

## Risico van blootstelling aan Legionella op rwzi's



2002 16

## Risico van blootstelling aan Legionella op rwzi's

STOWA

Arthur van Schendelstraat 816  
Postbus 8090, 3503 RB Utrecht  
Telefoon 030 232 11 99  
Fax 030 232 17 66  
E-mail [stowa@stowa.nl](mailto:stowa@stowa.nl)  
<http://www.stowa.nl>

Kiwa Water Research  
Groningehaven 7  
Postbus 1072  
3430 BB Nieuwegein  
E-mail: [alg@kiwa.nl](mailto:alg@kiwa.nl)  
[www.kiwa.nl](http://www.kiwa.nl)

Publicaties en het publicatie-  
overzicht van de STOWA kunt u  
uitsluitend bestellen bij:  
*Hageman Fulfilment*  
Postbus 1110  
3330 CC Zwijndrecht  
tel. 078 - 629 33 32  
fax 078 - 610 42 87  
e-mail: [hff@wxs.nl](mailto:hff@wxs.nl)  
o.v.v. ISBN- of bestelnummer  
en een duidelijk afleveradres.  
ISBN 90.5773.172.x

**2002****16**

# Colofon

## Titel

Risico van blootstelling aan *Legionella* op rwzi's  
...en aan andere biologische agentia

## Kiwa - projectnummer

30.4152.013

## Kiwa-Auteurs

Dr. G.J. Medema, ir. D. Koot, A. Brouwer

## Kiwa - projectmanager

Ir. W.J.M.K. Senden

## Kiwa - kwaliteitsborger

Prof. dr. ir. D. van der Kooij

## Ten geleide

Naar aanleiding van de betreurenswaardige *Legionella*-epidemie in Bovenkarspel (februari 1999), is in Nederland veel aandacht geschonken aan waterinstallaties waar *Legionella* voor kan komen en mogelijk infecties kan veroorzaken. Door de Arbeidsinspectie zijn rioolwaterzuiveringsinstallaties (rwzi's) in beginsel als risicovol bestempeld. In overleg met het Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid, het Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieu, de Unie van Waterschappen, RIZA, RIVM en STOWA, is daarom besloten een brancheonderzoek uit te voeren om de risico's voor blootstelling aan *Legionella* op rwzi's te inventariseren.

Op een geselecteerd aantal rwzi's is vastgesteld of en in welke mate *Legionella* voorkomt in communaal afvalwater en de omgevingslucht van de zuivering. Met behulp van deze gegevens en gegevens uit een enquête, over frequentie en duur van verblijf van medewerkers op verschillende locaties van een rwzi, is een inschatting gemaakt van de mate van blootstelling aan *Legionella*. Deze is vergeleken met de mate van blootstelling op andere locaties (bijvoorbeeld nabij koeltorens), zoals beschreven in de literatuur. Dit om een indruk te geven van het gezondheidsrisico voor het personeel van rwzi's. In het onderzoek is vastgesteld dat *Legionella* onderdeel kan uitmaken van de micro-organismen in aërosolen op een rwzi. Uitgaande van een 'worst-case' benadering met de meest geschikte meetmethode, is het gehalte *Legionella* laag in vergelijking met de concentraties op bekende risicolocaties. Als daarbij in acht wordt genomen dat het gehalte infectieuze *Legionella* met de gebruikte meetmethode waarschijnlijk wordt overschat, betekent dit dat een risico op legionellose voor rwzi-medewerkers weliswaar niet kan worden uitgesloten, maar niet aannemelijk is.

De bevindingen van dit onderzoek moeten worden gewogen binnen het kader van het ARBO-Besluit en de bestaande regelingen en het totale beleid ten aanzien van biologische agentia. Door de aard van het onderzoek is naast *Legionella* ook een aantal andere biologische agentia oriënterend onderzocht. De verantwoordelijkheid voor het totale beleid ligt bij de waterschappen, die samen met de Arbeidsinspectie en ARBO-diensten een zowel in termen van gezondheidsbescherming als realiseerbaarheid verantwoord beleid en eventuele beheersmaatregelen kunnen opstellen. Er is vanuit de resultaten van dit onderzoek een aantal overwegingen die daar mede richting aan kan geven. De resultaten van deze studie kunnen worden gebruikt om per rwzi de locaties en werkzaamheden waar veel blootstelling aan

aërosolen plaatsvindt te inventariseren, te registreren en aan te duiden. Per locatie kunnen dan waar nodig passende beheersmaatregelen worden opgesteld.

Het onderzoek werd in opdracht van de STOWA uitgevoerd door Kiwa N.V. Onderzoek en Advies (G.J. Medema, D. van der Kooij, D. Koot, W.J.M.K. Senden en B. Wullings). Het onderzoek naar *Legionella* bij rwzi's is begeleid door een commissie bestaande uit F. Koppenaar (Waterschap Veluwe), M.J.J. van Stee (Waterschap Zeeuwse Eilanden), P.C. van de Vijver en later ook A.E. van den Akker (Hoogheemraadschap van Rijnland), T. Engelberts (Dienst Water & Riolering), A.C. Besems (Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid), H.C.M. Krinkels en later R.P.M. Berbee (RIZA) en P.J. Roeleveld (STOWA).

De STOWA is de medewerkers van de rwzi's zeer erkentelijk voor hun ondersteuning bij het nemen van de monsters op de verschillende plaatsen op de rwzi. Het invullen van de enquête door de medewerkers van de rwzi's heeft het mogelijk gemaakt een goede inschatting te maken van de blootstelling op de verschillende plaatsen op rwzi's.

Utrecht, april 2002

De directeur van de STOWA  
ir. J.M.J. Leenen

# Inhoud

	<b>Voorwoord</b>	<b>3</b>
	<b>Inhoud</b>	<b>5</b>
	<b>Samenvatting</b>	<b>9</b>
	<b>Summary</b>	<b>17</b>
<b>1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>23</b>
1.1	Achtergrond	23
1.2	Doelstelling	23
1.3	Werkwijze	24
1.4	Leeswijzer	25
<b>2</b>	<b>Inventarisatie literatuur</b>	<b>27</b>
2.1	<i>Legionella</i> bij rwzi's	27
2.2	Aërosolvorming bij rwzi's	29
2.3	Overleving <i>Legionella</i> in aërosolen	30
2.4	<i>Legionella</i> -infectie bij rwzi-medewerkers.	32
2.5	Ziekteverwekkers van fecale herkomst bij rwzi's	32
<b>3</b>	<b>Onderzoeksopzet</b>	<b>37</b>
3.1	Fase 1	37
3.1.1	Inventarisatie van blootstellingsmogelijkheden.	37
3.1.2	Vorming en verspreiding van aërosolen bij afvalwaterbehandeling.	38
3.1.3	Optimalisatie detectiemethoden <i>Legionella</i> in afvalwater en afvalwateraërosolen	39
3.2	Fase 2	39
3.2.1	Onderzoek voorkomen <i>Legionella</i> in communaal ongezuiverd afvalwater en in de omgevingslucht.	39
3.2.2	Enquête	40
3.2.3	Blootstellingsanalyse <i>Legionella</i>	41
<b>4</b>	<b>Selectie van onderzoekslocaties</b>	<b>43</b>
4.1	Inventarisatie locaties met aërosolvorming op rwzi's	43
4.2	Selectie van meetlocaties	45
<b>5</b>	<b>Aërosolvorming op rwzi's</b>	<b>47</b>
5.1	Meetprogramma aërosolvorming	47
5.2	Analysemethoden	47
5.3	Meetomstandigheden	48
5.4	Micro-organismen in aërosolen	49
5.5	Invloed beluchtingssysteem	51

5.6	Reiniging van installaties	51
5.7	Efficiëntie van aërosolvorming	52
5.8	Contact personeel met aërosolen	53
5.9	Evaluatie	53
<b>6</b>	<b>Voorkomen van <i>Legionella</i> bij rwzi's</b>	<b>55</b>
6.1	Selectie onderzoekslocaties	55
6.2	<i>Legionella</i> in aërosolen	55
6.3	Koloniegetallen, ATP en directe celtelling in aërosolen	58
6.4	<i>Legionella</i> in afvalwater	58
6.5	<i>Legionella</i> in hydroforen	58
6.6	Koloniegetallen, ATP en directe celtelling in water	60
6.7	Consistentie van resultaten	60
<b>7</b>	<b>Evaluatie blootstelling <i>Legionella</i></b>	<b>63</b>
7.1	Berekening blootstelling rwzi medewerkers aan <i>Legionella</i> via aërosolen	63
7.2	Betekenis van deze blootstelling	64
7.3	Evaluatie	66
7.4	Conclusies	67
<b>8</b>	<b>Analyse blootstelling andere biologische agentia</b>	<b>70</b>
8.1	Risicoanalyse fecale ziekteverwekkers	70
8.2	Selectie pathogenen	70
8.3	Berekeningswijze	71
8.4	Conclusies	74
<b>9</b>	<b>Algemene beschouwing en aanbevelingen</b>	<b>76</b>
9.1	Beschouwing	76
9.2	Aanbevelingen	77
9.2.1	Brongerichte maatregelen	78
9.2.2	Organisatorische maatregelen	78
9.2.3	Collectieve (technische) maatregelen	78
9.2.4	Persoonlijke bescherming	79
<b>10</b>	<b>Literatuur</b>	<b>80</b>
<b>11</b>	<b>Begrippenlijst</b>	<b>84</b>
<b>Bijlage I</b>	<b>Onderzoekslocaties met fotoverslag</b>	
<b>Bijlage II</b>	<b>Meetresultaten</b>	
<b>Bijlage III</b>	<b>Enquête</b>	
<b>Bijlage IV</b>	<b>Ontwikkeling methoden voor onderzoek <i>Legionella</i> in afvalwater en aërosolen</b>	
<b>Bijlage V</b>	<b>Onderzoeksmethoden</b>	







# Samenvatting

## Legionella

### Aanleiding

Sinds de *Legionella*-epidemie in Bovenkarspel (februari 1999) is in Nederland veel aandacht geschonken aan de waterinstallaties waar *Legionella* voor kan komen en mogelijk infecties kan veroorzaken. In een inventarisatie van de bestaande kennis in de buitenlandse literatuur heeft het RIZA [Berbee, 1999] aangegeven dat *Legionella* voorkomt in rioolwater en in de lucht boven beluchtingsbassins. In genoemd RIZA-rapport wordt aanbevolen "om na te gaan of de bacterie in rwzi's en awzi's aanwezig is en of deze in de lucht bij beluchtingsbassins voorkomt."

### Doelstelling

Hoofddoel van deze studie was te onderzoeken of *Legionella* ook in Nederlands rioolwater voorkomt en, indien aanwezig, vaststellen van het niveau van blootstelling van medewerkers van zuiveringsinstallaties van communaal afvalwater aan *Legionella*. Daarbij werd in kaart gebracht waar en in welke mate bij de zuivering van communaal afvalwater micro-organismen via aërosolvorming in de omgevingslucht worden gebracht.

Dit onderzoek geeft kwantitatieve informatie over de blootstelling van rwzi-medewerkers aan *Legionella* via de omgevingslucht. In die zin kan dit onderzoek gezien worden als invulling van de inventarisatie van aard, mate en duur van blootstelling van rwzi-medewerkers aan *Legionella*, zoals die in het ARBO-Besluit wordt gevraagd. In de literatuur is wel kwalitatieve informatie voorhanden (*Legionella* komt voor in afvalwater), maar de kwantitatieve informatie over zowel micro-organismen in de lucht en aanwezigheid van medewerkers ter plekke is uniek.

### Werkwijze: kwantitatieve analyse blootstelling rwzi-medewerkers

Op een geselecteerd aantal locaties is vastgesteld of en in welke mate *Legionella* voorkomt in (gedeeltelijk behandeld) communaal afvalwater en de omgevingslucht van de zuivering. Met behulp van deze gegevens en gegevens uit een enquête, over frequentie en duur van verblijf van medewerkers van een zuiveringsinstallatie op de verschillende locaties, is een inschatting gemaakt van de mate van blootstelling aan *Legionella*. Deze is vergeleken met de mate van blootstelling op andere locaties, zoals die in de literatuur is beschreven, om een indruk te geven van het gezondheidsrisico voor het personeel van rwzi's.

### Literatuur geeft nog weinig houvast

*Legionella* komt voor in rioolwater en in de lucht boven beluchtingsbassins. De informatie uit de literatuur is beperkt en vrij kwalitatief en een inschatting van het risico is op basis van deze gegevens onvoldoende betrouwbaar. *Legionella* overleeft lang in aerosolen (een half uur of langer, afhankelijk van de relatieve luchtvochtigheid), in ieder geval veel langer dan nodig is om de tijd tussen bron en rwzi-medewerker te overbruggen. Bij medewerkers van een awzi is Pontiac-fever door *Legionella* beschreven na onderhoudswerkzaamheden aan een slibindikker. Dat geeft aan dat infectie via deze route mogelijk is.

### Mate van aerosolvorming

Via metingen op een aantal geselecteerde rwzi's zijn op meerdere locaties verhoogde concentraties micro-organismen in de lucht aangetoond. De locaties met verhoogde concentraties zijn geclassificeerd in onderstaand schema.

Concentratie micro-organismen in de lucht	Locatie
Zeer sterk verhoogd	het roostergoedgebouw
	de ruimte boven afgedekte oxidatiebedden
Sterk verhoogd	in sommige zeebandpersruimtes, met name bij reinigingswerkzaamheden
	bij oppervlaktebeluchting
	nabij de vijzel
	bij het sproeien van compostfilters
Verhoogd	bij bellenbeluchters
	de ruimte voor aanmaak PE
	in de filtraatkelder
	in sommige zeebandpersruimtes en ontwateringsruimtes
	bij compostfilters

Deze locaties zijn nader onderzocht op aerosolisatie van *Legionella*.

### Aanwezigheid medewerkers op risicolocaties

Vanuit de resultaten van de enquête is nu bekend hoe vaak en hoe lang rwzi-medewerkers op de verschillende locaties aanwezig zijn. Er zijn grote verschillen tussen verschillende medewerkers, wat betekent dat er grote verschillen zijn in de mate van blootstelling aan aerosolen. Deze zijn meegenomen in de verdere analyse.

### Methoden voor *Legionella* hebben beperkingen

Er zijn methoden ontwikkeld voor het kunnen aantonen van *Legionella* in afvalwater en in lucht. Uit de toepassing bleek dat er niet één meest geschikte methode is voor de detectie van *Legionella* in afvalwater of aërosolen. De PCR-methode heeft voor deze studie de meest bruikbare resultaten opgeleverd. De DFA-methode overschat waarschijnlijk de concentratie *Legionella*. Met de kweekmethode is geen *Legionella* aangetroffen, maar die werd op veel locaties ook sterk gehinderd door overgroei. Voor onderzoek in afvalwater en/of lucht op andere locaties wordt aanbevolen de PCR- en (toch ook) de kweekmethode toe te passen.

### *Legionella* komt voor in afvalwater en aërosolen

*Legionella* is aanwezig in afvalwater en in de omgevingslucht op de meeste locaties van een rwzi. Vanwege de detectie met PCR is het niet zeker dat het levensvatbare, infectieuze *Legionella* betreft, maar het is plausibel om aan te nemen dat minstens een deel daarvan levensvatbaar en infectieus is. De gehalten gemeten met de PCR-methode kunnen worden gezien als *worst-case* schatting. Het gehalte *Legionella* verschilt per rwzi, op twee rwzi's werd *Legionella* niet aangetroffen in de lucht en op drie rwzi's wel. De gehalten varieerden van 0,56 – 56 per m<sup>3</sup>.

De mate van aërosolisatie gemeten met de PCR methode is consistent met die gemeten aan het koloniegetal 22°C, een indirecte indicatie van de juistheid van de PCR-gegevens over aërosolisatie van *Legionella*.

### Blootstelling rwzi-medewerkers aan *Legionella* is laag

De gehalten *Legionella* in de lucht zijn laag in vergelijking met aantallen (gekweekt) in de lucht uit airconditioners en rondom koeltorens waarvan bekend is dat daar *Legionella*-infecties zijn opgetreden (zie onderstaand overzicht). Met de kweekmethode konden geen *Legionella* worden aangetoond in de lucht op rwzi's; wel met de PCR-methode, die wordt beschouwd als *worst-case* schatting van de *Legionella* concentratie in de omgevingslucht.

Omgeving	Ziektegevallen	<i>Legionella</i> -gehalte in aërosolen (n/m <sup>3</sup> )	Detectie methode
Rwzi	nee	nd*	kweek
Rwzi	nee	0,56 - 56	PCR
Kranen	nee	8,1	kweek
Douches	nee	0,33 – 4,7	kweek
Douches	ja	190	kweek
Ruimte met airco	ja	20	kweek
Luchtbevochtiger	ja	2300	kweek
Lucht rond koeltoren	?	20 – 2580	kweek

\* nd: niet te detecteren in 10 m<sup>3</sup> door groei van andere micro-organismen

### ***Legionella*-risico niet aannemelijk**

Dit onderzoek heeft duidelijk gemaakt dat op veel plaatsen op een rwzi aanzienlijke aërosolisatie optreedt. Uitgaande van de PCR (en deels ook van de afwezigheid op de kweekmethode) Vanwege de geringe concentraties *Legionella* in afvalwater, actief slib en slib is de blootstelling aan *Legionella* op een rwzi laag. Dat betekent dat een risico op legionellose voor rwzi-medewerkers niet kan worden uitgesloten, maar niet aannemelijk is.

Daarbij moet nog wel in acht worden genomen dat de hier onderzochte locaties wel representatief waren voor de sector, maar niet zonder meer naar alle individuele locaties kan worden vertaald. Met name op locaties waar de gehalten *Legionella* hoger zouden kunnen zijn dan gevonden in deze studie (met name locaties met hogere watertemperatuur, bijvoorbeeld als gevolg van koelwaterlozingen of in hydroforen die in de zomerperiode kunnen opwarmen) zijn aanvullende metingen noodzakelijk om ook hier een risico als onaannemelijk te kunnen kenschetsen

## **Andere biologische agentia**

Bij deze studie werd veel kennis verzameld over aërosolisatie van micro-organismen op rwzi's. Omdat algemeen bekend is dat rioolwater besmet is met een grote verscheidenheid aan ziekteverwekkers van het maagdarmkanaal, lag het voor de hand om bij deze inventarisatie het risico op blootstelling aan deze andere biologische agentia mee te nemen.

Over het voorkomen van deze ziekteverwekkers in Nederlands rioolwater was uit andere studies al voldoende informatie om, gecombineerd met de gegevens over aërosolisatie uit deze studie een eerste inschatting van het blootstellingsrisico te maken.

Hoewel hier niet onderzocht, geeft de informatie uit dit onderzoek over de ruimtes met veel aërosolen wel een indicatie voor de locaties waar blootstelling aan endotoxines relatief hoog is. Reductie van de blootstelling aan aërosolen levert dus een integrale reductie van de blootstelling aan alle biologische agentia.

### **Darmpathogenen komen algemeen voor in afvalwater en aërosolen**

Darmpathogenen komen zeer algemeen voor in afvalwater. Uitgaande van de metingen aan bacteriën van de coligroep, F-specifieke RNA-fagen en sporen van sulfietreducerende clostridia kan worden gesteld dat fecale ziekteverwekkers in de lucht op rwzi's worden gebracht. Door kwantitatieve gegevens over pathogenen in rioolwater uit de literatuur en van

de aerosolisatie van de modelorganismen (deze studie) met elkaar te combineren is de concentratie darmpathogene *Campylobacter*, enterovirussen en *Cryptosporidium* in de lucht berekend. De berekende gehalten zijn hoog in de zeebandpersruimte, met name tijdens schoonmaken, in de ruimte boven een afgedekt oxidatiebed en in het roostergebouw en tijdens het sproeien van de compostfilters.

### **Blootstelling rwzi-medewerkers aan darmpathogenen is aanzienlijk**

Met de gegevens over de duur en frequentie van het verblijf van medewerkers op de diverse locaties is berekend wat de blootstelling van de medewerkers is. De blootstelling aan deze ziekteverwekkers is, zeker voor een deel van de medewerkers en op een aantal locaties, aanzienlijk. De blootstelling treedt vooral op bij het schoonspuiten van installaties en het sproeien van de compostfilters, maar ook in het roostergebouw, boven een afgedekt oxidatiebed, de ruimte voor aanmaak van PE en de zeebandpersruimte.

### **Verhoogd risico op infectie met darmpathogenen wel aannemelijk**

Uit deze studie blijkt dat het aannemelijk is dat rwzi-medewerkers via aerosolen worden blootgesteld aan ziekteverwekkers van fecale herkomst, zoals *Campylobacter*, enterovirussen en *Cryptosporidium* (en waarschijnlijk nog een aantal anderen). Met de gegevens van blootstelling en dosis-responsrelaties is het risico op infectie van rwzi-medewerkers berekend. Het totale infectierisico (alle locaties tezamen) voor rwzi-medewerkers is hoger dan het risico voor de algemene bevolking. Blootstelling aan deze klasse ziekteverwekkers vindt op een rwzi natuurlijk ook plaats door direct contact met slib en afvalwater. Deze laatste worden door algemene hygiëne beperkt. De blootstelling via aerosolen levert dus, met name via een beperkt aantal locaties en aan een deel van de medewerkers, een verhoogd risico op gezondheidsklachten op.

## **Inpassen in KAM-beleid Biologische Agentia op rwzi's**

De bevindingen van dit onderzoek moeten worden gewogen binnen het kader van het ARBO-Besluit en de bestaande regelingen (b.v. voor werken in afgesloten ruimtes) en het totale beleid ten aanzien van Biologische agentia. De verantwoordelijkheid hiervoor ligt bij de waterschappen, die samen met de Arbeidsinspectie en ARBO-diensten een zowel in termen van gezondheidsbescherming als realiseerbaarheid verantwoord beleid en eventuele beheersmaatregelen kunnen opstellen.

Er zijn vanuit de resultaten van dit onderzoek een aantal overwegingen die daar mede richting aan kunnen geven. Deze zijn ingedeeld naar de hiërarchie van het ARBO-Besluit.

De resultaten van deze studie kunnen worden gebruikt om per rwzi de locaties en werkzaamheden waar veel blootstelling aan aërosolen plaatsvindt te inventariseren, te registreren en aan te duiden. Per locatie kunnen dan passende beheersmaatregelen worden opgesteld.

### **Brongerichte maatregelen**

Bij de (ver)nieuwbouw van installaties moet het onderdeel blootstelling aan biologische agentia in zijn algemeenheid en blootstelling aan aërosolen kritisch worden meebeschouwd. Daarbij valt te denken aan de keuze/inrichting van de beluchtingssystemen en compartimentering van ruimtes teneinde plaatsen met veel aërosolen te scheiden van ruimtes waar medewerkers langdurig in aanwezig zijn.

Andere schoonmaakprocedures waarbij minder aërosolen worden gevormd zijn eveneens te overwegen.

Ten aanzien van *Legionella* is het van belang de mogelijkheden voor vermeerdering zo goed mogelijk te beperken. De belangrijkste factor daarbij is temperatuur. Risicofactoren zijn lozing van koelwater op de rwzi's en locaties waar de watertemperatuur kan oplopen tot 25° of hoger (zoals in sommige hydroforen, hoewel in dit onderzoek geen kweekbare *Legionella* in water in hydroforen is gevonden in de zomer).

### **Organisatorische maatregelen**

Voor organisatorische maatregelen is de basis om de frequentie en duur van de aanwezigheid van medewerkers op plaatsen waar aërosolvorming plaatsvindt tot een noodzakelijk minimum te beperken. Werkzaamheden die worden uitgevoerd op de locaties waar de blootstelling aan aërosolen hoog is moeten worden beoordeeld op noodzaak. Aanbevolen wordt een dergelijke inventarisatie te maken en daar tevens bedrijfsregelingen van af te leiden voor de werkzaamheden in ruimtes met hoge blootstelling, zoals het voorschrijven dat schoonspuiten in de buitenlucht moet gebeuren of een maximum aantal uren per dag dat een medewerker in een bepaalde ruimte aanwezig mag zijn.

Ook informeren van de rwzi-medewerkers en de handhaving van de bedrijfsregelingen moet hier onderdeel van uitmaken.

### **Collectieve (technische) maatregelen**

Per rwzi kan voor deze locaties worden overwogen of technische maatregelen kunnen worden genomen om de vorming en/of verspreiding van aërosolen tegen te gaan of door ventilatie de concentraties te verlagen. Voor ruimtes zoals boven het oxidatiebed, de zeefbandpersruimte en de ruimte voor aanmaak PE is een dergelijke ventilatie of luchtafzuiging aan te bevelen. Dat kan zowel een continu systeem zijn als een ventilatie voordat een medewerker de ruimte betreedt. Andere technische maatregelen zijn het plaatsen van omkastingen en compartimentering met doorzichtramen, maar ook besturing op afstand, opstellen van camera's en het voorkomen van storingen.

### **Persoonlijke bescherming**

Voor de locaties waarop uit dit onderzoek een hoge blootstelling is gebleken die niet door technische of organisatorische maatregelen is in te perken wordt adembescherming tegen aërosolen met een masker of halfmasker van klasse FFP3 - SL aanbevolen. Vanwege de intensieve en langdurige blootstelling wordt aanbevolen adembescherming voor te schrijven bij het schoonspuiten van installatieonderdelen die in aanraking zijn gekomen met afvalwater of slib.





# Summary

## Legionella

Since the time of the *Legionella* outbreak in the Netherlands in the Dutch town of Bovenkarspel (February 1999) much attention has been devoted to the type of water installations where *Legionella* can develop and possibly lead to infection. In its inventory of existing knowledge in the field in international publications the RIZA [Berbee, 1999] indicated that *Legionella* manifests itself in wastewater and in the air above aeration tanks. In the above-mentioned RIZA report it was recommended that "it should be established whether the bacterium is present in wastewater treatment plants (WWTP) and whether it occurs in the air above aeration tanks".

### Objective

The main objective of this study was to determine if *Legionella* is present in Dutch wastewater and, if so, to establish to what degree employees of municipal wastewater treatment systems might be exposed to *Legionella*. To do this, a survey was carried out to discover where and to what extent micro-organisms are introduced into the atmosphere through aerosol formation during the treatment of municipal wastewater.

### Quantitative analysis of the exposure of WWTP workers

What was determined at a selected number of locations was whether, and to what possible extent, *Legionella* is present in (partly treated) municipal wastewater and in the atmosphere of WWTPs. With the help of this information and data drawn from a questionnaire on the frequency and the duration of the stay of WWTP staff at various locations estimates were made of people's exposure to *Legionella*. This was then compared to exposure levels at other locations as described in various publications so that an impression could be gained of the health risks run by WWTP personnel.

### Little support in the relevant literature

*Legionella* can be found in wastewater and in the air above aeration tanks. The information given in the various sources is limited and fairly qualitative which means that it is not reliable enough to estimate risks on the basis of such data. *Legionella* can survive for a long time in aerosols (for half an hour or longer depending on the relative air humidity), which is any case certainly long enough to bridge the time gap between source and WWTP worker. Among employees at an industrial WWTP a description was given of Pontiac fever caused by

*Legionella* after maintenance work had been carried out on a sludge thickener thus indicating that the infection can be conveyed in this way.

**Methods for proving *Legionella* still have their limitations**

During the course of this research, methods were developed for proving the presence of *Legionella* in wastewater and air. What the application demonstrated was that there is no one most suitable method for detecting *Legionella* in wastewater or aerosols. In the context of this study it was the PCR method that produced the most useful results. The DFA method most probably overestimates the *Legionella* concentration. No *Legionella* was discovered using the culture method but at many locations that was very interfered by overgrowth. It is recommended that in order to inspect wastewater and/or air at other locations, the PCR method and (also even) the culture method should be applied.

**Level of aerosol formation**

By means of tests carried out in a number of selected wastewater treatment plants, it was discovered that there were raised concentrations of micro-organisms in the atmosphere at a number of locations. Those locations with raised concentration levels are classified in the table below. These locations were further inspected in conjunction with *Legionella* aerosolisation.

Concentrations of micro-organisms in the air	Location
Very highly raised	the screening building
	the space above covered oxidation beds
Highly raised	in certain buildings for belt filter presses, notably in connection with cleaning activities
	with surface aeration
	near to the screw conveyor
	when spraying compost filters
Raised	with bubble aeration
	in rooms for making up PE
	in the filtrate cellar
	in certain buildings for belt filter presses and sludge dewatering buildings
	at compost filters

### ***Legionella* can be found in wastewater and in aerosols**

*Legionella* is to be found in the wastewater and in the atmosphere of most wastewater treatment plants. In conjunction with the PCR detection method it is not possible to establish whether this is active, infectious *Legionella* but it is plausible to presume that a portion of it at least will be potentially active and infectious. The levels gauged using the PCR method may be seen as 'worst case' scenarios. The *Legionella* content varies from wastewater plant to wastewater plant; in two installations there was no *Legionella* found in the atmosphere and at three others there was. The *Legionella pneumophila* levels varied from 0.56 to 56 per m<sup>3</sup>. The level of aerosolisation measured using the PCR method is consistent with that measured in the colony number of 22°C which is an indirect indication of the accuracy of the PCR specifications concerning the aerosolisation of *Legionella*.

