



Thematisch Onderzoek
BTO 2020.067 | December 2020

Onderzoeksvisie opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater

Rapport

Onderzoeksvisie opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater

BTO 2020.067 | December 2020

Dit onderzoek is onderdeel van het collectieve Bedrijfstakonderzoek van KWR, de waterbedrijven en Vewin.

Opdrachtnummer

402045/227

Projectmanager

Michiel Hootsmans

Opdrachtgever

BTO - Thematisch onderzoek - Biologische veiligheid

Auteurs

Paul W. J. J. van der Wielen, Agata Donocik (Brabant Water), Marco Dignum (Waternet), Jamal El Majjaoui (Dunea), Gerhard Wubbels (WMD en WbG), Wim Hijnen (Evides), Maarten Lut (Oasen), Emmanuelle Prest (PWN), Anneke Roosma (Vitens)

Kwaliteitsborger

Gertjan Medema

Verzonden naar

Dit rapport is verspreid onder BTO-participanten.

Een jaar na publicatie is het openbaar.

Keywords

opportunistische ziekteverwekkers, onderzoeksvisie, drinkwater

Jaar van publicatie
2020

Meer informatie

Dr. Paul W.J.J. van der Wielen
T 030-60695642
E paul.van.der.wielen@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

December 2020 ©

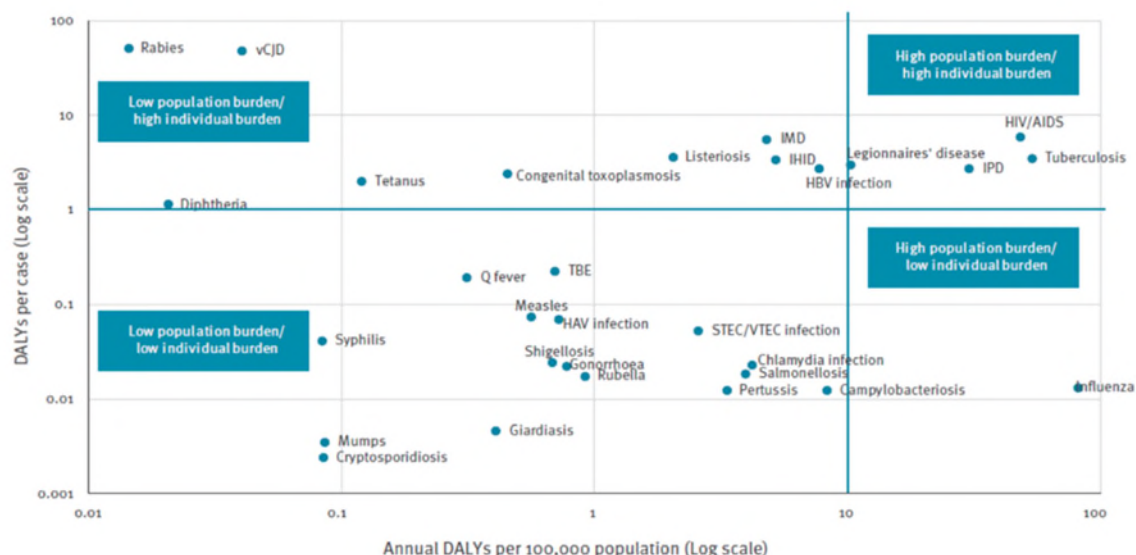
Alle rechten voorbehouden aan KWR. Niets uit deze uitgave mag - zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van KWR - worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen,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

Managementsamenvatting

Toekomstig BTO-onderzoek naar opportunistische pathogenen vorm gegeven in door alle BTO-bedrijven gedragen onderzoeksvisie

Auteurs Paul W. J. J. van der Wielen, Agata Donocik (Brabant Water), Marco Dignum (Waternet), Jamal El Majjaoui (Dunea), Gerhard Wubbels (WMD en WbG), Wim Hijnen (Evides), Maarten Lut (Oasen), Emmanuelle Prest (PWN), Anneke Roosma (Vitens).

Een onderzoeksvisie naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater, gedragen door alle BTO-bedrijven. Dat is het resultaat van een reeks vergaderingen en discussies die met deze bedrijven zijn gevoerd over doelstellingen waaraan dit onderzoek moet voldoen en welke onderzoeksvragen hierbij horen. Op basis van de onderzoeksresultaten die de afgelopen tien jaar binnen het BTO zijn verzameld over de aanwezigheid van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersystemen, hebben de drinkwaterbedrijven aangegeven dat aanvullend onderzoek naar dit onderwerp wenselijk is. De onderzoeksvisie die in dit project dankzij gezamenlijke inspanningen tot stand is gekomen, dient als basis om toekomstig onderzoek in te vullen. Het is zelfs al gebruikt om een BTO-projectvoorstel in te dienen voor 2021/2022 waarin de hoogst geprioriteerde onderzoeksvragen zijn uitgewerkt.



EU/EEA: European Union/European Economic Area; HAV: Hepatitis A virus; HBV: Hepatitis B virus; HIV/AIDS: Human immunodeficiency virus infection; IHID: Invasive *Haemophilus influenzae* disease; IMD: Invasive meningococcal disease; IPD: Invasive pneumococcal disease; STEC/VTEC: Shiga toxin/verocytotoxin-producing *Escherichia coli*; TBE: Tick-borne encephalitis; vCJD: variant Creutzfeldt-Jakob disease

Diseases were arbitrarily subdivided according to burden in DALYs per 100,000 population and DALYs per case.

Invloed van verschillende Infectieziekten op de disability-adjusted life years (DALY), uitgezet per 100.000 mensen en per patiënt. Een manier om het risico van verschillende infectieziekten met elkaar te vergelijken.

Belang: ontwikkeling gezamenlijke onderzoeksvisie opportunistische pathogenen

In de afgelopen tien jaar is binnen het BTO onderzoek uitgevoerd naar opportunistische pathogenen, anders dan Legionella, in het drinkwater. Gedurende de looptijd is veel discussie geweest over nut en noodzaak van het onderzoek. De BTO-bedrijven hadden betreffende het onderwerp verschillende visies en onderzoeksideeën. Voor voldoende draagvlak omtrent toekomstig onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater is het daarom belangrijk een visie te ontwikkelen waarin alle BTO-bedrijven zichzelf herkennen.

