

BTO 2020.061 | November 2020

BTO rapport

Bepaling mate van biofilmvorming van PE-aansluitleidingen in de praktijk

Bepaling mate van biofilmvorming van PE aansluitleidingen in de praktijk

Praktische richtlijnen voor gebruik van PE als leidingmateriaal

BTO 2020.061 | November 2020

Opdrachtnummer

402045-137

Projectmanager

Michiel Hootsmans

Opdrachtgever

BTO - Bedrijfsonderzoek

Auteur

Kimberly Learbuch

Kwaliteitsborger

Paul van der Wielen

Verzonden naar

Dit rapport is verspreid onder BTO-participanten.

Een jaar na publicatie is het openbaar.

Keywords

PE, BPP

Jaar van publicatie
2020

Meer informatie
Kimberly Learbuch MSc.
T 030-6069599
E kimberly.learbuch@kwrwater.nl

PO Box 1072
3430 BB Nieuwegein
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511
F +31 (0)30 60 61 165
E info@kwrwater.nl
I www.kwrwater.nl

KWR

November 2020 ©

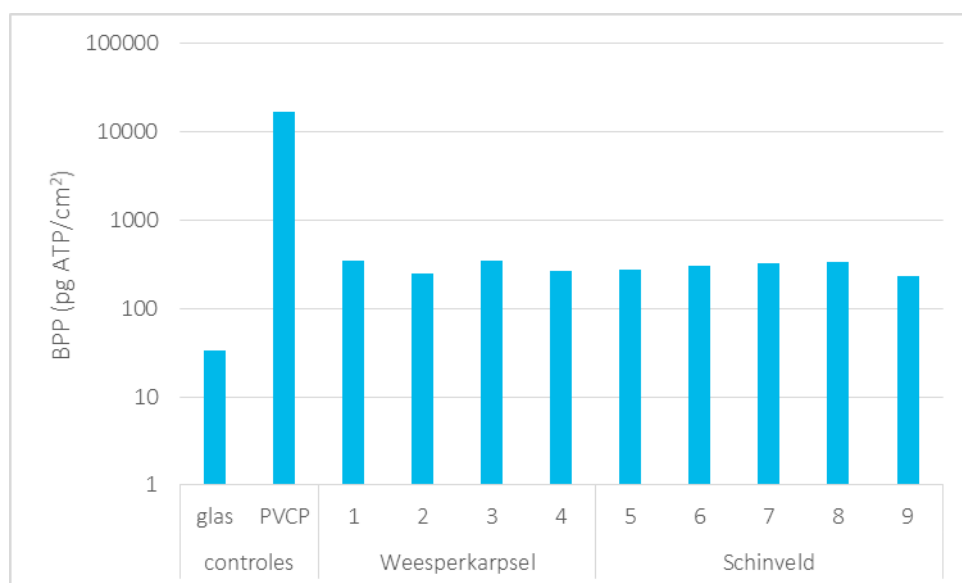
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervaelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevens bestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming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

BTO Managementsamenvatting

Eerste inventarisatie duidt op afwezigheid hoge mate van biofilmvorming in PE-aansluitleidingen

Auteur Kimberly Learbuch MSc

Het gebruik van PE-aansluitleidingen lijkt niet te leiden tot een hoge mate van biofilmvorming in het distributiesysteem, zo blijkt uit de analyse van een beperkt aantal monsters. Een eerste inventarisatie hiernaar is uitgevoerd aan de hand van het bemonsteren van negen verschillende PE-aansluitleidingen in de voorzieningsgebieden van Weesperkarspel (groeibevorderend water) en van PS Schinveld (niet-groeibevorderend water). Van de biofilm zijn verschillende microbiologische parameters bepaald alsook de biomassaproductiepotentie (BPP) van de uitgenomen PE-leidingen. Er wordt geen duidelijke relatie waargenomen tussen de biologische stabiliteit van het water en ATP en KG22. In geen enkel monster is kweekbare *Legionella pneumophila* aangetroffen. Het aantal genkopieën van *Mycobacterium* spp. en *Legionella* spp. is in Weesperkarspel significant hoger dan in Schinveld. De BPP-waarden van de negen verschillende materialen zijn vergelijkbaar en variëren tussen 230 en 350 pg ATP/cm². Dit is beduidend lager dan de grenswaarde van 1.000 pg ATP/cm². Het beperkt aantal geanalyseerde monsters maakt dat de resultaten indicatief zijn. Een uitgebreidere monstercampagne is nodig om wetenschappelijk onderbouwde conclusies te kunnen trekken.



Biomassaproductiepotentie (BPP) voor de uitgenomen aansluitleidingen van PE-materiaal in Weesperkarspel (1-4) en Schinveld (5-9), inclusief BPP-waarden van de negatieve controle (glas) en de positieve controle (PVC-P)

Belang: mate van nagroei nagaan van PE-aansluitleidingen

De vorming van biofilm in het distributiesysteem kan leiden tot de groei van opportunistische pathogenen, wat een bedreiging vormt voor de drinkwaterkwaliteit. Met deze studie is een eerste inventarisatie gedaan naar het mogelijke risico van een verhoogde mate van biofilmvorming en biomassaproductiepotentie (BPP) in polyethyleen (PE) aansluitleidingen. PE in plaats van PVC-U bij aansluitleidingen heeft praktische voordelen flexibel, levering op rol. Echter bij het gebruik van

PE materialen vormt de potentie tot nagroei een potentieel risico.

Aanpak: bemonstering van PE-aansluitleidingen in twee verschillende voorzieningsgebieden

In totaal zijn negen PE-aansluitleidingen in de praktijk bemonsterd: vier in Weesperkarspel (groeibevorderend water) en vijf in Schinveld (niet-groeibevorderend water). De biofilmmonsters zijn geanalyseerd op ATP, KG22, *Legionella*-kweek en specifieke qPCR's. Vervolgens zijn de materialen geanalyseerd met de BPP-test.

Resultaten: vergelijkbare BPP-waarden tussen verschillende PE-materialen

De resultaten laten voor Weesperkarspel hogere ATP-concentraties, KG22-aantallen en genkopieën van *Mycobacterium* spp. en *Legionella* spp. zien in vergelijking met Schinveld. De BPP-waarden van de negen verschillende materialen zijn vergelijkbaar en variëren tussen 230 en 350 pg ATP/cm². Dit is beduidend lager dan de grenswaarde van 1.000 pg ATP/cm². Op basis van de analyse van het beperkt aantal monsters binnen deze studie kan een indicatieve conclusie worden getrokken dat het gebruik van PE-aansluitleidingen niet leidt tot hoge mate van biofilmvorming in het distributiesysteem.

Toepassing: verdere wetenschappelijke onderbouwing nodig

Na deze inventariserende studie is een groter opgezet onderzoek nodig om een wetenschappelijk onderbouwde aanbeveling te kunnen doen over het gebruik van PE-aansluitleidingen in het distributiesysteem in relatie tot risico's van biofilmvorming.

Rapport

Dit onderzoek is beschreven in het rapport *Bepaling mate van biofilmvorming van PE-aansluitleidingen in de praktijk* (BTO 2020.061).

Jaar van publicatie
2020

Meer informatie
Kimberly Learbuch MSc.
T 030-6069599
E kimberly.learbuch@kwrwater.nl

PO Box 1072
3430 BB Nieuwegein
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511
F +31 (0)30 60 61 165
E info@kwrwater.nl
I www.kwrwater.nl



November 2020 ©

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

Keywords

PE, BPP

Inhoud

1	Inleiding	2
2	Materiaal en methoden	3
2.1	Uitname leidingen	3
2.1.1	Biofilmbemonstering leidingwand	3
2.2	Analyses	3
2.2.1	Adenosinetrifosfaat (ATP)	3
2.2.2	Koloniegetal bij 22°C	4
2.2.3	<i>Legionella</i> kweek	4
2.2.4	DNA-isolatie	4
2.2.5	qPCR's	4
2.2.6	Schoonmaken leidingen voor BPP-test	4
2.2.7	BPP-test	5
2.2.8	Statistische analyse	5
3	Resultaten	6
3.1	ATP, KG22 en <i>Legionella</i> kweek	6
3.2	qPCR's	7
3.3	BPP-test	7
3.4	Statistische analyse	9
4	Discussie	10
5	Conclusies en aanbevelingen	13
5.1	Conclusies	13
5.1.1	Bureaustudie	13
5.1.2	Experimenten	13
5.2	Aanbevelingen	14
5.2.1	Bureaustudie	14
5.2.2	Experimenten	14
6	Referenties	15
I	Bijlage Achtergrond informatie locaties	16
II	Bijlage resultaten qPCR en BPP	18
III	Resultaten uit BTO2013.037	20
IV	Bureaustudie	21

1 Inleiding

Voor de distributie van het drinkwater van pompstation naar de klant toe worden verschillende materiaalsoorten gebruikt. De aard van de materialen heeft door de jaren heen een sterke ontwikkeling doorgemaakt. Aanvankelijk werd gebruik gemaakt van klassieke leidingmaterialen zoals staal, lood, gietijzer en later asbestcement. Later werden kunststoffen aan het assortiment toegevoegd. Door opbouw van kennis en ervaringen over de toegepaste leidingmaterialen kunnen inzichten over het gebruik van leidingmateriaaltype wijzigen. Bij het gebruik van kunststoffen vormt bijvoorbeeld de potentie tot nagroei een potentieel risico, dit speelt met name bij het gebruik van polyethyleen (PE) materialen.

KWR heeft in het verleden een meetmethode ontwikkeld waarmee de groeipotentie van materialen voor micro-organismen wordt bepaald door de biomassa-productiepotentie (BPP) van materialen te meten middels de BPP-test. Deze BPP test is inmiddels een door de Europese Commissie voor Standaardisatie (CEN) gestandaardiseerde test. Daarnaast is een beoordelingscriterium voor de BPP-test verankerd in de Nederlandse regelgeving, naast de Duitse W270 testmethode. De BPP-waarden voor verschillende PE-materialen vallen in een brede range, waarbij met enige regelmaat BPP-waarden worden gemeten die boven het beoordelingscriterium liggen. Binnen de BTO themagroep Biologische Activiteit (2013-2017) werd daarom onderzoek uitgevoerd naar de variatie van de groeipotentie tussen PE-typen (PE-100, PE-80 en PE-40) en PE van verschillende leveranciers. Het onderzoek heeft echter niet geleid tot een eenduidige conclusie; de groeipotentie verschilde tussen PE-soort en –producent en er werd geen statistisch verschil gevonden tussen de BPP waarden van de verschillende producenten of type. Op basis van dat onderzoek kan dus niet worden geconcludeerd dat één bepaalde producent van PE of PE-type beter is (Learbuch, 2018).

Door de relatief hoge groeipotentie die met enige regelmaat door KWR is gemeten voor zowel nieuwe en oude PE-materialen en met inachtneming van het voorzorgsprincipe en levering van onberispelijk drinkwater aan de consument heeft KWR tot nu toe geadviseerd terughoudend te zijn met de toepassing van PE in het distributiesysteem. WML en Waternet conformeren zich hieraan en staan gebruik van PE alleen onder voorwaarden toe. De praktijk leert dat sommige andere drinkwaterbedrijven in Nederland PE breder toepassen in het distributiesysteem, en ook in de installatiebouw wordt PE veel toegepast in drinkwaterinstallaties.

Het risico op ongewenste en onacceptabele nagroei zou het grootst kunnen zijn in de aansluitleiding naar de woning, omdat aansluitleidingen in tegenstelling tot distributieleidingen niet spuibaar zijn, relatief veel stilstand van drinkwater hebben, een hogere drinkwatertemperatuur hebben doordat ze ondieper en (deels) in pandig liggen, en een relatief hoge oppervlakte/volume verhouding hebben (hoge conversiefactor). Desondanks heeft het gebruik van PE in plaats van PVC-U bij aansluitleidingen veel praktische voordelen (flexibel, levering op rol).

Het doel van de in deze studie beschreven rapportage is om:

- Overzicht van de ontwikkeling van de BPP-test met de uitleg waarom bepaalde keuzes zijn gemaakt.
 - o Dit deel is middels literatuurstudie uitgevoerd en met de opdrachtgever is gecommuniceerd middels een powerpoint presentatie en deze presentatie is te vinden in de Bijlage IV.
- In praktijk PE-aansluitleidingen uit te nemen om te bepalen wat de biofilmconcentratie, BPP en aantallen van *L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *A. fumigatus* zijn en om te achterhalen of PE-aansluitleidingen mogelijk een risico vormen voor verhoogde mate van biofilmvorming in het distributiesysteem.
 - o De resultaten van de uitname van PE-aansluitleidingen zijn beschreven in dit rapport.