### **Presence of employees at risk locations**

From the questionnaire results it became known how often and how long staff were present at the various locations. There proved to be great differences in these statistics that would also mean that there are great discrepancies in the levels of exposure to aerosols. These findings were included in the further analyses.

### **The exposure of WWTP workers to *Legionella* is low**

The levels of *Legionella* in the air were found to be low compared to the volumes (propagated) in the air emitted from air-conditioning installations and around cooling towers where *Legionella* infection has been known to develop. No *Legionella* could be detected in the atmosphere of wastewater treatment plants using the culture method but it was to be detected with the PCR method which was thus taken to represent 'worst case' *Legionella* concentration estimations in the atmosphere.

### ***Legionella* risk not likely**

What this study has made clear is that exposure to micro-organisms derived from aerosols at a number of wastewater treatment plant locations, is higher than it is among the general population. *Legionella* may be found among the micro-organisms present in a wastewater treatment plant. Going on the basis of the 'worst case' scenario using the PCR method the level of *Legionella* may be said to be low when compared to the concentrations found at known risk locations. Bearing in mind that the PCR probably over-estimates the level of infectious *Legionella* this means that the risk of WWTP workers developing Legionnaire's disease cannot be ruled out but it is not likely either.

At the same time it should be remembered that while the locations researched here were representative for the sector, the data cannot be automatically applied to all separate locations. It was especially in the locations where *Legionella* levels could turn out to be higher than those found in this study (notably at locations where water temperatures are higher, e.g. due to cooling water discharging or in hydrants that can heat up in summer) that supplementary measuring needs to be done to verify that in those places also risks may be characterised as unlikely.

## **Other biological agents**

In this study much knowledge was accumulated on the subject of the aerosolisation of micro-organisms in wastewater treatment plants. Since it is generally known that wastewater is infected with a great diversity of pathogens, this study also listed the incidents of risk of exposure to a number of other biological agents. When it came to the matter of the presence of such pathogens in Dutch wastewater enough information could be distilled from other studies to, in combination with the details on aerosolisation provided in this study, draw initial conclusions on exposure risks.

### **Intestinal pathogens are generally present in wastewater and aerosols**

Intestinal pathogens are very common in wastewater. On the basis of bacteria tests done with coliforms, F-specific RNA phages and spores of sulphite-reducing clostridia, it may be asserted that faecal pathogens are released into the air of wastewater treatment plants. By combining the quantitative data on the wastewater pathogens mentioned in the relevant literature with the data on micro-organism aerosolisation, the concentrations of the intestinal pathogen *Campylobacter*, enteroviruses and *Cryptosporidium* in the atmosphere could be calculated.

### **The exposure of WWTP workers to intestinal pathogens is considerable**

Going on the data gathered on the duration and frequency of employees' stay at the various locations, it was possible to calculate their exposure levels. The exposure to these pathogens was considerable, certainly for a number of employees and in a number of locations. Exposure is heightened when they spray-clean installations and when the compost filters are sprayed but also in the screening building, above covered oxidation beds, in the areas for making up PE and in the buildings for sludge dewatering, especially for belt filter presses.

### **Heightened risk of intestinal pathogen is considerable**

What has emerged from this study is that it is probable that wastewater treatment plant employees are exposed to faecal originating pathogens such as *Campylobacter*, enteroviruses and *Cryptosporidium* (and probably to a number of others). On the basis of the details pertaining to exposure and dose response relations it was possible to calculate the chance of infection for wastewater treatment plant workers. The total infection risk level (of all locations combined) is higher than the risk level for the general population. Exposure to this class of pathogens is also of course possible when direct contact is made with wastewater installation plant sludge and wastewater. Such exposure can be limited by observing general rules of hygiene. Exposure to aerosols therefore leads to heightened health risks, particularly in a limited number of locations and among a certain group of employees.

## **Fitting biological agents into policy for health and safety**

The findings of this study have to be weighed up within the framework of the Dutch Health and Safety at Work Act, existing rules (e.g. relating to working in closed areas) and the entire policy relating to biological agents. The responsibility for this lies with the water boards which, together with the Labour Inspection Service and the Health and Safety at Work departments can draw up a sound policy both from the point of view of health protection and feasibility, and possibly also control regulations. There are a number of considerations emerging from the results of this study that could help to steer such policy decisions; the considerations have been grouped according to the Health and Safety at Work Act categories. The results of this study can be used to inventory, register and indicate, per wastewater treatment plant, the locations and the activities where exposure to aerosols is high so that subsequently suitable control measures can be drawn up per location.

### **Source-directed measures**

When constructing or rebuilding installations the issue of exposure to biological agents in general and exposure to aerosols must be critically considered. In that connection one may think of the selection/creation of ventilation systems and the compartmentalisation of rooms so that areas with high aerosol levels can be separated from rooms where employees are present for long periods of time. What also might be considered is the idea of adopting alternative cleaning procedures so that less aerosols are formed.

With regard to *Legionella* it is important to as far as possible limit the multiplication possibilities. The most important factor there is temperature. The risk areas are, the

discharging of cooling water in wastewater treatment plants where water temperatures can rise to 25°C or higher (as in certain hydrants though in this study no cultivable *Legionella* was discovered in water in hydrants in the summertime).

### **Organisational measures**

When it comes to the matter of organisational measures, it is important to keep to the absolute minimum the frequency and duration of the periods when employees must be in places where aerosol formation occurs. Activities carried out in locations where exposure to aerosols is high must be evaluated according to necessity. The recommendation is that such assessments are made so that industrial rulings can then be laid down for working in such high exposure areas like, for instance, stipulating hosing down in the open air or that employees may only spend a maximum number of hours a day in certain work areas. Keeping WWTP workers well-informed and upholding industrial regulations must also be a part of these measures.

### **Collective (technical) measures**

Per wastewater treatment plant it may be decided whether or not technical measures may be taken to prevent the forming and/or spreading of aerosols within those locations or whether the concentrations may be lowered by ventilating. For spaces such as the area above the oxidation bed, the buildings with belt filter presses and the area where PE is created, such ventilation or air extraction is to be recommended. That could be either in the form of a perpetual system or in the form of ventilation before an employee enters the location. Other technical measures worth considering are: the creation of housing systems and compartments with viewing windows, remote control systems, the positioning of cameras and avoiding breakdowns.

### **Personal protection**

Regarding all the high exposure level locations emerging from this study that cannot be tackled by adopting technical or organisational measures, breathing protection against aerosols is recommended in the form of class FFP3-SL mask or half-mask protection. In conjunction with the intensity and the long duration of exposure when it comes to spray cleaning all the installation components that have been in contact with wastewater or sludge, it is recommended that, there too, breathing protection should be used.

# 1 Inleiding

## 1.1 Achtergrond

Sinds de *Legionella*-epidemie in Bovenkarspel (februari 1999) is in Nederland veel aandacht geschonken aan de waterinstallaties waar *Legionella* voor kan komen en mogelijk infecties kan veroorzaken. In een inventarisatie van de bestaande kennis in de buitenlandse literatuur heeft het RIZA [Berbee, 1999] aangegeven dat:

- *Legionella* voorkomt in rioolwater en bij rwzi's;
- *Legionella* is aangetroffen in de lucht boven beluchtingsbassins;
- geen legionellose-gevallen zijn gerapporteerd op rwzi's;
- awzi's in de voedingsmiddelenindustrie door hogere watertemperaturen mogelijk een hoger risico vormen;

In deze rapportage wordt aanbevolen "om na te gaan of de bacterie in rwzi's en awzi's aanwezig is en of deze in de lucht bij beluchtingsbassins voorkomt."

Bij rioolwaterzuiveringsinstallaties (rwzi's) wordt veel gewerkt met bacteriehoudend materiaal als slib en afvalwater. Tijdens de normale bedrijfsvoering van een rwzi komen op verschillende locaties aerosolen vrij. Als *Legionella* voorkomt in het water op deze plaatsen kan deze bacterie met de aerosolen in de lucht worden gebracht. Wanneer deze waterdeeltjes klein genoeg zijn (kleiner dan 5  $\mu\text{m}$ ), kunnen ze na inademing tot in de longblaasjes doordringen. Via deze route kan besmetting bij mensen optreden. Als *L. pneumophila* via deze route binnendringt kan dit uitmonden in de veteranenziekte of Pontiac fever. Dit geldt vooral voor mensen met een verminderde weerstand en gevoelige luchtwegen (ouderen, mensen met problemen met de ademhalingsorganen, rokers, medicijngebruikers, etc.). Echter ook gezonde mensen kunnen de veteranenziekte oplopen.

## 1.2 Doelstelling

Hoofddoel van deze studie was te onderzoeken of *Legionella* ook in Nederlands rioolwater voorkomt en, indien aanwezig, vaststellen van het niveau van blootstelling van medewerkers van zuiveringsinstallaties van communaal afvalwater aan *Legionella*. Daarbij werd in kaart gebracht waar en in welke mate bij de zuivering van communaal afvalwater micro-organismen via aerosolvorming in de omgevingslucht worden gebracht.



Omdat bij dit onderzoek gegevens werden verzameld over aërosolvorming en blootstelling aan micro-organismen via aërosolen is als neven doelstelling ook opgenomen een analyse te maken van de blootstelling aan andere biologische agentia via deze route.

### 1.3 Werkwijze

Op een geselecteerd aantal locaties is vastgesteld of en in welke mate *Legionella* voorkomt in (gedeeltelijk behandeld) communaal afvalwater en de omgevingslucht van de zuivering. Met behulp van deze gegevens en een inschatting van frequentie en duur van verblijf van medewerkers van een zuiveringsinstallatie in de omgevingslucht, is een inschatting gemaakt van de mate van blootstelling aan *Legionella*. Deze is vergeleken met de mate van blootstelling op andere locaties, zoals die in de literatuur is beschreven, om een indruk te geven van het gezondheidsrisico voor het personeel van rwzi's.

Omdat een specifieke selectie is gemaakt van locaties met de hoogste kans op aërosolvorming en verspreiding van *Legionella* kan deze inventarisatie worden gezien als *worst-case* blootstellingsanalyse van de rioolwaterzuiveringssector.

Andere blootstellingsroutes, zoals via huidcontact met afvalwater en vervolgens inademen, zijn voor *Legionella* nooit aangetoond. Deze worden van deze analyse uitgesloten, temeer omdat hygiënisch werken met afvalwater een standaardprocedure is vanwege het grote aantal pathogene micro-organismen dat in afvalwater voor kan komen.

Bij deze studie werd veel kennis verzameld over aërosolisatie van micro-organismen op rwzi's. Omdat algemeen bekend is dat rioolwater besmet is met een grote verscheidenheid aan ziekteverwekkers van het maagdarmkanaal, lag het voor de hand om bij deze inventarisatie het risico op blootstelling aan deze andere ziekteverwekkers mee te nemen. Over het voorkomen van deze ziekteverwekkers in Nederlands rioolwater was uit andere studies al voldoende informatie om, gecombineerd met de gegevens over aërosolisatie uit deze studie, een eerste inschatting van het blootstellingsrisico te maken.

Onderzoek naar het voorkomen van *Legionella* in industriële awzi's was geen onderdeel van deze studie.

## 1.4 Leeswijzer

Eerst wordt een overzicht gegeven van wat er bekend is uit de wetenschappelijke literatuur over *Legionella* en darmpathogene micro-organismen in rioolwater en de vorming van aërosolen op rwzi's en de overleving van *Legionella* in aërosolen (hoofdstuk 2). Daarna wordt de opzet van dit onderzoek beschreven (hoofdstuk 3) en de wijze waarop, met de kennis van de waterschappen over plaatsen waar medewerkers aan aërosolen worden blootgesteld, een selectie is gemaakt van locaties voor het uitvoeren van metingen (hoofdstuk 4).

De methode en bevindingen van de metingen aan micro-organismen in aërosolen op deze meetlocaties staan beschreven in hoofdstuk 5. Ook zijn in dit hoofdstuk de resultaten van de enquête opgenomen waarin aan rwzi-medewerkers is gevraagd hoe vaak en hoe lang zij op verschillende locaties op de rwzi aanwezig zijn.

Op basis van de aërosolmetingen zijn de locaties geselecteerd waar onderzoek naar het voorkomen van *Legionella* is uitgevoerd (hoofdstuk 6). Om het *Legionella*-onderzoek op rwzi's uit te kunnen voeren moesten de analysemethoden hiervoor geschikt gemaakt worden (Bijlage IV). Door de meetgegevens aan *Legionella* te koppelen aan de gegevens uit de enquête kon een inschatting worden gemaakt van de blootstelling van rwzi-medewerkers aan *Legionella* (hoofdstuk 7). Op dezelfde manier kon een inschatting worden gemaakt van de blootstelling aan andere biologische agentia (hoofdstuk 8).

De algemene beschouwing en de aanbevelingen die vanuit de resultaten van dit onderzoek aan de Waterschappen kunnen worden gedaan staan in hoofdstuk 9.

De gebruikte literatuur en een uitleg van de gebruikte technische begrippen staan in hoofdstuk 10 en 11. In de bijlagen zijn opgenomen: de monsterlocaties met fotoverslag (I); de meetresultaten van het onderzoek naar micro-organismen (II) per locatie, de enquête (III) en de ontwikkeling van de methode voor *Legionella* in afvalwater en aërosolen daarvan (IV). De overige onderzoeksmethoden staan opgenomen in Bijlage V.

In dit rapport wordt aan de eigenschappen van *Legionella* die specifiek betrekking hebben op voorkomen op rwzi's en overdracht via aërosolen gerefereerd. Voor een algemene en meer uitgebreide beschrijving van *Legionella* wordt verwezen naar Berbee [1999] en naar het rapport van de Gezondheidsraad [1986].



## 2 Inventarisatie literatuur

### 2.1 *Legionella* bij rwzi's

*Legionella* is aangetroffen in rioolwater. Het idee dat in rioolwater geen *Legionella* aanwezig zal zijn omdat de watertemperatuur meestal beneden de 25°C ligt is dus onterecht. Northrop *et al.* [1981] vonden *L. pneumophila* in rioolwater door cavia's te besmetten met ruw rioolwater en te laten zien dat 6-7 dagen na inoculatie *L. pneumophila* in de milt aanwezig was. Blootstelling van cavia's aan aërosolen van dezelfde rwzi gaf geen zichtbare infectie. Infectieuze *L. pneumophila* was dus in rioolwater aanwezig, maar niet in voldoende mate om via aërosolen een infectie te veroorzaken.

In het overzicht van Berbee [1999] worden de studies van Palmer *et al.* [1993] in de VS en van Roll & Fujioka in Hawaï [1995] beschreven. Palmer en collega's vonden *Legionella* met de kweekmethode in één van de vier monsters zowel in ruw rioolwater (10 kve/ml), na de voorbezinkers (33 kve/ml) als na de nabezinkers (500 kve/ml). Met de PCR detectiemethode waren alle monsters positief en waren de gehalten >1000/ml, dus beduidend hoger. Met de DFA-detectiemethode werden *Legionella*-gehalten gemeten van 5900 – 35000 per ml, maar de auteurs twijfelen aan deze resultaten omdat ze zoveel hoger zijn dan van de kweekmethode en PCR. Ze vermoeden dat de DFA niet specifiek genoeg is. (Details van deze methoden staan weergegeven in bijlage IV).

Een deel van de gevonden *Legionella*'s (5-10%) was *L. pneumophila*, de meest pathogene soort.

Zij concludeerden dat *Legionella* spp. en *L. pneumophila* voorkomen in rioolwater en dat de gehalten niet afnemen tijdens de zuivering (hoewel het aantal monsters wel beperkt was (één positieve voor de verschillende plaatsen in de zuivering)).

Roll & Fujioka vonden ook in alle fasen van de zuivering *Legionella* met zowel de kweek als PCR-methode. De met de kweekmethode gemeten gehalten in rioolwater waren 203/ml (67% van de monsters positief), na de voorbezinkers was het gehalte 267/ml (64% positief) en na de beluchters 225/ml (38% positief). Geen van de gevonden *Legionella*'s bleek *L. pneumophila* te zijn. Ook hier werden met de PCR hogere gehalten gemeten (>1000/ml). Zij concludeerden dat:

- in een tropisch klimaat *Legionella* in alle fasen van de rwzi voorkomt;
- in de aërosolen nabij beluchtingsbassins *Legionella* voorkomt;
- rwzi-medewerkers daar aan blootgesteld worden;

- de blootstelling beneden de geschatte infectieuze dosis ligt (zowel met PCR als met de kweekmethode);
- in rioolwater geen *L. pneumophila*, maar minder pathogene soorten *Legionella* aanwezig waren.

In een recente studie uit Spanje werd *Legionella pneumophila* aangetroffen in aërosolen in de voorzuivering en boven het beluchtingsbassin (resp. drie van de tien en één van de negen monsters van 1 m<sup>3</sup> lucht positief) met de PCR-methode (Tabel 1). Met de kweekmethode werden geen *Legionella*'s aangetroffen vanwege een sterke groei van de achtergrondflora.

Tabel 1. *Legionella* in aërosolen bij een rwzi (naar Pascual et al., 2001); weergegeven zijn het aantal positieve monsters en het totaal aantal monsters.

	Kweek (+/totaal)	PCR (+/totaal)
Roostergebouw/zandvang	0/10	3/10
Afgedekte voorbezinkers	0/9	0/9
Beluchtingsbassins	0/9	1/9
Zeefbandpers	0/9	0/9
Achtergrond	0/2	0/2

Bij de positieve monsters was de luchttemperatuur 9.5-20.8°C; de windsnelheid 0.6-2.6 m/s en de relatieve vochtigheid 50.2-78.5%. Bij de *Legionella*-negatieve monsters was dit resp. 6.7-28.4°C, 0.2-2.5 m/s en 18.1-71.4%; geen duidelijk verschil met de positieve monsters dus. Mogelijk is er een relatie met een lage luchtvochtigheid, omdat onder die omstandigheden snelle verdamping van aërosolen en afsterving van *Legionella* optreedt.

Uit de literatuur blijkt dus dat *Legionella* voorkomt in rioolwater en in aërosolen boven beluchtingsbassins. Ook *L. pneumophila* is in rioolwater aangetroffen. De hoeveelheid informatie is beperkt, vooral als het gaat om de gehalten aan *Legionella* in rioolwater en aërosolen te leren kennen. Alle studies geven aan dat blootstelling mogelijk is en dat dit een potentieel gezondheidsrisico voor rwzi-medewerkers zou kunnen zijn, maar niet of dit een werkelijk risico is en hoe groot dat risico is.

In de studies worden nog een aantal zaken vermeld die van belang zijn voor *Legionella* bij rwzi's:

- *Legionella* zou zich in de biofilms op leidingen en installaties kunnen handhaven en eventueel vermeerderen. Schoonspuiten van installaties brengt aerosolen met biofilmmateriaal in de lucht. Dit is een potentiële risicofactor;
- het voorkomen van *Legionella* in amoeben zou ze kunnen beschermen tegen inactivatie in de rioolwaterzuivering;
- *Legionella* kan zich in amoeben en ciliaten vermeerderen. In een rwzi zijn bijna altijd grote hoeveelheden amoeben en ciliaten (behorende tot de groep van protozoën) aanwezig [STOWA, 1999]. Deze voeden zich voornamelijk met bacteriecellen die los in de vloeistof of aan de randen van de vlokken aanwezig zijn. Aerosolisatie van deze protozoën met *Legionella* zou “pakketjes” met een relatief hoge concentraties opleveren, die goed beschermt zijn tegen uitdroging.

## 2.2 Aërosolvorming bij rwzi's

Een belangrijke potentiële bron voor aerosolen zijn de beluchtingsbassins. De meeste literatuur over aerosolvorming door rwzi's stamt uit eind jaren '70 en bevat meestal geen concentraties aerosolen, maar concentraties micro-organismen (aëroob koloniegetal, bacteriën van de coligroep, enterovirussen, colifagen) in de lucht boven de beluchtingsbassins en in de omgeving van de rwzi. Nederlandse gegevens zijn alleen beschikbaar over de rwzi Kralingseveer en de omgeving daarvan [DWL, 1979]. Deze metingen en de literatuur laten zien dat boven alle rioolwaterzuiveringsinstallaties aerosolen met micro-organismen uit rioolwater aanwezig zijn. De concentraties micro-organismen in de lucht zijn primair afhankelijk van hun concentratie in rioolwater, het type beluchting en de weersomstandigheden. De grootteorde van deze concentraties is weergegeven in tabel 2 en 3.

Tabel 2. Concentraties micro-organismen in rioolwater en in de lucht op en rond een rwzi

	Concentratie in rioolwater (per ml)	Concentratie in de lucht op rwzi (per m <sup>3</sup> )	Concentratie in de lucht, benedenwinds van rwzi (per m <sup>3</sup> )
Bacteriën van de coligroep	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>5</sup>	10 <sup>0</sup> - 10 <sup>2</sup>	10 <sup>0</sup> - 10 <sup>2</sup> (30-100m)
Enterovirussen	10 <sup>-1</sup> - 10 <sup>1</sup>	-	10 <sup>-2</sup> - 10 <sup>0</sup> (2-50m)
Colifagen	10 <sup>1</sup> - 10 <sup>3</sup>	-	10 <sup>-1</sup> - 10 <sup>0</sup> (15-100m)

Voor de verspreiding van de aerosolen in de omgeving van de rwzi 's zijn de koude wintermaanden de meest kritische periode. De luchttemperatuur is laag waardoor verdamping

van de aerosolen langzamer plaatsvindt. Ook de intensiteit van het UV-licht is lager, waardoor minder snel afsterving van micro-organismen zal optreden.

Tabel 3 Concentratie aëroob koloniegetal en bacteriën van de coligroep in de lucht rondom rioolwaterzuiveringsinstallaties

Referentie	Aëroob koloniegetal bij 22°C	Bacteriën van de coligroep
	lucht (aantal/m <sup>3</sup> )	lucht (aantal/m <sup>3</sup> )
DWL, 1979	29 - 787	1 - 14
Northrop <i>et al</i> , 1980	60 - 447	0,6 - 17
Camann <i>et al</i> , 1980		1,7 - 12,2
Johnson <i>et al</i> , 1980	7100 - 29000	3,1 - 12,4
Clark <i>et al</i> , 1980	253 - 812	8 - 43
Lue-Hing <i>et al</i> , 1980	551	9
Fannin <i>et al</i> , 1985	102 - 1325	0,34 - 6,8
Sawyer <i>et al</i> , 1993	970 - 2068	28 - 410
Van der Woerd <i>et al.</i> , 1999	1530 - 3800	2,4 - 79,4
Medema, <i>et al.</i> , 1999 Merck MAS 100	980 - 1200	8 - 130
Medema <i>et al</i> : 1999 Sartorius MD8	600 - 1100*	<1

\* Oplossen gelatinefilter levert veel onopgeloste deeltjes

### 2.3 Overleving *Legionella* in aerosolen

*Legionella* is relatief stabiel in aerosolen in vergelijking met *E.coli*. Hambleton *et al.* [1983] onderzochten de overleving van *L. pneumophila* in aerosolen. De *Legionella* werd vooraf gekweekt op agarplaten, geoogst en gesuspendeerd in water. Ook werd gekweekt in vloeibaar medium tot in de stationaire groeifase. De tijd die nodig was om 90% van de aanwezige *Legionella* bacteriën af te doden was 36 – 108 minuten (Tabel 4) *L. pneumophila* gekweekt in vloeibaar medium was minder stabiel. Dennis & Lee [1988] onderzochten de overleving van *L. pneumophila* stammen met verschillende virulentie. De stammen werden gekweekt op vast BYCE. Kolonies werden gesuspendeerd in water en met een aerosolgenerator versproeid bij 20°C en een relatieve vochtigheid van 30, 60 en 90%. De meest virulente stam (Corby) overleefde het langst in aerosolen (Tabel 4), daarna stam 74/81 (gemiddelde virulentie) en de minst virulente stam (Philadelphia-1 NCTC 11192) stierf het snelst af. Virulente stammen overleven dus langer in aerosolen.

Deze auteurs hebben ook overlevingsexperimenten gedaan met stammen uit patiënten, uit waterinstallaties die waren geassocieerd met infecties bij mensen en uit waterinstallaties die niet waren geassocieerd met infecties. Patiëntenstammen overleefden beter dan waterstammen. Waterstammen geassocieerd met infecties overleefden beter dan waterstammen die niet met infecties waren geassocieerd. Pontiac overleefde beter dan Oida en die weer beter dan Bellingham. Andere *Legionella*-soorten, *L. micdadei* en *L. bozemanii*, overleefden weer beter dan *L. pneumophila*.

Berendt *et al.* [1981] vonden daarnaast dat extract van cyanobacteriën *Legionella* in aërosolen beschermt. De tijd voor het afdoden van de helft van de aanwezige bacteriepopulatie was met extract 11,2 – 12,9 min. en zonder extract 2,4 min., beduidend sneller dus.

Tabel 4. Afstervingstijd van *Legionella* in aërosolen (weergegeven is de tijd die nodig is voor afsterving van 90% van de populatie, in minuten)

Soort	Stam	Kweek	Relatieve luchtvochtigheid				Referentie
			30%	60%	65%	90%	
<i>L. pneumophila</i>	74/81	Agarplaat	36		108	54	Hambleton <i>et al.</i> , 1983
<i>L. pneumophila</i>	74/81	Vloeibaar			21		Hambleton <i>et al.</i> , 1983
<i>L. pneumophila</i>	74/81	Agarplaat	40	40		>120	Dennis & Lee, 1988
<i>L. pneumophila</i>	Corby	Agarplaat		55			Dennis & Lee, 1988
<i>L. pneumophila</i>	Phil.-1	Agarplaat		3			Dennis & Lee, 1988

In de literatuur wordt veel melding gemaakt van de associatie van *Legionella* met amoeben. *Legionella* kunnen zich in amoeben handhaven en vermeerderen. Ook in de lucht worden amoeben aangetroffen [O'Brien & Bhopal, 1993]. De amoeben zouden in dit geval een transportmiddel voor *Legionella* kunnen zijn, dat ook beschermt tegen uitdroging en UV-straling. Het inademen van een amoebe kan dus het binnenkrijgen van een groot aantal *Legionella*-bacteriën betekenen. Dit wordt gezien als een van de mogelijkheden om zoveel *Legionella* binnen te krijgen dat een infectie kan ontstaan.

Dat *Legionella* ook in de praktijk lang kan overleven in aërosolen wordt geïllustreerd door het optreden van legionellose bij mensen die zich op aanzienlijke afstand (tientallen tot honderden meters) van de bron (een luchtkoelinstallatie) bevonden [Bhopal *et al.*, 1991].

Op een rwzi is de reistijd van de aërosolen van de bron naar medewerkers die zich in de directe nabijheid bevinden kort (seconden tot minuten). *Legionella* overleeft veel langer en kan deze korte tijd dus ruimschoots overbruggen.



## 2.4 Legionella-infectie bij rwzi-medewerkers.

Northrop *et al.* [1980] heeft het voorkomen van antilichamen tegen *Legionella* onderzocht bij mensen die binnen een straal van 1.6 km van een rwzi wonen. Deze was relatief hoog (23%). Er was echter geen relatie met de afstand tot de rwzi of het aantal jaren dat mensen in dat gebied woonden. Besmetten van cavia's met onverdund rioolwater leverde detecteerbare *Legionella pneumophila* in miltcellen. Na 10-voudige verdunning van rioolwater werd geen infectie meer aangetroffen. Blootstelling aan aërosolen van de rwzi leverde geen infectie op. In rioolwater bevindt zich dus levende en infectieuze *Legionella pneumophila*, maar deze studie gaf niet aan dat verspreiding via aërosolen tot infecties leidde.

Gregersen *et al.* [1999] rapporteerden een outbreak van Pontiac fever in een warme zomerperiode in Denemarken onder medewerkers van een awzi in een voedingsindustrie na schoonmaken/reparatie van een slibindikker (twee centrifuges, niet afgedekt). In totaal zijn vijf mensen ziek geworden. Ze kregen griepachtige symptomen met koorts. Twee van de vijf zijn opgenomen in het ziekenhuis, waar ze na een antibiotica-therapie snel (een tot twee dagen) weer herstelden. De overige drie waren zonder antibiotica ook snel weer hersteld. In alle patiënten werden positieve antilichamen-titers tegen *Legionella pneumophila* ser 1 aangetroffen. *Legionella pneumophila* werd ook in slib gevonden (na zuurbehandeling en kweek op BYCE met antibiotica):  $1,5 \times 10^7$  kve/g. Later is ook *L. londiniensis* gevonden. Onderzoek naar aërosolen is niet uitgevoerd. Er is adembescherming met actief kool toegepast, maar deze was niet beschermend tegen deze symptomen. De medewerkers moeten nu adembescherming tegen aërosolen dragen bij werkzaamheden en de centrifuges zijn tegenwoordig afgedekt [Gregersen *et al.*, 1999].