Aanpak: opstellen en prioriteren van doelstellingen en onderzoeksvragen

Als eerste stap is een projectgroep opgericht waarin negen van de elf BTO-bedrijven zijn vertegenwoordigd. Tijdens vergaderingen is in stappen consensus gezocht over de doelstellingen ten aanzien van het onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater en de bijbehorende onderzoeksvragen. Na elke stap zijn de resultaten van de projectgroep teruggekoppeld met de themagroep Biologische Veiligheid en hebben de BTO-bedrijven hierin hun prioriteit kunnen aangeven. Aan de hand van de resultaten van de vergaderingen met de project- en themagroep is vervolgens de onderzoeksvisie geschreven.

Resultaten: gedragen onderzoeksvisie

De gekozen aanpak heeft geleid tot een visie die door alle BTO-bedrijven wordt gedragen aangaande het onderzoek naar opportunistische pathogenen in

drinkwater. De hoogst geprioriteerde doelstelling in deze visie is om te achterhalen hoe groot het risico van de aanwezigheid van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid. Daarna volgt de doelstelling om te begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers zich in het drinkwaterdistributiesysteem kunnen vermeerderen. De laagst geprioriteerde doelstelling is het onderzoeken van de effectiviteit van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen in een drinkwaterdistributiesysteem en/of drinkwaterinstallatie. Voor de twee hoogst geprioriteerde doelstellingen zijn respectievelijk 16 en 12 onderzoeksvragen geformuleerd. De vijf hoogst geprioriteerde onderzoeksvragen in relatie tot de eerste doelstelling zijn opgenomen in een BTO-projectvoorstel voor 2021/2022, dat in november is aangenomen door het CO.

Toepassing: onderzoeksvisie is basis voor toekomstig BTO-onderzoek

De door alle BTO-bedrijven gedragen onderzoeksvisie dient de komende jaren als uitgangspunt om het BTO-onderzoek naar opportunistische pathogenen in drinkwater vorm te geven. Daarbij zijn tevens duidelijke go/no go-momenten ingebouwd, zodat de resultaten de hoogst geprioriteerde doelstelling bepalen of aanvullend onderzoek nodig is.

Het Rapport

Dit onderzoek is beschreven in het rapport *Onderzoeksvisie opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater* (BTO 2020.067).

Inhoud

Rapport	2
Managementsamenvatting	3
Inhoud	5
1 Achtergrond en doel	8
1.1 Achtergrond	8
1.2 Doel	8
1.3 Aanpak en leeswijzer	9
2 Samenvatting eerder BTO-onderzoek opportunistische pathogenen	10
2.1 Aanleiding onderzoek	10
2.2 Prioritering opportunistische ziekteverwekkers	10
2.3 Vóórkomen opportunistische ziekteverwekkers Nederlands en Vlaams drinkwater	11
2.4 Vergelijking genotype drinkwaterstammen met patiëntstammen	12
2.5 Factoren die groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater beïnvloeden	13
2.5.1 Biofilm versus drinkwater	13
2.5.2 Temperatuur	13
2.5.3 Afstand/verblijftijd tot productielocatie	14
2.5.4 Biologische stabiliteit drinkwater	14
2.5.5 Drinkwaterinstallatie versus distributiesysteem	14
2.5.6 Leidingmaterialen	15
3 Onderzoeksvisie – Doelstellingen	16
3.1 Introductie	16
3.2 Visie drinkwaterbedrijven over opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersystemen	16
3.3 Onderzoeksvisie – Doelstellingen	17
3.3.1 Risico opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater	17
3.3.2 Milieucondities die bepalend zijn voor groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersysteem	18
3.3.3 Beheersmaatregelen tegen opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater	19
3.3.4 Prioriteit doelstelling	19

4	Onderzoeksvisie – onderzoeksvragen	21
4.1	Onderzoeksvragen risico opportunistische ziekteverwekkers	21
4.1.1	Risico opportunistische pathogenen afwegen tot risico fecale ziekteverwekkers in drinkwater	21
4.1.2	Nieuwe opportunistische pathogenen	23
4.1.3	De rol van drinkwater ten opzichte van andere bronnen bij infecties met opportunistische pathogenen	24
4.1.4	De rol van verschillende drinkwaterfuncties en apparaten op de drinkwaterinstallatie bij verspreiding van opportunistische pathogenen	25
4.1.5	Onderzoeksvragen samengevat	26
4.2	Onderzoeksvragen Milieucondities die bepalend zijn voor groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem	27
4.2.1	Hoofdniches drinkwatersysteem	28
4.2.2	Fysisch-chemische condities	30
4.2.3	Autochtone microflora	32
4.2.4	Monitoren van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater	34
4.2.5	Waterkwaliteit	35
4.2.6	Onderzoeksvragen samengevat	36
5	Onderzoeksvisie – Projectvoorstel BTO 2021/2022	37
5.1	Projectomschrijving	37
5.2	Belang en doel	37
5.3	Opbrengsten en toepassing	37
	Verkenkend onderzoek voor kennisontwikkeling e/o oriëntatie op relevante ontwikkelingen	38
5.4	Doelgroep	38
5.5	Activiteiten	38
5.6	Dwarsverbanden met andere BTO-onderdelen	40
5.7	Relatie met andere onderzoeksprogramma's	40
	Niet van toepassing.	40
5.8	Projectorganisatie	40
5.9	Planning en kosten	41
6	Discussie	42
7	Conclusies en aanbevelingen	44
7.1	Conclusies	44
7.2	Aanbevelingen	45
8	Referenties	46

Bijlage 1 Memo vastgesteld in CO 2014	49
Bijlage 2. Memo doelstellingen onderzoek opportunistische pathogenen	55
Inleiding	55
Doelstellingen	55
<i>Presentatie</i>	55
<i>Aanvullende doelen</i>	57
<i>Aanvulling op iedere doelstelling</i>	58
<i>Belang en prioritering doelstelling</i>	58
<i>Overige opmerkingen</i>	59
Conclusies en hoe nu verder	59
Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen in drinkwaterdistributiesysteem en/of drinkwaterinstallatie, waardoor het risico op verspreiding van opportunistische pathogenen via drinkwater wordt beheerst.	60
Bijlage 3. Memo onderzoeksvragen doelstelling risico opportunistische pathogenen	61
Inleiding	61
Onderzoeksvragen	61
<i>Presentatie</i>	61
<i>Imagoschade</i>	66
<i>Discussie met de projectgroep</i>	66
Algemene visie versus onderzoeksvisie drinkwatersector op opportunistische pathogenen	66
Prioritering onderzoeksvragen	67
Vraag aan de themagroep en verder verloop project	68
Bijlage 4. Memo onderzoeksvragen doelstelling condities die groei veroorzaken	69
Inleiding	69
Onderzoeksvragen	69
<i>Presentatie</i>	69
<i>Discussie met de projectgroep</i>	74
Verder verloop project	75