2 Materiaal en methoden

2.1 Uitname leidingen

In oktober en november van 2019 zijn er in twee verschillende voorzieningsgebieden (Weesperkarspel en Schinveld) PE leidingen uitgenomen. In Weesperkarspel zijn op 24-10-2019 vier proefstukken van PE leidingen uitgenomen. Op 21 en 25-11-2019 zijn totaal vijf leidingmaterialen uitgenomen in Schinveld. Zie Tabel 1 en bijlage 1 voor meer informatie.

Tabel 1 Overzicht locaties, data bemonsteringen en materiaal informatie.

	Datum uitname	Locatie	Oppervlakte bemonsterd (cm ²)	Diameter (mm)	Materiaal	Leeftijd
Weesperkarspel	24-10-2019	1	218,65	63	PE	6
	24-10-2019	2	226,19	63	PE40	5
	24-10-2019	3	90,57	25	PE40	5
	24-10-2019	4	92,52	25	PE40	5
Schinveld	21-11-2019	5	94,25	25	PE	5
	21-11-2019	6	94,72	25	PE100	4
	21-11-2019	7	95,19	25	PE	4
	25-11-2019	8	95,19	25	PE100	4
	25-11-2019	9	95,19	25	PE	4

2.1.1 Biofilmbemonstering leidingwand

De biofilm van de uitgenomen leidingen werd geheel bemonsterd met een steriel wattenstaafje (swabben) op vier verschillende plekken, waarna het wattenstaafje in 10 ml steriel leidingwater werd gedaan (het totaal bemonsterde oppervlakte staat in Tabel 1). Vervolgens werd het behandeld met 2 minuten LES (Low Energy Sonification bij 40 KHz) en werd 10 ml volume verzameld in een nieuwe buis, waarna opnieuw 10 ml steriel leidingwater aan wattenstaafje werd toegevoegd en de procedure werd herhaald. In totaal werd dit drie keer herhaald (zodat je 40 ml krijgt) en werden de verzamelde 10 ml volumes na LES gepoold, met een totaal volume van 160 ml. Vervolgens is 50 ml steriel leidingwater aan deze 160 ml toegevoegd, om genoeg volume (210 ml) te hebben om alle geplande analyses uit te kunnen voeren.

2.2 Analyses

2.2.1 Adenosinetrifosfaat (ATP)

ATP is aanwezig in alle levende organismen en is een maat voor de hoeveelheid actieve biomassa. De ATP bepaling berust op de luciferine-luciferase reactie, waarbij ATP onder vorming van licht (een foton per molecuul ATP) overgaat in adenosinedifosfaat (ADP). Met behulp van lichtgevoelige apparatuur kan de lichtproductie nauwkeurig worden gemeten. De werkwijze levert binnen enkele minuten een resultaat op. De detectiegrens van de bepaling bij direct onderzoek van drinkwater bedraagt ca. 1 ng ATP/l. Op basis van gemiddelde waarden voor het ATP-gehalte per bacteriecel kan met het ATP-gehalte een ruwe schatting worden gemaakt voor de concentratie aan actieve (levende) bacteriën. De ATP-analyse is uitgevoerd conform KWR-huisvoorschrift LMB-002.

2.2.2 Koloniegetal bij 22°C

Deze bepaling conform NEN-EN-ISO 6222 telt het aantal heterotrofe bacteriën dat aanwezig is in het water en biofilm en kolonies vormt op een PCA voedingsmedium na 3 dagen incuberen bij 22°C. Dit is een standaardbepaling in drinkwater, en deze parameter is ook opgenomen als norm in het Drinkwaterbesluit. De wettelijke eis is dat het geometrisch jaargemiddelde van het KG22 in drinkwater bemonsterd na doorstroming (tot de watertemperatuur 30 seconden constant is) aan de keukenkraan lager of gelijk is aan 100 KVE/ml. De KG22-analyse is uitgevoerd conform KWR-huisvoorschrift LMB-032.

2.2.3 *Legionella* kweek

Het aantal legionellabacteriën is bepaald met de kweekmethode op het medium Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) agar met antibiotica conform NEN 6265. Na zeven dagen incubatie bij 37 °C werden typische kolonies geteld. Bevestiging van de kolonies is uitgevoerd op BCYE-medium met en zonder cysteïne. Onderscheid tussen kolonies van *L. pneumophila* en kolonies van *L. anisa* is gedaan met qPCR.

2.2.4 DNA-isolatie

Een deel van het gesoniceerde volume van de biofilmmonsters (50 ml) werd gefiltreerd door een 0,22µm filter, waarna de filters en een DNA suspensie van een interne controle werden toegevoegd aan buffers van de DNeasy Power Biofilm Kit (Qiagen), voordat ze werden opgeslagen bij -20°C. Later werd DNA uit deze filters geïsoleerd met de DNeasy PowerBiofilm kit. De DNA isolatie is uitgevoerd conform KWR-huisvoorschrift LMB-069.

2.2.5 qPCR's

Er zijn zes verschillende qPCR's uitgevoerd op de monsters, zie Tabel 2.

Tabel 2 Overzicht qPCR's

	Doelgen	KWR-huisvoorschrift	Referentie
<i>Legionella</i> spp.	16S rRNA	LMB-068, bijlage 01	Heijnen et al., 2002
<i>L. pneumophila</i>	Mip	LMB-065, bijlage 01	Wullings et al., 2011
<i>P. aeruginosa</i>	regA	LMB-065, bijlage 10	Van der Wielen et al., 2014
<i>S. maltophilia</i>	Chitinase A	LMB-068, bijlage 06	da Silva Filho et al., 2004
<i>A. fumigatus</i>	28S rRNA	LMB-065, bijlage 06	van der Wielen, Italiaander, et al., 2011
<i>Mycobacterium</i> spp.	16S rRNA	LMB-065, bijlage 20	Van der Wielen et al., 2014

2.2.6 Schoonmaken leidingen voor BPP-test

Na bemonstering van de representatieve biofilms is ieder leidingsegment ingepakt in een schone plastic zak en in het donker bij 18° C opgeslagen totdat de BPP-test is uitgevoerd (ongeveer 1-1,5 maand).

De materialen ter voorbereiding van de BPP-test werden op de volgende manier behandeld:

- 1) representatieve fragmenten (ca. 25 cm²) als testmonsters uit het te onderzoeken leidingmateriaal zagen;
- 2) het testmonster onderdompelen in 1% HCl-oplossing gedurende 1 uur;
- 3) schoonswabben van het gehele oppervlak (voor- en achterzijde) van het testmonster met een steriele tandenborstel;
- 4) indien het materiaal zichtbaar schoon is: overbrengen in leidingwater; is dit niet het geval, dan worden stap 2 en 3 herhaald;
- 5) Behandelen met high energy sonification (HES) 2 min, 45% 30 Watt in leidingwater;
- 6) inzetten de BPP-test volgens NEN-EN 16421 (dit is KWR-huisvoorschrift LMB-006).

a) als voorbehandeling worden de materialen gespoeld:

- Plaats de materialen de dag voordat de test wordt opgestart in een bekeerglas en spoel gedurende 60 ± 5 min (1 tot 3 m/min)
- Laat de stukjes vervolgens gedurende 24 ± 1 uur in het water bij kamertemperatuur staan
- Spoel de stukjes nogmaals gedurende 60 ± 5 min (1 tot 3 m/min)
- Plaats de stukjes vervolgens in de flessen met het testwater.

2.2.7 BPP-test

De groeipotentie van de verschillende materialen is bepaald met de BPP-test zoals beschreven in NEN-EN16421. De PE materialen zijn daarbij in stukken met de juiste oppervlakte (25 cm^2) gesneden en zes stukken (totaal oppervlakte 150 cm^2) zijn toegevoegd aan flessen met 900 ml drinkwater. De flessen zijn vervolgens geïncubeerd bij 30°C en wekelijks ververs met drinkwater. Na 8, 12 en 16 weken wordt de ATP concentratie van de biofilm op de materiaalstukjes en van het water bepaald. Op basis van ATP kan de biofilmvormingspotentie van het materiaal (BVP) worden bepaald. De BVP is de gemiddelde concentratie (op basis van de duplo flessen) van de biomassa op het materiaal op één van de drie meetmomenten (attached biomass, AB). De biomassaproductie (BP) op één van de drie meetmomenten wordt daarna bepaald door de BVP-concentratie op te tellen bij de concentratie van de biomassa in het water (suspended biomass, SB). De SB wordt berekend op basis van de oppervlakte/volume-verhouding van het materiaal in de test. Tot slot wordt de BPP-waarde berekend door de BP-waarden van de drie meetmomenten te middelen.

2.2.8 Statistische analyse

Verschillen van ieder gemeten parameter tussen de leidingen uitgenomen uit het voorzieningsgebied van Weesperkarspel en het voorzieningsgebied van Schinveld zijn statistisch getoetst met de niet-parametrische Mann-Whitney toets. Verschillen werden significant beschouwd indien de p-waarde $< 0,05$ was. Correlaties tussen de volgende parameters zijn getest met Pearson correlation: BPP, ATP biofilm, KG22 Biofilm, Mycobacterium biofilm, Legionella biofilm en jaarverbruik.

3 Resultaten

3.1 ATP, KG22 en Legionella kweek

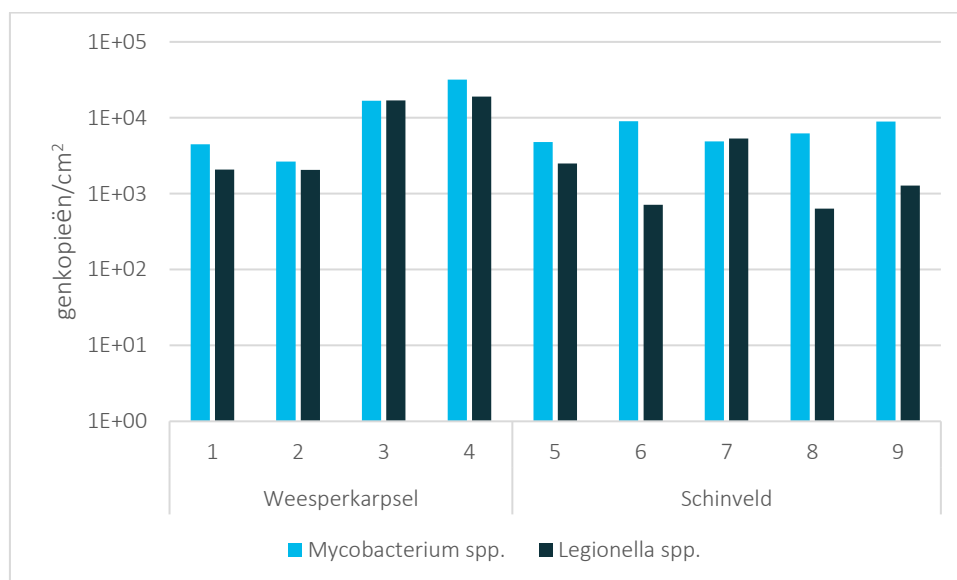
Er zijn twee voorzieningsgebieden bemonsterd waar vier (Weesperkarspel) en vijf (Schinveld) PE aansluitleidingen zijn uitgenomen. In Tabel 3 zijn alle resultaten per productielocatie en locatie terug te vinden, in Bijlage I staat de achtergrond informatie van de verschillende locaties. De ATP concentratie van de biofilm op de PE-leidingen ligt tussen de 73-940 pg/cm² voor de aansluitleidingen uit het distributiesysteem van Weesperkarspel met een gemiddelde van 463 ± 428 pg ATP/cm². Voor de uitgenomen aansluitleidingen van het distributiesysteem van Schinveld ligt de ATP concentratie van de biofilm tussen de 220-380 pg/cm² met een gemiddelde van 308 ± 73 pg ATP/cm². De KG22 getallen van de biofilm op de PE-aansluitleidingen liggen tussen de 18-450 kve/cm² voor leidingen uit het distributiesysteem van Weesperkarspel (gemiddelde: 142 ± 207 kve/cm²) en 13-140 kve/cm² voor leidingen uit het distributiesysteem van Schinveld (gemiddelde: 48 ± 47 kve/cm²). De ATP concentratie en de aantallen KG22 van de biofilm op de PE-aansluitleidingen waren niet significant verschillend tussen het distributiesysteem van Weesperkarspel en Schinveld ($p > 0,05$; Mann-Whitney test). In de biofilm van één van de uitgenomen PE-leidingen uit het distributiesysteem van Schinveld werd Legionella met de kweek aangetroffen, deze is met qPCR bevestigd als *L. anisa*. Bij alle andere monsters waren de aantallen kweekbare Legionella lager dan 1,1 kve/cm². De laagste ATP concentratie werd gevonden bij Weesperkarspel bij een grote diameter (locatie 1), mogelijk speelt de oppervlakte volume verhouding hierbij een rol. Maar ook zijn het verbruik en type woning anders dan bij de andere locaties, daarnaast kan het PE materiaal verschillend zijn geweest