## 2.5 Ziekteverwekkers van fecale herkomst bij rwzi's

Rioolwater is over het algemeen een mengsel van huishoudelijk, industrieel en agrarisch afvalwater. In huishoudelijk en agrarisch afvalwater kunnen ziekteverwekkers voorkomen, afhankelijk van het voorkomen van ziektegevallen bij mensen of dieren in het voorzieningsgebied. De belangrijkste ziekteverwekkers die via het rioolwater kunnen worden verspreid zijn virussen, bacteriën en parasieten, die infecties van het spijsverteringskanaal veroorzaken zoals *Salmonella*, *Campylobacter*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, enterovirussen, calicivirussen, hepatitisvirussen etc.. Deze worden door besmette personen of dieren in hoge concentraties uitgescheiden met de feces en komen in het rioolwater terecht. Tabel 5 geeft

een overzicht van een aantal ziekteverwekkers waarvan de concentratie in rioolwater bekend is.

Tabel 5. Concentraties ziekteverwekkers in rioolwater.

Groep	Soort	Concentratie (aantal per liter)	Referentie
Bacteriën	<i>Campylobacter</i>	$10^3 - 10^5$	Koenraad, 1995
Virussen	Enterovirussen	$10^1 - 10^1$	Havelaar, 1993
	Rotavirus	$10^1$	Hejkal, 1980
	Hepatitis A virus	$10^1$	Hejkal, 1980
Parasieten	<i>Cryptosporidium</i>	$10^1 - 10^4$	Medema & Ketelaars, 1995
	<i>Giardia</i>	$10^1 - 10^3$	Medema & Ketelaars, 1995

Tijdens het aëratieproces van rioolwater in de actiefslibinstallatie worden aërosolen gevormd, zowel bij mechanische luchtinslag met roeders als door het uiteenspatten van ingeslagen luchtbelletjes aan het oppervlak van de aëratietank [Woodcock, 1955]. De uiteenspattende luchtbelletjes genereren kleine aërosolen waarin micro-organismen uit het rioolwater zijn opgenomen. Zowel bacteriën als virussen zijn aangetroffen in de lucht boven en rondom aëratiebassins van rwzi's [Camann *et al*, 1980][Northrop *et al*, 1980][Johnson *et al*, 1980][Carducci *et al*, 1995][Fattal & Teltsch, 1982][Randall & Ledbetter, 1966][Fannin *et al*, 1985][Sawyer *et al*, 1993]. Er is geen onderzoek naar parasieten in aërosolen bekend.

Aërosoldruppels verdampen snel; bij 22°C en 50% luchtvochtigheid is het water uit een aërosol van 200 µm in 5,2 sec. verdampt [Wells, 1955]. Er blijft dan een druppelkern achter die door de wind verspreid wordt en grote afstanden af kan leggen.

Vanwege hun persistentie en geringe omvang (20-90 nm, oftewel 0,02-0,09 µm) zijn darmpathogene virussen (entero-, hepatitis A -, adeno-, astro- en calicivirussen) de meest kritische micro-organismen voor de verspreiding via aërosolen van rioolwater. Grotere organismen zoals de protozoa (5-20 µm) zullen minder gemakkelijk worden geaërosoliseerd. Bacteriën (ca. 1 µm) sterven sneller af door uitdroging van aërosolen. Uit onderzoek van Johnson *et al* [1980] blijkt ook dat de verhouding tussen concentratie in de lucht in de omgeving van een rwzi en het rioolwater voor enterovirussen een factor 10-100 hoger is dan voor bacteriën.

Er zijn verschillende typen virussen die via rioolwateraërosolen zouden kunnen worden verspreid. Hierna wordt een overzicht gegeven van de eigenschappen van de belangrijkste typen.

### *Enterovirussen*

Dit is een lang bekende en veel bestudeerde groep van virussen, met poliovirus als meest bekende vertegenwoordiger. Het zijn virussen van 27 nm groot. Ze kunnen verschillende ziektes veroorzaken die variëren van milde symptomen als darminfectie (diarree), koorts en luchtweginfecties tot ernstige infecties van het zenuwstelsel (kinderverlamming). Voor deze virusgroep is overdracht via water beschreven [Cliver, 1984]. Doordat deze virussen algemeen voorkomen in rioolwater en oppervlaktewater en relatief eenvoudig te kwantificeren zijn, worden ze gezien als indicator voor de virologische besmetting van water.

### *Hepatitis-A virus*

Dit is een virus dat vaak via water wordt overgedragen en grote epidemieën van geelzucht kan veroorzaken. In de Verenigde Staten wordt geschat dat 4% van de hepatitis-A infecties via water wordt veroorzaakt [Cliver, 1984]. Hepatitis A veroorzaakt een leverinfectie met geelzucht en regelmatig chronische complicaties.

### *Calicivirussen, astrovirussen*

Dit zijn twee groepen van virussen van ca. 30 nm. Eén van de calicivirussen, Norwalk virus, veroorzaakt een groot deel van de epidemieën van virusinfecties via water. Dit virus veroorzaakt een acute, heftige darminfectie. Ook de andere vertegenwoordigers veroorzaken darminfecties.

### *Adenovirussen*

Van deze groep virussen van 70-90 nm worden serotype 40 en 41 waarschijnlijk via water overgedragen. Deze virussen veroorzaken diarree, met name bij jonge kinderen.

### *Rotavirussen*

Deze virussen zijn 70 nm en zijn één van de belangrijkste veroorzakers van darminfectie bij zeer jonge kinderen. Deze infecties komen vooral voor in de wintermaanden. In die maanden zal dit virus dan ook vooral in rioolwater voorkomen.

Onder zowel experimentele als praktijkomstandigheden is overdracht van virussen via aërosolen mogelijk. Onderzoek naar de effecten van rioolwater-aërosolen op de gezondheid van personeel van rwzi's en nabijgelegen woningen of scholen waren te ongevoelig om duidelijke aanwijzingen voor een verhoogd risico te kunnen geven [Fannin *et al.*, 1980][Northrop *et al.*, 1980][Johnson *et al.*, 1980][Camann *et al.*, 1980][Sekla *et al.*, 1980][Dean, 1980].

Wel is duidelijk dat virussen uit rioolwater via aërosolen in de omgevingslucht verspreid kunnen worden en dat deze virusaërosolen in de directe omgeving van de rwzi (100m) en waarschijnlijk ook op grotere afstanden (km's) kunnen worden aangetroffen [Sorber & Sagik, 1979][Fattal & Teltsch, 1982][Fannin *et al*, 1985][Carducchi *et al*, 1995].

Van een aantal virussen is bekend dat hun infecties seizoensgebonden voorkomen, zoals een piek voor rotavirussen en Norwalkvirus in de winterperiode. Tijdens deze piek zal ook de concentratie in rioolwater hoog zijn.



## 3 Onderzoeksopzet

Omdat bij de aanvang van het onderzoek nog geen methode beschikbaar was voor onderzoek van *Legionella* in rioolwater en in afvalwateraërosolen is het onderzoek opgedeeld in twee fasen. In de eerste fase is een inventarisatie gemaakt van de locaties waar blootstelling aan *Legionella* via aërosolen op zou kunnen treden en zijn deze locaties ingedeeld naar de mate waarin aërosolisatie van micro-organismen plaatsvindt, door metingen aan de verspreiding van micro-organismen in de omgevingslucht. Tegelijkertijd werd de detectiemethode voor *Legionella* geschikt gemaakt voor onderzoek in afvalwater en afvalwateraërosolen. In de tweede fase werden deze methoden ingezet om *Legionella* te meten op de locaties waar veel aërosolvorming optreedt. Daarnaast werd middels een enquête informatie verzameld over hoe lang en hoe vaak medewerkers op de verschillende plaatsen op een rwzi aanwezig zijn.

De blootstelling aan *Legionella* op de verschillende plaatsen op een rwzi kon worden ingeschat door de informatie uit de *Legionella*- en aërosolmetingen en uit de enquête samen te voegen. Op dezelfde wijze kon ook de blootstelling aan fecale ziekteverwekkers worden ingeschat (zie hoofdstuk 8).

### 3.1 Fase 1

#### 3.1.1 Inventarisatie van blootstellingsmogelijkheden.

*Doel* - Selectie van de locaties met aërosolvorming op rwzi's die representatief is voor de Nederlandse afvalwaterzuiveringssector.

*Aanpak* - Samen met de KAM-functionarissen van de waterschappen uit de begeleidingscommissie is de huidige zuiveringspraktijk doorgelicht en is gedocumenteerd waar aërosolvorming (type beluchtingsysteem, overstorten, cascades) kan optreden en waar de omgevingscondities zodanig zijn dat vermeerdering van *Legionella* op zou kunnen treden en waar mogelijk inactivatie op zou kunnen treden (hazard identification). Niet alleen het afvalwater zelf, maar ook de overige locaties die aan dezelfde voorwaarden voldoen (zoals brandslanghaspels, waterbuffers, spuitwaterleidingen e.d.) zijn meegenomen in deze analyse. De drinkwaterinstallaties zijn niet meegenomen, deze vallen onder de Tijdelijke regeling van VROM.

*Opbrengst* - Inventarisatie van locaties waar blootstelling aan aërosolen plaats zou kunnen vinden, als basis voor de selectie van locaties voor nader onderzoek naar voorkomen, vermeerdering, inactivatie en verspreiding van *Legionella* via aërosolen.

### 3.1.2 *Vorming en verspreiding van aërosolen bij afvalwaterbehandeling.*

*Doel* - 1. Vaststellen op welke locaties aërosolvorming optreedt en hoeveel.

2. Vaststellen van de fractie micro-organismen die uit het water in de lucht wordt gebracht, als basis voor de risicoberekening met darmpathogenen.

*Aanpak* - Bepalen van de mate van verspreiding van micro-organismen (heterotrofe bacteriën, *E. coli*, bacteriofagen, bacteriesporen) in de lucht rondom de in 3.1.1 geïdentificeerde risicolocaties bij de afvalwaterbehandeling. Er zijn eerder metingen uitgevoerd naar het voorkomen van bacteriën in de lucht direct boven de beluchtingsbassins als worst case. In dit onderzoek is het aangevuld met onderzoek naar het voorkomen van bacteriën, en fagen en sporen bij overige risicolocaties die zijn geïdentificeerd in 3.1.1. Daarbij zijn metingen gedaan aan micro-organismen in de omgevingslucht op verschillende afstanden van de bron van aërosolen. Deze metingen worden idealiter uitgevoerd bij lage temperaturen, hoge luchtvochtigheid en bewolkte hemel en weinig wind, omdat onder deze omstandigheden micro-organismen het langst overleven in aërosolen en in de omgeving van de rwzi aanwezig blijven.

Door zowel de concentratie micro-organismen in water ( $C_w$ ) en de concentratie micro-organismen in de lucht te bepalen ( $C_l$ ) kan de fractie ( $f$ ) micro-organismen die in de lucht wordt gebracht worden berekend (figuur 1). Omdat de concentratie van een aantal virussen, parasieten en pathogene bacteriën in afvalwater bekend is ( $C_w$ ), kan met de berekende fractie de concentratie van deze ziekteverwekkers in de lucht worden ingeschat.

*Figuur 1. Gebruik van de metingen in afvalwater en lucht om de fractie micro-organismen die uit het water in de lucht wordt gebracht te berekenen.*

*Opbrengst* - Informatie over aërosolvorming rondom rwzi's, lokalisatie van processen met een hoog risico op verspreiding van micro-organismen via aërosolen. Door niet alleen bacteriën, maar ook sporen en bacteriofagen mee te nemen in dit onderzoek kan (met de reeds

beschikbare informatie over het voorkomen van virussen, pathogene bacteriën en protozoa in afvalwater) de blootstellingsanalyse worden uitgebreid naar risico's van fecale pathogenen via aërosolen.

### **3.1.3 Optimalisatie detectiemethoden *Legionella* in afvalwater en afvalwateraërosolen**

*Doel* - *Legionella pneumophila* kunnen aantonen in rioolwater en aërosolen.

*Aanpak* - Aanpassing/optimalisatie van de *Legionella* kweek- en moleculaire methoden voor onderzoek in afvalwater en afvalwateraërosolen. Vaststelling van de bruikbaarheid van hittebehandeling en specifieke antibiotica om stoorflora te remmen en *Legionella* aantoonbaar te houden. Onderzoek van de bruikbaarheid van de moleculaire methoden voor onderzoek van afvalwater en afvalwateraërosolen.

*Opbrengst* - Analysemethoden voor vaststellen concentratie *Legionella* in afvalwater en in afvalwateraërosolen rondom installaties.

Aan het eind van fase 1 zijn de resultaten van de hazard identification, onderzoek aërosolvorming en verspreiding en methodeontwikkeling samengevoegd en geëvalueerd als basis voor het uit te voeren onderzoek in fase 2.

## **3.2 Fase 2**

### **3.2.1 Onderzoek voorkomen *Legionella* in communaal ongezuiverd afvalwater en in de omgevingslucht.**

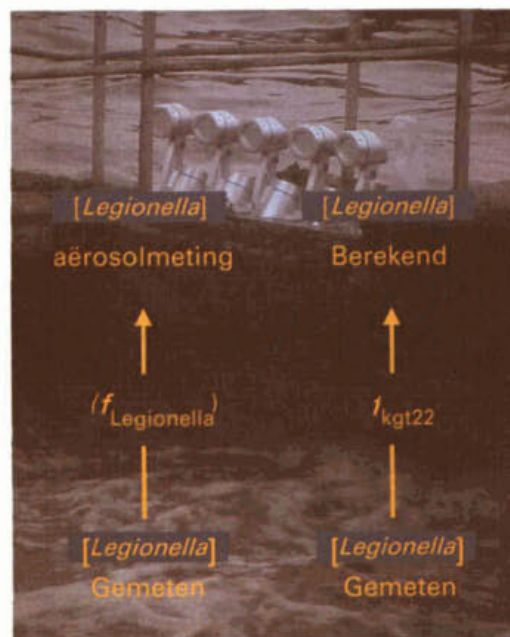
*Doel* - Vaststellen of en in welke gehalten *Legionella* voorkomt in aërosolen op rwzi's.

*Aanpak* - De gegevens die in onderdeel 1 en 2 van fase 1 zijn verzameld zijn gebruikt voor de selectie van locaties waarbij de kans op aërosolisatie van *Legionella* het grootst is. Op deze locaties zijn met behulp van een meetprogramma concentraties *Legionella* in het gedeeltelijk behandelde afvalwater en in de directe omgevingslucht bepaald. Als deze bacteriën daarin aanwezig zijn wordt de verspreiding in de omgevingslucht over het rwzi terrein onderzocht. Naast de methoden voor detectie van alle *Legionella*-soorten zijn ook methoden die specifiek zijn voor *Legionella pneumophila*, de voornaamste veroorzaker van *Legionella*-pneumonie ('veteranenziekte'), gebruikt. Naast *Legionella* is ook het koloniegetal 22°C meegenomen. Als zou blijken dat *Legionella*-onderzoek in de luchtmonsters geen resultaten oplevert en



onderzoek van afvalwater wel, was een berekening van de concentratie *Legionella* in de lucht toch mogelijk door op dezelfde manier als voor de fecale pathogenen gebruik te maken van de fractie van het koloniegetal 22°C die uit afvalwater in de lucht wordt gebracht.

*Opbrengst* - Voorkomen en verspreiding van *Legionella* en *L. pneumophila* in de omgevingslucht op rwzi's in de directe omgeving van de eerder geïdentificeerde belangrijkste bronnen van aërosolen.



*Figuur 2. Directe (resultaat aërosolmetingen Legionella) en indirecte (berekening op basis van metingen aan Legionella in afvalwater en metingen van de fractie koloniegetal 22°C (kgt22) die in de lucht wordt gebracht) analyse van de concentratie Legionella in de lucht.*

### 3.2.2 Enquête

*Doel* - Vaststellen hoe vaak en hoe lang verschillende rwzi-medewerkers in de ruimtes aanwezig zijn waar aërosolvorming optreedt.

*Aanpak* - Om een risico te vormen moeten de aërosolen met *Legionella* of andere ziekteverwekkers worden ingeademd. De blootstelling is dus een combinatie van het gehalte aërosolen in de lucht en de duur en frequentie van aanwezigheid van medewerkers op de betreffende plek. Om daar een kwantitatief beeld van te krijgen is een enquête via de KAM-functionarissen rondgestuurd onder de medewerkers van rwzi's. De enquête is opgenomen in bijlage III. In deze enquête is de medewerkers gevraagd om aan te geven hoe vaak en hoe lang zij zich normaliter op de plaatsen bevinden waar gebleken is dat aërosolvorming optreedt. Dat werd zowel gevraagd voor de normale bedrijfsomstandigheden als voor bijzondere omstandigheden (reparatie, reiniging e.d.), juist omdat deze laatste mogelijk pieken in de blootstelling zouden kunnen betekenen. De resultaten zijn verwerkt tot een maat voor de aanwezigheid op een bepaalde locatie (frequentie x tijd).

*Opbrengst* - Kwantitatieve informatie over de aanwezigheid van rwzi-medewerkers op locaties met aerosolvorming.

### **3.2.3 Blootstellingsanalyse Legionella**

*Doel* - Vaststellen van de mate waarin rwzi-medewerkers worden blootgesteld aan *Legionella*. Verkrijgen van een indicatie van de betekenis daarvan door dit te vergelijken met blootstelling in andere situaties.

*Aanpak* - Op basis van de gegevens over *Legionella* in de omgevingslucht op verschillende locaties op de rwzi en de kwantitatieve informatie over de aanwezigheid van medewerkers op deze locaties, is een inschatting gemaakt van de mate van blootstelling van personeel aan *Legionella*. Deze is vergeleken met blootstellingsniveaus onder verschillende omstandigheden (douche, koeltorens) zoals die in de literatuur zijn gerapporteerd. Hieruit is een relatieve indicatie van het gezondheidsrisico afgeleid.

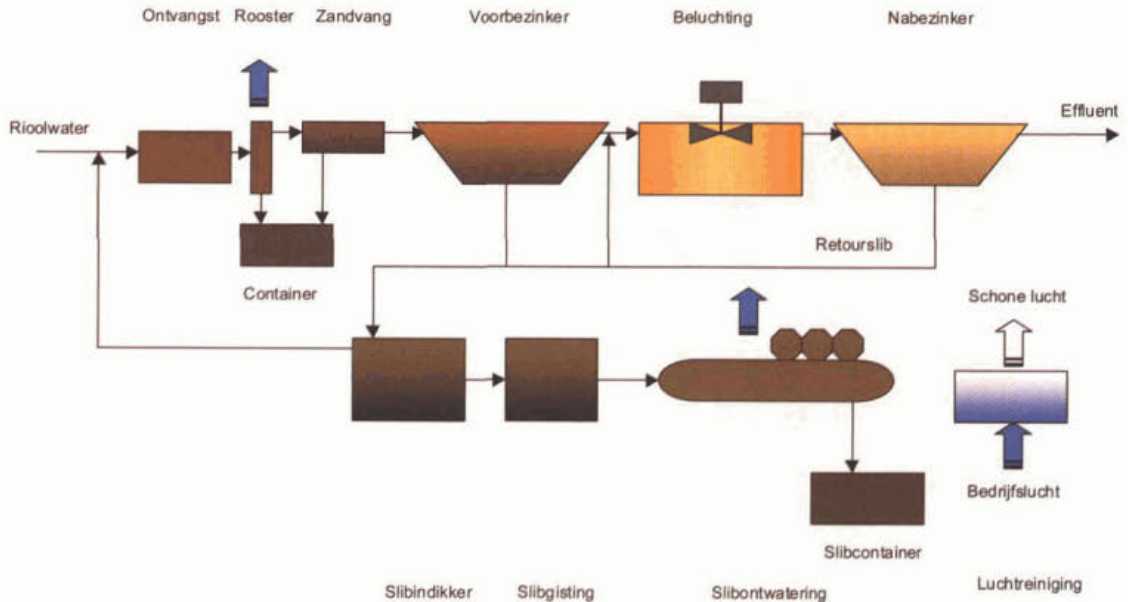
*Opbrengst* - Analyse van blootstellingsniveau van rwzi-medewerkers aan *Legionella* en *L. pneumophila* en vergelijking met blootstellingsniveaus via andere routes.



## 4 Selectie van onderzoekslocaties

### 4.1 Inventarisatie locaties met aerosolvorming op rwzi's

Figuur 3 toont een schematisch overzicht van een mogelijke rwzi. Het binnenkomende water wordt eerst door een roostergoedinstallatie geleid om de grove delen te kunnen verwijderen. Vervolgens stroomt het water via een zandvang naar een voorbezinktank waar de bezinkbare deeltjes worden verwijderd. Het water stroomt dan naar het beluchtingsbassin waar de afvalstoffen met behulp van micro-organismen worden afgebroken. Dit kan een conventioneel actief slib systeem zijn met puntbeluchting of bellenbeluchting. In Nederland zijn nog een aantal rwzi's die oxidatiebedden in gebruik hebben voor de biologische behandeling. In Nederland zijn nog een aantal rwzi's die oxidatiebedden in gebruik hebben voor de biologische behandeling.



Figuur 3. Schematisch overzicht rwzi

Vervolgens stroomt het water naar een nabezinker waar het door bezinking wordt ontdaan van het actief slib. Het effluent wordt geloosd op het oppervlaktewater. Het bezonken slib wordt deels weer teruggevoerd naar de beluchtingsruimte om weer nieuwe afvalstoffen af te breken. Een ander gedeelte (het spuislib) wordt samen met het slib uit de voorbezinker via een slibindikker verder ingedikt. Voordat het slib wordt ontwaterd met behulp van een zeefbandpers of een centrifuge kan slibgisting worden toegepast. Op verschillende plaatsen wordt lucht afgezogen die wordt gereinigd met behulp van biofilters. Ter voorkoming van geuremissie kunnen bepaalde procesonderdelen zijn overkapt. In geval van voorbezinktanks

en oxidatiebedden gaat het hierbij vaak om betreedbare ruimtes. Roostergoedverwijdering en slibontwatering zijn doorgaans geplaatst in afzonderlijk betreedbare ruimtes.

Samen met de KAM-functionarissen van Waterschap Veluwe, Hoogheemraadschap van Rijnland en Waterschap Zeeuwse Eilanden is een systematische inventarisatie gemaakt (Tabel 6) van de plaatsen op rwzi's waar aërosolvorming op kan treden, waar medewerkers (langdurig) aanwezig zijn en waar *Legionella* zich mogelijk kan vermeerderen.

Tabel 6 Indeling van locaties op rwzi's naar risico van blootstelling aan *Legionella* via aërosolen, op basis van de mate van aërosolvorming, de frequentie en duur van aanwezigheid van personeel en de mogelijke aanwezigheid van *Legionella*.

Prioriteit	Bron	Aërosol vorming	Aanwezigheid personeel	<i>Legionella</i> aanwezig <sup>1</sup>	
1	Schoonmaken installaties	+++++	++++	++	
	Oxidatiebed, afgedekt	++++	+++	+	
	Water uit breektanks, hydrofoor	+++	+++	+++	
2	Roostergoedverwijdering/Screezer	++++	+	+	
	Oxidatiebassin, niet afgedekt	+++	++	+	
	Puntbeluchter zonder oxikap	+++	++	+	
	Puntbeluchter met oxikap	+++	++	+	
	Bellenbeluchting	+++	++	+	
	Cascadebeluchting	+++	++	+	
	Oxidatiebed, niet afgedekt	+++	+++	+	
	Borstelbeluchting	+++	++	+	
	Zeebandpersruimte	++	++++	+	
	Aanmaak chemicaliën	+++	+++	+	
	Compostfilters/Lavafilter	+++	++	+ / +++?	
	3	Vijzel	++	++	+
		Overstort vijzel, niet afgedekt	++	+	+
Overstort oxidatiebassin, niet afgedekt		++	++	+	
Overstort bezinker, niet afgedekt		++	++	+	
Slib centrifuges ruimte		++	++	+	
Kamerfilterpers		++	++	+	
Voorbezinkbassins, niet afgedekt		+	++	+	
Slibstort		+	++	+	
4	Verdeelwerk	+	+	+	
	Verwerking primair slib	+	+	+	
	Ontluchten compressor	?	++	-	
	Drijfslag putzuigers	+	+	+?	
	Voorbezinkbassins, afgedekt:	-	++	+	
	Overstort vijzel, afgedekt	-	+	+	
	Overstort oxidatiebassin, afgedekt	-	+	+	
	Overstort bezinker, afgedekt	-	+	+	
	Overstort indickers, afgedekt	-	+	+	
	Slibgisting	++	-	+?	
	Slibverwerking van slibgisting	?	?	+?	
	Condensaat biogas	++	-	+?	
	Regenwater (goot en plassen)	+	+	+?	

<sup>1</sup>Inschatting op basis eigenschappen *Legionella* (groei bij hogere watertemperaturen, zoals in hydroforen in de zomer, en mogelijke aanwezigheid in biofilms) ? : niet goed in te schatten op basis beschikbare informatie.

*Legionella* zou zich kunnen vermeerderen onder de volgende omstandigheden:

- Bij lokale hogere temperaturen (zeefbandpersruimte, stilstaand water in leidingen, biofilmvorming, hydroforen).
- Wanneer water van hogere temperatuur wordt aangevoerd (van industrieën en in de zomerperioden).
- Wanneer water wordt aangevoerd waar al *Legionella* in aanwezig is (koeltorens, industrieel afvalwater).

Deze zijn meegewogen in de inventarisatie. De inventarisatie berust niet op kwantitatieve gegevens, het is primair een inschatting op basis van de ervaring van rwzi-medewerkers. Zo is duidelijk dat tijdens schoonspuiten van installaties grote hoeveelheden aerosolen ontstaan en dat de medewerkers daar meerdere uren achter elkaar in de directe nabijheid aanwezig zijn. Ook onder de afdekking van een oxidatiebed ligt het voor de hand dat hoge concentraties aerosolen afkomstig uit de versproeiers in de lucht aanwezig zijn en dat medewerkers regelmatig voor onderhoud in deze ruimte aanwezig moeten zijn. Op dezelfde manier is duidelijk dat medewerkers relatief lang in de zeefbandpersruimte aanwezig zijn, maar dat hier minder aerosolen worden gevormd. Op sommige locaties kan langdurig water met een hogere temperatuur aanwezig zijn, zoals in sommige hydroforen gedurende de zomerperiode.

Op deze manier is voor elke locatie een inschatting gemaakt. Door de inschatting van aerosolvorming te combineren met de inschattingen over de aanwezigheid van medewerkers en de aanwezigheid van *Legionella*, zijn de locaties ingedeeld in vier prioriteitsklassen (1 = hoog, 4 = laag).

## 4.2 Selectie van meetlocaties

Voor de selectie van de meetlocaties zijn een aantal criteria gebruikt:

1. Hoge aerosolconcentraties en/of langdurige aanwezigheid van medewerkers.

Het meetprogramma richtte zich op locaties uit de prioriteitsklasse 1 en 2, waar de hoogste aerosolconcentraties en/of de hoogste aanwezigheidsgraad van de medewerkers wordt verwacht.

2. Representativiteit voor rwzi-sector.

De representativiteit voor de rioolwaterzuiveringssector is gebruikt als tweede selectie criterium voor de meetlocaties. Samen met de bij dit onderzoek betrokken waterschappen is gekeken naar deze representativiteit; daarin is o.a. gekeken naar hoe vaak een proces voorkomt in de rwzi-sector in Nederland en de ontwikkelingen rondom de zuiveringstechnologie in recent verleden en nabije toekomst.

### 3. Onderzoekslogistiek.

De onderzoekslogistiek was het laatste selectie criterium; per rwzi werden meerdere locaties bemonsterd. Er is een matrix gemaakt van geselecteerde meetlocaties op basis van criteria 1 en 2 en de processen op de rwzi's van de betrokken waterschappen. Met de onderzoekslogistiek (aantal metingen dat per dag is uit te voeren, zo efficiënt mogelijke verdeling van locaties over rwzi's) is het meetprogramma opgesteld.

## 5 Aërosolvorming op rwzi's

### 5.1 Meetprogramma aërosolvorming

Voor het onderzoek naar de mate waarin micro-organismen in de lucht worden gebracht op de verschillende locaties op rwzi's, zijn zes rwzi's bezocht. Bij deze rwzi's zijn diverse locaties onderzocht op de aanwezigheid van micro-organismen in de aërosolen en water (zie tabel 7). In bijlage I zijn schema's van deze zuiveringen en de monsterlocaties opgenomen.

Tabel 7. Meetlocaties op de rwzi's

Rwzi	Datum	Locaties
Apeldoorn	16/11/2000	achtergrond, rooster, puntbeluchter, vijzel +overstort, oxidatiebassin, compostfilter
Gouda	27/11/2000	achtergrond, bellensbeluchter 1 en 15m, voorontwatering, zeefbandpers
Harderwijk	28/11/2000	achtergrond, carrousel, oxidatiebed, zeefbandpers, filtraatkelder, compostfilter
Reeuwijk Randenburg	4/12/2000	achtergrond, zeefbandpers, zeefbandpers tijdens schoonmaken, aanmaak PE, compostfilter 1 en 5 m
Willem Annapolder	5/12/2000	achtergrond, rooster, voorbezinker, oxidatiebed
Walcheren	11/12/2000	achtergrond, bellensbeluchter, puntbeluchter, slibontwatering, zeefbandpers, compostfilters

### 5.2 Analysemethoden

De water- en luchtmonsters zijn geanalyseerd op de volgende organismen:

- koloniegetal op Plate Count Agar bij 22°C (kgt22) conform NEN 6560;
- koloniegetal op Plate Count Agar bij 37°C (kgt37) conform NEN 6550;
- bacteriën van de coligroep (bacteriën van de coligroep) conform NEN 6553;
- F-specifieke RNA-fagen conform ISO 10905;
- sporen van sulfietreducerende clostridia (Sporen SRC) conform NEN 6567.

