mediaan, is aangegeven als een dikke streep in de box. De 'whiskers' (snorharen) lopen van de box naar de uiteinden van de steekproef. Extreme waarden, aangegeven met een sterretje, liggen minimaal driemaal de grootte van de box buiten de box, terwijl uitbijters tussen anderhalf en driemaal de grootte van de box buiten de box liggen.

Om objectief vast te kunnen stellen of de ATP-gehalten van de koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond verschillen van die van de koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond, is de Mann-Whitney-toets toegepast. Dit is het verdelingsvrije equivalent van de t-toets. De ATP-waarden blijken namelijk volgens de Shapiro-Wilk-toets niet afkomstig uit een normale kansverdeling ( $p$ -waarde=0,000<sup>1</sup>), terwijl dat wel een vereiste is voor toepassing van de t-toets.

De Mann-Whitney-toets toetst de nulhypothese dat de mediane ATP-waarde van de koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond gelijk is aan die van de koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond. Op basis van proceskennis is als alternatieve hypothese geformuleerd dat de mediane

<sup>1</sup> De  $p$ -waarde is een maat voor de aannemelijkheid van de nulhypothese. Als deze kleiner is dan 0,05 (5%), kunnen we de nulhypothese met minimaal 95% betrouwbaarheid verwerpen.

ATP-waarde van de koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond lager is dan die van de koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond.

De steekproefmediane ATP-waarde van de 31 koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond bedraagt 60 ng/l, terwijl die van de koelwatersystemen waar wel *Legionella pneumophila* is aangetoond 76 ng/l bedraagt. De nulhypothese wordt echter niet verworpen door de Mann-Whitney-toets (eenzijdige p-waarde=0,438), zodat er geen statistisch significante relatie is aangetoond tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* in de koelwatersystemen en het ATP-gehalte.

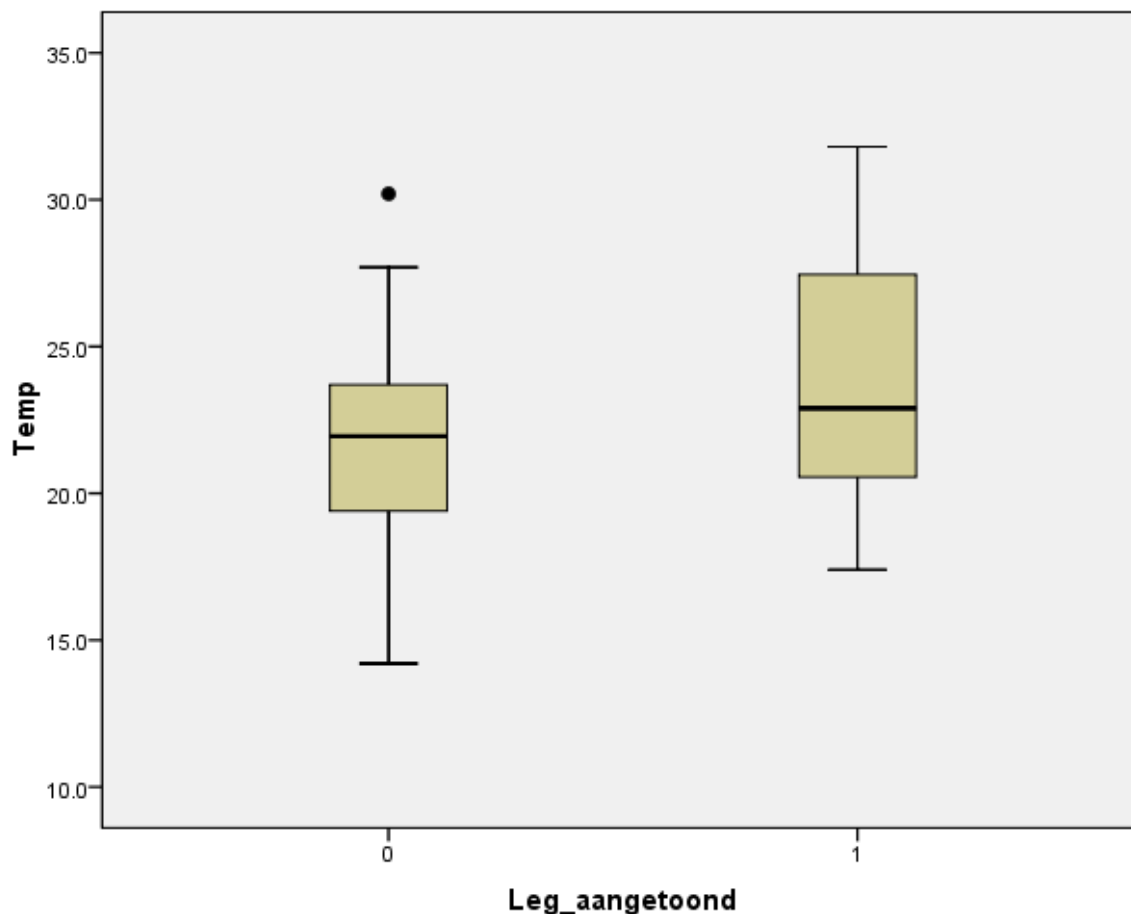
Wat is de betekenis van het ATP-gehalte bij aantreffen van Lp?