Tabel 3 Overzicht resultaten ATP, KG22 en kweekbare Legionella per locatie.

	locatie	ATP ± stdev (pg/cm ²)	KG22 (kve/cm ²)	Legionella (kve/cm ²)	Diameter (mm)	Oppervlakte bemonsterd (cm ²)
Weesperkarspel	1	73 ± 5	18	<0,48	63	218,65
	2	130 ± 8,2	76	<0,46	63	226,19
	3	710 ± 14	23	<1,1	25	90,57
	4	940 ± 20	450	<1,1	25	92,52
Schinveld	5	380 ± 13	140	<1,1	25	94,25
	6	380 ± 0	18	<1,1	25	94,72
	7	220 ± 0	22	<1,1	25	95,19
	8	340 ± 16	46	<1,1	25	95,19
	9	220 ± 16	13	1,1	25	95,19

3.2 qPCR's

In Figuur 1 zijn de resultaten weergegeven van de verschillende qPCR's, in Bijlage I staan alle resultaten van de qPCR's. *Mycobacterium* spp. genkopieën (gk) variëren tussen $2,7 \times 10^3$ en $3,2 \times 10^4$ per cm^2 voor Weesperkarspel (gemiddelde: $1,4 \pm 0,2 \times 10^4$ gk/ cm^2) en tussen de $4,8 \times 10^3$ en $9,0 \times 10^3$ gk per cm^2 voor Schinveld (gemiddelde: $6,8 \pm 2,1 \times 10^3$ gk/ cm^2). De aantallen mycobacteriën in de biofilm op de uitgenomen PE-leidingen van Weesperkarspel waren significant hoger dan van Schinveld ($p < 0,05$; Mann-Whitney test). *Legionella* spp. genkopieën variëren tussen $2,1 \times 10^3$ en $1,9 \times 10^4$ per cm^2 voor Weesperkarspel (gemiddelde: $1,0 \pm 0,9 \times 10^4$ gk/ cm^2) en tussen de $6,3 \times 10^2$ en $5,4 \times 10^3$ gk per cm^2 voor Schinveld (gemiddelde: $2,1 \pm 2,0 \times 10^3$ gk/ cm^2). De aantallen *Legionella* spp. in de biofilm op de uitgenomen PE-leidingen van Weesperkarspel waren significant hoger dan van Schinveld ($p < 0,05$; Mann-Whitney test). *L. pneumophila* en *P. aeruginosa* zijn met qPCR niet aangetroffen in de biofilmonsters. *A. fumigatus* is met qPCR één keer aangetroffen in de biofilm van een aansluitleiding uit het distributiesysteem van Schinveld ($8,0$ genkopieën/ cm^2). *S. maltophilia* is met qPCR één keer aangetroffen in de biofilm van een aansluitleiding uit het distributiesysteem van Weesperkarspel, de concentratie is $1,6 \times 10^2$ genkopieën/ cm^2 .



Figuur 1 Resultaten van *Mycobacterium sp.p* en *Legionella* spp. van productielocaties Weesperkarspel en Schinveld..

3.3 BPP-test

Op de negen uitgenomen PE aansluitleidingen is, na zorgvuldig schoonmaken, de BPP-test uitgevoerd om de groeipotentie van het uitgenomen materiaal te bepalen. De BPP-waarden van de vier PE-leidingen uitgenomen uit het distributiesysteem van van Weesperkarspel variëren tussen de 250-350 pg ATP/ cm^2 (Tabel 4), met een gemiddelde BPP-waarde van $305 \pm 52,6$ pg ATP/ cm^2 . De BPP-waarden van de vijf PE-materialen uit het distributiesysteem van Schinveld variëren tussen de 230-340 pg ATP/ cm^2 (Tabel 3), met een gemiddelde van $296 \pm 43,9$ pg ATP/ cm^2 . De BPP-waarden van de leidingmaterialen uit het distributiesysteem van Weesperkarspel waren niet significant verschillend van die uit het distributiesysteem van Schinveld ($p > 0,05$; Mann-Whitney test). De negatieve controle glas heeft een BPP waarde van 34 pg ATP/ cm^2 en de positieve controle heeft een BPP waarde van 17.000 pg ATP/ cm^2 .

Tabel 4 De biomassaproductiepotentie (BPP) voor de verschillende geteste materialen.

	locatie	BPP $\pm$ stdev (pg ATP/cm ²)	ATP $\pm$ stdev (pg/cm ²)
Negatieve controle (glas)		34 $\pm$ 14	
Positieve controle (PVC-P)		17000 $\pm$ 4900	
Weesperkarspel	1	350 $\pm$ 150	73 $\pm$ 5
	2	250 $\pm$ 88	130 $\pm$ 8,2
	3	350 $\pm$ 110	710 $\pm$ 14
	4	270 $\pm$ 67	940 $\pm$ 20
Schinveld	5	280 $\pm$ 92	380 $\pm$ 13
	6	300 $\pm$ 77	380 $\pm$ 0
	7	330 $\pm$ 120	220 $\pm$ 0
	8	340 $\pm$ 59	340 $\pm$ 16
	9	230 $\pm$ 100	220 $\pm$ 16

Tot slot is het verschil tussen de biofilmconcentratie op de leidingwand en de BPP-waarden bepaald door de BPP-waarde af te trekken van de ATP-concentratie van de biofilm die is gemeten direct na uitname van het materiaal (ATP-BPP; Tabel 4). Deze ATP-BPP waarden zijn voor twee van de vier uitgenomen leidingen uit het distributiesysteem van Weesperkarspel en twee van de vijf uitgenomen vijf leidingen uit het distributiesysteem van Schinveld negatief, wat betekent dat de hoeveelheid biomassa die zich tijdens de BPP-test heeft ontwikkeld groter is dan de hoeveelheid biomassa die zich in het distributiesysteem op de leiding heeft ontwikkeld. Voor de andere twee materialen uit het distributiesysteem van Weesperkarspel en drie materialen uit het distributiesysteem van Schinveld zijn deze waarden positief, wat betekent dat in het distributiesysteem zich meer biomassa op het leidingmateriaal heeft ontwikkeld dan tijdens de BPP-test.

Tabel 4 De waarde verkregen na het aftrekken van de biomassaproductiepotentie (BPP) waarde voor de geteste materialen van de ATP-concentratie gemeten direct na uitname van de materialen (ATP-BPP).

	locatie	ATP-BPP (pg ATP/cm ²)
Weesperkarspel	1	-277
	2	-120
	3	360
	4	670
Schinveld	5	100
	6	80
	7	-110
	8	0
	9	-10

3.4 Statistische analyse

De correlaties tussen volgende parameters zijn getest: BPP, ATP biofilm, KG22 Biofilm, Mycobacterium biofilm, Legionella biofilm en jaarverbruik. Alleen de volgende paren zijn significant gecorreleerd ($p < 0.01$):

- ATP en Mycobacterium ($R^2=0.86$)
- ATP en Legionella ($R^2=0.77$)
- Legionella en Mycobacterium ($R^2=0.77$)

Alle andere onderlinge paren van parameters zijn niet significant gecorreleerd.

4 Discussie

Het doel van dit onderzoek was om een eerste inventarisatie uit te voeren naar de mate van nagroei in PE aansluitleidingen in praktijksituaties. Daartoe zijn er totaal negen PE aansluitleidingen uitgenomen in Weesperkarspel (groeibevorderend water) en Schinveld (niet groeibevorderend water) in oktober en november 2019 en zijn verschillende microbiologische parameters van de biofilm bepaald alsook de BPP van de uitgenomen PE leidingen.

De ATP concentraties van de biofilm op de uitgenomen PE leidingen van het distributiesysteem van Weesperkarspel laten een hoge variatie t.o.v. Schinveld zien. De hoogste ATP concentratie wordt aangetroffen bij locatie 4, waar ook de hoogste KG22 aantallen zijn waargenomen. Op deze locatie worden ook de hoogste aantal genkopieën van *Mycobacterium* spp. en *Legionella* spp. aangetroffen, tevens wordt hier *Stenotrophomonas maltophilia* aangetroffen. Er lijkt geen verband te zijn met jaarverbruik of aansluitleiding en/of hoofdleiding. Locatie 3 en 4 liggen geografisch naast elkaar in de straat en hebben dus dezelfde distributieleiding en hoofdleiding. Dat het PE materiaal mogelijk een andere kwaliteit heeft dan het materiaal van locatie 1 en 2 wordt niet waargenomen met de BPP waarde, want deze zijn vergelijkbaar. Dus andere condities zijn verantwoordelijk voor de hoge ATP concentratie. Een mogelijke verklaring is dat het drinkwater van Weesperkarspel relatief veel afbreekbare stoffen bevat wat tot meer biofilmvorming kan leiden op de leidingwand, maar deze verhoogde biofilmconcentratie is niet waargenomen op locatie 1 en 2. Een verschil tussen locatie 1/2 en 3/4 is dat op locatie 1/2 de aansluitleiding een grotere diameter heeft en het waterverbruik is veel hoger dan op locatie 3/4. Hierdoor zal de contacttijd tussen het water en de biofilm op locatie 1/2 veel lager zijn dan op locatie 3/4, waardoor de biofilm minder tijd heeft op de afbreekbare stoffen af te breken. Dat KG22 niet overeenkomt met de ATP concentratie betekent dat KG22 geen goede maat is voor de totale hoeveelheid actieve biomassa, zoals ook al in eerdere studies is aangetoond (Learbuch & Wullings, 2018; van der Wielen & Lut, 2016). Het is goed om te bedenken dat het een beperkte dataset betreft in deze studie en daardoor alleen indicaties kunnen worden verkregen. Om wetenschappelijk onderbouwde uitspraken te doen is een groter meetprogramma nodig.

De ATP concentraties van de uitgenomen PE leidingen uit Schinveld zijn meer met elkaar vergelijkbaar en hetzelfde geldt voor de aantallen KG22, *Mycobacterium* spp. en *Legionella* spp., behalve voor de KG22 aantallen in de biofilm van de PE-aansluitleiding die is uitgenomen op locatie 5. Deze lagere variatie in aantallen wordt waarschijnlijk veroorzaakt doordat het water van Schinveld biologisch stabiel is. In de biofilm van de PE leiding van locatie 9 wordt *Legionella anisa* aangetroffen deze lijkt niet gecorreleerd te zijn met een hoge ATP concentratie of KG22 aantallen.

De statistische analyse laat zien dat het aantal genkopieën van *Mycobacterium* spp. en *Legionella* spp. significant hoger zijn in Weesperkarspel dan in Schinveld. Dit kan mogelijk verklaard worden door de verschillen in biologische stabiliteit van het water omdat de BPP-waarde geen significante verschillen lieten zien. Aanvullend onderzoek is nodig om te achterhalen waar deze verschillen door worden veroorzaakt. De aanwezigheid van *Mycobacterium* spp. en *Legionella* spp. zegt overigens niets over de aanwezigheid van opportunistische ziekteverwekkers doordat de meeste van de aanwezige *Mycobacterium* en *Legionella* soorten in drinkwater niet ziekteverwekkend zijn (Wullings et al., 2011; van der Wielen et al., 2013). Voor ATP en KG22 wordt geen duidelijke relatie waargenomen met de biologische stabiliteit van het water. Tevens zijn deze resultaten nog indicatief vanwege het beperkt geanalyseerde aantal monsters en een uitgebreidere monstercampagne is nodig om wetenschappelijk onderbouwde conclusies te trekken.