De bemonstering van water is uitgevoerd conform NEN 6559.

De aërosolbemonstering is uitgevoerd met behulp van vijf Merck MAS100 luchtbemonsteringapparaten. In dit apparaat wordt een 9 cm agarplaat met het betreffende medium geplaatst en vervolgens wordt lucht aangezogen door een rooster. De grootte van het



rooster en afstand tot de agarplaat maken dat aërosolen van 1 µm en groter worden afgevangen op de agarplaat. De platen zijn ingezet conform de methode voor de watermonsters (zie boven). Voor de fagen werden de aërosolen afgevangen op de onderste agarlaag en werd op het laboratorium de bovenlaag met gastheer toegevoegd. Deze bovenlaagsuspensie werd verdund met steriel water tot de juiste sterkte. De sporenmonsters zijn niet gepasteuriseerd en onder anaërobe condities geïncubeerd.

Er is, indien nodig, op twee verschillende afstanden gemeten (vlak bij de bron en op 5 - 15 meter afstand van de bron). Voor de beide koloniegetallen zijn vijf verschillende luchtvolumes (5, 10, 50, 100 en 500 liter) bemonsterd. Voor de fagen, bacteriën van de coligroep en SSRC is 1000 l bemonsterd. Tevens is een achtergrondmonster genomen (nabij, maar bovenwinds van de zuivering).

### 5.3 Meetomstandigheden

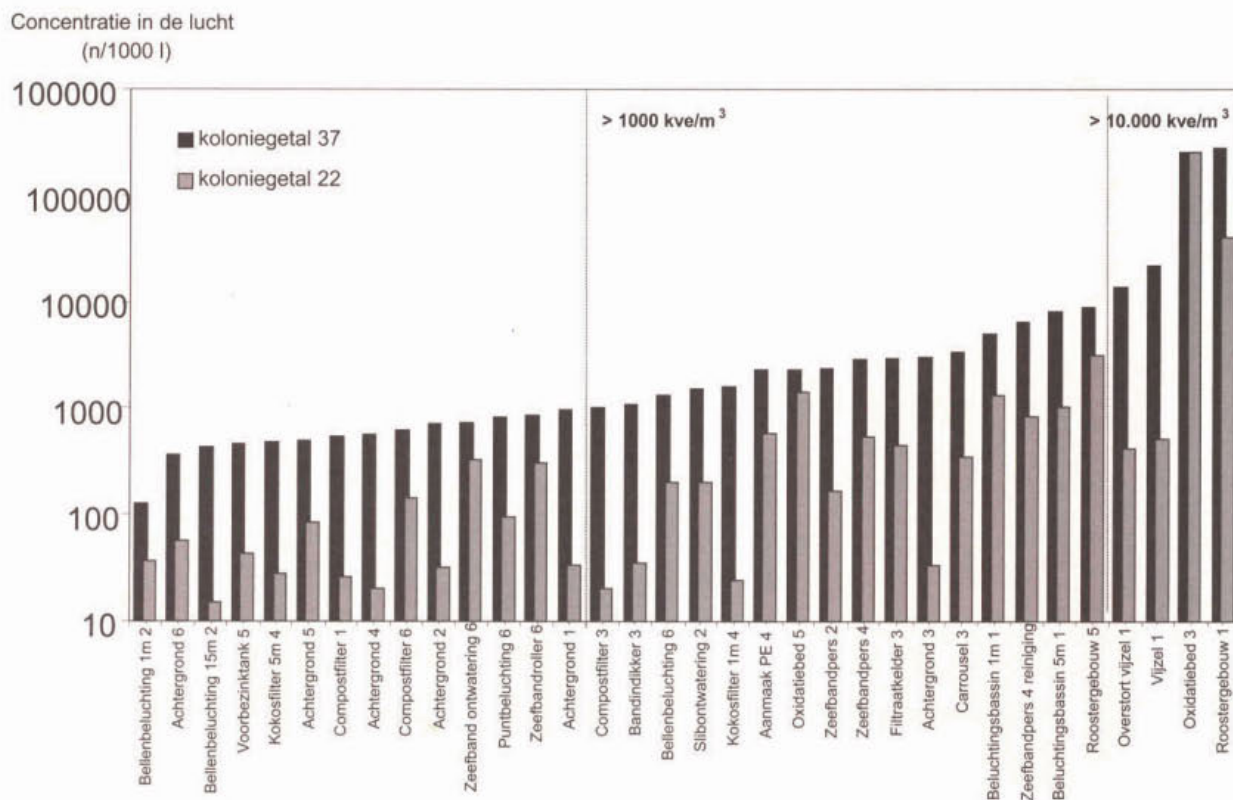
De metingen hebben plaats gehad in de laatste twee weken van november 2000 en in de eerste twee van december 2000, een koele en vochtige periode waardoor een worst-case situatie zo veel als mogelijk werd bereikt. Als worst-case situatie wordt een situatie beschouwd met weinig direct zonlicht (UV en indroging), een lage temperatuur, een hoge relatieve luchtvochtigheid (geen regen) en weinig wind. De luchttemperatuur tijdens het onderzoek was tussen 8 en 13 °C, de windsnelheid ongeveer 5 m/s en de relatieve luchtvochtigheid tussen 70% en 98%.

Tabel 8. Weersomstandigheden tijdens de aërosolmonstername.

Monsterpunt	1	2	3	4	5	6
	Apeldoorn	Gouda	Harderwijk	Reeuwijk Randenburg	Willem Annapolder	Walcheren
Datum	16/11	27/11	28/11	4/12	5/12	11/12
Luchttemperatuur °C	9,2	8,6	13	8,8	10,2	12,1
Luchttemperatuur °C KNMI	7,2	6,6	11,9	-	-	-
Rel. lucht vochtigheid %	98	95	98	79	>90	78
Rel. lucht vochtigheid % KNMI	95	94	96	-	-	-
Water temperatuur °C	10,4	12	12,7	11,9	13	12,5
Neerslag mm/dag	0,6	0,8	3,5	0,1	0,9	2,9
Zonnestraling J/cm <sup>2</sup>	167	359	108	-	-	-
Windsnelheid m/s	5,1	4,3	5,4	-	-	-

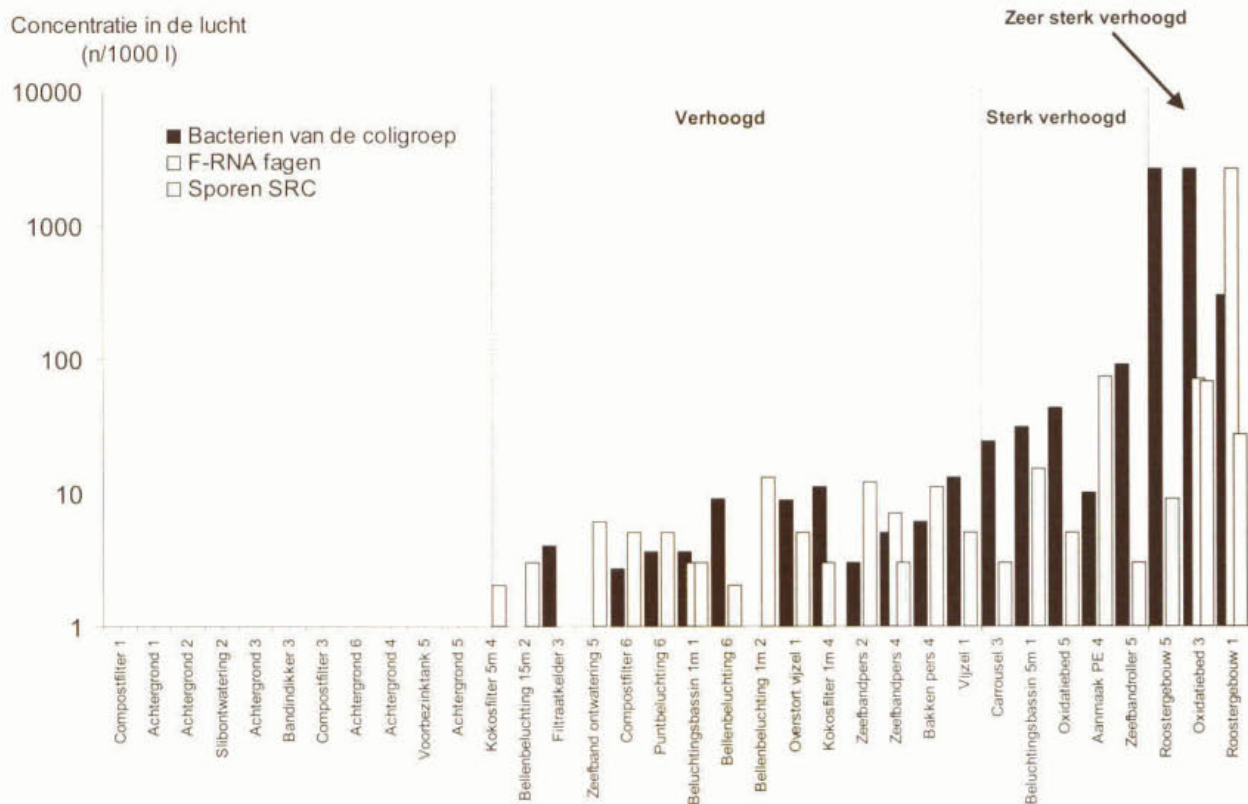
## 5.4 Micro-organismen in aërosolen

In figuur 4 zijn de meetgegevens van het koloniegetal 22°C en 37°C in aërosolen op de onderzochte locaties van de zes rwzi's weergegeven. Figuur 5 geeft de aërosolen met fecale micro-organismen (bacteriën van de coligroep, F-specifieke RNA-fagen en sporen van sulfietreducerende clostridia) weer. Let op, de concentraties staan op een log-schaal.



Figuur 4. Koloniegetal 22°C en koloniegetal 37°C op de verschillende locaties op rwzi's. Aangegeven zijn de grenswaarden zoals in het ARBO-informatieblad Biologische Agentia zijn genoemd: 1000 kve/m<sup>3</sup> voor Gram-negatieve bacteriën en 10.000 kve/m<sup>3</sup> voor totaal aantal bacteriën of schimmels.

Uit figuur 4 blijkt dat in de achtergrond (lucht bovenwinds van een rwzi) heterotrofe bacteriën aanwezig zijn, maar dat op veel locaties op de rwzi's het gehalte hoger is dan in de achtergrond; soms veel hoger. De meetgegevens zijn ingedeeld in klassen op basis van de indicatieve grenswaarden die in het ARBO-informatieblad Biologische agentia [Anoniem, 2000] worden beschreven voor de concentratie Gram-negatieve bacteriën en het totaal aantal bacteriën of schimmels.



Figuur 5. Concentraties bacteriën van de coligroep (*Coli37*), F-specifieke RNA fagen en sporen van sulfietreducerende clostridia (Sporen SRC) op de verschillende locaties op rwzi's. De concentraties zijn verhoogd op locaties waar een of meer micro-organismen zijn aangetroffen, sterk verhoogd boven de 10 per  $m^3$  en zeer sterk verhoogd boven de 100 per  $m^3$ .

Fecale micro-organismen worden in de achtergrond niet aangetroffen, maar wel op een groot aantal locaties op de rwzi's. De locaties zijn gerangschikt naar de index (gemiddelde concentratie van de drie groepen organismen). In de achtergrond zijn deze organismen niet aangetroffen. Elke locatie waar één of meer van deze micro-organismen in de lucht zijn aangetroffen, moet worden gezien als een locatie waar verhoging van de concentraties optreedt. De resultaten zijn geclassificeerd op basis van statistische kentallen (mediaan, 75- en 95-percentiel) als verhoogd, sterk verhoogd of zeer sterk verhoogd. Sterke tot zeer sterke verhoging werd gezien in het roostergebouw, boven afgedekte oxidatiebedden, boven sommige beluchtingsbassins en een vijzel, in de ruimte voor aanmaak van chemicaliën, in de zeebandpersruimte en nabij een kokosfilter. Tijdens het reinigen van de bakken van een zeebandpers met een waterspuit werden in de zeebandpersruimte beduidend meer fecale micro-organismen in de lucht aangetroffen.

De drie verschillende groepen micro-organismen lopen niet geheel parallel. In het roostergebouw (3) en boven het oxidatiebed waren de gehalten van alle drie de fecale micro-organismen sterk tot zeer sterk verhoogd. In het roostergebouw (5) waren wel de bacteriën van de coligroep en SSRC zeer sterk verhoogd maar niet de fagen. Bij de bellenbeluchting (2), het kokosfilter op 5 m afstand en de zeefbandontwatering (6) werden alleen verhoogde gehalten sporen SRC gevonden (de meest persistente micro-organismen), maar geen fagen of bacteriën van de coligroep. De sporen zijn verder op vrijwel elke locatie dat bacteriën van de coligroep worden gevonden aanwezig.

Uit de vergelijking van figuur 4 en 5 valt op dat de locaties waar zeer sterke verhoging in koloniegetallen werd gemeten ook de sterkste verhoging in fecale micro-organismen is gemeten. Dit geeft aan dat aërosolvorming aspecifiek is en alle micro-organismen uit afvalwater in de lucht brengt.

## **5.5 Invloed beluchtingssysteem**

Er zijn opvallende verschillen gevonden tussen de verschillende rwzi's. Bij de bellenbeluchting van de rwzi Gouda waren de koloniegetallen in de lucht laag en zijn ook geen bacteriën van de coligroep en F-RNA fagen gevonden. Dat er wel aërosolen werden gevormd blijkt uit de verhoogde concentratie sporen van sulfietreducerende clostridia. Bij de bellenbeluchting van rwzi Walcheren waren de koloniegetallen hoger (rond de mediaan), en werden wel bacteriën van de coligroep gevonden. Ook de sporen werden hier gevonden, in weer iets lagere concentraties dan in Gouda.

Bij puntbeluchting werden in de omgevingslucht altijd verhoogde tot sterk verhoogde concentraties bacteriën van de coligroep en sporen gevonden en in de meeste gevallen ook verhoogde tot sterk verhoogde koloniegetallen.

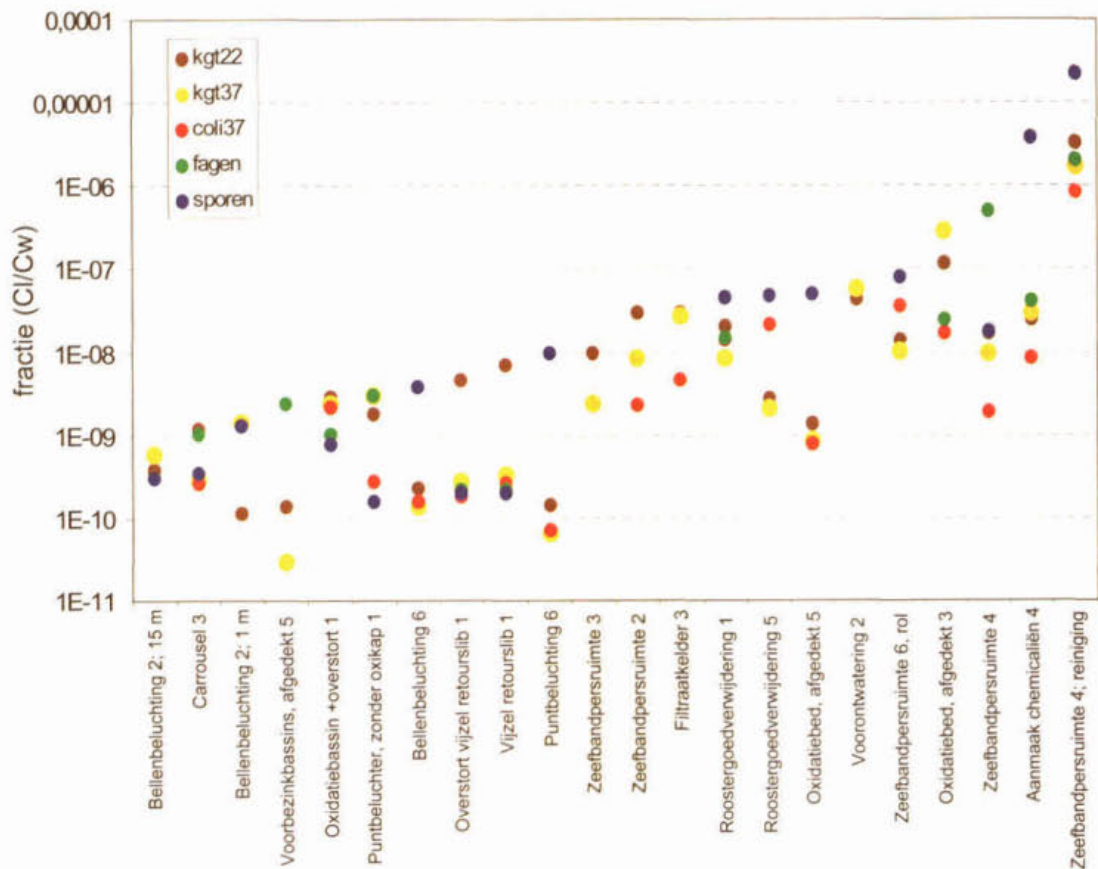
In de lucht boven overdekte oxidatiebedden is de concentratie van alle micro-organismen (zeer) sterk verhoogd.

## **5.6 Reiniging van installaties**

Bij één installatie is gemeten tijdens reiniging van een installatie (Reeuwijk Randenburg, reiniging zeefbandbak). Tijdens deze actie was het aantal micro-organismen in de lucht sterker verhoogd dan in dezelfde ruimte zonder reinigungsactie (vergelijk zeefbandpers 4 en zeefbandpers 4 reiniging in figuur 4 en 5).

## 5.7 Efficiëntie van aerosolvorming

De resultaten van het onderzoek in afvalwater staan weergegeven in Bijlage II. Op de locaties waar gemeten is in afvalwater en omgevingslucht kan de fractie micro-organismen die in de lucht is gebracht worden berekend. Dat is de basis voor de blootstellingsberekening in hoofdstuk 7 en 8, maar geeft ook een indruk over de locaties waar het meest efficiënt aerosolen in de lucht worden gebracht of aanwezig blijven. Tijdens de reinigingswerkzaamheden in de zeefbandpersruimte was de fractie het hoogst. Daarnaast blijkt dat in afgesloten ruimtes (zeefbandpersruimte, aanmaak PE, ruimte boven afgedekt oxidatiebed, filtraatkelder) de fractie hoog te zijn. Bij de beluchters was de fractie lager. Er van uitgaande dat de aerosolvorming bij de beluchters toch het hoogst is lijkt daaruit naar voren te komen dat de verversing van lucht in de buiteninstallaties en mogelijk de lagere luchtvochtigheid en hogere UV straling zorgt voor relatief lagere concentraties in de lucht. In



Figuur 6. Fractie van micro-organismen die uit verschillende processen in de omgevingslucht wordt gebracht.

de binnenruimtes, waar de luchtverversing minder goed is, blijven de aërosolen langer aanwezig en kunnen daardoor accumuleren tot hogere concentraties.

### **5.8 Contact personeel met aërosolen**

Er is een enquête terugontvangen van 64 medewerkers van Hoogheemraadschap van Rijnland, Waterschap Veluwe, Waterschap Zeeuwse Eilanden en van de Dienst Water & Riolering in Amsterdam. Onder de medewerkers die de enquête hebben ingevuld, bevonden zich zowel medewerkers die frequent bij de zuiveringsinstallaties aan het werk waren als medewerkers die zich minder vaak in de nabijheid van deze installaties bevinden. Dit betekent dat de verdeling van de blootstelling onder rwzi-medewerkers erg scheef is; de blootstelling van veel medewerkers is kort of infrequent, terwijl een relatief klein deel van de medewerkers regelmatig en/of lang aanwezig is op de plaatsen waar verhoogde gehalten aërosolen aanwezig zijn.

De frequentie en de duur van de aanwezigheid zijn omgerekend naar het aantal minuten dat de medewerker per dag aanwezig is op de desbetreffende locatie. Daarbij is de blootstelling onder normale en bijzondere omstandigheden samengevoegd omdat de verschillen op jaarbasis gering waren. In zijn algemeenheid waren de mediaan en 85-percentiel het hoogst voor de normale omstandigheden en de maxima het hoogst voor de bijzondere omstandigheden. De mediaan, het 95-percentiel en de maximale blootstelling van een rwzi-medewerker zijn in tabel 9 weergegeven. Uit de mediaan blijkt dat de gemiddelde medewerker het meest aanwezig zijn in de zeefbandpersruimte. De helft van de medewerkers is daar langer dan 12,9 minuut/dag, 95% zelfs langer dan 150 minuten/dag en het maximum is 180 min/dag. Op de overige locaties is de gemiddelde rwzi-medewerker enkele minuten per dag, met 5% van de medewerkers die enkele tientallen minuten per dag daar aanwezig zijn en maxima van 3 uur per dag.

### **5.9 Evaluatie**

De concentratie micro-organismen is op veel locaties op rwzi's verhoogd. Werknemers van de rwzi's worden blootgesteld aan verhoogde concentraties micro-organismen in de omgevingslucht. Dit geldt met name voor degenen die zich gedurende langere tijd (uren) bevinden in het roostergebouw, zeefbandpersruimte, onder de overkapping van

oxidatiebedden, ruimte voor aanmaak PE en vooral ook tijdens schoonmaakwerkzaamheden waarbij vuile oppervlakken worden schoongespoten. Van de compostfilters zelf komen nauwelijks kiemhoudende aerosolen vrij. Wel kunnen deze aerosolen vrijkomen wanneer de compostfilters intensief besproeid worden met rwzi-effluent.

*Tabel 9. Aanwezigheid van rwzi-medewerkers op plaatsen op rwzi's met aerosolen.*

Locatie	Mediaan	95%	Maximum
	min/dag	min/dag	min/dag
Roostergebouw	2.86	20.6	180
Binnen 10m van voorbezinkers	3.57	36.0	180
Binnen 10m van beluchtingsbassin	5.00	66.9	180
Nabij sproeiers oxidatiebed	0.25	48.8	68.6
In zeefbandpersruimte	12.9	150.0	180
In ruimte voor aanmaak PE	3.76	46.5	120
Binnen 10m van nabezinkers	3.57	120.0	360
Binnen 10m van luchtfilter	4.29	33.3	180
Binnen 10m van regenwatervijzel	1.32	4.93	7.14
Binnen 10m van slibretourvijzel	1.43	25.7	180
In slibgistingstanks*	0.37	3.95	5.00
Schoonsputten	4.29	32.1	180

\*Zonder adembescherming

## 6 Voorkomen van *Legionella* bij rwzi's

### 6.1 Selectie onderzoekslocaties

Voor het selecteren van de locaties die zijn onderzocht op het voorkomen van *Legionella* is gebruik gemaakt van de inventarisatie van locaties en de resultaten van het aërosolonderzoek en de enquête over de aanwezigheid van rwzi-medewerkers in fase 1 (zie hoofdstuk 5).

De locaties die zijn geselecteerd zijn: roostergebouw, beluchtingsbassin, oxidatiebed (overdekt), overstort slibretourvijzel, zeefbandpers, aanmaak poly-electrolyt, overkapte voorbezinktank, hydrofoor (op die locaties waar het water in de hydrofoor opwarmt in de zomer). De verdeling van de locaties over de rwzi's staat in tabel 10.

Tabel 10. Meetlocaties op de rwzi's

RWZI	Datum	Locaties
Apeldoorn	25 april 2001	rooster, puntbeluchter, vijzel overstort, compostfilter
Harderwijk	21 juni 2001	achtergrond, carrousel, oxidatiebed
Reeuwijk Randenburg	28 juni 2001	achtergrond, zeefbandpers, aanmaak PE
Willem Annapolder	26 juni 2001	achtergrond, rooster, oxidatiebed
Amsterdam-Oost	19 juni 2001	achtergrond, rooster, overkapte voorbezinker, beluchter

### 6.2 *Legionella* in aërosolen

Een overzicht van de meetgegevens is opgenomen in tabel 11. Daaruit blijkt dat *Legionella* in aërosolen wordt aangetroffen met de DFA en de PCR, maar niet met de kweekmethode. De kweekmethode gaf in de meeste gevallen geen betrouwbare uitslag vanwege overgroei door andere micro-organismen.

De DFA-methode voor *Legionella* spp. en voor *L. pneumophila* gaven hoge gehalten te zien. Het gehalte aan *L. pneumophila* lag op vrijwel alle locaties in dezelfde grootteorde als het gehalte *Legionella* spp. De verhouding in de gehalten *L.pneumophila*/*Legionella* gemeten met DFA is gemiddeld 96%, met als minimum 8% en als maximum 300%.

Bij Amsterdam-Oost en Willem Annapolder was het *Legionella*-gehalte in het achtergrondmonster met de DFA-methode relatief hoog, voor *L. pneumophila* zelfs hoger dan de gehalten gemeten op de locaties op de rwzi.



Met de PCR is *Legionella* op drie rwzi's aangetoond in de lucht op alle locaties van deze rwzi's. Op de twee overige rwzi's is nergens *Legionella* aangetroffen met de PCR. In de loop van dit onderzoek kwam een *L. pneumophila*-specifieke PCR ter beschikking. Deze is alleen ingezet op de rwzi's Harderwijk en Amsterdam-Oost. De resultaten daarvan kwamen overeen met de resultaten van de *Legionella* spp.-PCR.

Tabel 11. *Legionella* in aërosolen op rwzi's, gemeten met de kweekmethode, DFA en PCR.

	Kweek	DFA		PCR	
	AB+past	L. spp.	L. pneu	L. spp.	L.pneu
Volume	10 m <sup>3</sup>	10 m <sup>3</sup>	10 m <sup>3</sup>	10 m <sup>3</sup>	10 m <sup>3</sup>
<b>Apeldoorn</b>					
Achtergrond	n.b.	n.b.	n.b.	<	n.b.
Roostergebouw	n.t.b.	18400	21400	<	n.b.
Beluchtingsbassin	n.t.b.	38800	58100	<	n.b.
Overstort slibretourvizel	n.t.b.	14300	14300	+?	n.b.
Compostfilter	n.t.b.	<1000	2040	n.t.b.	n.b.
<b>Harderwijk</b>					
Achtergrond	<1	<4500	<4500	<5.6	<5.6
Oxidatiebed	<1	54000	4500	5.6	5.6
Carrousel	<1	120000	120000	5.6	56
<b>Reeuwijk Randenburg</b>					
Achtergrond	<1	2300	<2300	<5.6	n.b.
Zeebandpers	<10	41000	18000	56	n.b.
Aanmaak PE	<1	4500	2300	56	n.b.
<b>Willem Annapolder</b>					
Achtergrond	<10	14000	16000	560	n.b.
Oxidatiebed	<1	14000	4500	56	n.b.
Roostergebouw	<10	<2300	<2300	56	n.b.
<b>Amsterdam-Oost</b>					
Achtergrond	<5	2300	6800	<5.6	<5.6
Roostergebouw	<1,6	2300	4500	<5.6	<5.6
Beluchtingstank	<5	<2300	<2300	<5.6	<5.6
Overkapte voorbezinktank	<1,1	4500	2300	<5.6	<5.6

AB+past = kweekmedium met antibiotica en pasteurisatie

L. spp. = *Legionella* species; L. pneu = *Legionella pneumophila*

n.b. = niet bepaald

n.t.b. = niet te bepalen, vanwege storing van de analyse door de aanwezigheid van achtergrondflora

Opvallend was het hoge gehalte *Legionella* dat met de PCR-methode werd aangetroffen in het achtergrondmonster van Willem Annapolder. Omdat dit achter de dijk ligt, zou deze locatie beïnvloed kunnen zijn door aërosolen uit zeewater. In zeewater dat wordt beïnvloed door rioolozingen is ook *Legionella* aangetoond [Palmer *et al.*, 1993].

Er is geen significante correlatie gevonden tussen de *Legionella* gehalten die zijn gevonden met de verschillende detectiemethoden. Alleen de gehalten *Legionella* spp. en *Legionella pneumophila* met de DFA-methode zijn gecorreleerd ( $r=0,88$ ;  $p<0,001$ ). Er is ook geen correlatie gevonden tussen de gevonden gehalten *Legionella* en de overige parameters (kgt22, ATP en totaal gehalte aan cellen), noch tussen deze overige parameters onderling. Dat betekent dat de verschillende methoden naar verschillende bacteriepopulaties kijken. Gegeven de aard van de methoden is dat ook te verwachten in een heterogeen milieu voor bacteriën als afvalwater en actief slib.