1 Achtergrond en doel

1.1 Achtergrond

In de afgelopen tien jaar is binnen het BTO onderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersystemen in Nederland. Het onderzoek is gestart met een literatuurstudie om te achterhalen welke opportunistische ziekteverwekkers, die zich in drinkwater kunnen vermeerderen, van belang zijn voor de Nederlandse drinkwatersector. Vervolgens zijn voor die micro-organismen detectiemethoden ontwikkeld en geïmplementeerd en zijn grote monstercampagnes in verschillende distributiesystemen uitgevoerd. Uit dat onderzoek werd duidelijk dat, naast *Legionella pneumophila*, ook *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus* en *Stenotrophomonas maltophilia* in het Nederlandse drinkwater kunnen voorkomen (van der Wielen & van der Kooij, 2011; 2013; van der Wielen, 2014a). In vervolgonderzoek zijn de eerste verkennende onderzoeken uitgevoerd naar de ecologie van deze organismen in het drinkwatersysteem, om te achterhalen welke condities de groei van deze micro-organismen versterken. Op basis van gesprekken met de drinkwaterbedrijven heeft KWR in 2014 een memo voor het Coördinerend Overleg (CO) geschreven (Bijlage 1), waarin kort de visie op onderzoek naar opportunistische pathogenen in het BTO voor de korte en middellange termijn was beschreven:

- Onderzoek binnen BTO of stammen van *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *A. fumigatus* die afkomstig zijn uit het drinkwaterdistributiesysteem overeenkomen met stammen uit patiënten;
- Start voordat deze vraag is beantwoord geen aanvullende projecten naar opp. pathogenen;
- Heroverweeg of aanvullend onderzoek nodig is wanneer drinkwaterstammen niet overeenkomen met patiëntstammen;
- Wanneer met redelijke zekerheid kan worden aangetoond dat drinkwaterstammen een risico vormen voor de volksgezondheid, voer dan aanvullend onderzoek uit naar de ecologie van opportunistische pathogenen in drinkwater.

In 2017 werd het onderzoek naar de vergelijking van drinkwaterstammen en patiëntstammen afgerond met als conclusie dat drinkwaterstammen van *P. aeruginosa* en *A. fumigatus* genetisch overeenkomen met patiëntstammen. Deze bevindingen tonen aan dat het vóórkomen van *P. aeruginosa* en *A. fumigatus* in drinkwater een potentieel gezondheidsrisico kan opleveren. De drinkwaterbedrijven hebben op basis van deze resultaten aangegeven in de themagroep 'Biologische Veiligheid' dat aanvullend onderzoek naar deze opportunistische ziekteverwekkers binnen het BTO wenselijk is. De BTO-participanten hebben daarbij behoefte aan een door alle BTO-participanten gedragen onderzoeksvisie voor de middellange tot lange termijn en een onderzoeksplan voor de korte termijn, waarin de hoogst geprioriteerde onderzoeksvragen uit de onderzoeksvisie worden uitgezocht, ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater.

1.2 Doel

Dit project heeft als doel om tot een door alle BTO-participanten gedragen onderzoeksvisie en -plan ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater te komen. Het document dient als basis voor toekomstig BTO-onderzoek.

Tabel 1.1 Samenstelling van de projectgroep

Persoon	Drinkwaterbedrijf	Persoon	Drinkwaterbedrijf
Agata Donocik	Brabant Water	Maarten Lut	Oasen
Jamal El Majjaoui	Dunea	Emmanuelle Prest	PWN
Wim Hijnen	Evides	Anneke Roosma	Vitens
Paul van der Wielen	KWR	Marco Dignum	Waternet
		Gerhard Wubbels	WMD, Waterbedrijf Groningen

1.3 Aanpak en leeswijzer

In het vervolg van deze rapportage wordt in hoofdstuk 2 eerst een korte samenvatting gegeven van de resultaten uit eerder BTO-onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater. Daarnaast is vanuit de TG Biologische Veiligheid een projectgroep opgestart waarin naast de KWR-onderzoeker, verschillende vertegenwoordigers van de drinkwaterbedrijven hebben plaatsgenomen (Tabel 1.1). Het rapport is een gezamenlijk product van deze projectgroep, waardoor alle projectgroepleden ook als auteur zijn opgenomen van deze rapportage. Er zijn in totaal drie vergaderingen met deze projectgroep geweest. Tijdens de eerste vergadering is afgesteld op welke doelstellingen het onderzoek naar opportunistische pathogenen in drinkwater zou moeten voldoen en vervolgens zijn deze doelstellingen voorgelegd aan de themagroep met als vraag om per drinkwaterbedrijf deze drie doelstellingen te prioriteren. Een memo over deze eerste vergadering en de prioritering van de themagroep is beschreven in Bijlage 2. Tijdens de tweede vergadering met de projectgroep zijn de mogelijke onderzoeksvragen besproken die beantwoord dienen te worden om aan de hoogst geprioriteerde doelstelling te voldoen. Deze onderzoeksvragen zijn wederom voorgelegd aan de themagroep Biologische Veiligheid met als vraag aan iedere vertegenwoordiger om deze onderzoeksvragen te prioriteren. Een memo over deze tweede vergadering en de prioritering van de onderzoeksvragen door de themagroep is beschreven in Bijlage 3. In de laatste vergadering zijn ook mogelijke onderzoeksvragen besproken om aan de een-na-hoogste doelstelling te voldoen en het verslag van die vergadering staat in Bijlage 4. De uitkomsten van de vergaderingen zijn vervolgens gebruikt om de onderzoeksvisie te schrijven. Deze onderzoeksvisie ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwater is opgesplitst in drie onderdelen. Het eerste onderdeel richt zich op de middellange tot lange termijn en beschrijft wat de drinkwatersector op de middellange termijn graag wil bereiken met het onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater. Dit deel richt zich daarom op de doelstellingen van onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater (Hoofdstuk 3). Het tweede onderdeel richt zich op de korte tot middellange termijn en beschrijft welke onderzoeksvragen beantwoord moeten worden om de twee door de drinkwaterbedrijven hoogst geprioriteerde doelstellingen te behalen (Hoofdstuk 4). Het derde onderdeel richt zich op de korte termijn en bevat het BTO-projectplan voor 2020 en 2021 waarin onderzoek wordt voorgesteld voor de hoogst geprioriteerde onderzoeksvragen (Hoofdstuk 5).