In eerder onderzoek is gekeken naar de rol van leidingmateriaal bij groei van opportunistische pathogenen (van der Wielen & Bereschenko, 2016). Hier werd gevonden dat het effect van de verschillende PE-materialen op groei van deze opportunistische ziekteverwekkers over het algemeen beperkt was. Alleen voor *M. kansasii* werd

waargenomen dat het PE-materiaal met de hoogste BPP-waarden (PE van producent B) ook de hoogste *M. kansasii* aantallen had.

De BPP-waardes van de negen verschillende materialen zijn vergelijkbaar en variëren tussen 230 en 350 pg ATP/cm². Deze waarde zijn beduidend lager dan de grenswaarde van 1000 pg ATP/cm². Daarnaast is de variatie in de BPP-waarde veel lager dan werd waargenomen voor 38 verschillende PE materialen die zijn geanalyseerd met de BPP-test (Learbuch, 2018). Dit verschil wordt mogelijk verklaard omdat de nu uitgenomen PE-leidingen beschreven in dit rapport van 'goede' batches afkomstig waren. Er is geen verband met de ATP concentratie of aantallen KG22, mycobacteriën en legionellabacteriën in de biofilm op het uitgenomen materiaal. Door beperkt aantal geanalyseerde monsters is het moeilijk om hier betrouwbare uitspraken over te kunnen doen. Mede ook omdat de variatie in BPP-waarde beperkt is.

In 2012/2013 is een vergelijkbaar onderzoek uitgevoerd met distributieleidingen (Bereschenko, 2013). In dat onderzoek werd PE en PVC-U materialen van distributieleidingen uit het distributiesysteem van Amersfoortseweg (drinkwater weinig groeibevorderend) en Weesperkarspel (drinkwater groeibevorderend) geanalyseerd. De resultaten van die studie lieten zien dat de uitgenomen PE materialen een hogere ATP-concentratie in de biofilm hadden alsook een hogere BPP waarde dan die gevonden voor de uitgenomen PE-aansluitleidingen in de hier beschreven studie (Tabel 5). Deze verschillen kunnen komen doordat in de eerdere studie distributieleidingen zijn bemonsterd. In distributieleidingen is de hydraulica anders dan in aansluitleidingen. Ook is oppervlakte/volumeverhouding hoger van aansluitleidingen dan in distributieleidingen. Echter in beide gevallen zou meer biomassa worden verwacht in aansluitleidingen (veel stilstand en hogere oppervlakte/volume verhouding). Echter de BPP-waarden laten zien dat de PE-materiaal van aansluitleidingen minder groeibevorderend zijn dan de BPP-waarden van PE van distributieleidingen. Een mogelijke verklaring zou kunnen zijn dat bij toeval deze keer betere materialen zijn uitgenomen dan in het verleden. Of de kwaliteit van PE aansluitleidingen is beter dan die van distributieleidingen. Gezamenlijk onderzoek met de grondstofleveranciers, de leidingmateriaal producenten, de drinkwaterbedrijven en KWR zou kunnen achterhalen waar de verschillen tussen verschillende PE materialen vandaan zou kunnen komen. Een vergelijking van distributieleidingen en aansluitleidingen uit dezelfde straat zou ook hier meer licht op kunnen schijnen.

Tabel 5. De ATP concentratie van de biofilm op uitgenomen PE-leidingen en de BPP van de uitgenomen PE-leidingen zoals gemeten in de studie van Bereschenko (2013) en in de deze rapportage beschreven studie.

Type leiding	PE-type	Distributiesysteem	ATP gem (pg/cm ²)	BPP (pg ATP/cm ²)	Leeftijd (jaren)	Diameter (mm)
Distributieleiding ^I	50PE	Amersfoortseweg	408	966 ± 111	3	50
Distributieleiding ^I	75PE	Amersfoortseweg	440	482 ± 101	1	75
Distributieleiding ^I	50PE	Amersfoortseweg	866	1842 ± 58	27	50
Distributieleiding ^I	50PE	Amersfoortseweg	970	1567 ± 627	28	50
Distributieleiding ^I	50PE	Amersfoortseweg	1507	243 ± 341	28	50
Distributieleiding ^I	125PE	Weesperkarspel	6222	1597 ± 170	19	125
Distributieleiding ^I	125PE/SLA	Weesperkarspel	637	2330 ± 352	2	125
Aansluitleiding ^{II}	PE	Weesperkarspel	73 ± 5	350 ± 150	6	63
Aansluitleiding ^{II}	PE40	Weesperkarspel	130 ± 8,2	250 ± 88	5	63
Aansluitleiding ^{II}	PE40	Weesperkarspel	710 ± 14	350 ± 110	5	25
Aansluitleiding ^{II}	PE40	Weesperkarspel	940 ± 20	270 ± 67	5	25
Aansluitleiding ^{II}	PE	Schinveld	380 ± 13	280 ± 92	5	25
Aansluitleiding ^{II}	PE100	Schinveld	380 ± 0	300 ± 77	4	25

Aansluitleiding ^I	PE	Schinveld	220 ± 0	330 ± 120	4	25
Aansluitleiding ^I	PE100	Schinveld	340 ± 16	340 ± 59	4	25
Aansluitleiding ^I	PE	Schinveld	220 ± 16	230 ± 100	4	25

^I Uit Bereschenko (2013)

^{II} Uit in dit rapport beschreven studie

5 Conclusies en aanbevelingen

5.1 Conclusies

5.1.1 Bureaustudie

- De biomassaproductiepotentie (BPP) test om de groeibevorderende eigenschappen van materialen in contact met drinkwater te bepalen heeft een lang traject van ontwikkeling en validatie ondergaan. Hierbij zijn de uiteindelijke keuzes voor de condities in de test (bijvoorbeeld waterkwaliteit, temperatuur, hydraulica) alsook de gebruikte methoden (bijvoorbeeld ATP metingen, biofilmverwijdering met sonicatie) met argumenten onderbouwd.
- De reproduceerbaarheid van de BPP testmethode tussen internationale laboratoria voldoet aan de door de International Organisation for Standardization (ISO) gestelde eisen voor een testmethode (volgens ISO 13528 en ISO 17043).
- Er zijn in het verleden verschillende pass/fail criteria voor de BPP-waarde van materialen afgeleid. Wanneer een no effect level zou worden nagestreefd dan zou de BPP-waarde van het materiaal lager moeten zijn dan 100 pg ATP/cm². Voorgesteld is om dit criterium te handhaven om groei van *L. pneumophila* te voorkómen. Op verzoek van de Nederlandse wetgever is een pass/fail criterium voor de BPP afgeleid die is gerelateerd aan pass/fail criterium voor de Duitse W270 test en dit BPP criterium is 1000 pg ATP/cm². Het is belangrijk hierbij op te merken dat dit pass/fail criterium van 1000 pg ATP/cm² niet gerelateerd is aan nagroeiproblemen, maar enkel aan de detectiegrens van de oorspronkelijke Duitse W270 methode. Tevens is een pass/fail criterium voor de BPP-waarde afgeleid van 800 pg ATP/cm² die is gerelateerd aan de AOC en BVS richtlijn die voor het drinkwater geldt. Tot slot is in het verleden ook vaak voorgesteld om de materialen in te delen in verschillende kwaliteitsklassen die worden gedefinieerd door verschillende BPP-waarden. Naar gelang de toepassing van het materiaal zou dan kunnen worden aangewezen aan welke kwaliteitsklasse het materiaal moet voldoen.

5.1.2 Experimenten

- De BPP waarden van de uitgenomen PE-aansluitleidingen variëren tussen de 250 en 350 pg ATP/cm² en zijn dus in alle gevallen beduidend lager dan de beoordelingscriterium voor de BPP test (1000 pg ATP/cm²).
- Op sommige locaties in het distributiesysteem van Weesperkarspel zijn de ATP-concentraties en aantallen KG22, mycobacteriën en Legionella in de biofilm op de aansluitleiding hoger zijn dan bij Schinveld. Op basis van dit onderzoek kan niet worden achterhaald waar dit door wordt veroorzaakt.
- Op basis van het beperkte aantal monsters die binnen de hier beschreven studie zijn geanalyseerd kan een indicatieve conclusie worden getrokken dat het gebruik van PE-aansluitleidingen niet tot hoge mate van biofilmvorming leidt in het distributiesysteem, maar een beter opgezet meetprogramma met voldoende monsters is nodig voordat een dergelijke conclusie wetenschappelijk onderbouwd kan worden getrokken.

5.2 Aanbevelingen

5.2.1 Bureaustudie

- Doordat in het verleden uitgebreide studies naar de ontwikkeling en validatie van de BPP-test zijn uitgevoerd, ook in vergelijking tot de andere methoden om de groeibevorderende eigenschappen van drinkwater te bepalen, is het weinig zinvol om dergelijke studies nogmaals te herhalen.
- De keuze voor een pass/fail criterium in de wetgeving die niet is gekoppeld aan nagroeiproblemen, maar aan de detectiegrens van een andere methode is ongelukkig. Het is daarom raadzaam om samen met de wetgevende instanties te onderzoeken of het mogelijk is om een pass/fail criterium en/of kwaliteitsklassen te definiëren voor de BPP-waarden van materialen die gerelateerd is aan nagroeiproblemen of mate van nagroei dat in het drinkwaterdistributiesysteem kan optreden.
- De database van BPP-waarden voor leidingmaterialen is klein in vergelijking tot de aanwezige database van W270 (Duitse methode) en MDOD (Engels methode) waarden. Het is daarom aan te bevelen om de database voor de BPP-waarden uit te breiden, zodat beter inzichtelijk kan worden gemaakt welk deel van een bepaalde materiaaltipe (bv PVC-U, PE, EPDM) wordt goedgekeurd met het criterium van de MDOD, W270 en BPP test.

5.2.2 Experimenten

- Een groter opgezet onderzoek is nodig om een wetenschappelijk onderbouwde aanbeveling te kunnen doen over het gebruik van PE-aansluitleidingen in het distributiesysteem. De grote van een dergelijke experiment moet worden bepaald door de Power te berekenen, zodat bekend is hoeveel monsters er nodig zijn om statische verschillen te kunnen waarnemen. In deze opzet ook rekening houden met de biologische stabiliteit van het drinkwater en de hydraulica in de verschillende leidingen. Op basis van de indicatieve resultaten van de hier beschreven studie lijkt het vooralsnog acceptabel om PE-materialen als aansluitleiding te gebruiken.
- Uitbreiding van de database van BPP-waarden van PE materiaal dat door de drinkwaterbedrijven wordt gebruikt, zodat een beter overzicht wordt verkregen in de variatie van de toegepaste PE-materialen in de distributiesystemen.
- Het vlot trekken van het overleg tussen de grondstofleveranciers, de leidingmateriaal producenten, de drinkwaterbedrijven en KWR, en te onderzoeken of er mogelijkheden zijn om gezamenlijk onderzoek te doen naar de oorzaken van de verhoogde groei van PE.

6 Referenties

Bereschenko, L.A. (2013) Effect van leeftijd op de groeibevorderende eigenschappen van PVC-U en PE in contact met drinkwater (Vol. BTO 2013.037, pp 45), Nieuwegein: KWR.

Heijnen, L., Wullings, B., & Medema, G. (2002). Toepassingsmogelijkheden van moleculair-biologische methoden voor de drinkwater praktijk (Vol. BTO 2002.136, pp. 106). Nieuwegein: KWR.

Learbuch, K. (2018). Variatie in biomassaproductiepotentie (BPP) van PE-materialen die door drinkwaterbedrijven worden gebruikt (Vol. BTO 2018.007, pp.27). Retrieved from Nieuwegein: KWR.