Tabel 12. Koloniegetal 22°C, ATP en directe celtelling van aërosolen op rwzi's

	kgt22	ATP	DTC
	kve/m <sup>3</sup>	pg/m <sup>3</sup>	n/m <sup>3</sup>
<b>Apeldoorn</b>			
Roostergebouw	5,0 x 10 <sup>2</sup>		
Beluchtingsbassin	1,2 x 10 <sup>3</sup>		
Overstort slibretourvijzel	7,7 x 10 <sup>2</sup>		
Compostfilter	1,7 x 10 <sup>2</sup>		
<b>Harderwijk</b>			
Achtergrond	1,1 x 10 <sup>3</sup>	2,4 x 10 <sup>3</sup>	3,2 x 10 <sup>6</sup>
Oxidatiebed	1,2 x 10 <sup>3</sup>	2,0 x 10 <sup>4</sup>	8,1 x 10 <sup>7</sup>
Carrousel	4,0 x 10 <sup>3</sup>	4,0 x 10 <sup>3</sup>	8,1 x 10 <sup>7</sup>
<b>Reeuwijk Randenburg</b>			
Achtergrond	8,4 x 10 <sup>3</sup>	7,1 x 10 <sup>3</sup>	1,8 x 10 <sup>6</sup>
Zeebandpers	4,7 x 10 <sup>4</sup>	7,3 x 10 <sup>3</sup>	4,4 x 10 <sup>6</sup>
Aanmaak PE	1,2 x 10 <sup>3</sup>	4,5 x 10 <sup>3</sup>	1,4 x 10 <sup>6</sup>
<b>Willem Annapolder</b>			
Achtergrond	7,1 x 10 <sup>3</sup>	8,9 x 10 <sup>3</sup>	3,1 x 10 <sup>6</sup>
Oxidatiebed	2,6 x 10 <sup>3</sup>	4,5 x 10 <sup>3</sup>	1,9 x 10 <sup>6</sup>
Roostergebouw	8,7 x 10 <sup>3</sup>	4,0 x 10 <sup>3</sup>	1,8 x 10 <sup>6</sup>
<b>Amsterdam-Oost</b>			
Achtergrond	1,8 x 10 <sup>3</sup>	2,6 x 10 <sup>3</sup>	9,8 x 10 <sup>7</sup>
Roostergebouw	2,2 x 10 <sup>3</sup>	4,3 x 10 <sup>3</sup>	2,6 x 10 <sup>8</sup>
Beluchtingstank	1,1 x 10 <sup>3</sup>	2,5 x 10 <sup>3</sup>	2,2 x 10 <sup>8</sup>
Overkapte voorbezinktank	1,8 x 10 <sup>3</sup>	4,7 x 10 <sup>3</sup>	5,3 x 10 <sup>8</sup>

n.b. = niet bepaald

### 6.3 Koloniegetallen, ATP en directe celtelling in aërosolen

De meetgegevens voor koloniegetal 22°C, ATP-gehalte en het totaal aantal bacteriën (directe celtelling) in de lucht op de diverse onderzochte locaties op de rwzi's zijn weergegeven in tabel 12. Uit deze metingen blijkt dat de concentraties van het totale aantal bacteriën in de lucht (gemeten met de directe celtelling (DTC)) zeer hoog zijn (1.000.000 – 100.000.000 per m<sup>3</sup>). De concentratie kweekbare bacteriën op PCA bij 22°C ligt op de meeste locaties (inclusief de achtergrond) boven de 1000/m<sup>3</sup>, alleen in de zeefbandpersruimte van Reeuwijk Randenburg ligt de concentratie boven de 10.000/m<sup>3</sup>, de indicatieve grenswaarde uit het ARBO-informatieblad Biologische agentia.

### 6.4 *Legionella* in afvalwater

Met de kweekmethode is geen *Legionella* aangetroffen in afvalwater. Ook hier werd dat mede veroorzaakt door overgroei door andere organismen. Met de DFA-methode werden op alle locaties hoge gehalten gemeten (10<sup>7</sup> – 10<sup>8</sup> per ml). Daarbij was in de meeste locaties het gehalte aan *L. pneumophila* vergelijkbaar met *Legionella* spp. Alleen in het roostergebouw in Amsterdam-Oost en het oxidatiebed van Harderwijk waren er duidelijke verschillen tussen beide DFA-methoden. In Reeuwijk Randenburg kon door de aanwezigheid van veel achtergrond de DFA-telling niet worden bepaald.

### 6.5 *Legionella* in hydroforen

Op 30 augustus 2001 (de warme periode) zijn er vier hydroforen op drie verschillende rwzi's onderzocht (Gouda, Reeuwijk Randenburg en Haarlem). De hydroforen bevatten water dat langere tijd stilstaat en op kan warmen. Tabel 14 geeft een overzicht van de resultaten. Daaruit blijkt dat geen kweekbare *Legionella* zijn aangetroffen in hydroforen. De DFA en de PCR gaven aan dat *Legionella* spp. aanwezig zijn in het water in concentraties van 10<sup>4</sup> per liter en hoger. De PCR liet zien dat deze *Legionella* geen *L. pneumophila* zijn.

Tabel 13. Legionella op diverse locaties van de rwzi's

	Kweek	DFA		PCR	
	AB+past	L. spp.	L. pneu	L. spp.	L.pneu
Volume	ml	ml	ml	ml	ml
<b>Apeldoorn</b>					
Roostergebouw	n.t.b.				
Beluchtingsbassin	n.t.b.				
Overstort slibretourvijzel	n.t.b.				
Compostfilter	n.t.b.				
<b>Harderwijk</b>					
Oxidatiebed	<200	$5,0 \times 10^8$	$1,9 \times 10^4$	$5 \times 10^5$	n.b.
Carrousel	n.t.b.	$6,4 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$5 \times 10^5$	n.b.
<b>Reeuwijk Randenburg</b>					
Aanmaak PE	<2	n.t.b.	n.t.b.	n.t.b.	n.b.
<b>Willem Annapolder</b>					
Oxidatiebed	<200	$5,5 \times 10^7$	$6,3 \times 10^7$	$5 \times 10^5$	n.b.
Roostergebouw	<20	$6,7 \times 10^7$	$5,7 \times 10^7$	$5 \times 10^5$	n.b.
<b>Amsterdam-Oost</b>					
Roostergebouw	<20	$6,9 \times 10^4$	$7,3 \times 10^7$	$5 \times 10^5$	n.b.
Beluchtingstank	<200	$3,06 \times 10^8$	$5,9 \times 10^8$	$5 \times 10^5$	n.b.
Overkapte voorbezinktank	<200	$5,1 \times 10^7$	$3,7 \times 10^7$	$5 \times 10^5$	n.b.

AB+past = kweekmedium met antibiotica en pasteurisatie

L. spp. = *Legionella* species

L. pneu = *Legionella pneumophila*

n.b. = niet bepaald

n.t.b. = niet te bepalen, vanwege storing van de analyse door de aanwezigheid van achtergrondflora

Tabel 14. Legionella in hydroforen

	Kweek	DFA		PCR	
	AB+past	L. spp.	L. pneu	L. spp.	L.pneu
Volume	l	l	l	l	l
Haarlem	<50	$1,6 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	$>1,0 \times 10^4$	<10
Reeuwijk Randenburg	<50	$1,6 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$>1,0 \times 10^4$	<10
Gouda 9502/3	<50	$2,6 \times 10^4$	$3,8 \times 10^4$	$>2,5 \times 10^4$	<25
Gouda 9602	<50	$2,6 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$>2,5 \times 10^4$	<25

## 6.6 Koloniegetallen, ATP en directe celtelling in water

De koloniegetallen 22°C liggen op alle locaties in de grootteorde van  $10^6 - 10^7$  per ml. Het totaal aantal bacteriën met de directe celtelling lag daar een factor 1000 of meer boven (tabel 15). Slechts 0,1 % of minder van de totaal aanwezige bacteriën is dus kweekbaar op PCA bij 22°C. Dat betekent dat er in afvalwater nog beduidend meer bacteriën aanwezig zijn dan met het koloniegetal 22°C wordt aangetoond. Diezelfde verhouding is ook in de lucht aangetroffen (zie tabel 12). Dat geeft aan dat, zoals verwacht, voor alle bacteriën de mate waarin zij in de lucht worden gebracht vergelijkbaar is.

Tabel 15. Koloniegetal 22°C, ATP-gehalte en totaal aantal bacteriën op diverse locaties

	kgt22	ATP	DTC
	kve/ml	pg/ml	n/ml
<b>Harderwijk</b>			
Oxidatiebed	$1,3 \times 10^7$	$3,8 \times 10^4$	$6,8 \times 10^{10}$
Carrousel	$1,2 \times 10^7$	$1,9 \times 10^4$	$3,3 \times 10^{10}$
<b>Reeuwijk Randenburg</b>			
Aanmaak PE	$1,4 \times 10^6$	$1,7 \times 10^4$	$7,0 \times 10^8$
<b>Willem Annapolder</b>			
Oxidatiebed	$3,3 \times 10^6$	$1,4 \times 10^4$	$3,7 \times 10^9$
Roostergebouw	$2,6 \times 10^6$	$6,5 \times 10^4$	$1,8 \times 10^{10}$
<b>Amsterdam-Oost</b>			
Roostergebouw	$9,2 \times 10^6$	$2,9 \times 10^4$	$2,0 \times 10^{10}$
Beluchtingstank	$7,2 \times 10^6$	$2,1 \times 10^5$	$7,2 \times 10^{10}$
Overkapte voorbezinktank	$4,6 \times 10^6$	$2,1 \times 10^5$	$2,8 \times 10^{11}$

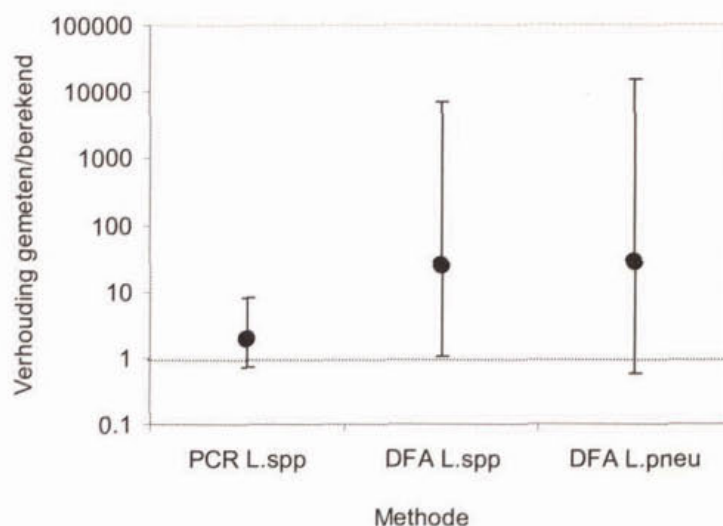
## 6.7 Consistentie van resultaten

De verschillende methoden voor het aantonen van *Legionella* geven een sterk verschillend beeld over het voorkomen van *Legionella* in de omgevingslucht op rwzi's. Zoals is aangegeven in hoofdstuk 3 is er naast de metingen van *Legionella* in omgevingslucht ook een indirecte manier om deze concentraties in te schatten: uit de metingen van *Legionella* in afvalwater en de fractie bacteriën die uit afvalwater in de lucht wordt gebracht. Daarvoor is gebruik gemaakt van de fractie van het koloniegetal 22°C, die op elke locatie op dezelfde tijd is gemeten als *Legionella*. Vergelijking van de op deze manier berekende concentraties met de gemeten concentraties met de verschillende detectiemethoden, geeft een indruk van de consistentie van de resultaten. Figuur 7 laat zien dat met de PCR-methode de metingen en

berekening van de concentratie *Legionella* in de lucht betrekkelijk goed overeenkomen (geometrisch gemiddelde verhouding is 2,0). Ook de spreiding van dit gegeven tussen locaties is beperkt. Met de DFA-methoden wordt veel meer in de lucht gemeten dan op basis van de berekeningen wordt ingeschat (geometrisch gemiddelde verhouding is 24), met maxima naar 7500 – 15000x hogere metingen dan berekeningen op sommige locaties.

Dat betekent ook dat de mate van aërosolisatie van *Legionella*, gemeten met de PCR-methode (detecteert levende en dode cellen), overeenkomt met die van het koloniegetal 22°C (detecteert alleen levende bacteriecellen). Gemeten met de DFA-methode is de aërosolisatie van *Legionella* duidelijk hoger dan van koloniegetal-bacteriën.

De verhouding was niet duidelijk beter of slechter op buitenlocaties of in afgesloten ruimtes of op specifieke locaties. Omdat voor de PCR-methode de aërosolvorming consistent is met de kweekmethode, en de PCR-methode specifiek is worden deze resultaten beschouwd als indicatie voor het totaal aantal (levende en dode) *Legionella* bacteriën in de lucht. Ervaringen met de DFA methode in dit onderzoek en in onderzoek van drinkwatermonsters geven aan dat de antilichamen ook hechten aan andere micro-organismen en deeltjes dan *Legionella*. Deze micro-organismen en deeltjes waren morfologisch te onderscheiden van *Legionella*, maar in rioolwater en luchtmonsters komen veel bacteriën voor die morfologisch niet van *Legionella* te onderscheiden zijn. De DFA-methode wordt dus niet voldoende betrouwbaar geacht voor dit onderzoek.



*Figuur 7. Verhouding tussen de gemeten en berekende concentratie Legionella in de lucht. Bij een verhouding van 1 zijn meting en berekening gelijk. De concentratieberekening is uitgevoerd op basis van gemeten Legionella concentraties in afvalwater en de mate van aërosolisatie van het koloniegetal 22°C. De foutbalken geven de minimale en maximale verhouding weer.*



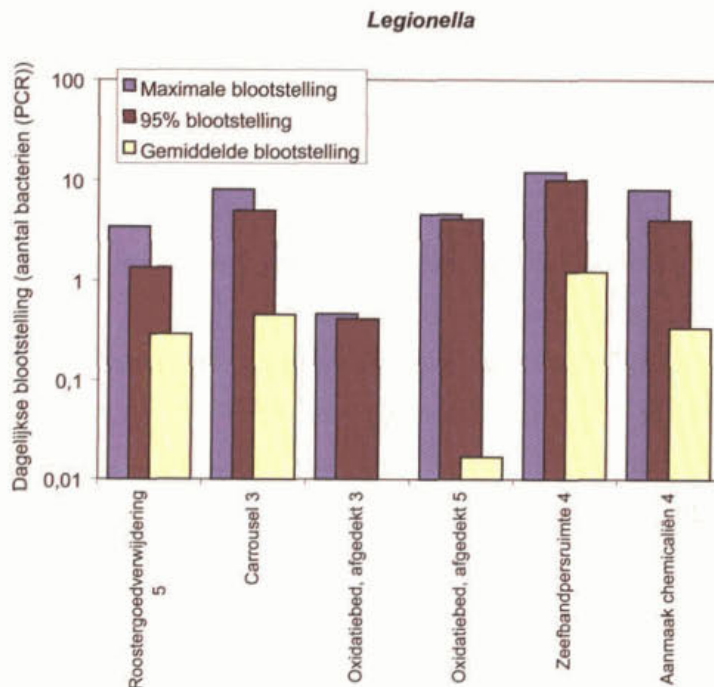
## 7 Evaluatie blootstelling *Legionella*

### 7.1 Berekening blootstelling rwzi medewerkers aan *Legionella* via aerosolen

Het gehalte *Legionella* in de lucht op diverse plaatsen in rwzi's is bepaald aan de hand van kweek op BYCE, DFA en PCR. De kweekmethode heeft geen bruikbare resultaten opgeleverd vanwege de overgroei van de platen door andere micro-organismen. Daardoor is de aanwezigheid van kweekbare *Legionella* niet te beoordelen. Met de PCR methode werden gehalten van 5,6 – 560 per 10 m<sup>3</sup> aangetroffen. Het gehalte aan *L. pneumophila* in dezelfde grootteorde als het totale *Legionella*-gehalte.

Voor de analyse van de blootstelling van de medewerkers van rwzi's aan *Legionella* via aerosolen zijn de gehalten zoals gemeten met de PCR methode gebruikt. Zoals aangegeven detecteert de PCR zowel dode als levende cellen. Detectie van *Legionella pneumophila* met PCR in aerosolen in de directe nabijheid van de bron van de aerosolen wordt gezien als een indicatie dat levende, infectieuze *L. pneumophila* in de lucht op rwzi aanwezig kan zijn.

De dagelijkse blootstelling van medewerkers aan *Legionella* op de verschillende locaties is berekend door de concentratie *Legionella* in de omgevingslucht (tabel 11) te vermenigvuldigen met de aanwezigheid (frequentie x duur in minuten per dag, zie tabel 9) en het ademvolume (12 liter/minuut).



Figuur 7. Blootstelling van rwzi-medewerkers aan *Legionella* op diverse locaties op de rwzi's



Uit bovenstaande figuur blijkt dat blootstelling aan *Legionella* via de lucht plaatsvindt op een aantal locaties op de rwzi. Voor de gemiddelde medewerker van een rwzi ligt de blootstelling via alle locaties tezamen op 2,3 *Legionella* bacteriën (dood en levend) per dag. Voor de 5% medewerkers die intensief in contact komen met de lucht op de plaatsen waar *Legionella* aërosolen voorkomen, ligt de blootstelling op 25 *Legionella* bacteriën per dag, met als maximale blootstelling 37 *Legionella* bacteriën per dag. De blootstelling is het hoogst in afgesloten ruimtes: boven een oxidatiebed, in het roostergebouw, in de zeefbandpersruimte en de ruimte voor aanmaak van chemicaliën. Buiten vindt blootstelling plaats rond de beluchtingsbassins, hoewel in de lucht daarboven niet altijd *Legionella* wordt aangetroffen.

## 7.2 Betekenis van deze blootstelling

Een indicatie voor de betekenis van de gevonden *Legionella*-gehaltenes in de lucht zou kunnen worden gehaald uit een vergelijking met aërosolgehaltenes die in andere situaties zijn gemeten, met name in situaties waar ziektegevallen zijn opgetreden. Daarbij zou de meest ideale situatie zijn als er een grenswaarde kon worden afgeleid voor het gehalte *Legionella* in de lucht, waar beneden geen gezondheidseffecten te verwachten zijn. Hoewel veel onderzoek is gedaan naar *Legionella*, is het onderzoek naar *Legionella* in aërosolen beperkt. Er zijn nauwelijks studies waar naast onderzoek van patiënten en onderzoek van de waterinstallaties ook onderzoek is gedaan naar het gehalte aan *Legionella*-aërosolen. In een studie van Breiman *et al.* [1990] is wel onderzoek gedaan naar *Legionella* in aërosolen. In een bejaardenhuis waar zich gevallen van legionellose hadden voorgedaan wees het epidemiologisch onderzoek duidelijk in de richting van een ruimte die door een luchtbevochtiger werd doorblazen. Onderzoek van het water in de luchtbevochtiger toonde *Legionella (pneumophila serogroep 1)* aan (9000/ml) en in de lucht in deze ruimte werden 20 *Legionella* per m<sup>3</sup> aangetroffen in gekweekte aërosolmonsters. De lucht direct bij de uitlaat van de bevochtiger bevatte zelfs 2300 *Legionella* per m<sup>3</sup>.

Andere studies waar *Legionella*-gehaltenes in aërosolen zijn gerapporteerd zijn samengevat in tabel 16, samen met de gehaltenes die op de positieve locaties in deze studie zijn aangetroffen. De gehaltenes die in deze studie zijn gevonden zijn vergelijkbaar met de studie van Pascual *et al.* [2001] op een rwzi en liggen in dezelfde grootteorde als de gehaltenes gevonden in de lucht in douches en nabij gootstenen waar geen ziektegevallen of seroconversie (afweersysteemrespons die aangeeft dat blootstelling in het verleden heeft plaatsgevonden) werd aangetroffen.

Tabel 16. *Legionella*-gehalte in omgevingslucht van waterinstallaties

	Ziekte-gevallen	<i>Legionella</i> -gehalte in aërosolen (n/m <sup>3</sup> )	Detectie methode	Referentie
Douches	nee	4.7	kweek	Bollin <i>et al.</i> , 1985
Kranen	nee	8.1	kweek	Bollin <i>et al.</i> , 1985
Douches	nee	0.33	kweek	Dennis <i>et al.</i> , 1984
Ruimte met airco	ja	20	kweek	Breiman <i>et al.</i> , 1990
Luchtbevochtiger	ja	2300	kweek	Breiman <i>et al.</i> , 1990
Douches	ja	190	kweek	Breiman <i>et al.</i> , 1990b
Lucht rond koeltoren	?	20 – 2580	kweek	Tyndall <i>et al.</i> , 1985
Rwzi	nee	nd*	kweek	Pascual <i>et al.</i> , 2001
Rwzi	nee	+**	PCR	Pascual <i>et al.</i> , 2001
Rwzi	nee	nd*	kweek	deze studie
Rwzi	nee	0,56 - 56	PCR	deze studie

\* nd: niet te detecteren door groei van andere micro-organismen

\*\* In 4 van de 20 monsters bij beluchtingsbassin en roostergebouw

Het gehalte dat in deze studie op rwzi's is gevonden was niet veel lager dan het gehalte (via kweek gedetecteerd) in de ruimte in het bejaardenhuis uit de studie van Breiman *et al.* [1990]. De gehalten op de rwzi's zijn echter gemeten met de PCR-methode en is er dus geen onderscheid tussen levende en dode *Legionella*-bacteriën te maken. Als aangenomen wordt (*worst-case*) dat alle met PCR gedetecteerde *Legionella* levende cellen liggen de gehalten in dezelfde grootteorde.

Via koeltorens van elektriciteitscentrales en koelinstallaties in airconditioningsystemen boven op gebouwen zijn diverse *outbreaks* van legionellose beschreven [Breiman & Butler, 1998]. Dit geldt zowel voor medewerkers van de centrale die in de koeltorens handelingen moesten verrichten als mensen die in de omgeving (maar niet directe nabijheid) van een dergelijke bron aanwezig waren geweest. In het advies van de Gezondheidsraad uit 1986 wordt hier ook aan gerefereerd. In dit advies wordt een inschatting gemaakt van het gehalte *Legionella* in de lucht in de koeltoren. Uitgaande van 1000 *Legionella*-bacteriën per ml, een drift van 0,01%, een waterstroom van 2000 m<sup>3</sup> per minuut en een luchtstroom van 1,5 x 10<sup>6</sup> m<sup>3</sup>/minuut, is een *Legionella*-gehalte in de uitstroamlucht van de koeltoren berekend van 130 per m<sup>3</sup>. Op de grond in de omgeving werd verwacht dat de gehalten door afsterving en dispersie met de wind beduidend lager zal zijn, vrijwel altijd beneden 100 per m<sup>3</sup>. In verdampingscondensoren van een airconditioningsinstallatie zou de drift groter kunnen zijn (0,1 – 0,5%) en wordt 500 liter lucht per liter circulerend water gebruikt. De Gezondheidsraad berekende dat de

uitgaande lucht hier 2.000 – 10.000 *Legionella*-bacteriën per m<sup>3</sup> zou kunnen bevatten. Ook hier zou het gehalte op de grond -daar waar de mensen blootgesteld worden- laag zijn. Opgemerkt wordt dat de waterstroom die in deze berekening is meegenomen veel hoger is dan de meeste Nederlandse praktijkinstallaties.

Het blijft moeilijk om op basis van aantallen *Legionella* het risico in te schatten. Daarvoor zitten er, naast de moeilijke detectie van dit organisme in afvalwater en lucht, nog steeds een aantal hiaten in de kennis over *Legionella*-infecties. Er is geen dosis-responsrelatie voor *Legionella*-infecties bij de mens. Aan de ene kant suggereren experimenten waarbij cavia's aan *Legionella*-aërosolen worden blootgesteld dat een hoge dosis nodig is voor infectie. Ook de afwezigheid van persoon-persoon overdracht suggereert dat. Aan de andere kant lijkt het erop dat *Legionella*-infecties kunnen worden veroorzaakt door inademing van lage aantallen *Legionella*. O'Brien & Bhopal [1993] noemden dit "de infectieuze dosis-paradox".

Mogelijk dat verschil in virulentie, zelfs binnen *L. pneumophila* serogroep 1, hierbij een rol speelt. Een andere factor hierbij is de overleving van *Legionella* in aërosolen en de rol die amoeben en andere micro-organismen daarbij spelen (hier niet onderzocht).

### 7.3 Evaluatie

Op diverse plaatsen op de onderzochte rwzi's is *Legionella pneumophila* aangetroffen met de PCR methode. De gevonden gehalten waren laag in vergelijking met de gehalten gemeten rondom koeltorens en de uitlaat van verdampingscondensoren van airconditioners. Er zijn in Nederland of de internationale literatuur geen meldingen gemaakt van *Legionella*-pneumonie bij medewerkers van rwzi's, wel van Pontiac fever bij medewerkers van een awzi na schoonmaakwerkzaamheden aan een slibindikker.

Het is niet goed aan te geven of de resultaten van de PCR een betrouwbare weergave zijn van het gehalte aan levende, infectieuze *Legionella pneumophila* in de aërosolen. De detectie is wel een duidelijke indicatie voor hun aanwezigheid in de lucht op rwzi's en kan gezien worden als een *worst-case* benadering van de concentratie in de lucht. Er is dus een duidelijke indicatie voor de blootstelling van rwzi-medewerkers aan *Legionella pneumophila*. De blootstelling vindt vooral plaats in afgesloten ruimtes, maar ook de beluchtingsbassins kunnen een bijdrage leveren. De medewerkers die het meest in de aangegeven ruimtes aanwezig zijn, krijgen beduidend hogere gehalten *Legionella* binnen dan de gemiddelde medewerker. In vergelijking met wat er in de literatuur bekend is over risicovolle

blootstelling aan *Legionella* zijn de gehalten in de omgevingslucht van rwzi's laag; niet zoveel lager dat op basis daarvan een risico kan worden uitgesloten, maar wel zodanig dat een verhoogd risico niet aannemelijk moet worden geacht.

Daarbij moet nog wel in acht worden genomen dat de hier onderzochte locaties wel representatief waren voor de sector, maar de bevindingen niet zonder meer naar alle individuele locaties kunnen worden vertaald. Met name op locaties waar de gehalten *Legionella* hoger zouden kunnen zijn dan gevonden in deze studie (met name locaties met hogere watertemperatuur, bijvoorbeeld als gevolg van koelwaterlozingen of in hydroforen die in de zomerperiode kunnen opwarmen) zijn aanvullende metingen noodzakelijk om ook hier een risico als onaannemelijk te kunnen kenschetsen.

#### 7.4 Conclusies

Uit dit onderzoek kunnen de volgende conclusies worden getrokken over het risico van *Legionella* voor rwzi-medewerkers:

1. Uit dit onderzoek blijkt dat *Legionella pneumophila* voorkomt in rioolwater en in de lucht op rwzi's.
2. Er is niet een meest geschikte methode voor de detectie van *Legionella* in afvalwater of aerosolen. De PCR-methode heeft voor deze studie de meest bruikbare resultaten opgeleverd. De DFA-methode overschat waarschijnlijk de concentratie *Legionella*. Met de kweekmethode is geen *Legionella* aangetroffen, maar die werd op veel locaties ook sterk gehinderd door overgroei. Voor onderzoek in afvalwater en/of lucht op andere locaties wordt aanbevolen de PCR- en kweekmethode toe te passen.
3. Vanwege de detectie met PCR is het niet zeker dat het levensvatbare, infectieuze *Legionella* betreft, maar het is plausibel om aan te nemen dat minstens een deel daarvan levensvatbaar en infectieus is. De gehalten gemeten met de PCR-methode kunnen worden gezien als *worst-case* schatting.
4. Het gehalte *Legionella* verschilt per rwzi, op twee rwzi's werd *Legionella* niet aangetroffen in de lucht en op drie rwzi's wel. De gehalten varieerden van 0,56-56 per m<sup>3</sup>.
5. De berekende blootstelling van rwzi-personeel aan *Legionella pneumophila* varieert van 2,3 *Legionella pneumophila* per dag voor de gemiddelde medewerker tot 25 per dag voor de 5% van de medewerkers die veel in de ruimtes met aerosolen aanwezig zijn.

6. De gehaltenes *Legionella* in de lucht zijn laag in vergelijking met aantallen (gekweekt) in de lucht uit airconditioners en rondom koeltorens waarvan bekend is dat daar *Legionella*-infecties zijn opgetreden.



## 8 Analyse blootstelling andere biologische agentia

### 8.1 Risicoanalyse fecale ziekteverwekkers

*Doel* - Het maken van een inschatting van het infectierisico van fecale pathogenen voor rwzi-medewerkers.

*Aanpak* - Op basis van de gegevens over bacteriën, fagen en sporen (uit 3.1.2) in de omgevingslucht en literatuurgegevens over de gehalten 'enteric' virussen, darmbacteriën (*Campylobacter*) en pathogene darmprotozoa (*Cryptosporidium*) in rioolwater is een inschatting gemaakt van de blootstelling van rwzi-medewerkers aan deze pathogenen op de verschillende locaties op de rwzi. Daarbij is de aërosolisatie van bacteriën van de coligroep gebruikt als model voor darmbacteriën, zoals *Campylobacter*; F-specifieke RNA fagen zijn gebruikt als model voor virussen en sporen als model voor parasieten zoals *Cryptosporidium*. Omdat voor deze ziekteverwekkers een dosis-responsrelatie beschikbaar is, is de blootstelling omgerekend naar een infectierisico. Deze is vergeleken met de incidentie van deze infecties in de algemene bevolking, om te zien of het risico voor rwzi-medewerkers is verhoogd.