2 Samenvatting eerder BTO-onderzoek opportunistische pathogenen

2.1 Aanleiding onderzoek

In 2008 is de programmabegeleidingscommissie (PBC) Microbiologie binnen het bedrijfstakonderzoek (BTO) gestart met onderzoek naar opportunistische pathogenen (anders dan *L. pneumophila*) in het Nederlandse drinkwater. De reden voor de PBC Microbiologie om te achterhalen welke opportunistische pathogenen (anders dan *L. pneumophila*) zich mogelijk in het Nederlandse drinkwater vermeerderen en daarmee een risico zouden kunnen vormen voor de volksgezondheid, is dat de al aanwezige en toekomstige klimaatverandering leidt tot verhoging van de drinkwatertemperatuur in het distributiesysteem. Deze hogere drinkwatertemperaturen leidt waarschijnlijk tot verschuivingen in de samenstelling van bacteriegemeenschappen. Daarbij is de verwachting dat opportunistische ziekteverwekkers vaker zullen voorkomen, omdat deze micro-organismen over het algemeen groeien bij hogere temperaturen.

2.2 Prioritering opportunistische ziekteverwekkers

Het BTO-onderzoek naar opportunistische pathogenen is gestart met een literatuuronderzoek om te achterhalen welke opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater kunnen voorkomen. Van ieder organisme is vervolgens beschreven:

- wat voor ziekte het organisme veroorzaakt;
- hoeveel ziektegevallen er in Nederland zijn;
- hoe vaak een epidemiologische link is gevonden tussen drinkwater en patiënten;
- of het organisme eerder in het Nederlandse drinkwater is aangetroffen;
- of het organisme in staat is zich in drinkwatersystemen te vermeerderen;
- wat de invloed van temperatuur op groei van het organisme is.

Op basis van de uitkomsten van deze beschrijving is vervolgens geprioriteerd welke opportunistische ziekteverwekkers waarschijnlijk het meest belangrijk zijn voor de Nederlandse situatie. Deze prioritering is weergegeven in Tabel 2.1. *L. pneumophila* is het organisme met de hoogste prioriteit, wat volgens verwachting was. In het verleden (periode 2000 t/m 2010) is daarom al uitgebreid onderzoek gedaan binnen het BTO naar *L. pneumophila* in drinkwatersystemen in Nederland. Ziekteverwekkende soorten van non-tuberculeuze mycobacteriën (met name *Mycobacterium avium* complex, *M. kansasii*, *M. xenopi* en *M. malmoense*), *P. aeruginosa* en ziekteverwekkende schimmelsoorten (met name *A. fumigatus*) waren de opportunistische ziekteverwekkers met een hoge prioriteit en besloten werd om het voorkomen van deze organismen in het Nederlandse drinkwater verder te onderzoeken. *Burkholderia cepacia* complex, *S. maltophilia* en ziekteverwekkende protozoa (met name *Acanthamoeba* spp.) hadden een midden prioriteit en besloten werd om het voorkomen van deze organismen in het Nederlandse drinkwater verder te onderzoeken, indien specifieke detectiemethoden voor deze organismen beschikbaar waren. Dit laatste bleek het geval te zijn voor *S. maltophilia* en *Acanthamoeba* spp.

Tabel 2.1 Prioritering micro-organismen voor onderzoek naar het voorkomen in Nederlands drinkwater in relatie tot opwarming van het leidingnet.

Micro-organisme	Prioriteit
<i>Legionella pneumophila</i>	Zeer hoog
Non-tuberculose <i>Mycobacterium</i> spp.	Hoog
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hoog
Ziekteverwekkende fungi	Hoog
<i>Burkholderia cepacia</i> complex	'Midden'
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	'Midden'
Ziekteverwekkende protozoa	'Midden'
<i>Acinetobacter baumannii</i> – <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> complex	Laag
<i>Aeromonas</i>	Laag
<i>Afipia</i>	Laag
<i>Bosea</i>	Laag
<i>Chlamydia</i> -achtige bacteriën zoals <i>Simkania negevensis</i>	Laag
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	Laag
<i>Helicobacter pylori</i>	Laag
<i>Methylobacterium</i>	Laag
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Laag

De resultaten van dit literatuuronderzoek staan beschreven in het BTO-rapport 'Literatuurstudie naar opportunistisch ziekteverwekkende micro-organismen die zich in drinkwater kunnen vermeerderen' met rapportnummer BTO(s) 2009.001 en is gepubliceerd in Hoofdstuk 7 'Opportunistic pathogens in drinking water in the Netherlands' van het boek 'Microbial growth in drinking-water supplies' (van der Wielen et al., 2014).

2.3 Voórkomen opportunistische ziekteverwekkers Nederlands en Vlaams drinkwater

Nadat qPCR-methoden voor de kwantitatieve detectie van *M. avium* complex, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. malmoense*, *P. aeruginosa*, *A. fumigatus*, *S. maltophilia* en *Acanthamoeba* spp. waren ontwikkeld en/of gevalideerd (beschreven in rapport 'Kwantitatieve PCR-methoden voor opportunistisch ziekteverwekkende micro-organismen in drinkwater', rapportnummer BTO(s) 2011.034 en rapport 'Non-tuberculeuze mycobacteriën in drinkwater', rapportnummer BTO 2013.054) zijn in 2010 en 2012/2013 uitgebreide monstercampagnes uitgevoerd om de aantallen van deze opportunistische pathogenen in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater te bepalen.