Learbuch, K., & Wullings, B. (2018). Indicator voor biofilm in het drinkwater- distributiesysteem (Vol. BTO 2018.011). Retrieved from Nieuwegein:KWR.

da Silva Filho L. V., Tateno A. F., de Velloso L. F., Levi J. E., Fernandes S., Bento C. N., Rodrigues J. C. and Ramos S. R. (2004). Identification of *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex, and *Stenotrophomonas maltophilia* in respiratory samples from cystic fibrosis patients using multiplex PCR. *Pediatr. Pulmonol.*, 37, 537–547.

van der Wielen, P. W. J. J., Italiaander, R., & Heijnen, L. (2011). Kwantitatieve detectiemethoden voor opportunistisch ziekteverwekkende micro-organismen in drinkwater. (Vol. BTO 2011.034(s)). Nieuwegein: KWR.

van der Wielen, P. W. J. J., & van der Kooij, D. (2013). Nontuberculous mycobacteria, fungi, and opportunistic pathogens in unchlorinated drinking water in the Netherlands. *Appl Environ Microbiol*, 79(3), 825-834.

van der Wielen, P. W. J. J., R. Italiaander, B. A. Wullings, L. Heijnen, and D. van der Kooij (2014), Opportunistic pathogens in drinking water in the Netherlands, in *Microbial Growth in Drinking-Water Supplies. Problems, Causes, Control and Research Needs*, edited by D. van der Kooij and P. W. J. J. van der Wielen, pp. 177-205, IWA Publishing, London, UK.

van der Wielen, P. W. J. J., & Bereschenko L.A. (2016). Rol van leidingmateriaal bij groei van micro-organismen en opportunistische pathogenen (Vol. BTO 2016.022) , Nieuwegein: KWR.

van der Wielen, P. W. J. J., & Lut, M. C. (2016). Distribution of microbial activity and specific microorganisms across sediment size fractions and pipe wall biofilm in a drinking water distribution system. *Water Science & Technology: Water Supply*, 16(4), 896-904.

Wullings,B., Bakker, G., and van der Kooij, D. (2011) Concentration and Diversity of Uncultured *Legionella* spp. in Two Unchlorinated Drinking Water Supplies with Different Concentrations of Natural Organic Matter. *Appl Environ Microbiol*. 77(2): 634–641

I Bijlage Achtergrond informatie locaties

	Datum uitname	Locatie	Oppervlakte bemonsterd (cm ²)	Diameter (mm)	Materiaal	Leeftijd	Materiaal informatie (geprint)
Weesperkarspel	24-10-2019	1	218,65	63	PE	6	
	24-10-2019	2	226,19	63	PE40	5	PE40
	24-10-2019	3	90,57	25	PE40	5	PE40=0036= EN 12201-W PN6 38DR9 25 x 2,7 04-06-15 SDR9
	24-10-2019	4	92,52	25	PE40	5	PE40 0049 12201 WDRK 4-06-15 15.06 25 x 2,7
Schinveld	21-11-2019	5	94,25	25	PE	5	=0008=
	21-11-2019	6	94,72	25	PE100	4	PE100 =7501= =14-05-16 = 25 x 2,3
	21-11-2019	7	95,19	25	PE	4	=7501= =14-05-16 = PN16 SDR11
	25-11-2019	8	95,19	25	PE100	4	PE100 = 0028= PN16 SDR11 25 x 2,3
	25-11-2019	9	95,19	25	PE	4	=005=

Weesperkarspel

Locatie	Leeftijd (jaar)	Personen in huishouding	Jaarverbruik (m ³)	Leidingen naar aansluitleiding	Hoofdleiding
1	6	nvt (toilet/douchegebouw bij zwemlocatie)	222	GN200 ¹	B/A1000 ²
2	5	flatgebouw	6151	PVC90, PVC125, PVC250	GN250 ¹
3	5	eengezinswoning	51	GN200 ¹ , GG200, PVC250	B/A1000 ²
4	5	eengezinswoning	65	GN200 ¹ , GG200, PVC250	B/A1000 ²

¹ nodulair gietzijer, ² Arkel betonbuis

Schinveld

Locatie	Leeftijd (jaar)	Personen in huishouding	Jaarverbruik (m ³)	Leidingen naar aansluitleiding	Hoofdleiding
5	5	4	262	50 PVC	100 Nod Gy
6	4	3	74	25 PVC	160 PVC
7	4	3	104	25 PVC	160 PVC
8	4	4	194	25 PVC	160 PVC
9	4	3	80	25 PVC	160 PVC

Wettelijke parameters 2015-2019; gemiddeldes en standaarddeviaties

Schinveld	n	Aeromonas kve/100ml	n	KG22 kve/ml	stdev
2015	1	0	2	0	
2016	1	1	2	5	7,1
2017	1	5	2	<10	
2018	1	0	2	<10	
2019	1	0	4	16,0	13,5

Weesperkarspel	n	Aeromonas kve/100ml	stdev	n	KG22 kve/ml	stdev
2015	102	141,7	303,9	123	18,4	31,0
2016	130	161,4	219,3	151	12,9	22,3
2017	103	170,3	265,4	126	16,2	30,9
2018	105	179,3	324,4	124	14,6	23,2
2019	19	92,6	135,8	125	8,9	12,6

II Bijlage resultaten qPCR en BPP

qPCR resultaten (genkopieën/cm²)

		<i>L. pneumophila</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>Mycobacterium spp.</i>	<i>Legionella spp.</i>	<i>S. maltophilia</i>
WPK	1	<1,7	<2,9	<2,9	1,4 × 10 ³	2,1 × 10 ³	<1,4 × 10 ¹
	2	<1,7	<2,9	<2,9	2,7 × 10 ³	2,0 × 10 ³	<1,4 × 10 ¹
	3	<7,2	<1,2 × 10 ¹	<1,2 × 10 ¹	1,7 × 10 ⁴	1,7 × 10 ⁴	<6,0 × 10 ¹
	4	<5,0	<8,2	<8,2	3,2 × 10 ⁴	1,9 × 10 ⁴	1,6 × 10 ²
Schinveld	5	<4,2	<7,1	<7,1	4,8 × 10 ³	2,5 × 10 ³	<3,6 × 10 ¹
	6	<4,4 × 10 ¹	<7,5	<7,5	9,0 × 10 ³	7,1 × 10 ²	<3,8 × 10 ¹
	7	<4,4 × 10 ¹	<7,5	<7,5	4,9 × 10 ³	5,4 × 10 ³	<3,8 × 10 ¹
	8	<4,6	<7,7	8,0	6,2 × 10 ³	6,3 × 10 ²	<4,0 × 10 ¹
	9	<4,6	<7,5	<7,5	1,3 × 10 ³	1,3 × 10 ³	<3,9 × 10 ¹

BPP resultaten

ATP concentratie (ng/l) in het water van de materialen

		Dag 56		Dag 84		Dag 112	
		Kolf I	Kolf II	Kolf I	Kolf II	Kolf I	Kolf II
Glas		3,03	5,23	9,10	3,35	1,94	2,25
PVC-P		1516,21	393,83	1079,50	1276,36	641,16	1804,65
Weesperkarspel	1	46,76	32,95	35,46	23,43	13,76	19,09
	2	28,35	31,90	14,02	13,49	8,42	11,77
	3	20,61	18,72	22,07	10,77	13,02	9,26
	4	20,50	24,69	16,53	14,54	8,21	7,48
Schinveld	5	16,63	13,39	9,10	9,83	9,05	10,41
	6	15,59	12,34	21,76	23,74	13,23	10,09
	7	24,90	18,20	17,47	13,60	11,35	10,72
	8	21,76	20,08	14,12	18,20	12,08	18,99
	9	19,04	9,10	15,17	29,29	7,79	20,35

ATP concentratie (pg/cm²) in de biofilm van de materialen

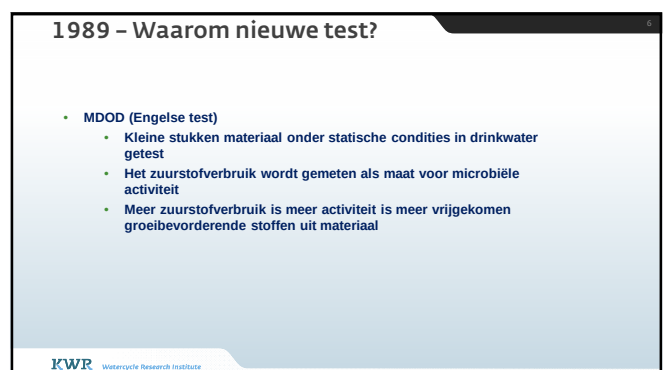
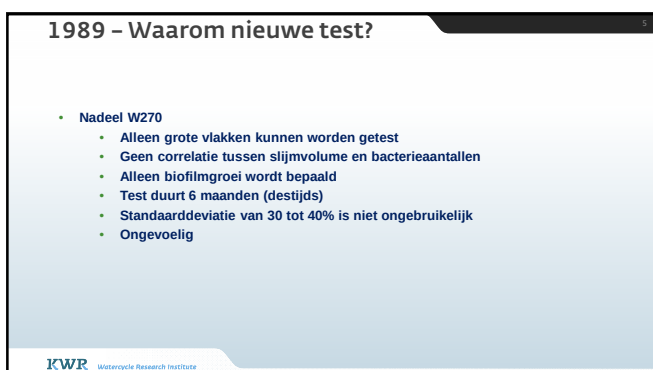
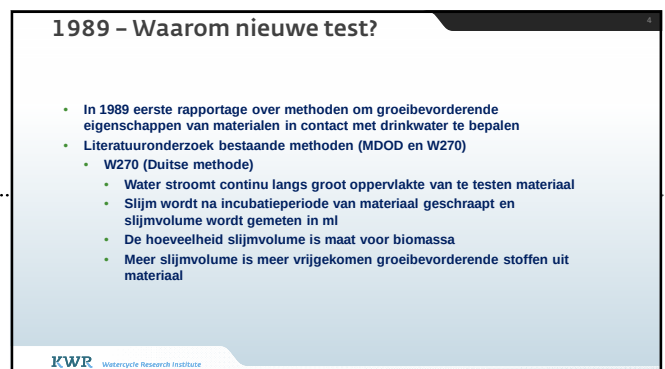
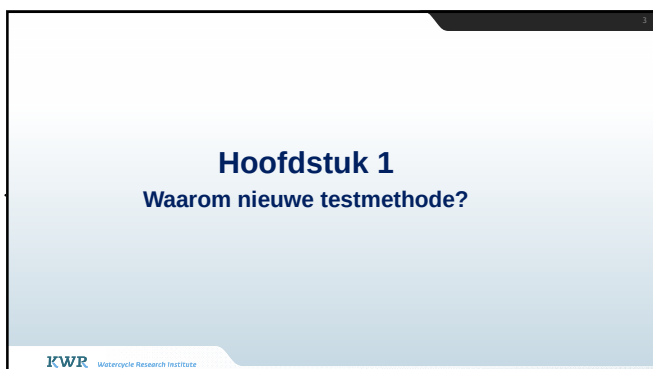
		Dag 56		Dag 84		Dag 112	
		Kolf I	Kolf II	Kolf I	Kolf II	Kolf I	Kolf II
Glas		7,04	8,93	11,00	11,43	14,03	16,22
PVC-P		11004,49	9851,52	12624,40	9721,74	7980,91	10265,85
Weesperkarspel	1	313,17	271,17	175,58	177,50	134,74	442,62
	2	255,20	230,97	157,69	66,52	155,28	329,62
	3	259,72	219,65	504,10	306,40	206,88	260,08
	4	244,78	206,60	341,76	202,07	130,70	181,57
Schinveld	5	230,83	76,07	273,26	207,81	293,49	399,33
	6	186,74	155,51	240,72	270,49	215,72	410,81
	7	267,49	255,19	258,38	121,60	166,84	428,11
	8	327,22	273,30	186,20	263,28	346,92	234,42
	9	173,96	118,62	99,49	187,48	325,07	100,07

III Resultaten uit BTO2013.037

PE materialen

Monsternr	Materiaal	Distributiesysteem	Materiaal	ATP gem (pg/cm ²)	BPP (pg ATP/cm ²)	SD	leeftijd
M121940	50PE	Amersfoorsteweg	PE	408,175	965,6	111,3	3
M121945	75PE	Amersfoorsteweg	PE	440,45	482,4	101,3	1
M122157	50PE	Amersfoorsteweg	PE	865,875	1841,7	58	27
M122162	50PE	Amersfoorsteweg	PE	969,55	1567,4	627,2	28
M122167	50PE	Amersfoorsteweg	PE	1506,95	242,6	340,6	28
M123015	125PE	Weesperkarspel	PE	6222,35	1597,1	170,4	19
M123042	125PE/SLA	Weesperkarspel	PE	637,125	2330	351,9	2

IV Bureaustudie



1989 – Waarom nieuwe test?