*Opbrengst* - Inschatting van het infectierisico van rwzi-medewerkers voor fecale pathogenen en vergelijking daarvan met het voorkomen van deze ziekteverwekkers in de algemene bevolking.

### 8.2 Selectie pathogenen

Van de circa 100 bekende darmpathogenen is een selectie gemaakt van drie micro-organismen. Als selectiecriteria zijn gebruikt:

- er moeten micro-organismen geselecteerd worden die representatief zijn voor de verschillende groepen ziekteverwekkers: bacteriën, virussen en parasitaire protozoa;
- er moeten kwantitatieve gegevens beschikbaar zijn over hun voorkomen in Nederlands rioolwater;
- er moet een dosis-respons-relatie beschikbaar zijn van de ziekteverwekker met humane vrijwilligers, teneinde blootstelling om te kunnen rekenen naar infectierisico.

Op basis van deze criteria is gekozen voor:

- *Campylobacter*: de meest voorkomende darmpathogene bacterie in Nederland. Informatie over het voorkomen van *Campylobacter* in rioolwater in Nederland is beschikbaar uit het onderzoek van Koenraad [1995].
- Enterovirussen: een groep van enteropathogene virussen die in Nederland voorkomen en waarvan het gehalte in rioolwater bekend is uit onderzoek van het RIVM [Medema *et al.*, 2001; de Roda Husman, 2001].
- *Cryptosporidium*: een darmparasiet die resistente oöcysten maakt, in Nederland voorkomt onder patiënten met darminfecties en relatief klein is (4 µm). Het gehalte in rioolwater is bekend uit RIWA onderzoek [Medema *et al.*, 2001].

### 8.3 Berekeningswijze

Om de blootstelling van rwzi-medewerkers aan deze ziekteverwekkers vast te stellen is de volgende berekening toegepast:

$$D = C_{\text{rioolwater}} \times f \times a \times t \quad (1)$$

waarin:

D = dosis ziekteverwekker die een rwzi-medewerker inademt (in aantal ziekteverwekkers per dag);

$C_{\text{rioolwater}}$  = de geometrisch gemiddelde concentratie ziekteverwekker in rioolwater (aantal per liter);

f = de fractie ziekteverwekker die vanuit rioolwater in de omgevingslucht wordt gebracht (dimensieloos: gehalte per m<sup>3</sup> lucht/gehalte per liter water);

a = ademvolume (in liter per minuut);

t = tijdsduur dat rwzi-medewerkers op de te onderzoeken locatie aanwezig zijn (in minuten/dag).

Het gehalte van de ziekteverwekkers in rioolwater (geometrisch gemiddelde) is uit bovengenoemde studies overgenomen. Op basis van de metingen aan fecale micro-organismen in water en lucht uit fase 1, is voor de verschillende locaties op de doorgemeten rwzi's vastgesteld welke fractie van deze micro-organismen in de lucht terecht kwamen.



Aangenomen is dat:

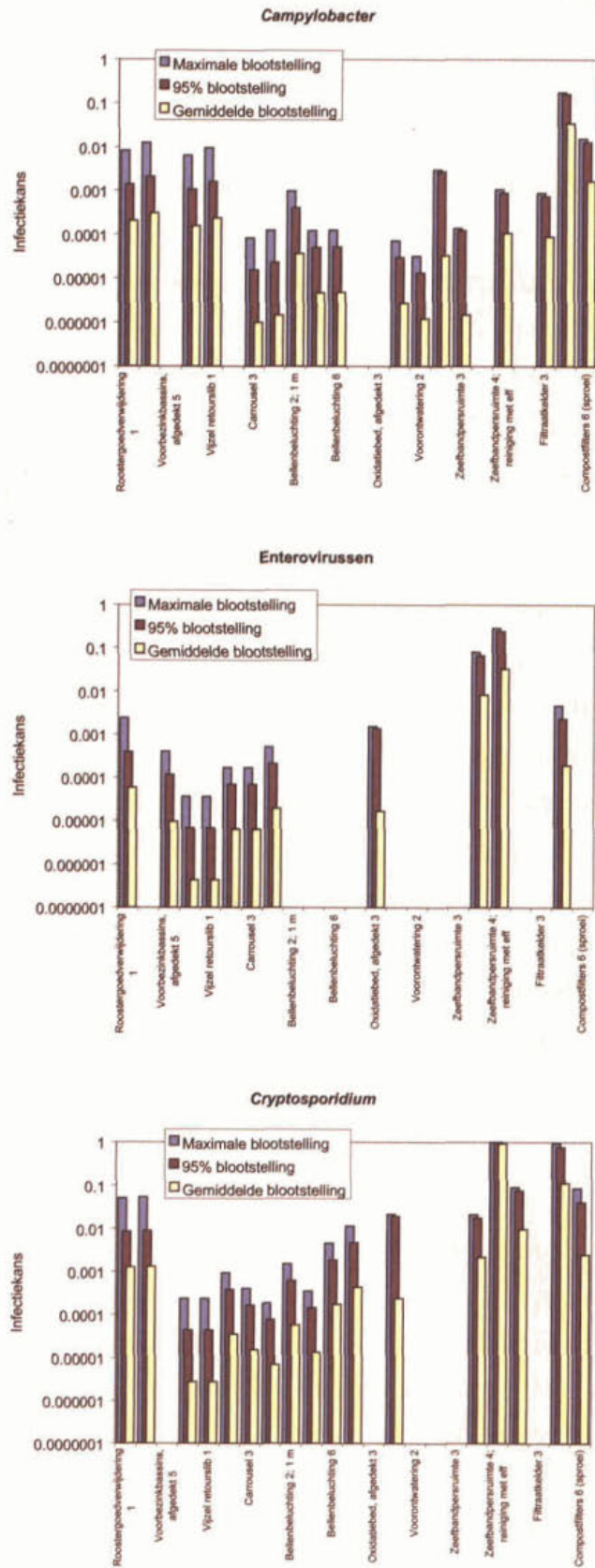
- de fractie die is gevonden voor bacteriën van de coligroep (darmbacteriën) ook van toepassing is voor *Campylobacter*;
- de fractie die is gevonden voor F-specifieke RNA-fagen ook van toepassing is voor enterovirussen (in de literatuur zijn aanwijzingen voorhanden die dit ondersteunen, zie hoofdstuk 2);
- de fractie die is gevonden voor sporen van sulfietreducerende clostridia ook van toepassing is voor *Cryptosporidium*.

Door gebruik te maken van de dosis-responsrelatie kan worden berekend wat het infectierisico is bij blootstelling aan een bepaalde dosis. Voor de geselecteerde pathogene micro-organismen is deze dosis-responsrelatie vastgesteld bij proeven met humane vrijwilligers. Voor *Campylobacter* is gebruik gemaakt van de dosis-responsrelatie van *C. jejuni* [Medema *et al.*, 1996], voor enterovirussen is de dosis-responsrelatie van Coxsackievirus genomen en voor *Cryptosporidium* de relatie voor *C. parvum* [Teunis *et al.*, 1997].

Dit zijn allemaal darmpathogenen die mensen kunnen ziek maken als de pathogenen worden ingeslikt en in het maagdarmkanaal terechtkomen. Bij het inademen van aerosolen met pathogenen komt maar een deel van de organismen daadwerkelijk in de darm terecht. Er zijn geen gegevens bekend over deze fractie. In deze berekening is ervan uitgegaan dat 10% van de pathogenen in de ingeademde aerosolen uiteindelijk (via invangen in slijmvliezen en inslikken) in het maagdarmkanaal terechtkomt.

Uitgaande van 280 werkdagen per jaar is het infectierisico per medewerker per jaar uitgedrukt bij blootstelling op de diverse locaties (Figuur 8). Omdat een medewerker natuurlijk op meerdere locaties wordt blootgesteld zal het totale risico dicht liggen bij de som van de risico's per locatie. Voor *Campylobacter* levert verblijf in de ruimte voor de aanmaak van chemicaliën het grootste deel van het risico. Daarnaast is sproeien van de compostfilters een belangrijke risicobron. Voor enterovirussen is dat de zeefbandpersruimte, met name tijdens schoonmaken. Voor *Cryptosporidium* leveren zowel de ruimte voor aanmaak chemicaliën als voor de zeefbandpers een groot aandeel in het risico. Ook het roostergebouw en sproeien van compostfilters is belangrijk voor het infectierisico van *Cryptosporidium*.

Net als voor *Legionella* is er een duidelijk verschil tussen verschillende medewerkers van de rwzi. In Figuur 8 is daarom het infectierisico berekend voor 50% van de medewerkers, voor de 5% van de medewerkers met de hoogste blootstelling en voor de medewerker met maximale blootstelling. Het verschil tussen de gemiddelde medewerker en degene die in de groep van 5% meest blootgesteld zit is een factor van ca. 10 – 30, m.a.w. het risico voor de



Figuur 8. Kans op infectie van rwzi-medewerkers door blootstelling aan aerosolen

meest blootgestelde groep medewerkers is 10 – 30 keer hoger dan voor de gemiddelde medewerker.

Benadrukt wordt dat een risico op infectie niet hetzelfde is als een risico op ziekte. Infectie is de eerste stap in het proces dat tot ziekte aanleiding kan geven, maar factoren als immuniteit kunnen betekenen dat een infectie zonder symptomen van ziekte verloopt.

Om een indruk te krijgen van de betekenis van de berekende infectierisico's kan dit worden vergeleken met:

1. het voorkomen van deze ziekteverwekkers in de algemene bevolking. Uit epidemiologisch onderzoek van het RIVM, samen met het NIVEL, komt een schatting van het voorkomen van infectieziekten van het maagdarmkanaal in de Nederlandse bevolking: jaarlijks lopen ca. 4 miljoen Nederlanders een dergelijke infectieziekte op [de Wit *et al.*, 2001]. Dat betekent een gemiddeld ziekterisico van 0,25 per persoon per jaar.
2. de eis die het Waterleidingbesluit stelt aan de kwaliteit van drinkwater. Deze moet zodanig zijn dat het infectierisico beneden de  $10^{-4}$  per persoon per jaar ligt. Omdat de eisen aan drinkwater hoog zijn, is dit geen gelijkwaardige maat om het risico van rwzi-medewerkers in een werksituatie waarin veel ziekteverwekkers voorkomen mee te vergelijken, maar geeft het wel een indruk van de verschillende risiconiveaus.

Als de berekende infectierisico's op rwzi's hiermee worden vergeleken dan blijkt op veel locaties het risico hoger te zijn dan voor drinkwater toelaatbaar wordt geacht. Voor de locaties zeebandpersruimte tijdens schoonmaken en boven het oxidatiebed komen de infectierisico's boven dat van de algemene bevolking uit. Dat geldt ook voor het risico op alle locaties gezamenlijk.

#### **8.4 Conclusies**

Voor het risico van rwzi-medewerkers op darmpathogenen kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

1. Darmpathogenen komen zeer algemeen voor in rioolwater (uit literatuur).
2. Uitgaande van de bacteriën van de coligroep, F-specifieke RNA-fagen en sporen van sulfietreducerende clostridia worden fecale micro-organismen in de lucht op rwzi's gebracht.
3. Door deze micro-organismen te gebruiken als model voor resp. pathogene bacteriën, virussen en protozoa is aannemelijk dat ook deze pathogenen in de lucht op rwzi aanwezig zijn.

4. Door kwantitatieve gegevens over pathogenen in rioolwater (literatuur) en van de aerosolisatie van de modelorganismen (deze studie) met elkaar te combineren zijn de concentraties darmpathogene *Campylobacter*, enterovirussen en *Cryptosporidium* in de lucht berekend. De berekende gehalten zijn hoog in de zeefbandpersruimte, met name tijdens schoonmaken, in de ruimte boven een afgedekt oxidatiebed en in het roostergebouw en tijdens het sproeien van de compostfilters.
5. Met de gegevens over de duur en frequentie van het verblijf van medewerkers op de diverse locaties is berekend wat de blootstelling van de medewerkers is en het daaruit volgende infectierisico. Het totale infectierisico (alle locaties tezamen) voor rwzi-medewerkers is hoger dan het risico voor de algemene bevolking. Dit wordt met name veroorzaakt door het risico bij sproeien van installaties en het sproeien van de compostfilters, maar ook in het roostergebouw, de ruimte voor aanmaak van PE en de zeefbandpersruimte.

## 9 Algemene beschouwing en aanbevelingen

### 9.1 Beschouwing

Dit onderzoek geeft kwantitatieve informatie over de blootstelling van rwzi-medewerkers aan *Legionella* en darmpathogenen via de omgevingslucht. In die zin kan dit onderzoek gezien worden als invulling van de inventarisatie van aard, mate en duur van blootstelling van rwzi-medewerkers aan *Legionella* en fecale ziekteverwekkers, zoals die in het ARBO-Besluit wordt gevraagd. In de literatuur is wel kwalitatieve informatie voorhanden (*Legionella* komt voor in afvalwater), maar de kwantitatieve informatie over zowel micro-organismen in de lucht en aanwezigheid van medewerkers ter plekke is uniek.

Dit onderzoek heeft duidelijk gemaakt dat de blootstelling aan micro-organismen in aërosolen op een aantal locaties op een rwzi hoger is dan de blootstelling van de algemene bevolking. *Legionella* kan onderdeel uitmaken van de micro-organismen in aërosolen op een rwzi. De methodische beperkingen betekenen dat het beeld over het voorkomen van *Legionella pneumophila* op rwzi's nog niet duidelijk te kwantificeren is. Uitgaande van de resultaten van de PCR-methode, die voor *L. pneumophila* pas gedurende de loop van het onderzoek ter beschikking kwam, is het gehalte *L. pneumophila* 0,56 – 56 per m<sup>3</sup>. De concentratie is laag in vergelijking met de concentraties op bekende risicolocaties. Als daarbij in acht genomen wordt dat de PCR het gehalte infectieuze *L. pneumophila* waarschijnlijk overschat, betekent dat dat een risico op legionellose voor rwzi-medewerkers niet kan worden uitgesloten, maar wel onaannemelijk is.

Daarbij moet nog wel in acht worden genomen dat de hier onderzochte locaties wel representatief waren voor de sector, maar de bevindingen niet zonder meer naar alle individuele locaties kunnen worden vertaald. Met name op locaties waar de gehalten *Legionella* hoger zouden kunnen zijn dan gevonden in deze studie (met name locaties met hogere watertemperatuur, bijvoorbeeld als gevolg van koelwaterlozingen of in hydroforen die in de zomerperiode kunnen opwarmen) zijn aanvullende metingen noodzakelijk om ook hier een risico als onaannemelijk te kunnen kenschetsen.

Uit deze studie blijkt daarnaast dat het aannemelijk is dat rwzi-medewerkers via aërosolen worden blootgesteld aan ziekteverwekkers van fecale herkomst, zoals *Campylobacter*, enterovirussen en *Cryptosporidium* (en waarschijnlijk nog een aantal anderen). De blootstelling aan deze ziekteverwekkers is, zeker voor een deel van de medewerkers en op een aantal locaties, aanzienlijk. Het infectierisico ligt tijdens schoonmaken van de bakken van

de zeefbandpers en in de ruimte boven het oxidatiebed (en daarmee ook voor het totaal aan locaties op een rwzi) boven het ingeschatte infectierisico van de algemene bevolking. Blootstelling aan deze klasse ziekteverwekkers vindt op een rwzi natuurlijk ook plaats door direct contact met slib en afvalwater. Deze laatste worden door algemene hygiëne beperkt. De blootstelling via aerosolen levert dus, met name via een beperkt aantal locaties en aan een deel van de medewerkers, een verhoogd risico op gezondheidsklachten op.

De ruimtes waar veel aerosolen aanwezig zijn, zijn ook de ruimtes waar blootstelling aan endotoxines plaatsvindt [Zweers, 2000]. Hoewel hier niet onderzocht, geeft de informatie uit dit onderzoek over de ruimtes met veel aerosolen wel een indicatie voor de locaties waar blootstelling aan endotoxines relatief hoog is.

## 9.2 Aanbevelingen

De bevindingen van dit onderzoek moeten worden gewogen binnen het kader van het ARBO-Besluit en de bestaande regelingen (b.v. voor werken in afgesloten ruimtes) en het totale beleid ten aanzien van Biologische agentia. De verantwoordelijkheid hiervoor ligt bij de waterschappen, die samen met de Arbeidsinspectie en ARBO-diensten een zowel in termen van gezondheidsbescherming als realiseerbaarheid verantwoord beleid en eventuele beheersmaatregelen kunnen opstellen.

Er zijn vanuit de resultaten van dit onderzoek een aantal overwegingen die daar mede richting aan kunnen geven. Deze zijn hieronder aangegeven, ingedeeld naar de hiërarchie van het ARBO-Besluit: eerst (technische) maatregelen ter voorkoming van aerosolvorming, dan organisatorische maatregelen om de duur en frequentie van blootstelling en het aantal personen dat wordt blootgesteld te beperken, daarna collectieve maatregelen om medewerkers te beschermen en als dit redelijkerwijs niet mogelijk is het ter beschikking stellen van persoonlijke beschermingsmiddelen.

De locaties waar de blootstelling aan aerosolen hoog is zijn:

- het roostergoedgebouw;
- de zeefbandpersruimte;
- de ruimte voor aanmaak PE;
- de ruimte boven afgedekte oxidatiebedden;
- tijdens sproeien van installaties;
- bij het sproeien van compostfilters.

De resultaten van deze studie kunnen worden gebruikt om per rwzi de locaties en werkzaamheden waar veel blootstelling aan aërosolen plaatsvindt te inventariseren, te registreren en aan te duiden. Per locatie kunnen dan passende beheersmaatregelen worden opgesteld.

### **9.2.1 *Brongerichte maatregelen***

Bij de (ver)nieuwbouw van installaties moet het onderdeel blootstelling aan biologische agentia in zijn algemeenheid en blootstelling aan aërosolen kritisch worden meebeschoofd. Daarbij valt te denken aan de keuze/inrichting van de beluchtingssystemen en compartimentering van ruimtes teneinde plaatsen met veel aërosolen te scheiden van ruimtes waar medewerkers langdurig in aanwezig zijn.

Andere schoonmaakprocedures waarbij minder aërosolen worden gevormd zijn eveneens te overwegen.

Ten aanzien van *Legionella* is het van belang de mogelijkheden voor vermeerdering zo goed mogelijk te beperken. De belangrijkste factor daarbij is temperatuur. Risicofactoren zijn lozing van koelwater op de rwzi's en locaties waar de watertemperatuur kan oplopen tot 25° of hoger (zoals in sommige hydroforen, hoewel in dit onderzoek geen kweekbare *Legionella* in water in hydroforen is gevonden in de zomer).

### **9.2.2 *Organisatorische maatregelen***

Voor organisatorische maatregelen is de basis om de frequentie en duur van de aanwezigheid van medewerkers op plaatsen waar aërosolvorming plaatsvindt tot een noodzakelijk minimum te beperken. De werkzaamheden die worden op de locaties waar de blootstelling aan aërosolen hoog is moeten worden beoordeeld op noodzaak. Aanbevolen wordt een dergelijke inventarisatie te maken en daar tevens bedrijfsregelingen van af te leiden voor de werkzaamheden in ruimtes met hoge blootstelling, zoals het voorschrijven dat schoonspuiten in de buitenlucht moet gebeuren of een maximum aantal uren per dag dat een medewerker in een bepaalde ruimte aanwezig mag zijn.

Ook informeren van de rwzi-medewerkers en de handhaving van de bedrijfsregelingen moet hier onderdeel van uitmaken.

### **9.2.3 *Collectieve (technische) maatregelen***

Per rwzi kan voor deze locaties worden overwogen of technische maatregelen kunnen worden genomen om de vorming en/of verspreiding van aërosolen tegen te gaan of door ventilatie de

concentraties te verlagen. Voor ruimtes zoals boven het oxidatiebed, de zeefbandpersruimte en de ruimte voor aanmaak PE is een dergelijke ventilatie of luchtafzuiging aan te bevelen. Dat kan zowel een continu systeem zijn als een ventilatie voordat een medewerker de ruimte betreedt. Andere technische maatregelen zijn het plaatsen van omkastingen en compartimentering met doorzichtramen, maar ook besturing op afstand, opstellen van camera's en het voorkomen van storingen.

#### **9.2.4 *Persoonlijke bescherming***

Voor de locaties waarop uit dit onderzoek een hoge blootstelling is gebleken die niet door technische of organisatorische maatregelen is in te perken wordt adembescherming tegen aërosolen met een masker of halfmasker van klasse FFP3 - SL aanbevolen. Vanwege de intensieve en langdurige blootstelling wordt aanbevolen adembescherming voor te schrijven bij het schoonspuiten van installatieonderdelen die in aanraking zijn gekomen met afvalwater of slib.



## 10 Literatuur

Anoniem (2000). *Biologische agentia*. ARBO-informatie AI-9. Ministerie van SZW, Sdu, Den Haag.

Berbee, R.P.M. (1999) *Legionella in oppervlaktewater, in koelwater, in rwzi's, in.....: waar eigenlijk niet?*. RIZA rapport nr. 99.057, ISBN nr. 90.3695.2867, Lelystad 1999.

Bollin GE, Plouffe JF, Para MF, Hackman B, (1985). *Aerosols containing Legionella pneumophila generated by shower heads and hot-water faucets*. Appl. Environ. Microbiol. 50:1128-1131.

Breiman RF, Butler JC, (1998). *Legionnaires' disease: clinical, epidemiological and public health perspectives*. Seminars in Respiratory Infections, 13: 84-89.

Breiman RF, Cozen W, Fields BS, Mastro TD, Carr SJ, Spika JS, Mascola L. (1990). *Role of air sampling in investigation of an outbreak of legionnaires' disease associated with exposure to aerosols from an evaporative condenser*. J. Inf. Dis. 161:1257-1261.

Breiman RF, Fields BS, Sanden GN, Barbaree JM. (1990). *Air sampling for Legionella*. JAMA, 264:2626.

Camann DE, Johnson DE, Harding HJ, Sorber CA. (1980). *Wastewater aerosol and school attendance monitoring at an advanced wastewater treatment facility: Durham plant, Tigard, Oregon*. In: Pahren H, Jakubowski W (eds). Wastewater aerosols and disease. EPA 600/9 80 028, Cincinnati, USA. 1980, p. 160-179.

Carducci A, Arrighi S, Ruschi A. (1995). *Detection of coliphages and enteroviruses in sewage and aerosol from an activated sludge wastewater treatment plant*. Lett. Appl. Bacteriol. 21:207-209.

Clark CS, Van Meer GL, Linnemann CC, Bjornson AB, Gartside PS, Schiff GM, Trimble SE, Alexander D, Cleary EJ, Phair JP. (1980). *Health effects of occupational exposure to wastewater*. In: Pahren H, Jakubowski W (eds). Wastewater aerosols and disease. EPA 600/9 80 028, Cincinnati, USA. 1980, p. 239-264.

Dean RB. (1980). *Disease rates among Copenhagen sewer workers*. In: Pahren H, Jakubowski W (eds). Wastewater aerosols and disease. EPA 600/9 80 028, Cincinnati, USA. 1980, p. 274-280.

Dennis PJ, Lee JV. (1988). *Differences in aerosol survival between pathogenic and non-pathogenic strains of Legionella pneumophila serogroup 1*. J. Appl. Bacteriol. 65:135-141.

Dennis PJJ, Wright AE, Rutter DA, Death JE, Jones BPC, (1984). *Legionella pneumophila in aerosols in shower baths*. J. hug (Camb.) 93:349-353.

DWL Projektgroep "Aërosolen en effluentlozingsonderzoek Kralingen". (1979). Eindrapport: "De geschatte gevolgen van de stichting van een rioolwaterzuiveringsinstallatie te Kralingseveer voor het productiebedrijf Kralingen". Rapport Drinkwaterleiding Rotterdam, 1979.

- Fannin KF, Vana SC, Jakubowski W. (1985). *Effect of an activated sludge wastewater treatment plant on ambient air densities of aerosols containing bacteria and viruses*. AEM 49:1191-1196.
- Fattal B, Teltsch B. (1982). *Viruses in wastewater aerosols*. Environ. Int. 7:35-38.
- Fliermans, C.B. (1996). *Ecology of Legionella: From Data to Knowledge with a Little Wisdom*, 32, Microbial Ecology, p. 203-228.
- Gezondheidsraad, (1986). *Advies inzake preventie van legionellose*. Gezondheidsraad, Den Haag.
- Hambleton P, Broster MG, Dennis PJ, Henstridge R, Fitzgeorge R, Conlan JW. (1983). *Survival of virulent Legionella pneumophila in aerosols*. J. Hyg. 90:451-460.
- Havelaar AH. (1993). *Persoonlijke mededeling*.
- Koenraad PMLF, (1995). *Prevalence of Campylobacter in Dutch sewage purification plants*. PhD thesis LU Wageningen. 149 p.
- Johnson DE, Camann DE, Register JW, Prevost RJ, Tillery JB, Thomas RE, Taylor JM, Hosenfeld JM. (1980). *Health effects from wastewater aerosols at a new activated sludge plant: John Egan plant, Schaumburg, Illinois*. In: Pahren H, Jakubowski W (eds). *Wastewater aerosols and disease*. EPA 600/9 80 028, Cincinnati, USA. 1980, p. 136-159.
- Lue-Hing C, Ledbetter JO, Sedita SJ, Sawyer BM, Zenz DR, Boyd CW. (1980). *Suppression of aerosols at a wastewater reclamation plant*. In: Pahren H, Jakubowski W (eds). *Wastewater aerosols and disease*. EPA 600/9 80 028, Cincinnati, USA. 1980, p. 302-323.
- Medema GJ, Ketelaars HAM, (1995). *Betekenis van Cryptosporidium en Giardia voor de drinkwatervoorziening*. H<sub>2</sub>O 23:704-709.
- Medema GJ, Teunis PFM, Havelaar AH, Haas CN. (1996). *Assessment of the dose-response relationship of Campylobacter jejuni*. International Journal of Food Microbiology, 30:101-111.
- Medema GJ, Hoogenboezem W, Ketelaars HAM, Schijven JF, Rijs G, (2001). *Cryptosporidium en Giardia: voorkomen in rioolwater, mest en oppervlaktewater met zwem- en drinkwaterfunctie*. Rapport, RIWA, Amsterdam.
- Northrop RL, Carnow B, Wadden R, Rosenberg S, Neal A, Scheaff L, Holden J., Meyer S. Scheff P. (1980). *Health effects of aerosols emitted from an activated sludge plant*. In: Pahren H, Jakubowski W (eds). *Wastewater aerosols and disease*. EPA 600/9 80 028, Cincinnati, USA. 1980, p. 180-227.
- O'Brien SJ, Bhopal RS, (1993). *Legionnaires' disease: the infective dose paradox*. Lancet, 342:5.

- Palmer, C.J.; Tsai Y.; Paszko-Kolva, C.; Mayer, C.; en Sangermano, R. (1993) *Detection of Legionella species in Sewage and Oceanwater by Polymerase Chain Reaction, Direct Fluorescent-Antibody and Plate Culture Methods*. Applied and Environmental Microbiology, 59, p. 3618-3624.
- Pascual L, Perz-Luz S, Amo A, Moreno C, Apraiz D, Catalan V. (2001). Detection of *Legionella pneumophila* in bioaerosols by polymerase chain reaction. Can. J. Microbiol. 47:341-347.
- Randall CW, Ledbetter JO. 1966. *Bacterial air pollution from activated sludge units*. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 6:506-519.
- Roda Husman A.H. de. (2001), *Virussen in H<sub>2</sub>O*. H<sub>2</sub>O 2001(8): 18-20.
- Roll, B.M.; Fujioaka, R.S. (1995) *Detection of Legionella bacteria in sewage by polymerase chain reaction and standard culture method*, Water Science and Technology, 31 p. 409-416.
- Sawyer B, Elenboge G, Rao KC, O'Brien P, Zenz DR, Lue-Hing C. (1993). *Bacterial aerosol emission rates from municipal wastewater aeration tanks*. AEM 59:3183-3186.
- Sekla L, Gemmil D, Manfreda J, Lysyk M, Stackiw W, Kay C, Hopper C, Van Buckenhout L, Eibisch G. (1980). *Sewage treatment plant workers and their environment: a health study*. In: Pahren H, Jakubowski W (eds). Wastewater aerosols and disease. EPA 600/9 80 028, Cincinnati, USA. 1980, p. 281-294.
- Sorber CA, Sagik BP. (1980). *Indicators and pathogens in waste water aerosols and factors affecting survivability*. In: Pahren H, Jakubowski W (eds). Wastewater aerosols and disease. EPA 600/9 80 028, Cincinnati, USA. 1980, p. 23-35.
- Stowa-Stichting toegepast onderzoek waterbeheer, (1999). *Handleiding procesbewaking door microscopisch slibonderzoek*, rapport 99.01, ISBN nr. 90.5773.0529, Utrecht.
- Teunis PFM, Medema GJ, Kruidenier L, Havelaar AH. (1997). *Assessment of the risk of infection by Cryptosporidium and Giardia in drinking water from a surface water source*. Water Research, 31(6):1333-1346.
- Tyndall RL, Soloman JA, christenson SW. (1985). *Legionnaires' disease bacteria in power plant cooling systems: downtime report*. Oak Ridge National Laboratory, Tennessee, USA.
- Wells WF, 1955. *Airborne contagion and air hygiene*. In: Slote L. 1976. Viral aerosols. JEH 38:310-314.
- Wit M de, Koopmans M, Kortbeek L, Wannet W, Vinje J, Leusden F van, Bartelds A, Duynhoven Y van, (2001). *Sensor: a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology*. Am. J. Epidemiol. 154:666-674.