Om na te gaan of er voor de koelwatersystemen waar *Legionella pneumophila* is aangetoond een relatie bestaat tussen het ATP-gehalte en de concentratie *Legionella pneumophila*, is de Spearman-rangcorrelatiecoëfficiënt van deze twee parameters bepaald, uitgaande van de gegevens van de 16 betreffende koelwatersystemen. De Spearman-rangcorrelatiecoëfficiënt is het verdelingsvrije equivalent van de gewone correlatiecoëfficiënt en kan dus ook worden toegepast bij niet-normale verdelingen en/of uitschieters. Deze rangcorrelatiecoëfficiënt bedraagt 0,141, met eenzijdige p-waarde 0,301, zodat er geen statistisch significante relatie is aangetoond.



Is er een relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* (Lp via Q-PCR) in de koelwatersystemen en de gemeten temperatuur van het koelwater tijdens monsterneming?

Onderstaand figuur toont de boxplots van de temperatuur voor de 30 koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond<sup>2</sup> (links) en voor de 16 koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond (rechts).



Om objectief vast te kunnen stellen of de temperaturen van de koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond verschillen van die van de koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond, is de t-toets toegepast. De temperaturen blijken namelijk volgens de Shapiro-Wilk-toets afkomstig uit een normale kansverdeling (p-waarde=0,616).

De t-toets toetst de nulhypothese dat de gemiddelde temperatuur van de koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond gelijk is aan die van de koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond. Op basis van proceskennis is als alternatieve hypothese geformuleerd dat de gemiddelde temperatuur van de koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond lager is dan die van de koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond.

De steekproefgemiddelde temperatuur van de 30 koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond bedraagt 21,8 °C, terwijl die van de koelwatersystemen waar wel *Legionella pneumophila* is aangetoond 23,8 °C bedraagt. De nulhypothese wordt echter (net) niet verworpen door de t-toets (eenzijdige p-waarde=0,057), zodat er geen statistisch significante relatie is aangetoond tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* in de koelwatersystemen en de temperatuur.