- Nadeel MDOD
 - Zuurstofverbruik corrigeren voor chemische verbruik is moeilijk
 - Reproduceerbaarheid is slecht rond gebied van 2,3 mg/l
 - Ongevoelig

Hoofdstuk 2

Ontwikkeling/optimalisatie BPP methode materialen

1989 – Nieuwe testmethode

- Gevoeligere biomassaparameters
 - Proefstukken in 100 ml drinkwater, 30 min gepasteuriseerd
 - Methode I: Inoculatie P17 en Nox
 - Methode II: Inoculatie rivierent
 - 25°C incubatie
 - Gedurende 3 weken monsters genomen
 - P17 en Nox geeft lage groeiopbrengst, niet geschikt
 - ATP metingen en rivierent geschikt om groeipotentie van materialen te bepalen
 - Groei werd waargenomen in de biofilm alsook in het water

1990 – 2000 Optimalisatie

- Toevoegen P en N om groei-limitatie door P en N te voorkomen
- Sporenelementen niet limiterend, dus worden niet toegevoegd
- Incubatietijd verlengen naar 16 weken, omdat na 8 weken de biomassa over het algemeen stabiel is
- Monsternamen na 8, 12 en 16 weken
- In duplo ingezet, erlenmeyer 1 wordt bemonsterd voor materiaal, erlenmeyer 2 voor water
- Geen verversing van drinkwater
- Sonatie om biofilm te verwijderen
- Testwater: langzame zandfiltrat; Ent: 1,2 µm gefilterd rivierwater
- Materialen 1 uur spoelen voordat test wordt ingezet
- Glas als negatieve controle, siliconen als positieve controle
- Berekening BPP (BPP biofilm + BPP water)

2000 – 2003 Optimalisatie

- 2001: ontwerp-NEN voor BPP test
- 2001: BPP testmethode wordt in peer-reviewed tijdschrift gepubliceerd
- Duplo is aangepast. Uit elke erlenmeyer wordt biofilm en water bemonsterd en volume wordt aangepast na uitname materiaal om dezelfde opp/volume ratio te behouden
- Onderzoek: Incubatie verlengd naar 400 dagen, resultaten:
 - Biofilm op glas gedurende 400 dagen constante ATP concentratie
 - Biofilm op PVC-U eerste 50 dagen hogere ATP-concentratie, na dag 50 tot dag 400 ATP-concentratie lager en constant
 - Biofilm op PE-80 eerste 50 dagen hogere ATP-concentratie, na dag 50 tot dag 400 ATP-concentratie lager en redelijk stabiel (maar piekconcentraties op dag 210 en 350)
 - Week 8, 12 en 16 blijven de monsternummers

2003 Europees project

- Projectpartners
 - Technical University of Denmark
 - Thames Water, UK
 - Centre de recherche et de controle des eaux de Paris, Frankrijk
 - DVGW, Technologiezentrum Wasser, Duitsland
 - Österreichisches Forschungsinstitut für Chemie und Technik
 - Europese Commissie DG JRC
 - Kiwa (nu KWR)

2003 Europees project

- Wat is de invloed van inoculum en glaswerk

Table 6.4: Influence of inoculum concentration and glassware on the BPP values of materials tested at 25°C and 30°C.

Material	Inoculum	25°C	30°C
Water	100 µl	191.1	25
Glass	100 µl	102	66
PVC-C	100 µl	188	149
PVC-P	100 µl	49,582	44,213

- Toevoegen inoculum heeft geen significant effect bij de meest geteste materialen
- Aanbeveling blijft wel om inoculum toe te voegen, vanwege theoretische overweging dat een materiaaltest een zo breed mogelijke range van micro-organismen en metabolische capaciteit moet bezitten
- 1% rivierwaterent gebruiken (1,2 µm gefilterd)
- Schott Duran flessen zijn geschikt

2003 Europees project

- Wat is de invloed van waterverversing?
- Uitkomst discussie onderzoekers:
 - Discontinue stroming meest realistisch voor praktijk
- Verskillende vervangingsfrequenties onderzocht:
 - Watervervanging had significant effect op BPP in vergelijking met geen watervervanging. Sommige materialen lagere BPP, andere hogere
 - Vervangen van testwater moet worden toegepast omdat:
 - Daarmee wordt voorkomen dat anorganische nutriënten en/of zuurstof groeibeperkend wordt
 - Daarmee wordt voorkomen dat groeigelimiteerde verbindingen accumuleren
 - Daarmee wordt effect van vrijkomende verbindingen beperkt tot periode die de praktijksituatie benadert
 - Een wekelijkse watervervanging is gekozen omdat 1 week contacttijd situaties reflecteert die in de praktijk voorkomen en gemakkelijk toe te passen is in het laboratorium

2003 Europees project

- Wat is de invloed van incubatietemperatuur?

Table 6.4: Comparison of BPP values of materials tested at 25°C (22°C), 30°C and 10°C, respectively.

Material	22°C	30°C	10°C	DTU	Kiwa WR	TWU
Water	191.1	25	25.5	15.7	23.6	32.8
Glass	102	66	51.7	25.3	116	61.5
PVC-C	188	149	109	46	149	103
PVC-P	49,582	44,213	16,911	5,011	34,578	22,335

- BPP-waarden bij 30°C zijn over het algemeen lager dan bij 25°C
- Een incubatietemperatuur van 30°C heeft de voorkeur omdat dan:
 - De biodegradatie sneller verloopt dan bij 25°C
 - Afgifte van groeibevorderende stoffen sneller verloopt dan bij 25°C

2003 Europees project

- Wat is de optimale verwijdering van biofilm?
- Verskillende LES en HES behandelingen werden getest voor verwijdering van biofilm van materialen
- Conclusies:
 - HES-behandeling na zes LES-behandelingen verwijderde extra biomassa van PVC-P, maar voor andere geteste materialen (PVC-C, PE, siliconenrubber) was dit effect niet significant
 - Ten aanzien van absolute biomassaopbrengst, een HES behandeling kan zes LES behandelingen vervangen
 - Voor relatieve harde materialen zijn twee HES-behandelingen voldoende om 95% van de biomassa te verwijderen, voor zachte materialen drie HES-behandelingen
 - Standaard wordt daarom drie HES-behandelingen voorgesteld

2006 Europees project

- Projectpartners
 - Technical University of Denmark
 - Thames Water, UK
 - Centre de recherche et de controle des eaux de Paris, Frankrijk
 - DVGW, Technologiezentrum Wasser, Duitsland
 - Kiwa (nu KWR)

2006 Europees project

- Onderdeel testwater. Doel:
 - Definiëren van de BPP-waarde voor testwater
 - Definiëren van selectiecriteria voor sporenelementen in testwater
- Conclusies:
 - BPP testwater moet lager dan 10 ng ATP/l zijn, dit komt overeen met AOC < 10 µg C/l
 - Additie van sporenelementen is nodig wanneer de BPP van testwater met daaraan toegevoegd sporenelementen en acetaat lager is dan van testwater met alleen acetaat toegevoegd
 - Vrij chloor moet afwezig zijn in het testwater

2006 Europees project

- Wat is de optimale verwijdering van biofilm?
 - Achterhaal of LES, HES, swabben, DMSO toevoeging resulteert in > 90% biofilmverwijdering
- Conclusies:
 - De methode voor biofilmverwijdering in de BPP-test moet resulteren in > 90% biofilmverwijdering
 - LES-behandeling van zachte materialen resulteert niet in > 90% biofilmverwijdering
 - HES-instellingen van 200 W en 45% amplitude gedurende twee minuten geeft > 90% biofilmverwijdering bij harde materialen (1 behandeling) en zachte materialen (2 behandelingen).
 - Swabben geeft incomplete verwijdering
 - Toevoeging van DMSO wordt niet aanbevolen

2013 BTO

- Vergelijking BPP materialen en biofilmconcentratie praktijk
- 1 tot 45 jaar oude PVC-U en PE materialen uit distributiesysteem
- Biofilmconcentratie uitgenomen materialen bepaald en vervolgens BPP van het materiaal bepaald
- Conclusies:
 - Veroudering van PVC-U en PE materialen leidt niet tot meer of minder afgifte van groeibevorderende stoffen
 - Zowel in de praktijk situatie als in de BPP-test leidt PE tot meer biofilmvorming dan PVC-U
 - De uitkomsten van de statische BPP-testen zijn goed te vertalen naar de dynamische condities van het drinkwaterdistributiesysteem
 - De kwaliteit van het drinkwater speelt in de praktijk situaties een additionele rol bij de biologische vervuiling van PVC-U en PE leidingen

2014

- De Europese CEN voor bevordering van microbiële groei door materialen in contact met drinkwater wordt van kracht
- De CEN bevat drie methoden
 - BPP
 - W270
 - MDOD
- Deze CEN bevat één verandering voor de BPP-test, nl berekening van de standaarddeviatie
 - Deze geeft niet langer de standaarddeviatie over de periode weer, maar alleen over de duplometingen zodat het een methodische standaarddeviatie is

Hoofdstuk 3

Reproduceerbaarheid BPP-methode materialen

1989 - 1998

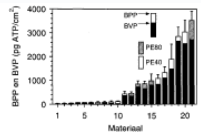
- Belangrijke nadeel van MDOD en W270 methode is dat de reproduceerbaarheid slecht is
- Principe waar nieuwe methode aan moet voldoen is dat de methode een hoge graad van reproduceerbaarheid heeft

1999

- Reproduceerbaarheid binnen laboratorium voor eerst weergegeven:
- Biofilmvormingspotentie PE-Xa run 1: 1400 ± 200 pg ATP/cm²; PE-Xa run 2: 1300 ± 100 pg ATP/cm²
- Biofilmvormingspotentie RVS run 1: 70 ± 10 pg ATP/cm²; RVS run 2: 93 ± 15 pg ATP/cm²
- Biofilmvormingspotentie siliconen run 1: 1600 ± 500 pg ATP/cm²; run 2: 990 ± 290 pg ATP/cm²; run 3: 1500 ± 600 pg ATP/cm²
- Biofilmvormingspotentie glas run 1: 12 ± 2 pg ATP/cm²; run 2: 13 ± 2 pg ATP/cm²; run 3: 17 ± 6 pg ATP/cm²
- Voor biomassaproductie in water zelfde resultaten
- Conclusie: reproduceerbaarheid van de test is goed

2001

- Reproduceerbaarheid van dezelfde materiaaltypen onderzocht
- BPP bepaalt van 5 verschillende PVC-U typen, 5 verschillende PE-40 typen en 5 verschillende PE-80 typen



Figuur 2. Biomassaproduktie (BPP = BPP + SD) van PVC- en PE-materiaal. Wg 1 en 2: glas; 3, 4: roestvast staal; 5-10: PVC-U; 11: Polypropyleen; 12-15: PE-40; 16-20: PE-80. Het onderste deel geeft de biomassa voor de aanwezigheid in op het materiaal (diffusieconcentratie, BPP), het bovenste deel is de biocine aanwezig in het water (SRP). Tenzij zijn de standaardafwijkingen (gevoel) in overeenstemming van de BPP-waarden weergegeven.