Woerd, D. van der; Heijden, B. van der; Medema, G.; Sterkenburg, R., (1999) *Reinwaterberging en rwzi's: (g)een goede combinatie?!*, H<sub>2</sub>O , 14/15, p.26-29.

Woodcock AH. (1955). *Bursting bubbles and air pollution*. Sewage Ind. Wastes 27: 1189-1192.

Zweers, T.; Buren, R. (2000) *SDI Beverwijk: metingen blootstelling chemische stoffen*, Intern rapport Uitwaterende Sluizen, Edam.

# 11 Begrippenlijst

Aërosolen	fijn verdeelde deeltjes (met een diameter van nm - mm) die zich in de lucht bevinden
Amoeben	eencellige micro-organismen die zich voeden met bacteriën
ATP	Adenosinetrifosfaat, een stof die in alle organismen aanwezig is als drager van energie. ATP wordt daarom gebruikt als maat voor de activiteit van micro-organismen in een bepaald milieu
Awzi	afvalwaterzuiveringsinstallatie
Bacteriofagen	Bacterievirussen, kleine deeltjes (enkele tientallen nm) bestaande uit een mantel van eiwit met daarin erfelijk materiaal. Vermenigvuldigt zich in bacteriecellen.
Biofilm	een laag micro-organismen en organische en anorganische afzettingen op de wand van installaties of leidingen, ook wel slijm laag genoemd.
Blootstelling	het binnenkrijgen van een micro-organisme via inademen of inslikken
<i>Campylobacter</i>	een bacterie die diarree veroorzaakt
<i>Cryptosporidium</i>	een parasiet die diarree veroorzaakt
darmpathogeen	ziekteverwekker van het maagdarmkanaal, deze zijn bij uitstek aanwezig in rioolwater
DNA-probe	een klein stukje erfelijk materiaal dat specifiek bindt aan het erfelijk materiaal van het micro-organisme dat moet worden aangetoond, meestal met een kleurstof er aan om het micro-organisme specifiek aan te kleuren en daarmee zichtbaar te maken onder de microscoop.
DFA	Directe Fluorescentie Assay, een methode om <i>Legionella</i> -cellen te kleuren met een fluorescerend antilichaam dat aan de wand van de cel bindt. Deze cellen zijn daarmee zichtbaar onder de (fluorescentie)microscoop.
dosis-responsrelatie	de relatie tussen de hoeveelheid micro-organismen die iemand binnenkrijgt en de kans dat zich daaruit een respons (infectie, ziekte) voortkomt
DTC	Directe celtelling, een microscopische telling van alle aanwezige bacteriën. De bacteriën worden daartoe aangekleurd.
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> , een bacterie die in hoge aantallen ( $10^7/g$ ) de ontlasting van mensen en warmbloedige dieren voorkomt. Hij wordt gebruikt als indicator voor verontreiniging van water met ontlasting.
enterovirussen	zie 2.2
F-RNA fagen	een groep van bacteriofagen die via een specifieke aanhechtingsplaats op de bacteriewand (F-pili) de bacteriecel binnendringen
feces	Ontlasting
FISH	Fluorescentie In-Situ Hybridisatie, een methode om micro-organismen te kleuren met een fluorescerend label dat aan een specifiek stukje van hun erfelijk materiaal (DNA) bindt. Deze cellen zijn daarmee zichtbaar onder de (fluorescentie) microscoop.
incidentie	de mate waarin een ziekteverwekker voorkomt in de algemene bevolking (aantal ziektegevallen per jaar)
infectie	het vermeederen van een ziekteverwekker nadat deze het lichaam is binnengedrongen. Een deel van de infecties zal uitmonden in ziektesymptomen.
infectierisico	de kans op het oplopen van een infectie
KAM	Kwaliteit, ARBO en Milieu

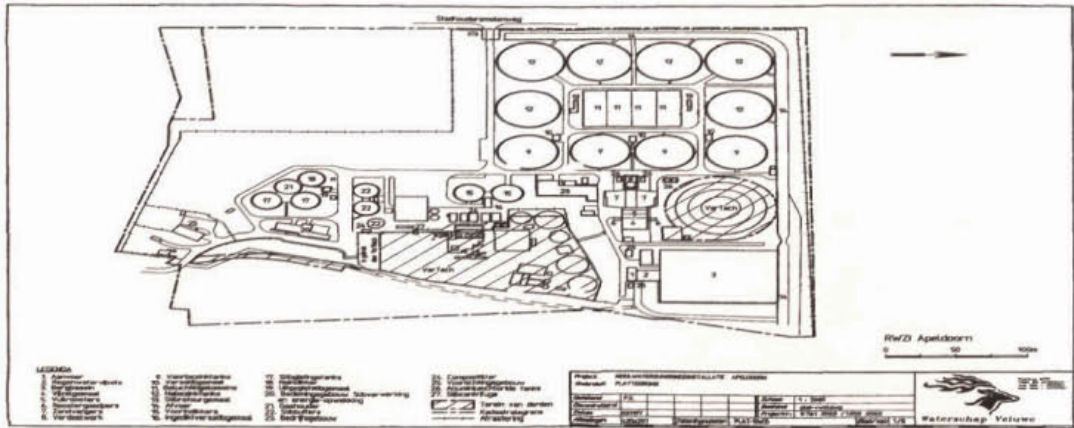
kgt22	koloniegetal bij 22°C, een maat voor het aantal heterotrofe bacteriën dat bij 22 °C kan groeien op een rijk agarmedium
kgt37	Koloniegetal bij 37°C
kve	kolonie vormende eenheden, de eenheid waarmee het aantal bacteriën dat op een agarmedium groeit (en daarop kolonies vormt) wordt uitgedrukt.
Legionella	een bacterie die vooral voorkomt in warm water en via aerosolen infecties kan veroorzaken
Legionella pneumophila	de meest ziekteverwekkende vertegenwoordiger van de <i>Legionella</i> . Deze soort veroorzaakt de veteranenziekte en Pontiac fever
legionellose	benaming voor ziekte veroorzaakt door <i>Legionella</i> , vaak gebruikt als synoniem voor veteranenziekte
mediaan	de middelste van een serie waarnemingen
outbreak	een epidemie van een infectieziekte via een bepaalde bron
pathogeen	Ziekteverwekker
PCR	Polymerase Chain Reaction, een methode om micro-organismen te detecteren door de vermenigvuldiging van een specifiek stukje van hun erfelijk materiaal (DNA)
Pontiac fever	griepachtig ziektebeeld veroorzaakt door <i>Legionella pneumophila</i>
95-percentielwaarde	de waarde waar 95% van de waarnemingen uit een serie onder ligt (5% van de waarnemingen ligt er dus boven)
rwzi	Rioolwaterzuiveringsinstallatie
seroconversie	de afweerreactie van het lichaam op het binnendringen van een ziekteverwekker leidt tot het maken van antilichamen. Deze zijn ook nadat de ziekteverwekker is "opgeruimd" nog aantoonbaar in het lichaam en zorgen voor immuniteit. Door te kijken of deze afweerstoffen aanwezig zijn (seroconversie) kan aangetoond worden welke ziekteverwekkers (recent) in het lichaam zijn geweest.
SSRC	Sporen van Sulfiet Reducerende Clostridia, zeer persistente sporen van deze gram-positieve bacteriën die lang kunnen overleven in water en lucht
veteranenziekte	ernstige longontsteking veroorzaakt door <i>Legionella pneumophila</i>
virulentie	het ziekmakend vermogen van een micro-organisme

# I Onderzoekslocaties met fotoverslag

Van de onderzochte rwzi's is hier een overzicht opgenomen. De foto's die tijdens de monsterneming zijn gemaakt zijn ook per rwzi weergegeven.

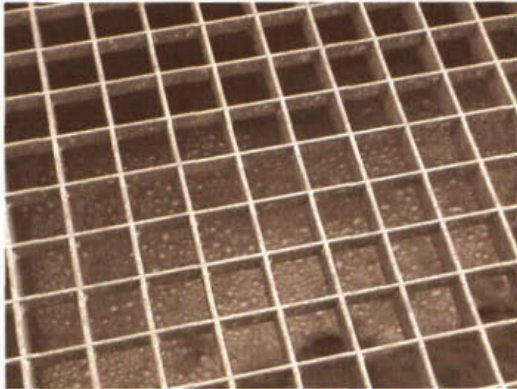
1. Apeldoorn
2. Gouda
3. Harderwijk
4. Reeuwijk Randenburg
5. Willem Annapolder
6. Walcheren

# Apeldoorn





# Apeldoorn



*Rooster overstort*



*Puntbeluchter*



*Tussen de bassins*



*Compostfilter*

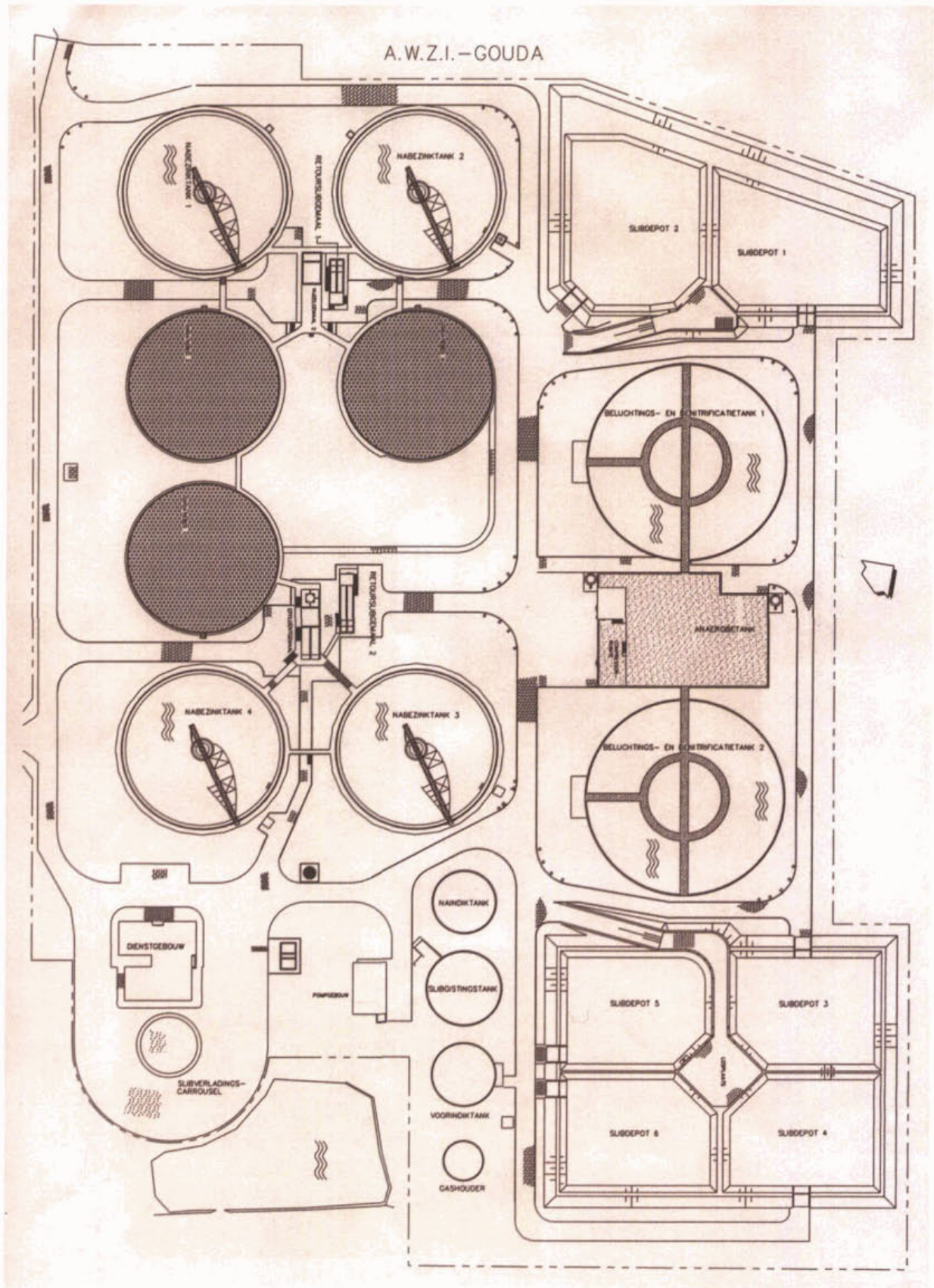


*Compostfilter*



*Achtergrondmetingen*

# Gouda



# Gouda



*Achtergrondmetingen*



*Achtergrondmetingen*



*Zeeband*

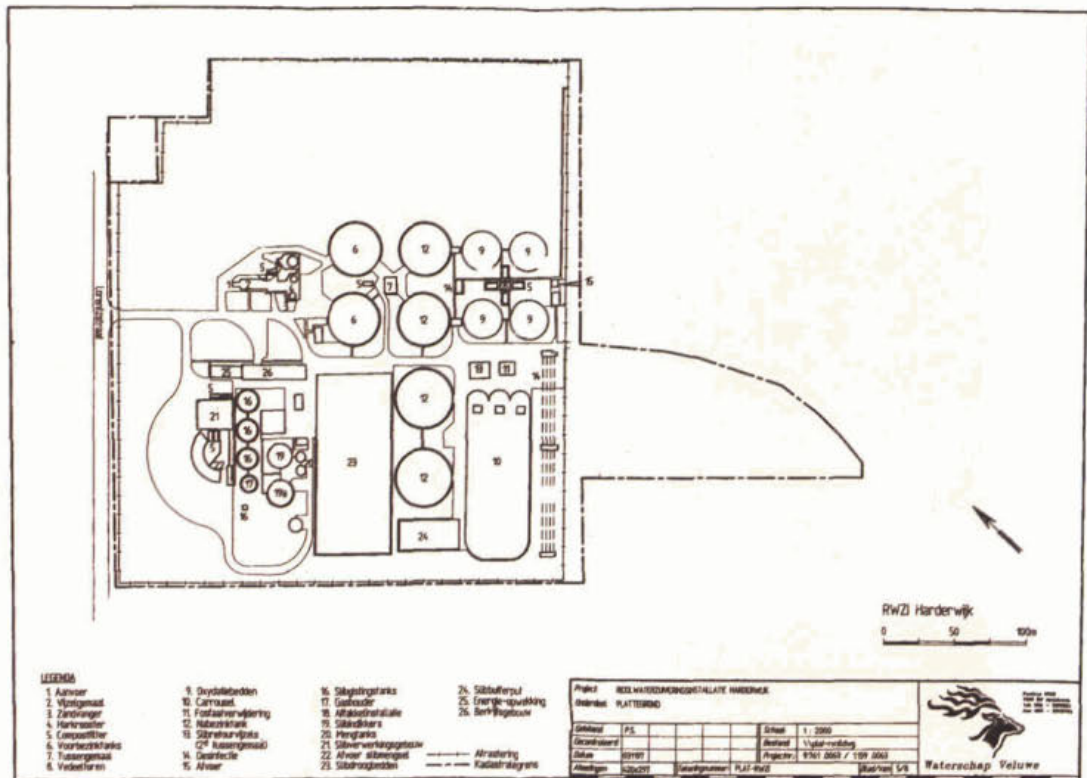


*Bellenbeluchter*



*Bellenbeluchter*

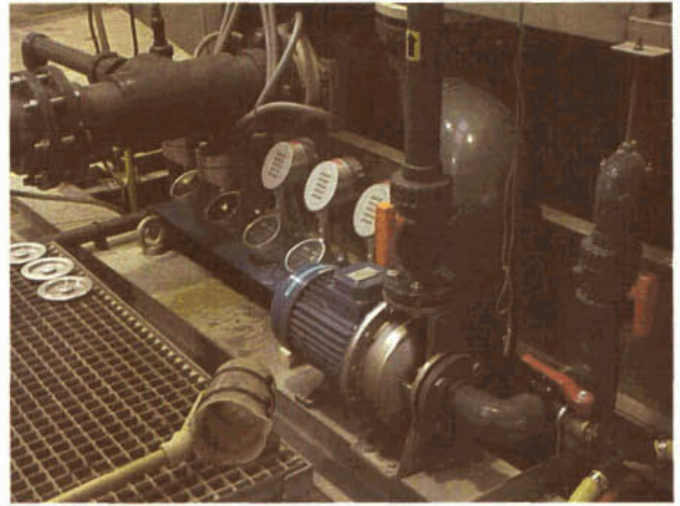
# Harderwijk



# Harderwijk



*Carrousel*



*Kelderzeef*



*Zeefbandpers*



*Zeefbandpers*



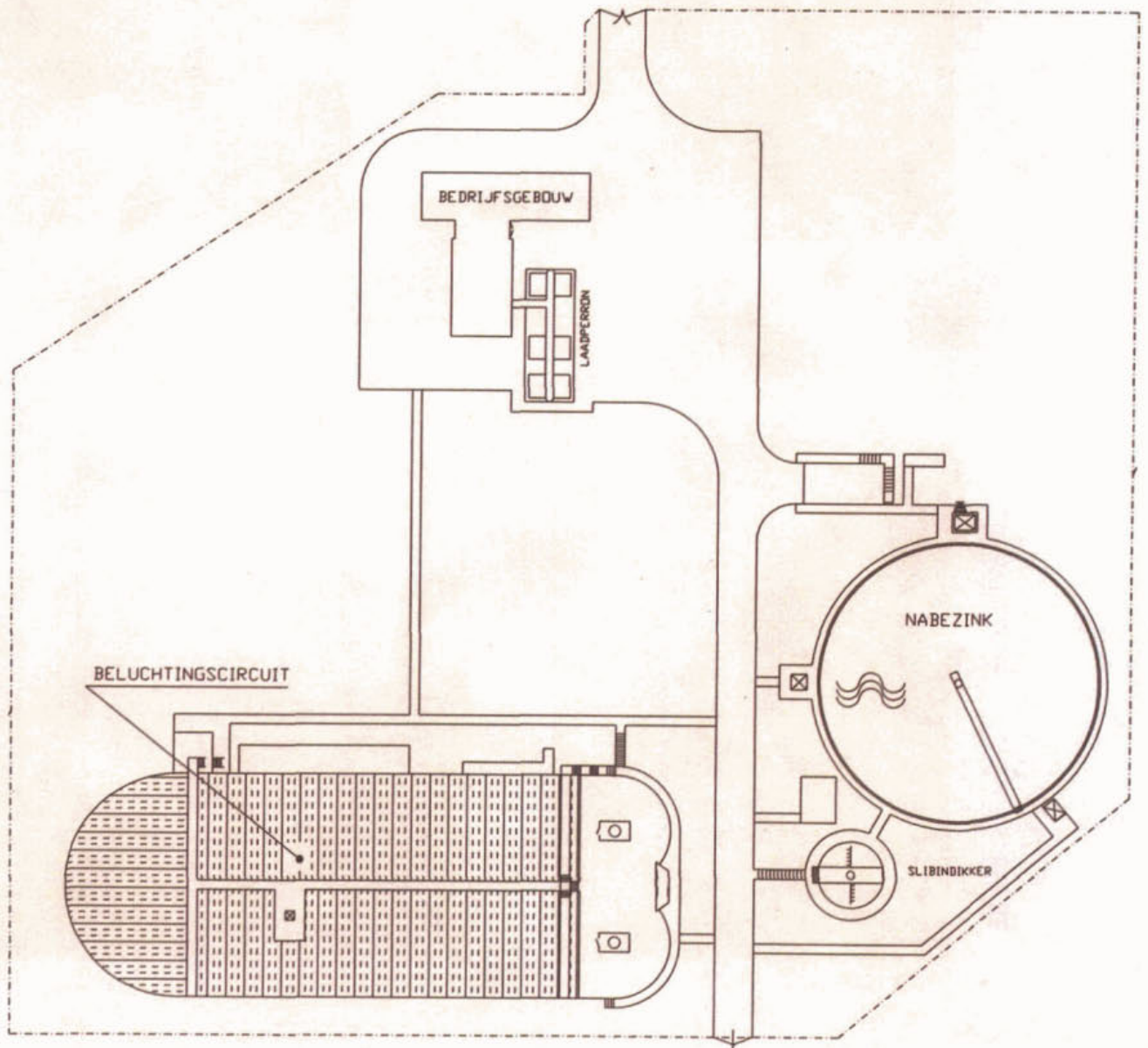
*Compostfilter*



*Achtergrondmetingen*

# Reeuwijk Randenburg

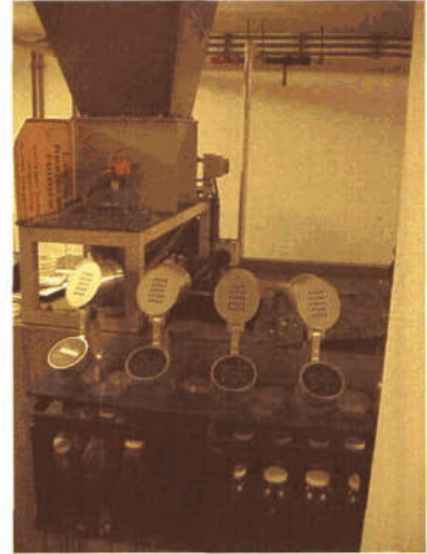
A.W.Z.I.-REEUWIJK-RANDEBURG



# Reeuwijk Randenburg



*Compostfilter*



*Zeefbandpers*



*Compostfilter*

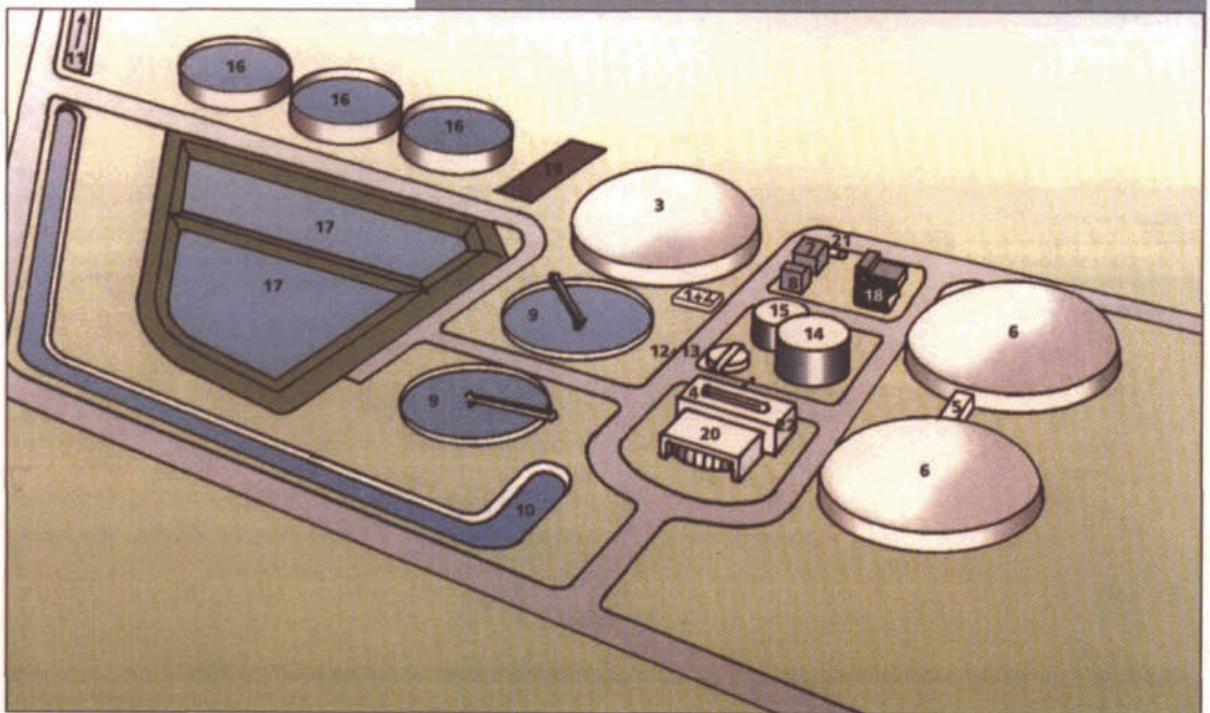


*Achtergrondmetingen*

# Willem Annapolder

## Rwzi Willem Annapolder

- |                               |                             |
|-------------------------------|-----------------------------|
| 1. ontvangput                 | 12. zandvanger              |
| 2. roostergoedgebouw          | 13. slibindikker            |
| 3. voorbezintank              | 14. slibgistingstank        |
| 4. gasmotor                   | 15. gashouder               |
| 5. verdeelwerk                | 16. slibbuffertanks         |
| 6. oxidatiebedden             | 17. slibindiklagunes        |
| 7. defosfatering              | 18. centrifuge              |
| 8. aanzuurinstallatie         | 19. compostfilter           |
| 9. nabezinktanks              | 20. bedrijfsgebouw          |
| 10. waterloop (effluentsloot) | 21. chemicaliënopslag tanks |
| 11. gemaal                    | 22. pompenkelder            |





# Willem Annapolder



*Achtergrondmetingen*



*Achtergrondmetingen*

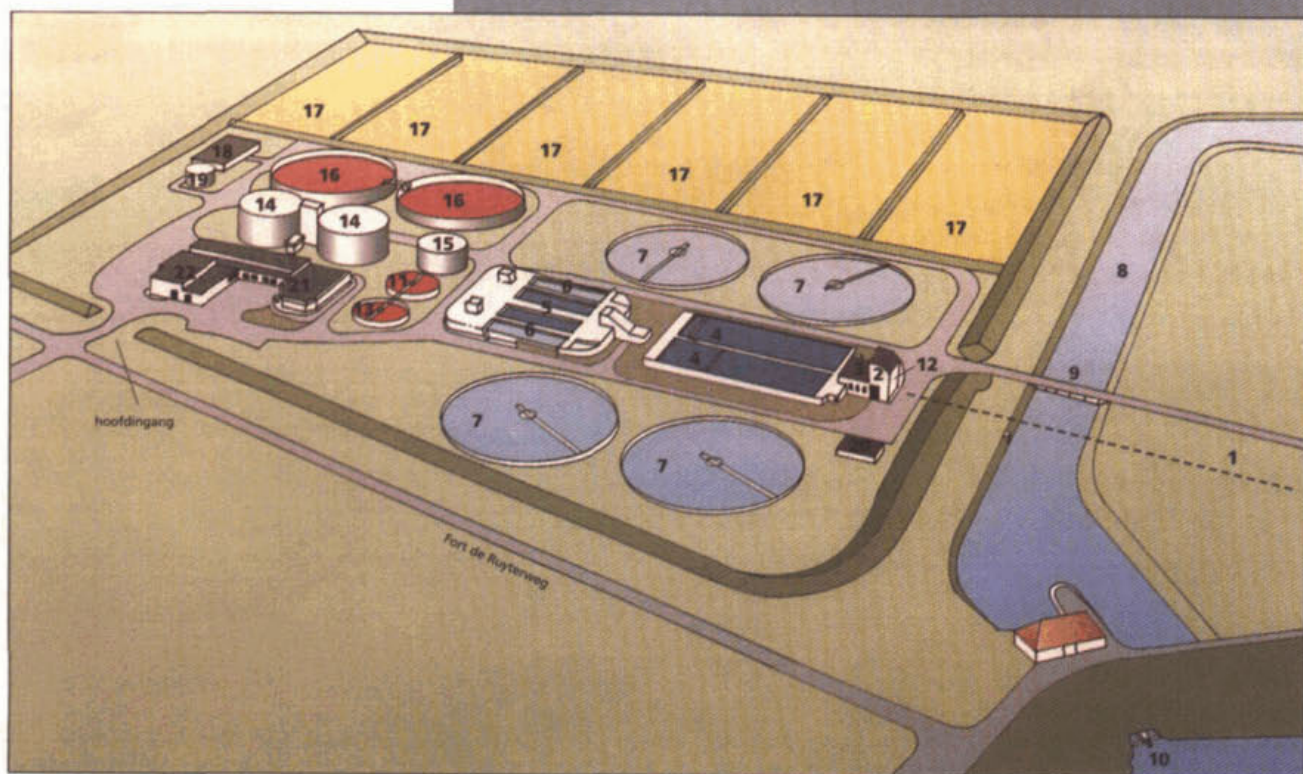


*Oxidatiebed*

# Walcheren

## awzi Walcheren

- |   |                             |
|---|-----------------------------|
| 1. ondergrondse aanvoerleiding influent | 11. primaire slibindikker   |
| 2. roostergoedgebouw/verdeelwerk        | 12. hydrocycloon            |
| 3. defosfateringsinstallatie            | 13. secundaire slibindikker |
| 4. voorbezinktanks                      | 14. slibgistingstanks       |
| 5. contactruimte                        | 15. gashouder               |
| 6. beluchtingstanks                     | 16. slibopslag tanks        |
| 7. nabezinktanks                        | 17. sliblagunes             |
| 8. Zuidersluiswatergang                 | 18. zeefbandpers            |
| 9. stuw                                 | 19. slibsilo                |
| 10. spuikom                             | 20. compostfilter           |
|   | 21. bedrijfsgebouw          |
|   | 22. werkplaats              |