In 2010 werd in de winter en zomer het drinkwater bemonsterd op ongeveer tien locaties in het distributiesysteem van Leeuwarden, Breda, Almere, ps Scheveningen, ps Kralingen, ps Berenplaat, ps Weesperkarspel en ps Andijk. In de zomer werd ook het reinwater van de desbetreffende pompstations bemonsterd. Het *regA* gen van *P. aeruginosa* werd sporadisch aangetroffen in het distributiesysteem van Leeuwarden, Breda, ps Scheveningen, ps Kralingen en ps Berenplaat variërend van 290 tot 3.300 genkopieën per liter. In de meeste drinkwatermonsters was het aantal *regA* genkopieën van *P. aeruginosa* echter lager dan de detectielimiet (200 kopieën l⁻¹). Ook het aantal *chitA* genkopieën van *S. maltophilia* lag in de meeste drinkwatermonsters onder de detectielimiet (412 kopieën l⁻¹). In het distributiesysteem van Leeuwarden, ps Scheveningen, ps Kralingen, ps Berenplaat en ps Weesperkarspel werd *S. maltophilia* sporadisch aangetroffen met aantallen die varieerden tussen de 2,2×10³ en 1,1×10⁴ genkopieën per liter. In het distributiesysteem van ps Weesperkarspel was het aantal 28S rRNA genkopieën van *A. fumigatus* in drie van de dertien monsters hoger dan de detectielimiet van 200 kopieën l⁻¹. De aantallen varieerden hierbij tussen de 660 tot 830 kopieën l⁻¹. Het 16S rRNA gen van *M. avium* en het 18S rRNA gen van *Acanthamoeba* spp. werden in geen enkel drinkwatermonster aangetroffen.

In de zomer van 2012 en winter van 2013 werden bij tien Nederlandse en één Vlaamse productielocatie(s) het reinwater en gedistribueerd drinkwater op negen locaties in het distributiesysteem bemonsterd. Genkopieën van het *mip* gen van *L. pneumophila*, het *regA* gen van *P. aeruginosa*, het 28S rRNA gen van *A. fumigatus* en het *chitA* gen van *S. maltophilia* werden sporadisch (in 0,9 tot 6,6% van het totaal aantal geanalyseerde monsters) aangetroffen in het drinkwater bemonsterd voor en na doorstroming aan de tap van de elf onderzochte productielocaties. Het 16S rRNA gen van *M. avium*, *M. xenopi*, *M. kansasii* en *M. malmoense* werd in geen enkel drinkwatermonster aangetroffen.

Op basis van deze resultaten werd geconcludeerd dat *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *A. fumigatus* sporadisch aanwezig zijn in het drinkwater van bepaalde Nederlandse en Vlaamse productielocaties. Deze organismen werden over het algemeen niet aangetroffen in het reinwater, waardoor het waarschijnlijk is dat ze in staat zijn zich te vermeerderen in het distributiesysteem. Daarnaast werd geconcludeerd dat ziekteverwekkende non-tuberculeuze mycobacteriesoorten (*M. avium*, *M. xenopi*, *M. kansasii* en *M. malmoense*) en *Acanthamoeba* spp. niet aanwezig waren op de onderzochte locaties.

De resultaten van dit onderzoek zijn beschreven in de BTO-rapporten 'Opportunistisch ziekteverwekkende micro-organismen in drinkwater', BTO 2011.035; 'Effect van waterkwaliteit, seizoen, drinkwaterinstallatie en verblijftijd/afstand op opportunistische pathogenen in drinkwater', BTO 2014.015 en 'Non-tuberculeuze mycobacteriën in drinkwater', BTO 2013.054. De resultaten zijn tevens gepubliceerd in Hoofdstuk 7 'Opportunistic pathogens in drinking water in the Netherlands' van het boek 'Microbial growth in drinking-water supplies' (van der Wielen et al., 2014) en in het wetenschappelijke tijdschrift Applied and Environmental Microbiology: 'Nontuberculous mycobacteria, fungi, and opportunistic pathogens in unchlorinated drinking water in the Netherlands' (van der Wielen & van der Kooij, 2013) en 'Pyrosequence analysis of the hsp65 genes of nontuberculous *Mycobacterium* communities in unchlorinated drinking water in the Netherlands' (van der Wielen et al., 2013).

2.4 Vergelijking genotype drinkwaterstammen met patiëntstammen

De waargenomen aanwezigheid van *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *A. fumigatus* in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater hoeft niet per definitie te betekenen dat deze stammen ook daadwerkelijk infecties kunnen veroorzaken. Er zijn voorbeelden, bijvoorbeeld *Aeromonas*-soorten in het Nederlandse drinkwater, waarbij de drinkwaterstammen duidelijk verschillen van patiëntstammen, waardoor het onwaarschijnlijk is dat deze stammen ook daadwerkelijk een infectie veroorzaken. Om te achterhalen of drinkwaterstammen van *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *A. fumigatus* genotypisch identiek zijn aan patiëntstammen van deze organismen, werden *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *A. fumigatus* gekweekt uit drinkwater dat direct is bemonsterd uit het distributiesysteem (dus zonder tussenkomst van een drinkwaterinstallatie van een gebouw). Een vergelijking van het genotype van deze drinkwaterstammen met het genotype van patiëntstammen liet zien dat voor *P. aeruginosa* en *A. fumigatus* dezelfde genotypen in drinkwater en (Nederlandse) patiënten werden gevonden. Voor *S. maltophilia* weken de genotypen van de drinkwaterstammen af van die van patiëntstammen, waarbij dient te worden opgemerkt dat de database van patiëntstammen zeer klein was (n=8). Uit dit onderzoek werd geconcludeerd dat op basis van (i) de aanwezigheid van kweekbare (en daarmee dus levende) *P. aeruginosa*, *A. fumigatus* en *S. maltophilia* in drinkwater direct bemonsterd uit het distributiesysteem en (ii) de genetische verwantschap die is gevonden tussen drinkwater en klinische isolaten van *P. aeruginosa* en *A. fumigatus*, het niet uit te sluiten is dat deze twee organismen via drinkwater mensen kunnen infecteren.

De resultaten van dit onderzoek zijn beschreven in het BTO-rapport 'Genetische typering van drinkwaterstammen van opportunistische ziekteverwekkers', BTO 2017.065 en in de abstract 'Genotype analyses of *Pseudomonas*

aeruginosa, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Aspergillus fumigatus* isolates from drinking water reveal similar genotypes with patient strains' (van der Wielen & Wullings, 2019).

2.5 Factoren die groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater beïnvloeden

In de periode 2011 t/m 2013 en in 2019/2020 werd oriënterend onderzoek uitgevoerd naar verschillende milieufactoren die de groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater kunnen beïnvloeden. De resultaten van die studies worden hieronder kort besproken.