---

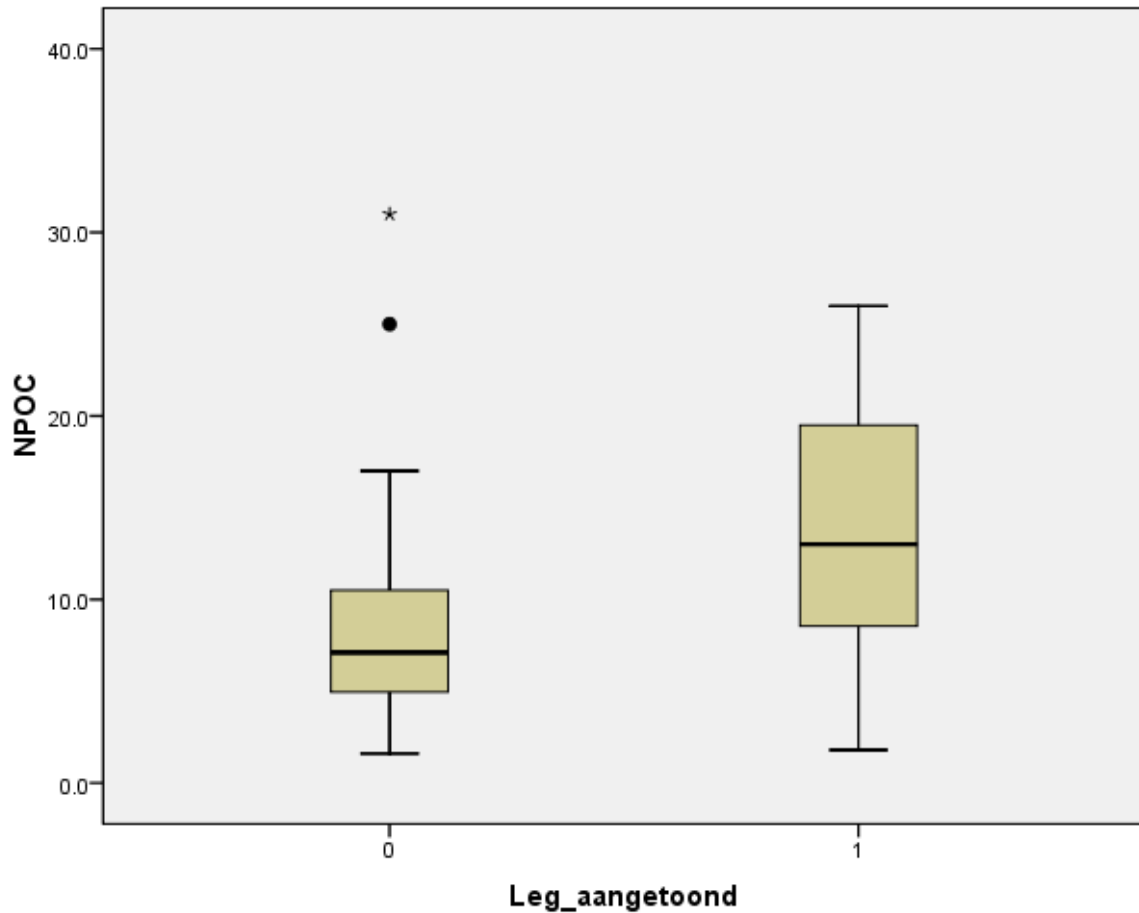
<sup>2</sup> Bij één van de 31 koelwatersystemen waar *Legionella pneumophila* is aangetoond, kon geen watertemperatuur worden gemeten.

Wat is de betekenis van de temperatuur bij aantreffen van Lp?

Om na te gaan of er voor de koelwatersystemen waar *Legionella pneumophila* is aangetoond een relatie bestaat tussen de temperatuur en de concentratie *Legionella pneumophila*, is de Spearman-rangcorrelatiecoëfficiënt van deze twee parameters bepaald, uitgaande van de gegevens van de 16 betreffende koelwatersystemen. Deze rangcorrelatiecoëfficiënt bedraagt 0,062, met eenzijdige p-waarde 0,410, zodat er geen statistisch significante relatie is aangetoond.

Is er een relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* (Lp via Q-PCR) in de koelwatersystemen en het NPOC-gehalte?

Onderstaand figuur toont de boxplots van het NPOC-gehalte voor de 31 koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond (links) en voor de 16 koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond (rechts).



Om objectief vast te kunnen stellen of de NPOC-gehalten van de koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond verschillen van die van de koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond, is de Mann-Whitney-toets toegepast. De NPOC-waarden blijken namelijk volgens de Shapiro-Wilk-toets niet afkomstig uit een normale kansverdeling ( $p$ -waarde=0,002).

De Mann-Whitney-toets toetst de nulhypothese dat de mediane NPOC-waarde van de koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond gelijk is aan die van de koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond. Op basis van proceskennis is als alternatieve hypothese geformuleerd dat de mediane NPOC-waarde van de koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond lager is dan die van de koelwatersystemen waar deze wel is aangetoond.

De steekproefmediane NPOC-waarde van de 31 koelwatersystemen waar geen *Legionella pneumophila* is aangetoond bedraagt 7,1 mg/l, terwijl die van de koelwatersystemen waar wel *Legionella pneumophila* is aangetoond 13,0 mg/l bedraagt. De nulhypothese wordt verworpen door de Mann-Whitney-toets (eenzijdige  $p$ -waarde=0,010), zodat er een statistisch significante relatie is aangetoond tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* in de koelwatersystemen en het NPOC-gehalte.

Wat is de betekenis van het NPOC-gehalte bij aantreffen van Lp?

Om na te gaan of er voor de koelwatersystemen waar *Legionella pneumophila* is aangetoond een relatie bestaat tussen het NPOC-gehalte en de concentratie *Legionella pneumophila*, is de Spearman-rangcorrelatiecoëfficiënt van deze twee parameters bepaald, uitgaande van de gegevens van de 16 betreffende koelwatersystemen. Deze rangcorrelatiecoëfficiënt bedraagt 0,188, met eenzijdige  $p$ -waarde 0,242, zodat er geen statistisch significante relatie is aangetoond.