- BPP 5 PVC-U typen: 50 – 100 pg ATP/cm²
- De BPP van PE-materialen verschillen onderling sterk (400 – 3600 pg ATP/cm²; Figuur 2)
- BPP PE-40 over het algemeen hoger dan BPP PE-80

2003 – Europees project

- Ringonderzoek ATP-meting (in water en ijklijnen) bij zes laboratoria (ieder in een ander Europees land)
- Conclusies:
 - De gerapporteerde ATP-concentraties in de gedistribueerde monsters lieten grote verschillen tussen de laboratoria zien
 - Het gebruik van verschillende watertypen voor het maken van ijklijnen was voornamelijk verantwoordelijk voor de verschillen
 - Gedurende het project werden de verschillen kleiner, dus ervaring met de methode lijkt belangrijk om variatie tussen de laboratoria te voorkomen
 - Een meer gestandaardiseerde ATP-analyse is nodig om de kwaliteit van de analyses te verbeteren

2003 – Europees project

- Reproduceerbaarheid BPP-test met herzien protocol bepaald
- Resultaten:
 - Variatie tussen de laboratoria:

Table 6.3 BPP values of selected materials tested at 30°C, corrected for BPP values of glass

Material	Group	Mean BPP	SD	CV (%)
Water	0.0	0.0	0.0	0
Glass	0.0	0.0	0.0	0
PVC-C	0.0	0.0	0.0	0
HDPE	0.0	0.0	0.0	0
PVC-P	0.0	0.0	0.0	0

- De coefficient of variation of reproducibility (VCR) varieerde tussen de 20 en 34%
- Conclusies:
 - Relatieve SD van de gemiddelde BPP-waarden (binnen lab variatie) varieerden tussen 3 en 77% met mediaan van 33%.
 - De BPP-waarden die door de verschillende laboratoria zijn gemeten, na correctie voor de BPP van glas, lagen in dezelfde ordegrrootte voor identieke materialen
 - Reproduceerbaarheid van 30 tot 35% kan worden bereikt

2006 – Europees project

- Doelen:
 - Vergelijking kalibratiecurven tussen 5 laboratoria (ieder uit ander Europees land)
 - Vergelijken ATP-waarden in water
- Conclusies:
 - De waarde voor de helling van de kalibratiecurves varieerde tussen de laboratoria
 - Het gebruik van een gemiddelde hellingswaarde van verschillende kalibratiecurven verlaagt de fouten die mogelijk worden geïntroduceerd bij het gebruik van een enkele kalibratiecurve
 - Het aantal kalibratiecurven nodig om een precisie van 5% afwijking van werkelijke waarde te krijgen hangt af van de coefficient of variance (COV). Een COV van 5% is een goede performance en daarvoor zijn 6 curven nodig
 - Interlaboratorium resultaten lieten zien dat de COV tussen labs < 15% was wanneer gemiddelde kalibratiecurven werden gebruikt en één lab niet mee werd geteld

2006 – Europees project

- Doel:
 - Vergelijken van BPP-resultaten materialen tussen 5 laboratoria

Table 5.6. BPP_{corr} values of the materials as obtained by the participating laboratories

Material	PW1	PW2	PW3	PW4	PW5	AVG	STD	COV (%)
Glass	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0
IS	137	21	138	120	133.5	94	62	67
PVC-C	213	8.5	54	117	9.1	80.4	86	107
PE-Nc	196	89.8	176	176	188	149	47	31.5
PE-100	2801	707	1544	1707	1529	1689	788	46.7
EPDM	43887	26242	33004	20148	40662	33188	10433	31.4
PVC-P	46336	18944	48936	21151	23544	31606	14780	46.6

* test conducted at S/V ratio of 0.33 cm²

- Statistische analyse (Z-scores) werd op data uitgevoerd om te bepalen of lab goed presteerde
- ISO 13528 en ISO 17043: Z-score van lab tussen -2 en +2 is goed, tussen -3 en +3 matig en < -3 of > +3 slecht.
- Alle laboratoria scoorde een Z-score tussen -2 en +2. Voor PE-100 waren de Z-scores: 1,6; -1,2; -0,2; 0,1 en -0,3. Dus in alle gevallen was de reproduceerbaarheid van de BPP-waarden van de geteste materialen (inclusief PE) tussen laboratoria goed!

2006 – Europees project

- Doel:
 - Vergelijken van BPP-resultaten materialen tussen 5 laboratoria
- Conclusies van de eerder genoemde resultaten:
 - Statistische analyse van de interlaboratoria test laat zien dat alle laboratoria goed presteerden, ondanks verschillen in procedures en testcondities. De laat zien dat de BPP-test een robuuste test is.

2018 – BTO project

- Doel:
 - Variatie BPP van PE-materialen ingekocht door drinkwaterbedrijven achterhalen
- Setup:
 - 8 PE-40, 16 PE-80 en 13 PE-100 typen getest. 16 van Wavin, 14 van Dyka en 7 van Pipelife
- Resultaten:
 - BPP-waarden van PE Wavin: 264 – 2200 pg ATP/cm², met gemiddelde 780 pg ATP/cm²
 - BPP-waarden van PE Dyka: 486 – 937 pg ATP/cm², met gemiddelde 721 pg ATP/cm²
 - BPP-waarden van PE Pipelife: 272 – 1400 pg ATP/cm², gemiddelde 973 pg ATP/cm²
 - BPP-waarden van PE-40: 468 – 860 pg ATP/cm², gemiddelde 637 pg ATP/cm²
 - BPP-waarden van PE-80: 349 – 2200 pg ATP/cm², gemiddelde 866 pg ATP/cm²
 - BPP-waarden van PE-100: 264 – 1400 pg ATP/cm², gemiddelde 801 pg ATP/cm²
- Conclusie:
 - PE laat een grote variatie in BPP-waarden zien, zoals ook eerder is waargenomen in 2001

Hoofdstuk 4

Pass/fail criteria BPP

1999

- Eerste rapport waar kwaliteitscriteria voor BFP zijn opgesteld
 - A: BFP < 100 pg ATP/cm²
 - B: 100 < BFP < 500
 - C: 500 < BFP < 1000 pg ATP/cm²
 - D: 1000 < BFP < 3000 pg ATP/cm²
 - E: BFP > 3000 pg ATP/cm²
- Deze kwaliteitscriteria zijn echter niet gerelateerd aan een specifiek probleem of situatie, maar geeft een verdeling van de verschillende materialen over kwaliteitsklassen.
- In het rapport wordt wel gesteld dat voor drinkwater de bijdrage van materialen aan biofilmvorming zo laag mogelijk zou moeten zijn

2001

- In 2001 wordt voorgesteld om een pass/fail criterium van 1000 pg ATP/cm² voor de BPP van materialen te hanteren, omdat dat nagroei van *Aeromonas* in het distributiesysteem optreedt als de biofilmconcentratie van het reinwater tot meer dan 1000 pg ATP/cm² leidt
- (Nu weten we dat *Aeromonas* voornamelijk is geassocieerd met sediment en in veel mindere mate met biofilm op de leidingwand)

2007 – VROM project

- Doelen:
 - Vergelijking BPP met MDOD en W270, zodat achterhaald wordt welke BPP-waarden corresponderen met pass/fail criterium voor MDOD en W270
 - Fundament beschrijven voor pass/fail criteria BPP materialen

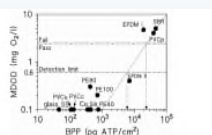


Fig. 5.6 Results of MDOD-test in relation to results of BPP test. Negative MDOD values are presented as 0.1 mg/l. Dotted lines based on assumption of proportional relationship between MDOD and BPP.

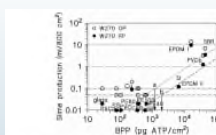


Fig. 5.7 Comparison of the results of the W270 test with the results of the BPP test. (Note: W270 (pg ATP/cm²) is defined as the W270 test. Dotted lines based on assumption of proportional relationship between W270 and BPP. Dotted lines based on assumption of proportional relationship between W270 and BPP.)

2007 – VROM project

- Resultaat:
 - Pass/fail criterium voor MDOD is gebaseerd op voor het oog zichtbare ontwikkeling van slijm en is 2,4 mg/l O₂
 - Pass/fail MDOD (2,4 mg/l) = BPP > 20.000 pg ATP/cm²
 - Pass/fail W270 is gebaseerd op detectiegrens van de methode en is 0,05 ml slijmvolume per 800 cm²
 - Pass/fail W270 (≤ 0,05 ml/800 cm²) = BPP ≤ 2000 pg ATP/cm², maar geen sterke relatie tussen ATP en slijmvolume
- Fundament voor pass/fail criterium:
 - Vier verschillende methodieken mogelijk:
 - Vergelijking met de pass/fail criterium gedefinieerd voor MDOD en W270
 - No-effect level voor planktonische biomassaconcentratie in de BPP-test bij 30°C en voor groei van *L. pneumophila* in BPP-test bij 37°C
 - Definiëren kwaliteitsklassen op basis van praktijkervaringen

2007 – VROM project

37

- Fundament voor pass/fail criterium:
 - Vergelijking met de pass/fail criterium gedefinieerd voor MDOD en W270
 - Onwenselijk want materialen die tot zichtbare slijmvorming resulteren onwenselijk in drinkwater zonder desinfectieresidu (MDOD)
 - Materialen met een effect-level en die groei van *L. pneumophila* veroorzaken worden nog toegelaten (W270)
 - No-effect level
 - Toename van concentratie planktonische biomassa veroorzaakt door materialen, zou minder dan 10% moeten zijn van het 90-percentiel van de planktonische biomassaconcentratie in drinkwater in Nederland. Dit komt overeen met de 10% benadering voor chemische contaminanten uit materialen
 - 90-percentiel is 9 ng ATP/l, maar voor gemak wordt 10 ng ATP/l genomen. 10% toename is dus 1 ng ATP/l, dus no-effect level is < 1 ng ATP/l toename in planktonische biomassa
 - < 1 ng ATP/l toename komt overeen met BPP-waarde van < 100 pg ATP/cm²
 - Bij dit niveau ook geen groei van *L. pneumophila*

KWR Watercycle Research Institute

2007 – VROM project

38

- Fundament voor pass/fail criterium:
 - Definiëren kwaliteitsklassen op basis van praktijkervaringen
 - BPP-waarden materialen variëren tussen < 100 pg ATP/cm² tot > 10.000 pg ATP/cm²
 - Van deze range kunnen kwaliteitsklassen I tot IV worden afgeleid, waarbij elke kwaliteitsklasse 1 logeenheid vertegenwoordigt:
 - I: BPP < 100 pg ATP/cm²
 - II: 100 < BPP < 1000 pg ATP/cm²
 - III: 1000 < BPP < 10.000 pg ATP/cm²
 - IV: BPP > 10.000 pg ATP/cm²
 - Met deze kwaliteitsklasse kan per doel worden nagegaan welk materiaaltype kan worden toegepast. Wanneer groei van *L. pneumophila* dient te worden voorkomen, dan kan alleen materialen die in kwaliteitsklasse 1 vallen worden toegepast.

KWR Watercycle Research Institute

2007 – VROM project

39

- Conclusies Pass/fail criterium studie:
 - Pass/fail criterium voor BPP zou lager moeten zijn dan criterium voor de MDOD en W270
 - Het no-effect level kan worden afgeleid als < 100 pg ATP/cm²
 - De brede range van BPP-waarden voor verschillende materiaaltypen kan worden gebruikt om kwaliteitsklassen te definiëren, waarbij elke klasse één logeenheid van de BPP beslaat

KWR Watercycle Research Institute

2011 – memo VROM

40

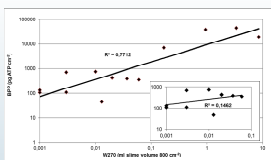
- Opdracht vanuit VROM:
 - Vertaal pass/fail criterium W270 naar criterium voor BPP (VROM kiest voor W270 en niet MDOD, omdat in Duitsland ook drinkwater zonder desinfectieresidu wordt gedistribueerd)
 - Wat is de consequentie van afgeleid criterium BPP voor de verschillende materialen die worden toegepast
 - Beschrijf gebruik van conversiefactor voor criterium BPP
 - Wat is effect criterium BPP voor *L. pneumophila* en andere opportunistische pathogenen

KWR Watercycle Research Institute

2011 – memo VROM

41

- Pass/fail criterium BPP op 2 manieren afgeleid van W270 criterium:
 - Correlatieanalyse



- Vergelijking: $\text{Log BPP} = 0,71 \times \text{Log W270} + 3,98$
- PFC W270 is 0,05 ml/800 cm² = BPP van 1138 pg ATP/cm²
- Twee kritische opmerkingen bij deze benadering:
 - Log BPP data is niet normaal verdeeld
 - Correlatie is berekend over brede range (0 tot 8,58 ml/800 cm² en 45 tot 39.609 pg ATP/cm²) en de vier hoge meetpunten bepalen voor belangrijk deel de correlatie. Meetpunten in range 0 tot 0,1 ml/800 cm² geeft geen significante correlatie tussen W270 en BPP

KWR Watercycle Research Institute

2011 – memo VROM

42

- Pass/fail criterium BPP op 2 manieren afgeleid van W270 criterium:
 - Twee keer de standaarddeviatie van criterium W270
 - Criterium W270 is 0,05 ± 0,02 ml/800 cm². Dit betekent dat (bij normale verdeling) 95,4% van de waarnemingen tussen 0,01 en 0,09 ml/800 cm² liggen. De onderstaande tabel laat de W270 en BPP waarden zien van materialen die tussen deze 0,01 en 0,09 ml/800 cm² liggen

Material	W270 (ml/800 cm ²)	BPP (pg ATP/cm ²)
Class	0,019	43,1
Copper	0,08	315
PE 40	0,01	737
PE 80	0,02	425
PP	0,02	442
SLR	0,037	391