2.5.1 Biofilm versus drinkwater

De resultaten van het onderzoek naar groei van *A. fumigatus*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *M. avium* en *M. kansasii* in drinkwater lieten zien dat alleen *P. aeruginosa* in staat was zich te vermeerderen in drinkwater. De substraataffiniteit van *P. aeruginosa* was echter laag, wat het aannemelijk maakt dat in de aanwezigheid van een autochtone microflora *P. aeruginosa* ook niet in staat is zich te vermeerderen in drinkwater. *P. aeruginosa*, *M. avium*, *M. kansasii* en *A. fumigatus* waren echter wel in staat zich te vermeerderen in een biofilm (met een autochtone microflora) op PVC-P in contact met drinkwater. *S. maltophilia* was niet in staat zich te vermeerderen in de biofilm, mogelijk omdat alleen een patiëntstam is getest, die minder aangepast zou kunnen zijn aan drinkwaterecosystemen. Uit deze resultaten werd geconcludeerd dat *P. aeruginosa*, *M. avium*, *M. kansasii* en *A. fumigatus* zich voornamelijk in biofilms weten te vermeerderen in drinkwatersystemen. Het onderzoek is beschreven in BTO-rapport 'Rol van drinkwater, biofilm en temperatuur op groei van opportunistische pathogenen', BTO 2014.217(s).

2.5.2 Temperatuur

Een eerste poging, om de invloed van temperatuur op groei van *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *M. avium* en *A. fumigatus* te bestuderen, werd gedaan met biofilmmonitoren gevuld met PVC-P ringen die continu werden gevoed met Nieuwegeins drinkwater en die op verschillende temperaturen werden gehouden. Uit de resultaten bleek echter dat de organismen onvoldoende de biofilm hadden weten te koloniseren om betrouwbare conclusies te trekken over de invloed van temperatuur op groei van deze organismen in drinkwatersystemen. In 2019 zijn daarom nieuwe experimenten gedaan met monsterflessen waarin PVC-P materiaalstukjes en drinkwater aanwezig waren. *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *M. kansasii* en *A. fumigatus* werden aan deze flessen toegevoegd, geïncubeerd bij verschillende temperaturen waarbij het drinkwater wekelijks werd verversd. Onder deze condities wisten de organismen de biofilms (met een autochtone microflora) te koloniseren en bleek uit de resultaten dat *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *M. kansasii* de biofilm koloniseerden bij temperaturen onder de 25°C, dat de wettelijke drinkwaternorm voor gedistribueerd drinkwater in Nederland is. Tevens werd waargenomen dat bij toenemende temperatuur de aantallen van *P. aeruginosa*, *M. kansasii* en *A. fumigatus* ook toenamen. Uit de resultaten werden de volgende conclusies getrokken:

- *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *M. kansasii* zijn in staat om zich in het drinkwaterdistributiesysteem te vermeerderen bij de huidige norm van de drinkwatertemperatuur (25°C) die in het Drinkwaterbesluit is opgenomen. *L. pneumophila* en *A. fumigatus* zijn daartoe niet in staat.
- Wanneer de norm voor de drinkwatertemperatuur in het distributiesysteem wordt verhoogd, dan kan dit leiden tot hogere aantallen *P. aeruginosa*, *M. kansasii*, *A. fumigatus* en *L. pneumophila* in het drinkwaterdistributiesysteem. Voor de eerste drie genoemde opportunistische ziekteverwekkers geldt dit bij verhoging vanaf 25°C, terwijl voor *L. pneumophila* pas hogere aantallen worden waargenomen bij een verhoging vanaf 28°C. Hogere aantallen van deze opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwater verhoogt het gezondheidsrisico voor mensen met een verzwakt immuunsysteem.

De in deze paragraaf besproken onderzoeken zijn gerapporteerd in BTO-rapport 'Rol van drinkwater, biofilm en temperatuur op groei van opportunistische pathogenen', BTO 2014.217(s) en in het BTO-rapport 'Invloed van temperatuur op groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater', BTO 2020.036.

2.5.3 Afstand/verblijftijd tot productielocatie

De meetcampagne in 2012/2013, waarbij praktijkmonsters uit het distributiesysteem en drinkwaterinstallatie zijn getest op opportunistische pathogenen, was zo opgezet dat monsters afkomstig waren van (i) locaties op verschillende afstand/verblijftijd van de productielocatie, (ii) voorzieningsgebieden waar drinkwater met verschillende mate van biologische stabiliteit werd gedistribueerd (zie paragraaf 2.5.4) en (iii) van de drinkwaterinstallatie (direct getapt uit de kraan) en distributiesysteem (getapt na vier minuten doorstroming)(zie paragraaf 2.5.5).

Het effect van afstand/verblijftijd werd onderzocht door bij elf voorzieningsgebieden drie monsters uit het distributiesysteem te nemen dicht bij de productielocatie, op middenafstand van de productielocatie en op locaties veraf van de productielocatie. Doordat *L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *A. fumigatus* slechts sporadisch werden waargenomen, was het niet mogelijk om betrouwbare uitspraken te doen over de invloed van verblijftijd/afstand op deze opportunistische pathogenen. De sporadische monsters die positief waren voor één of meerdere opportunistische ziekteverwekkers waren echter verdeeld over alle afstanden/verblijftijden tot de productielocatie. Op basis van de resultaten werd de indicatieve conclusie getrokken dat de afstand/verblijftijd van een bepaalde locatie in het distributiesysteem tot de productielocatie geen invloed lijkt te hebben op de opportunistische pathogenen in het drinkwater. Aanvullende metingen zijn echter vereist voordat een betrouwbare conclusie kan worden gegeven. De resultaten van het onderzoek staan beschreven in het BTO-rapport 'Effect van waterkwaliteit, seizoen, drinkwaterinstallatie en verblijftijd/afstand op opportunistische pathogenen in drinkwater', BTO 2014.015.

2.5.4 Biologische stabiliteit drinkwater

Het effect van waterkwaliteit werd bepaald door monsters te nemen van het reinwater en in het distributiesysteem van elf pompstations die drinkwater van verschillende bronnen produceren (oppervlaktewater, oppervlaktewater na duininfiltratie of grondwater) en waarvan de biologische stabiliteit van het geproduceerde drinkwater onderling verschilt. Vooraf was de verwachting dat wanneer het drinkwater biologisch stabiel is, de aantallen van de verschillende opportunistische ziekteverwekkers lager zouden zijn. De resultaten lieten echter zien dat een duidelijk verband niet aanwezig was tussen de biologische stabiliteit van het drinkwater en het vóórkomen of de aantallen van de verschillende opportunistische ziekteverwekkers. Uit deze resultaten werd daarom de indicatieve conclusie getrokken dat de biologische stabiliteit van het geproduceerde drinkwater geen invloed lijkt te hebben op het vóórkomen van *L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *A. fumigatus* in het drinkwater bemonsterd na doorstroming aan de tap. Deze conclusie is indicatief, omdat slechts een beperkt aantal monsters positief waren voor deze opportunistische ziekteverwekkers, waardoor het verband tussen biologische stabiliteit en opportunistische ziekteverwekkers niet betrouwbaar kan worden vastgesteld. De resultaten van het onderzoek staan beschreven in het BTO-rapport 'Effect van waterkwaliteit, seizoen, drinkwaterinstallatie en verblijftijd/afstand op opportunistische pathogenen in drinkwater', BTO 2014.015.