# Walcheren



*Achtergrondmetingen*



*Bellenbeluchter*



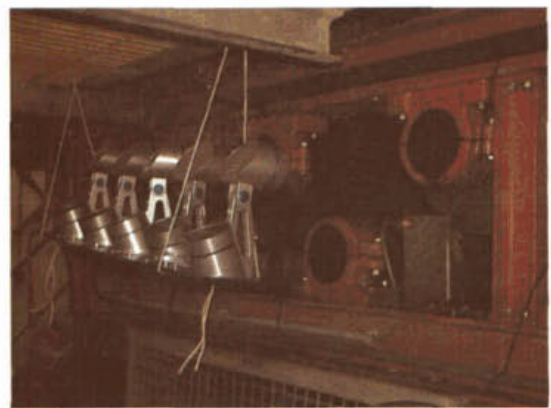
*Bellenbeluchter*



*Bellenbeluchter*



*Compostfilter*

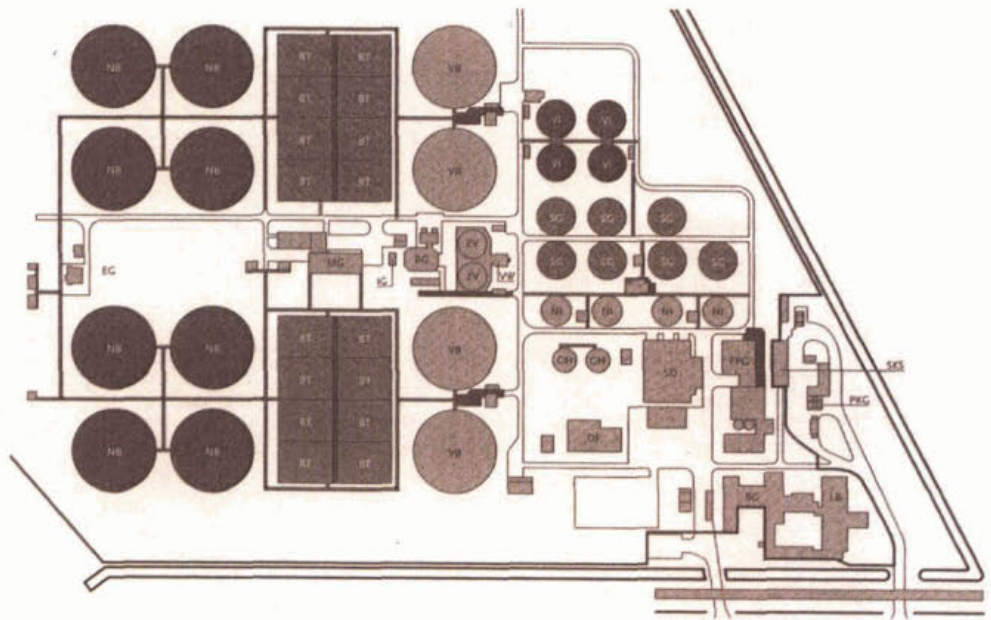


*Zeebandpers*

# Amsterdam

## Verklaring

RG	= Roosterharkgebouw
IG	= Influentgemaal
VW	= Verdeelwerk
VB	= Voorbezinkingstank
BT	= Beluchtingstank
NB	= Nabezinkingstank
EC	= Effluentgemaal
DF	= Defosfateren
MG	= Machinegebouw
ZV	= Zandvanger
VI	= Versslib-indikker
SG	= Slibgistingstank
GH	= Gashouder
NI	= Na-indikker
FPG	= Filterpersgebouw
SKS	= Slibkoeksilo
SD	= Slibdroger
PKG	= Put- en kolkenvuil
BC	= Bedrijfsgebouw
LB	= Laboratorium



Hoogheemraadschap Amstel, Gooi en Vecht

## II Meetresultaten

Dit zijn de meetresultaten van fase 1. De resultaten van fase 2 zijn integraal in de hoofdtekst van het rapport opgenomen.

### RWZI Apeldoorn

16-Nov-00

Lucht	Afstand	HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC	Temp	RV
Locatie		n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	C	%
Overstort vijzel	1m	14000	420	8.8	0	5	9.2	98
Beluchtingsbassin	1m	5040	1333	3.6	3	3	10	98
Beluchtingsbassin+overstort	4m	8300	1033	31	0	15	10	98
Vijzel	1m	21900	520	13	0	5	10.4	86
Roostergebouw	1m	279500	41300	>300?	>2628	27	10.4	86
Compostfilter	60cm	544	26	0	0	0	10.4	86
Achtergrond	parkeerplaats	969	34	0	0	0	10	87

### Water

Locatie	HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC
	n/ml	n/ml	n/ml	n/ml	n/ml
Overstort vijzel	3090000	1520000	48000	4600	25000
Beluchtingsbassin	2830000	440000	14400	975	19000
Roostergebouw	13300000	4950000	20800	20500	600
Condensaat compostfilter	1500	1000	<5	0	0
Condensaat compressor	-	-	-	-	0

### RWZI Gouda

27-Nov-00

Lucht	Afstand	HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC	Temp	RV
Locatie		n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	C	%
Achtergrond		719	32	0	0	0	6.5	97
lopendeband van voor ontwatering	1m	1544	203	0	0	0	13.6	89
zeefbandpers	1m	2400	169	3	0	12	14.3	86
bellenbeluchting dichtbij	50cm	127	37	0	0	13	8.3	98
bellenbeluchting op ca 15 meter	15m	431	15	0	0	3	8.6	95

### Water

Locatie	HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC
	n/ml	n/ml	n/ml	n/ml	n/ml
bellenbeluchting	1.10E+06	2.60E+04	9.68E+04	35	1.00E+04
spiegelwater voor ontwatering	3.50E+04	3.50E+03	560	1	23
Spiegelwater zeefbandpers	8.00E+04	2.00E+04	1.30E+03	1	175

### RWZI Harderwijk

28-Nov-00

Lucht	Afstand	HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC	Temp	RV
Locatie		n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	C	%
Achtergrond	bovenwinds bij hek noordzijde	3100	34	0	0	0	13	98
Oxidatiebed	0,5 m boven lavasteen	>2.6E+05	>2.6E+05	>2628	71	67	13	98
carousel	20 cm op dammetje	3400	350	24	1	3	13	98
Bandindikker	30 cm	1100	36	0	0	0	12.9	98
Filtraatkelder onder de bandindikker	1m	3000	450	4	0	0	14.1	98
Compostfilter	10 cm op rand filter	1000	20	0	0	0	13	98

### Water

Locatie	HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC
	n/ml	n/ml	n/ml	n/ml	n/ml
Oxidatiebed	2.20E+06	9.20E+02	1.50E+05	2.90E+03	345
Carousel spoelwater	2.85E+06	1.20E+06	9.00E+04	980	8.70E+03
Zeefbandpers spoelwater	1.10E+05	1.50E+04	1.90E+03	9	299
Filtraatkelder	1.00E+05	1.60E+04	870	9	90
Influent RWZI	2.10E+05	1.20E+04	6.90E+04	4.30E+03	275

Als bij meerdere volumes tebare aantallen zijn gevonden is het gewogen gemiddelde genomen  
Data zijn gecorrigeerd voor bevestigingspercentage en MAS100 conversietabel

**RWZI Reeuwijk Randenburg**

4-Dec-00

Lucht		HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC	Temp	RV
Locatie	Afstand	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	C	%
Achtergrond	bij hek	576	20	<1	0	1	8,2-9,4	79
Screezer	niet genomen							
Kokosfilter	20 cm	1600	24	11	3	0		
Kokosfilter ca. 5 meter	5m/10m	486	28	0	0	2	8.8	>90
Zeefbandpers	50-100cm van invallen filtraat	2900	544	5	7	3	11.1	>90 (105,1)
Aanmaak PE	30 cm	2300	581	10	1	74	14.9	63
Schoonmaak bakken zeefbandpers	1,5 m	6600	850	6	0	11	11.1	103 >90

Water		HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC
Locatie		n/ml	n/ml	n/ml	n/ml	n/ml
Screezer		1.80E+06	9.50E+05	1.00E+05	675	360
Effluent oxidatietank		2.00E+06	6.70E+05	4.00E+04	275	4.80E+03
Effluent bandpers		1.70E+05	5.50E+04	2.60E+03	14	163
Eindproduct RWZI		9.40E+04	1.90E+04	1.20E+03	24	20
Drinkwater		2.00E+03	500	<7	<0,5	<0,5

**RWZI Willem Annapolder**

5-Dec-00

Lucht		HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC	Temp	RV
Locatie	Afstand	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	C	%
Inname gebouw rooster	60 cm	9000	3200	>2628	0	9	10.3	95
voorbezinktank	rand tank	463	44	0	1	0	10.2	105,5 >90
Oxidatiebed	op bed (sproeiarm aan/stil)	2300	1400	43	0	5	13	>90
Achtergrond	buiten terrein	500	84	0	0	1	9.1	97.4

Water		HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC
Locatie		n/ml	n/ml	n/ml	n/ml	n/ml
Effluent uit gele slang		3.70E+04	6.50E+03	0	50	18
Voorbezinktank		3.30E+06	1.50E+06	1.20E+05	410	190
Sproeiarm		1.70E+06	1.60E+06	5.40E+04	245	101

**RWZI Walcheren**

12/11/2000

Lucht		HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC
Locatie	Afstand	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l	n/1000 l
Zeefband bij roller		867	310	91	0	3
Zeefband ontwateringszone		744	334	0	0	6
Bellenbeluchting		1350	205	9	0	2
Puntbeluchting		831	96	3.6	0	5
Compostfilter		617	143	2.7	0	5
Achtergrond		366	57	0	0	0

Water		HPC22	HPC37	coli37	Fagen	SSRC
Locatie		n/ml	n/ml	n/ml	n/ml	n/ml
Effluent zeefbandpers		2.13E+05	1.79E+05	4.40E+03	0.5	525
Reinigingswater		5.95E+04	3.00E+04	2.53E+03	1	37
Oxidatietank		5.85E+06	1.47E+06	5.66E+04	120	510
Effluent compostfilter		2.75E+06	2.15E+06	7.53E+05	8	65
Percolatiewater *		6.22E+07	5.14E+07	1.24E+05	0	0

Als bij meerdere volumes telbare aantallen zijn gevonden is het gewogen gemiddelde genomen  
 Data zijn gecorrigeerd voor bevestigingspercentage en MAS100 conversietabel

\* monster heeft een pH 1,06

### III Enquête

Voor het onderzoek naar de blootstelling van RWZI-medewerkers aan aerosolen worden door het Kiwa metingen uitgevoerd aan aerosolen in de omgevingslucht op een aantal plaatsen op RWZI's (zoals bij het beluchtingsbassin, de zeebandpersruimte, roostergebouw e.d.). Om een inschatting te maken van de blootstelling is ook informatie nodig over hoe vaak en hoe lang medewerkers op deze plaats aanwezig zijn. Daarom vragen wij u om in onderstaande tabel aan te geven hoe vaak en hoe lang u op een aantal plaatsen op de RWZI aanwezig bent. We hebben onderscheid gemaakt tussen normale en bijzondere omstandigheden (zoals schoonmaak, onderhoud, reparatie, onderzoek e.d.).

Locatie	Normale omstandigheden		Bijzondere omstandigheden	
	Hoe vaak? <sup>1</sup>	Hoe lang? <sup>2</sup>	Hoe vaak? <sup>1</sup>	Hoe lang? <sup>2</sup>
In roostergebouw of direct bij geopende deur of luik roostergebouw				
Binnen 10 m van de voorbezinkers				
Binnen 10m van de beluchtingsbassin				
Nabij sproeiers van oxidatiebed				
In zeebandpersruimte				
In ruimte voor aanmaak polyelectrolyt				
Binnen 10 m van nabezinkers				
Binnen 10m van compost of ander filter				
Binnen 10m van regenwatervijzel				
Binnen 10m van slibretourvijzel				
In slibgistingstanks zonder adembescherming				
Schoonspuiten van met rioolwater of slib verontreinigde oppervlakten				
.....				
.....				
.....				
.....				
.....				
.....				

<sup>1</sup> bv. 1x per week, 1x per jaar, dagelijks, 3x per dag etc.

<sup>2</sup> bv. 5 minuten, half uur, 3 uur

Hieronder is ruimte voor opmerkingen:

.....  
 .....  
 .....

Naam:.....

Bedrijf:.....

Functie:.....

**De gegevens die u versterkt worden alleen gebruikt voor dit onderzoek, ze worden anoniem in de rapportage verwerkt en niet aan anderen ter beschikking gesteld.**

## IV Ontwikkeling detectiemethoden *Legionella* in afvalwater en aërosolen

Uit de beperkte informatie uit de literatuur blijkt dat detectie van *Legionella* in rioolwater en in aërosolen niet eenvoudig is. De kweekmethode is minder goed bruikbaar vanwege de storing door achtergrondflora [Palmer *et al.*, 1993; Pascual *et al.*, 2001].

De methodenontwikkeling in dit onderzoek heeft zich gericht op het toepasbaar maken van vier verschillende detectiemethoden voor detectie *Legionella* en/of *L. pneumophila* in water en luchtmonsters op rwzi's:

- (a) Een kweekmethode waarin verschillende semi-selectieve media zijn toegepast waarop *Legionella* zich kan vermenigvuldigen en andere aanwezige microflora wordt geremd.
- (b) microscopische telling van *Legionella* bacteriën die specifiek gekleurd zijn met een antilichaam dat bindt aan alle bacteriën van het geslacht *Legionella* enerzijds of aan de bacteriën die behoren tot specifiek de soort *L. pneumophila*. Deze methode zal verder worden aangeduid als de Directe Fluorescentie Assay (DFA)-methode.
- (c) De fluorescente in situ hybridisatie (FISH)-methode, eveneens een microscopische telling, waarin specifiek bacteriën gekleurd worden door binding van een DNA-probe. Er zijn twee verschillende DNA-probes toegepast: een specifieke *Legionella*-probe en een specifieke *L. pneumophila* probe.
- (d) De polymerase ketting reactie (PCR)-methode die is gebaseerd op de specifieke vermenigvuldiging van een karakteristiek stukje DNA van *Legionella* of *L. pneumophila*.

### **Kweekmethode**

Om de kweekmethode toe te kunnen passen om monsters afvalwater en luchtmonsters zijn drie verschillende semi-selectieve media en twee verschillende voorbehandelingsmethoden onderzocht op hun bruikbaarheid. Het principe van deze methoden is gebaseerd op het zoveel mogelijk afdoden en remmen in de groei van alle aanwezige bacteriën uitgezonderd *Legionella*. Dit wordt bereikt door het toepassen van een hitte- of zuurbehandeling van het monster en antibiotica in het medium. Alleen als de remming van de andere microflora voldoende plaatsvindt, is de relatief langzaam groeiende *Legionella* bacterie in staat zich op het medium te vermenigvuldigen. Door de verscheidenheid en het grote aantal bacteriën in afvalwater bleek het niet mogelijk de achtergrondflora zodanig te remmen dat ongestoorde analyse van *Legionella* mogelijk was. Omdat de kweekmethode de referentiemethode is en de enige die uitsluitsel geeft over de aanwezigheid van levende *Legionella* bacteriën is deze



methode wel meegenomen in het meetprogramma. Omdat er tussen de twee voorbehandelingen en media bijna geen verschillen zichtbaar waren is ervoor gekozen de standaard NEN6265 toe te passen.

#### **DFA-methode**

De specificiteit van deze methode is gebaseerd op het selectief binden van het antilichaam aan de *Legionella* of *L. pneumophila* bacteriën. Ook tijdens de microscopische beoordeling kan op basis van morfologie van de gekleurde cellen in beperkte mate onderscheid gemaakt worden tussen *Legionella* en bacteriën of andere deeltjes met afwijkende morfologie. Zo kunnen eventuele aspecifiek gekleurde cellen met afwijkende morfologie uitgesloten worden van de telling. Bij de beoordeling van de verschillende slibmonsters met de twee typen antilichamen bleek dat zeer veel cellen gekleurd waren. Dit zou kunnen betekenen dat er zeer grote aantallen karakteristieke cellen aanwezig zijn. Bekend is echter dat de specificiteit van antilichamen niet absoluut is. In afvalwatermonsters, waarin zeer veel verschillende bacteriën aanwezig zijn, zouden cellen aspecifiek gekleurd kunnen zijn. Deze methode is daarom beschouwd als een indicatieve bepaling van het maximaal aantal mogelijke *Legionella* of *L. pneumophila* aanwezig in het monster.

#### **FISH-methode**

Analyse van afvalwatermonsters waarin de *Legionella* bacteriën gekleurd zijn met een *Legionella* specifieke DNA-probe liet zien dat een groot aantal morfologisch afwijkende cellen gekleurd waren. De specificiteit van de DNA-probe bleek onvoldoende om toe te passen voor afvalwatermonsters. De DNA-probe voor *L. pneumophila* bleek zeer specifiek en in geen van de monsters zijn aspecifieke kleuringen gevonden. Een ander aspect van de FISH-methode is dat de detectiegrens afhankelijk is van het aantal microscopische beeldvelden die beoordeeld worden en het monstervolume dat kan worden gefiltreerd. Met name dit laatste aspect levert problemen op omdat het onmogelijk is relatief grote monstervolumes te concentreren. Na filtratie van 1 ml slib en de beoordeling van 100 beeldvelden is de detectiegrens  $5 \times 10^5/l$ . Microscopische beoordeling van enkele filters maakte duidelijk dat door het zoeken "naar de speld" deze methode niet geschikt is voor beoordeling van afvalwater, dit ondanks de zeer specifieke probe. De FISH-methode is om deze reden niet verder toegepast in dit onderzoek. Het is niet mogelijk gebleken de filterbaarheid zodanig te vergroten dat de detectiegrens voldoende werd verlaagd.

### **PCR-methode**

In tegenstelling tot de bovenbeschreven methoden wordt in de PCR-methode DNA gedetecteerd en geen cellen. Deze methode geeft dan ook geen directe informatie over de aanwezigheid van levende, infectieuze cellen. Dit in tegenstelling tot de FISH-methode waarin alleen actieve cellen gekleurd worden. De uitslag van de bepaling zal dan ook informatie geven over het maximaal aantal aanwezige cellen/DNA. Hier staat tegenover dat de methode zeer specifiek is, semi-kwantitatief, relatief snel en met de juiste controles kan ook mogelijke remming door componenten uit het monster beoordeeld worden. Gezien deze positieve aspecten en de moeilijkheden die de analyse van afvalwatermonsters veroorzaakt bij de toepassing van de hierboven beschreven methoden is de PCR-methode een waardevolle methode voor de bepaling van *Legionella* en *L. pneumophila* in slib.

In het vooronderzoek is het PCR-protocol zo aangepast dat verschillende extra controles zijn toegevoegd aan het standaard Kiwa-protocol. Het belangrijkste aspect dat is toegevoegd is de additie van een bekende hoeveelheid *Legionella* cellen aan een extra monster. Hierdoor was het wel noodzakelijk alle monsters in tweevoud te analyseren. Met name remming tijdens de DNA-vermenigvuldiging kan een probleem zijn in de analyse. Een standaardadditie experiment kan deze mogelijke remming zichtbaar maken. Het aangepaste protocol bleek goed toepasbaar voor zowel afvalwater- als luchtmonsters.

### **Verhogen gevoeligheid luchtmonsters**

Om de detectie van *Legionella* zo gevoelig mogelijk te maken is onderzocht of het te onderzoeken volume lucht verhoogd kon worden van 1000 liter naar 10.000 liter. Omdat de agarplaten bij zoveel lucht mogelijk zouden uitdrogen is onderzocht bij welk volume lucht nog geen invloed heeft op het onderzoeksresultaat. Dit is gedaan door een bekende hoeveelheid *Legionella* bacteriën te enten op agarplaten en deze agarplaten aan verschillende volumes lucht bloot te stellen in de luchtbemonsteringsapparatuur. Bij 10.000 liter over een plaat werden geen *Legionella* meer aangetroffen omdat de agar uitgedroogd was. Monstervolumes van 2000 liter per agarplaat bleken geen invloed te hebben op de kweekbaarheid van *Legionella* bacteriën.

### **Evaluatie**

Het is niet mogelijk gebleken één, meest geschikte, methode te selecteren voor het aantonen van *Legionella* en *L. pneumophila* in water en lucht bij rwzi's. Het grote aantal bacteriën in deze matrices bemoeilijkt de analyses sterk. Kweek en DFA zijn mogelijk gevoelig voor storing door achtergrondflora, terwijl met de PCR geen zekerheid over de levensvatbaarheid

kan worden verkregen. Dit sluit aan bij de bevindingen van Palmer *et al.*, 1993 en Pascual *et al.*, 2001.

Om een zo goed mogelijk beeld te krijgen van het voorkomen van *Legionella* op rwzi's moet een combinatie van verschillende analysemethoden worden toegepast. De FISH-methode voor *Legionella* is daarbij onvoldoende specifiek en die voor *L. pneumophila* onvoldoende gevoelig gebleken om op rwzi's toe te passen. Voor dit onderzoek is daarom gekozen voor een combinatie van:

- de kweekmethode, ondanks de storing door de achtergrondflora. Als de methode resultaten geeft is daar het grootste referentiekader voor en is er informatie over de aanwezigheid van levensvatbare *Legionella*.
- de PCR-methode, omdat hiermee in ieder geval de aanwezigheid van *Legionella* en *L. pneumophila* (toen deze lopende dit onderzoek beschikbaar kwam) specifiek kan worden aangetoond;
- de DFA-methode, om een onafhankelijke verificatie te hebben van de PCR-resultaten voor zowel *Legionella* als *L. pneumophila* in deze onbekende matrices.

Voor de luchtmonstering moet worden gewerkt met maximaal 2000 liter luchtmonsters. Door 5 monsters van 2000 liter lucht te nemen kan toch voldoende (10.000 liter) gevoeligheid worden bereikt.

## V Onderzoeksmethoden

De ervaringen van de luchtbemonstering uit fase 1 en de ontwikkeling van methoden voor detectie van *Legionella* in fase 1 zijn samengevoegd tot een meetprogramma voor dit onderzoek (zie hoofdstuk 4). Als parameters zijn geselecteerd:

- koloniegetal 22°C; als referentie (zowel met het onderzoek in fase 1 als met wat er bekend is uit de literatuur) en om de aërosolisatie van bacteriecellen uit de waterfase op de verschillende plaatsen te kwantificeren. De fractie bacteriecellen die uit de waterfase in de lucht terechtkomt wordt daarbij beschouwd als model voor de aërosolisatie van *Legionella*-bacteriën. Deze parameter is onderzocht in lucht en water.
- *Legionella*; om een zo compleet mogelijk beeld te krijgen van het voorkomen van *Legionella* zijn water en luchtmonsters onderzocht met zowel de kweekmethode als met de DFA en PCR techniek. Lopende het onderzoek kwam een *L. pneumophila*-specifieke PCR techniek voorhanden die ook op de lucht en watermonsters is toegepast (zie ook Bijlage IV).
- Directe celtelling en ATP; bij de eerste bemonstering in Apeldoorn werd duidelijk dat met de DFA techniek hoge gehalten *Legionella (pneumophila)* in de lucht werden aangetroffen, terwijl met de kweekmethode geen *Legionella* werd aangetroffen. Dat kon betekenen dat *Legionella* wel aanwezig, maar niet kweekbaar was. De kweekmethode werd sterk gehinderd door overgroei van andere micro-organismen, zodat niet met zekerheid aangetoond werd dat zich in de lucht geen kweekbare *Legionella* bevonden. Om een idee te krijgen van de verhouding kweekbare bacteriën/totaal aantal bacteriën in de lucht en in water zijn in de overige rwzi's de luchtmonsters ook onderzocht met de directe celtelling en ATP.

### Luchtbemonstering

Op de geselecteerde locaties is lucht bemonsterd met de MAS-100 bemonsteringsapparaten. Voor detectie van *Legionella* is de gevoeligheid van de methode verhoogd door een groter volume lucht te bemonsteren (10.000 liter, door 5 monsters van 2000 liter te nemen). Bij het eerste onderzoek op de rwzi Apeldoorn is nog 1000 en 10.000 liter (5x 2000 liter) bemonsterd voor de kweekmethode. Deze zijn gekweekt met en zonder pasteurisatie om de achtergrondflora te onderdrukken. Omdat er geen verschil was in de mate van overgroei tussen 1000 en (5x) 2000 liter en pasteurisatie de achtergrondflora wel (maar onvoldoende) onderdrukte is bij de daaropvolgende rwzi's gekozen voor 10.000 liter (5x 2000 liter) en kweek met pasteurisatie.

Voor de overige *Legionella* methoden en de ATP en directe celtelling werd in totaal 20.000 liter lucht bemonsterd (10 x 2000 liter). De agarplaten bevatten BYCE-ab. Na de bemonstering werden de platen uit de samplers gehaald en werd elke plaat met ca. 2 ml steriel drinkwater afgespateld en afgegoten. Dit gesuspendeerde luchtmonster werd aangevuld tot 20 ml.

Voor het koloniegetal werden monsters van 10, 50, 100, 250 en 500 liter lucht genomen op PCA-platen. De platen werden geïncubeerd en beoordeeld volgens NEN6560.

### **Waterbemonstering**

Van de waterfase werd 250 ml monster genomen. Deze monsters zijn voor inzetten gehomogeniseerd om sediment weer te resuspenderen.

### **Onderzoek Legionella**

#### *Kweek*

De agarplaten met BYCE+ab werden uit de MAS-100 samplers gehaald en gepasteuriseerd gedurende 30 minuten bij 50°C. De watermonsters zijn onverdund, 10 en 100 x verdund ingezet op BYCE+ab en gepasteuriseerd gedurende 30 minuten bij 50°C. Alle platen zijn geïncubeerd en beoordeeld volgens NEN6265.

#### *DFA*

Van het gesuspendeerd luchtmonster is 2 maal 4,5 ml gefiltreerd over een 0,2 µm polycarbonaat-filtertje. De watermonsters zijn onverdund gefiltreerd over 2 filters.

De filters zijn gekleurd met de monoclonale antilichamen (1 filter met anti-*Legionella* spp. en 1 filter met anti-*L. pneumophila* (alle serogroepen)) en onder de fluorescentiemicroscopie bij 1000x vergroting beoordeeld.

#### *PCR*

Van het gesuspendeerde luchtmonster werd 9 ml in behandeling genomen voor de PCR-methode. Dit resulteerde in 50 µl DNA-isolaat, waarvan 10 µl werd gebruikt voor de *Legionella* PCR en 10µl voor de *L. pneumophila*-PCR. Per PCR werd dus het equivalent van 1800 liter lucht onderzocht

#### *Onderzoek koloniegetal 22°C*

Dit is uitgevoerd als beschreven in hoofdstuk 3.

### *Directe celtelling*

De luchtmonsters zijn direct gefiltreerd over 0,2 µm polycarbonaat-filters en beoordeeld volgens het Kiwa huisvoorschrift. De watermonsters zijn verdund in steriel water en gefiltreerd en beoordeeld volgens het Kiwa-huisvoorschrift.

### *ATP*

Voor de ATP-analyse is een verdunningsreeks gemaakt in steriel water om eventuele interferentie weg te verdunnen. De ATP-gehalten zijn gemeten volgens het Kiwa huisvoorschrift en teruggerekend naar het ATP-gehalte in het oorspronkelijke monster. Deze zijn grafisch uitgezet en voor de berekening van het ATP-gehalte is het gemiddelde genomen van de ATP-gehalten in het gebied waar het ATP-gehalte constant was (geen interferentie).

### **Lijst van Kiwa-huisvoorschriften die in dit onderzoek zijn gebruikt.**

LMB-002 - Bepaling van het Adenosinetrifosfaat gehalte in water en suspensies

LMB-013 - Directe bepaling van het totaal aantal micro-organismen in water en suspensie met behulp van epifluorescentie microscoop.

LMB-028 - Onderzoek naar de aanwezigheid en het aantal kolonievormende eenheden (kve) van *Legionella*-bacteriën in water en suspensies. Conform NEN 6265

LMB-032 - Bepaling van het koloniegetal op glucosegist extract bij 22°C en 37°C in water en suspensies. Conform NEN 6550 en NEN 6560.

LMB-040 - Onderzoek naar *Legionella pneumophila* met behulp van Fluorescent in situ hybridisatie (FISH) en antilichaamkleuring (DFA).

LMB-042 - Onderzoek naar *Legionella* met behulp van PCR