- Het gemiddelde W270 van deze waarden is 0,026 ± 0,019 ml/800 cm². De bovenkant van deze waarde (gemiddelde + 2xSD) is ~ 0,06 ml/800 cm², wat criterium W270 benadert.
- De bovenkant van BPP (gemiddelde + 2xSD) is op dezelfde manier bepaald en was 857 pg ATP/cm²

KWR Watercycle Research Institute

2011 – memo VROM

- **Pass/fail criterium BPP op 2 manieren afgeleid van W270 criterium:**
 - **Pass/fail criterium BPP**
 - Het pass/fail criterium voor de BPP is vervolgens bepaald door een waarde te nemen die tussen 1138 (methode 1) en 857 (methode 2) $\mu\text{g ATP}/\text{cm}^2$ in ligt: 1000 $\mu\text{g ATP}/\text{cm}^2$.
 - Deze waarde wordt gegeven met een standaarddeviatie van 147 $\mu\text{g ATP}/\text{cm}^2$, wat is gebaseerd op gemiddelde relatieve standaarddeviatie die in het verleden voor de BPP-test is waargenomen (14,7%).
 - Deze relatieve standaarddeviatie voor de BPP-test is een stuk lager dan voor de W270 (40%)
 - **Kanttekening:**
 - Dit pass/fail criterium is dus niet gerelateerd aan nagroeiproblemen, maar is gebaseerd op de detectiegrens van de W270 methode

2016 – BTO project

- **Pass/fail criterium BPP** afgeleid die is gerelateerd aan de AOC en BVS richtlijn
 - Overweging voor dit criterium: Drinkwater dat wordt geproduceerd mag volgens deze richtlijnen een kleine mate van nagroei laten zien. Het is daarom logisch dat ook leidingmaterialen verhoogde groei mogen laten zien die vergelijkbaar is aan wat, volgens de AOC en BVS richtlijn, is toegestaan voor drinkwater
 - AOC richtlijn is $< 10 \text{ } \mu\text{g C/l}$; BVS richtlijn is $< 10 \text{ } \mu\text{g ATP cm}^{-1} \text{ dag}^{-2}$
 - Biofilmconcentratie en AOC zijn gerelateerd waarbij: $\text{biofilmconc} = 31,6 \times \text{AOC}^{.44}$
 - AOC van $10 \text{ } \mu\text{g C/l}$ geeft dan $870 \text{ } \mu\text{g ATP/cm}^2$
 - Biofilmconcentratie en BVS zijn gerelateerd waarbij: $\text{biofilmconc} = 103,7 \times \text{BVS}^{0,86}$
 - BVS van $10 \text{ } \mu\text{g ATP cm}^2 \text{ dag}^{-1}$ geeft dan $751 \text{ } \mu\text{g ATP/cm}^2$.
 - Het middelen en afronden van deze twee waarden geeft een pass/fail criterium voor de BPP van $800 \text{ } \mu\text{g ATP/cm}^2$

Hoofdstuk 5

BPP-waarden van materialen van 1989-2019

BPP-waarden 1989-2018 samengevat

		BSP (avg 47.0%)				
Algorithm	# Nodes	# Edges	# Min.	# Max.	Success	Index
BR	20	5	13	13	100	43
Greedy	20	5	45	119	81	19
BR	25	16	16	16	100	43
Greedy	25	16	50	157	91	19
BR	30	21	16	16	100	43
Greedy	30	21	50	157	91	19
BR	35	26	20	210	100	43
Greedy	35	26	50	157	91	19
BR	40	31	20	210	100	43
Greedy	40	31	50	157	91	19
BR	45	36	24	618	214	138
Greedy	45	36	50	157	91	19
BR	50	41	28	618	208	202
Greedy	50	41	50	157	91	19
BR	55	46	28	618	208	202
Greedy	55	46	50	157	91	19
BR	60	51	30	646	175	111
Greedy	60	51	50	157	91	19
BR	65	56	30	646	175	111
Greedy	65	56	50	157	91	19
BR	70	61	32	700	180	120
Greedy	70	61	50	157	91	19
BR	75	66	32	700	180	120
Greedy	75	66	50	157	91	19
BR	80	71	34	700	180	120
Greedy	80	71	50	157	91	19
BR	85	76	34	700	180	120
Greedy	85	76	50	157	91	19
BR	90	81	36	700	180	120
Greedy	90	81	50	157	91	19
BR	95	86	36	700	180	120
Greedy	95	86	50	157	91	19
BR	100	91	38	700	180	120
Greedy	100	91	50	157	91	19
BR	105	96	38	700	180	120
Greedy	105	96	50	157	91	19
BR	110	101	40	700	180	120
Greedy	110	101	50	157	91	19
BR	115	106	40	700	180	120
Greedy	115	106	50	157	91	19
BR	120	111	40	700	180	120
Greedy	120	111	50	157	91	19
BR	125	116	40	700	180	120
Greedy	125	116	50	157	91	19
BR	130	121	40	700	180	120
Greedy	130	121	50	157	91	19
BR	135	126	40	700	180	120
Greedy	135	126	50	157	91	19
BR	140	131	40	700	180	120
Greedy	140	131	50	157	91	19
BR	145	136	40	700	180	120
Greedy	145	136	50	157	91	19
BR	150	141	40	700	180	120
Greedy	150	141	50	157	91	19
BR	155	146	40	700	180	120
Greedy	155	146	50	157	91	19
BR	160	151	40	700	180	120
Greedy	160	151	50	157	91	19
BR	165	156	40	700	180	120
Greedy	165	156	50	157	91	19
BR	170	161	40	700	180	120
Greedy	170	161	50	157	91	19
BR	175	166	40	700	180	120
Greedy	175	166	50	157	91	19
BR	180	171	40	700	180	120
Greedy	180	171	50	157	91	19
BR	185	176	40	700	180	120
Greedy	185	176	50	157	91	19
BR	190	181	40	700	180	120
Greedy	190	181	50	157	91	19
BR	195	186	40	700	180	120
Greedy	195	186	50	157	91	19
BR	200	191	40	700	180	120
Greedy	200	191	50	157	91	19
BR	205	196	40	700	180	120
Greedy	205	196	50	157	91	19
BR	210	201	40	700	180	120
Greedy	210	201	50	157	91	19
BR	215	206	40	700	180	120
Greedy	215	206	50	157	91	19
BR	220	211	40	700	180	120
Greedy	220	211	50	157	91	19
BR	225	216	40	700	180	120
Greedy	225	216	50	157	91	19
BR	230	221	40	700	180	120
Greedy	230	221	50	157	91	19
BR	235	226	40	700	180	120
Greedy	235	226	50	157	91	19
BR	240	231	40	700	180	120
Greedy	240	231	50	157	91	19
BR	245	236	40	700	180	120
Greedy	245	236	50	157	91	19
BR	250	241	40	700	180	120
Greedy	250	241	50	157	91	19
BR	255	246	40	700	180	120
Greedy	255	246	50	157	91	19
BR	260	251	40	700	180	120
Greedy	260	251	50	157	91	19
BR	265	256	40	700	180	120
Greedy	265	256	50	157	91	19
BR	270	261	40	700	180	120
Greedy	270	261	50	157	91	19
BR	275	266	40	700	180	120
Greedy	275	266	50	157	91	19
BR	280	271	40	700	180	120
Greedy	280	271	50	157	91	19
BR	285	276	40	700	180	120
Greedy	285	276	50	157	91	19
BR	290	281	40	700	180	120
Greedy	290	281	50	157	91	19
BR	295	286	40	700	180	120
Greedy	295	286	50	157	91	19
BR	300	291	40	700	180	120
Greedy	300	291	50	157	91	19
BR	305	296	40	700	180	120
Greedy	305	296	50	157	91	19
BR	310	301	40	700	180	120
Greedy	310	301	50	157	91	19
BR	315	306	40	700	180	120
Greedy	315	306	50	157	91	19
BR	320	311	40	700	180	120
Greedy	320	311	50	157	91	19
BR	325	316	40	700	180	120
Greedy	325	316	50	157	91	19
BR	330	321	40	700	180	120
Greedy	330	321	50	157	91	19
BR	335	326	40	700	180	120
Greedy	335	326	50	157	91	19
BR	340	331	40	700	180	120
Greedy	340	331	50	157	91	19
BR	345	336	40	700	180	120
Greedy	345	336	50	157	91	19
BR	350	341	40	700	180	120
Greedy	350	341	50	157	91	19
BR	355	346	40	700	180	120
Greedy	355	346	50	157	91	19
BR	360	351	40	700	180	120
Greedy	360	351	50	157	91	19
BR	365	356	40	700	180	120
Greedy	365	356	50	157	91	19
BR	370	361	40	700	180	120
Greedy	370	361	50	157	91	19
BR	375	366	40	700	180	120
Greedy	375	366	50	157	91	19
BR	380	371	40	700	180	120
Greedy	380	371	50	157	91	19
BR	385	376	40	700	180	120
Greedy	385	376	50	157	91	19
BR	390	381	40	700	180	120
Greedy	390	381	50	157	91	19
BR	395	386	40	700	180	120
Greedy	395	386	50	157	91	19
BR	400	391	40	700	180	120
Greedy	400	391	50	157	91	19
BR	405	396	40	700	180	120
Greedy	405	396	50	157	91	19
BR	410	401	40	700	180	120
Greedy	410	401	50	157	91	19
BR	415	406	40	700	180	120
Greedy	415	406	50	157	91	19
BR	420	411	40	700	180	120
Greedy	420	411	50	157	91	19
BR	425	416	40	700	180	120
Greedy	425	416	50	157	91	19
BR	430	421	40	700	180	120
Greedy	430	421	50	157	91	19
BR	435	426	40	700	180	120
Greedy	435	426	50	157	91	19
BR	440	431	40	700	180	120
Greedy	440	431	50	157	91	19
BR	445	436	40	700	180	120
Greedy	445	436	50	157	91	19
BR	450	441	40	700	180	120
Greedy	450	441	50	157	91	19
BR	455	446	40	700	180	120
Greedy	455	446	50	157	91	19
BR	460	451	40	700	180	120
Greedy	460	451	50	157	91	19
BR	465	456	40	700	180	120
Greedy	465	456	50	157	91	19
BR	470	461	40	700	180	120
Greedy	470	461	50	157	91	19
BR	475	466	40	700	180	120
Greedy	475	466	50	157	91	19
BR	480	471	40	700	180	120
Greedy	480	471	50	157	91	19
BR	485	476	40	700	180	120
Greedy	485	476	50	157	91	19
BR	490	481	40	700	180	120
Greedy	490	481	50	157	91	19
BR	495	486	40	700	180	120
Greedy	495	486	50	157	91	19
BR	500	491	40	700	180	120
Greedy	500	491	50	157	91	19
BR	505	496	40	700	180	120
Greedy	505	496	50	157	91	19
BR	510	501	40	700	180	120
Greedy	510	501	50	157	91	19
BR	515	506	40	700	180	120
Greedy	515	506	50	157	91	19
BR	520	511	40	700	180	120
Greedy	520	511	50	157	91	19
BR	525	516	40	700	180	120
Greedy	525	516	50	157	91	19
BR	530	521	40	700	180	120
Greedy	530	521	50	157	91	19
BR	535	526	40	700	180	120
Greedy	535	526	50	157	91	19
BR	540	531	40	700	180	120
Greedy	540	531	50	157	91	19
BR	545	536	40	700	180	120
Greedy	545	536	50	157	91	19
BR	550	541	40	700	180	120
Greedy	550	541	50	157	91	19
BR	555	546	40	700	180	120
Greedy	555	546	50	157	91	19
BR	560	551	40	700	180	120
Greedy	560	551	50	157	91	19
BR	565	556	40	700	180	120
Greedy						

- Minimum, maximum, gemiddelde, standaarddeviatie en relatieve standaarddeviatie van de BPP-waarden die voor de verschillende materialen zijn gemeten zijn weergegeven in de Tabel
- Onderscheid gemaakt tussen protocol incubatie 25°C en geen warmteversing en protocol incubatie 30°C en wekelijkse warmteversing
- Alleen bij 5 of meer geteste materialen van hetzelfde type is het gemiddelde en s.d.w. uitgerend.
- Relatieve standaarddeviatie bij 30°C is lager dan bij 25°C, d.w.z. juist bij robuuster bij 30°C
- De relatieve standaarddeviatie van PE is niet hoger dan voor bijvoorbeeld PVC-U/C
- Zie meestgustuurde Excel sheet voor alle individuele BPP-waarden