2.5.5 Drinkwaterinstallatie versus distributiesysteem

Hoewel slechts een sporadisch aantal genomen drinkwatermonsters uit de drinkwaterinstallatie (direct getapt) en uit het distributiesysteem (getapt na vier minuten doorstroming) positief waren, werd over het algemeen waargenomen dat de aantallen van kweekbare *Legionella*, *P. aeruginosa* en genkopieën van *L. pneumophila*, *P. aeruginosa* en *A. fumigatus* en *S. maltophilia* hoger waren in het direct getapte drinkwatermonster dan in het drinkwatermonster na doorstroming. Uit deze resultaten werd geconcludeerd dat de drinkwaterinstallatie een rol lijkt te spelen bij de vermeerdering van deze opportunistische pathogenen, maar ook hier zijn meer positieve monsters nodig om deze conclusie betrouwbaar te kunnen trekken. De resultaten van het onderzoek zijn

beschreven in het BTO-rapport 'Effect van waterkwaliteit, seizoen, drinkwaterinstallatie en verblijftijd/afstand op opportunistische pathogenen in drinkwater', BTO 2014.015.

2.5.6 Leidingmaterialen

De groeibevorderende eigenschappen van verschillende leidingmaterialen (RVS, koper, PVC-C, PE-40, PE-80, PE-100, PEX-A, PEX-C, PVC-P en EPDM) en glas (negatieve controle) op groei van *P. aeruginosa*, *M. avium*, *M. kansasii* (alleen PE-40, PE-80, PE-100 en PVC-P), *S. maltophilia* en *A. fumigatus* werden bepaald met de biomassaproductiepotentie (BPP)-test voor materialen (CEN-EN 16421-2015). *S. maltophilia* was niet in staat zich te vermeerderen in de biofilm ongeacht het materiaal. Onduidelijk is of dit wordt veroorzaakt doordat de gebruikte patiëntstam van *S. maltophilia* niet in staat was zich in het drinkwatersysteem te vermeerderen. EPDM en PVC-P bevorderden de groei van *P. aeruginosa* in de biofilm, waarbij de kolonievormende eenheden ~ 4.500 keer hoger waren dan op glas. De overige materialen bevorderden de groei van *P. aeruginosa* in de biofilm niet of nauwelijks ten opzichte van glas. Verhoogde groei van *M. avium* ten opzichte van glas werd alleen waargenomen in de biofilm van PVC-P, hoewel de aantallen van *M. avium* op PVC-P relatief laag bleven (510 genkopieën/cm²). In tegenstelling tot *M. avium*, was *M. kansasii* wel in staat om zich te vermeerderen in de biofilm op PE-40, PE-80 en PE-100, waarbij de aantallen op sommige monsterdagen maximaal 30 keer hoger waren dan in de biofilm op glas. Over de gehele incubatieperiode waren de *M. kansasii* aantallen echter slechts 1,2 tot 2,9 keer hoger dan op glas. De *A. fumigatus* aantallen in de biofilm op de meeste materialen waren gedurende de gehele incubatieperiode slechts 1,5 tot 3,0 keer hoger dan op glas, alleen op PVC-P waren deze aantallen beduidend hoger (126 keer hoger dan op glas). Uit deze studie werd geconcludeerd dat de meeste leidingmaterialen die worden toegepast in het distributiesysteem en de drinkwaterinstallatie niet of nauwelijks groeibevorderend zijn voor de geteste opportunistische pathogenen. Uitzonderingen hierop zijn PVC-P en EPDM, die voor sommige opportunistische ziekteverwekkers wel groeibevorderend zijn en PE-materialen die matig groeibevorderend kunnen zijn voor *M. kansasii*. De resultaten van het onderzoek zijn beschreven in het rapport: 'Rol van leidingmateriaal bij groei van micro-organismen en opportunistische pathogenen', BTO 2016.022.

3 Onderzoeksvisie – Doelstellingen

3.1 Introductie

Rond de eeuwwisseling is het onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkende micro-organismen in drinkwater in een versnelling gekomen door de legionella-uitbraak van 1999 in Bovenkarspel. Na deze uitbraak leefde er veel vragen in de maatschappij en binnen de drinkwaterbedrijven over het risico van verspreiding van *L. pneumophila* via drinkwater. De drinkwatersector kwam daarom relatief snel na deze uitbraak met een onderzoeksvisie voor *Legionella* in drinkwater (Nobel et al., 2001). Dat onderzoek richtte zich alleen op *Legionella* en dan met name *L. pneumophila*, het organisme dat in drinkwater kan voorkomen, groeien en van de watergerelateerde opportunistische ziekteverwekkers het hoogste risico heeft voor de volksgezondheid (van der Wielen & van der Kooij, 2014). In 2007 werd dit onderzoek uitgebreid naar andere opportunistische ziekteverwekkers die zich in drinkwatersystemen kunnen vermeerderen en voor het Nederlandse drinkwater van belang kunnen zijn. Destijds was klimaatverandering een directe aanleiding om dit onderzoek te starten. Sinds het onderzoek naar opportunistische pathogenen werd gestart in het BTO, is een wens van de drinkwaterbedrijven die deelnemen aan het BTO om een gezamenlijke visie en onderzoeksvisie vast te stellen over het onderwerp, die als leidraad kan dienen om toekomstig onderzoeksgeld uit het BTO aan te vragen. Dit heeft in 2014 geleid tot het opstellen van een gezamenlijke memo die destijds door de TG Biologische Activiteit en het CO is vastgesteld (Bijlage 1).