Is er een relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* (Lp via Q-PCR) in de koelwatersystemen en de drinkwaterkwaliteit (Hier is een onderscheid te maken in drinkwater uit de bron grondwater GW en oppervlaktewater OW) ?

Onderstaande kruistabel toont hoe de koelwatersystemen waar wél en waar géén *Legionella pneumophila* zijn aangetoond zijn verdeeld over de watersoorten, zijnde drinkwater uit grondwater en drinkwater uit oppervlaktewater.

Aantal		Watsoort		Totaal
		GW	OW	
Leg_ aangetoond	niet	10	21	31
	wel	3	13	16
Totaal		13	34	47

Om te toetsen of er een relatie is tussen de watersoort en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila* is de chikwadraat-toets toegepast. Deze is gebaseerd op een vergelijking van de waargenomen aantallen met wat verwacht kan worden als de twee variabelen geheel onafhankelijk zouden zijn. Deze verwachte aantallen zijn vermeld in onderstaande tabel.

Verwacht aantal ( $H_0$ )		Watsoort		Totaal
		GW	OW	
Leg_ aangetoond	0	8.6	22.4	31.0
	1	4.4	11.6	16.0
Totaal		13.0	34.0	47.0

De p-waarde van de chikwadraat-toets bedraagt 0,327, zodat er geen statistisch significante relatie is aangetoond tussen de watersoort en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila*.

Is er een relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* (Lp via Q-PCR) in de koelwatersystemen en het type koeltoren (informatie verkregen op basis van een vragenlijst; type C1 t/m C5 waarbij C2 en C5 niet voorkomen)

Onderstaande kruistabel toont hoe de koelwatersystemen waar wél en waar géén *Legionella pneumophila* zijn aangetoond zijn verdeeld over het type koeltoren.

Aantal		Koeltoren			Totaal
		C1	C3	C4	
Leg_aangetoond	niet	10	13	8	31
	wel	6	6	4	16
Totaal		16	19	12	47

Om te toetsen of er een relatie is tussen het type koeltoren en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila* is de chikwadraat-toets toegepast. De verwachte aantallen bij onafhankelijkheid van de twee variabelen zijn vermeld in onderstaande tabel.

Verwacht aantal ( $H_0$ )		Koeltoren			Totaal
		C1	C3	C4	
Leg_aangetoond	niet	10.6	12.5	7.9	31.0
	wel	5.4	6.5	4.1	16.0
Totaal		16.0	19.0	12.0	47.0

De p-waarde van de chikwadraat-toets bedraagt 0,933, zodat er geen statistisch significante relatie is aangetoond tussen het type koeltoren en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila*.

Is er een relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* (Lp via Q-PCR) in de koelwatersystemen en het bouwjaar van de koeltoren (informatie uit vragenlijst, verdeeld in 3 periodes)

Onderstaande kruistabel toont hoe de koelwatersystemen waar wél en waar géén *Legionella pneumophila* zijn aangetoond zijn verdeeld over het bouwjaar.

Aantal		Bouwjaar				Totaal
		A	B	C	O	
Leg_aangetoond	niet	10	4	10	7	31
	wel	3	8	2	3	16
Totaal		13	12	12	10	47

Om te toetsen of er een relatie is tussen het bouwjaar en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila* is de chikwadraat-toets toegepast. De verwachte aantallen bij onafhankelijkheid van de twee variabelen zijn vermeld in onderstaande tabel.

Verwacht aantal (H <sub>0</sub> )		Bouwjaar				Totaal
		A	B	C	O	
Leg_aangetoond	niet	8.6	7.9	7.9	6.6	31.0
	wel	4.4	4.1	4.1	3.4	16.0
Totaal		13.0	12.0	12.0	10.0	47.0

De p-waarde van de chikwadraat-toets bedraagt 0,045, zodat er een statistisch significante relatie is aangetoond tussen het bouwjaar en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila*. Vooral bij koelwatersystemen die zijn gebouwd tussen 1990 en 2000 (bouwjaarcode B) is in meer gevallen *Legionella pneumophila* aangetroffen dan verwacht.

Hierbij past echter wel de kanttekening dat de chikwadraat-toets hier minder goed functioneert, doordat er meerdere cellen zijn (50%) waar het verwachte aantal lager is dan 5, terwijl de toets minder presteert naarmate dit percentage verder boven de 20% komt.

Is er een relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* (Lp via Q-PCR) in de koelwatersystemen en het type desinfectie (informatie uit vragenlijst 2, vraag F)?

Onderstaande kruistabel toont hoe de koelwatersystemen waar wél en waar géén *Legionella pneumophila* zijn aangetoond zijn verdeeld over het type desinfectie.

Aantal		F				Total
		?	F2	F3	F4	
Leg_aangetoond	niet	5	2	15	9	31
	wel	1	2	11	2	16
Totaal		6	4	26	11	47

Om te toetsen of er een relatie is tussen het type desinfectie en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila* is de chikwadraat-toets toegepast. De verwachte aantallen bij onafhankelijkheid van de twee variabelen zijn vermeld in onderstaande tabel.

Verwacht aantal (H <sub>0</sub> )		F				Totaal
		?	F2	F3	F4	
Leg_aangetoond	niet	4.0	2.6	17.1	7.3	31.0
	wel	2.0	1.4	8.9	3.7	16.0
Totaal		6.0	4.0	26.0	11.0	47.0

De p-waarde van de chikwadraat-toets bedraagt 0,350, zodat er geen statistisch significante relatie is aangetoond tussen het type desinfectie en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila*. Hierbij past echter wel de kanttekening dat de chikwadraat-toets hier minder goed functioneert, doordat er meerdere cellen zijn (62,5%) waar het verwachte aantal lager is dan 5, terwijl de toets minder presteert naarmate dit percentage verder boven de 20% komt.

Is er een relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* (Lp via Q-PCR) in de koelwatersystemen en het desinfectieregiem (informatie uit vragenlijst 2, vraag G)?

Onderstaande kruistabel toont hoe de koelwatersystemen waar wél en waar géén *Legionella pneumophila* zijn aangetoond zijn verdeeld over het desinfectieregiem.

Aantal		G				Total
		?	G1	G2	G3	
Leg_aangetoond	niet	5	3	11	12	31.0
	wel	1	1	4	10	16.0
Totaal		6	4	15	22	47

Om te toetsen of er een relatie is tussen het desinfectieregiem en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila* is de chikwadraat-toets toegepast. De verwachte aantallen bij onafhankelijkheid van de twee variabelen zijn vermeld in onderstaande tabel.

Verwacht aantal (H <sub>0</sub> )		G				Total
		?	G1	G2	G3	
Leg_aangetoond	niet	4.0	2.6	9.9	14.5	31
	wel	2.0	1.4	5.1	7.5	16
Totaal		6.0	4.0	15.0	22.0	47.0

De p-waarde van de chikwadraat-toets bedraagt 0,459, zodat er geen statistisch significante relatie is aangetoond tussen het desinfectieregiem en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila*. Hierbij past echter wel de kanttekening dat de chikwadraat-toets hier minder goed functioneert, doordat er meerdere cellen zijn (50%) waar het verwachte aantal lager is dan 5, terwijl de toets minder presteert naarmate dit percentage verder boven de 20% komt.



Is er een relatie tussen het aantreffen van *Legionella pneumophila* (Lp via Q-PCR) in de koelwatersystemen en de combinatie van het type desinfectie en het desinfectieregiem (informatie uit vragenlijst 2, combinatie vragen F en G)

Onderstaande kruistabel toont hoe de koelwatersystemen waar wél en waar géén *Legionella pneumophila* zijn aangetoond zijn verdeeld over de combinatie van antwoorden op de vragen F en G.

Aantal		FG							Totaal	
		?	F2G1	F2G3	F3G1	F3G2	F3G3	F4G2		F4G3
Leg_aangetoond	niet	5	1	1	2	4	9	7	2	31
	wel	1	1	1	0	3	8	1	1	16
Totaal		6	2	2	2	7	17	8	3	47

De verwachte aantallen bij onafhankelijkheid van de twee variabelen zijn vermeld in onderstaande tabel.

Verwacht aantal ( $H_0$ )		FG							Totaal	
		?	F2G1	F2G3	F3G1	F3G2	F3G3	F4G2		F4G3
Leg_aangetoond	niet	4.0	1.3	1.3	1.3	4.6	11.2	5.3	2.0	31.0
	wel	2.0	0.7	0.7	0.7	2.4	5.8	2.7	1.0	16.0
Totaal		6.0	2.0	2.0	2.0	7.0	17.0	8.0	3.0	47.0

Er zijn dermate veel cellen waar het verwachte aantal lager is dan 5 (81,3%), dat het niet mogelijk is om met de chikwadraat-toets te toetsen op een relatie tussen de combinatie van type desinfectie en desinfectieregiem en het al of niet aantreffen van *Legionella pneumophila*.