Tevens heeft voortschrijdend inzicht ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater, onder andere verkregen uit lopend BTO-onderzoek, geresulteerd in de wens om als drinkwatersector op een zorgvuldigere wijze een onderzoeksvisie vast te stellen. Daarom hebben de drinkwaterbedrijven die deelnemen aan het BTO en KWR via de TG 'Biologische Veiligheid' het initiatief genomen om een gezamenlijke onderzoeksvisie te ontwikkelen ten aanzien van deze opportunistische pathogenen in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater. Deze gezamenlijke onderzoeksvisie wordt in de rest van dit document beschreven.

In de rest van het document wordt regelmatig de term opportunistische pathogenen in drinkwater gebruikt, maar deze term is zeer breed, omdat een zeer grote verscheidenheid aan micro-organismen in drinkwater kunnen voorkomen en ook ziekte kunnen veroorzaken. Een groot deel van deze micro-organismen lijkt voor het Nederlandse en Vlaamse drinkwater echter een lage prioriteit te hebben (zie van der Wielen, 2008), maar voor de vijf opportunistische ziekteverwekkers *L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *A. fumigatus* en *M. kansaii* is de prioriteit hoog. In de rest van dit document verwijst de term opportunistische pathogenen in drinkwater in ieder geval naar deze vijf genoemde micro-organismen, maar mogelijk ook naar andere opportunistische ziekteverwekkers, die op basis van recente inzichten ook van belang zouden kunnen zijn voor het Nederlandse en Vlaamse drinkwater.

3.2 Visie drinkwaterbedrijven over opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersystemen

Voordat een gezamenlijke onderzoeksvisie ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater kan worden opgesteld, is het ook belangrijk om te achterhalen wat de visie van de drinkwaterbedrijven is ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater. Na de warme zomers van 2003 en 2006 was het voor alle Nederlandse drinkwaterbedrijven (verwoord door de PBC Microbiologie in 2006/2007) belangrijk om na te gaan in hoeverre opwarming van het drinkwater tot groei kon leiden van opportunistische ziekteverwekkers anders dan *L. pneumophila*. Deze vraag vanuit de drinkwatersector heeft geleid tot het onderzoek dat tot nu toe aan opportunistische ziekteverwekkers heeft plaatsgevonden (zie hoofdstuk 2). De aandacht voor het risico van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater heeft overigens niet alleen tot onderzoek geleid in Nederland,

maar ook in andere landen (zie bv Perrin et al., 2019; Bedard et al., 2016; Wang et al., 2015). In sommige andere landen zijn daarnaast bepaalde opportunistische ziekteverwekkers in de wettelijke regelgeving of richtlijnen rond drinkwater opgenomen (bv *P. aeruginosa* in het Duitse Drinkwaterbesluit of *P. aeruginosa* voor drinkwaterinstallaties van Britse ziekenhuizen) (Anonymous, 2016; Anonym, 2020). De resultaten van het onderzoek dat tot nu toe werd uitgevoerd naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater heeft laten zien dat een aantal van deze organismen kunnen voorkomen in het (Nederlandse en Vlaamse) drinkwater, wat het belang onderstreept om meer grip te krijgen op deze organismen. Voor de Nederlandse situatie geldt daarbij dat, doordat het drinkwater wordt gedistribueerd zonder desinfectieresidu, Nederlandse drinkwatersystemen mogelijk kwetsbaarder zijn voor groei van deze organismen in het drinkwatersysteem. In 2019 zijn de inzichten uit het BTO-onderzoek ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater door KWR gedeeld met de drinkwaterbedrijven via de TG 'Biologische Veiligheid'. Tevens is door KWR de vraag gesteld of de drinkwaterbedrijven aanvullend onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers opportuun achten. De themagroepleden hebben die vraag voorgelegd binnen hun drinkwaterbedrijf en de uitkomst was dat de drinkwaterbedrijven redelijk unaniem het belang van dit onderwerp zagen, zeker in het kader van het voorzorgsprincipe dat veel drinkwaterbedrijven hanteren. Tevens is daarbij de wens uitgesproken om in gezamenlijkheid tot een onderzoeksvisie over dit onderwerp te komen.

Daarnaast geven de drinkwaterbedrijven aan dat in het verleden binnen het BTO ook onderzoek is gedaan naar de wensen ten aanzien van de drinkwaterkwaliteit van de 21^e eeuw. In de rapportage van dat project is de term onberispelijk drinkwater geïntroduceerd (van der Kooij et al., 2010). Volgens de gestelde definitie van onberispelijk drinkwater zouden opportunistische ziekteverwekkers niet in het drinkwater aanwezig mogen zijn, maar dat lijkt een niet realistisch streven te zijn. Meer pragmatisch zouden drinkwaterbedrijven kunnen streven naar het leveren van drinkwater dat een acceptabel risico voor de volksgezondheid heeft. De drinkwaterbedrijven vinden het daarom wenselijk om een brede workshop te organiseren waarin de drinkwatersector en overheid (RIVM en eventueel Ministerie) samen vorm geven aan de invulling hiervan. Voor de drinkwaterbedrijven geldt ook dat de klant daarbij centraal staat met name ten aanzien van de volgende drie aspecten: (i) gezondheid van de klant, (ii) drinkwaterimago voor de klant en (iii) hoe communiceer je hierover naar de klant.

3.3 Onderzoeksvisie – Doelstellingen

Uit hoofdstuk 2 is duidelijk geworden dat een aantal aspecten ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater al door BTO-onderzoek is opgehelderd, maar met de opgedane kennis zijn een aantal sleutelaspecten van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater nog niet opgehelderd. Deze sleutelaspecten richten zich met name op (1) de mate van het risico van de aanwezigheid van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater, (2) essentiële condities die groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater veroorzaken en (3) mogelijke beheersmaatregelen die nodig zijn om groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater te voorkómen. De BTO-drinkwaterbedrijven zijn het er over eens dat het onderzoek zich op de middellange tot lange termijn zou moeten richten op deze drie aspecten. Hieronder zijn deze drie doelstellingen verder uitgewerkt.

3.3.1 Risico opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater

De belangrijkste redenen om onderzoek te doen naar opportunistische pathogenen in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater is dat de aanwezigheid van deze organismen in drinkwater een gevaar zouden kunnen vormen voor de volksgezondheid. Daarom is in het verleden het BTO-onderzoek ook verlegd, zodat eerst onderzocht werd in hoeverre het genotype van de drinkwaterstammen van deze opportunistische ziekteverwekkers ook bij patiënten wordt aangetroffen. De bevinding dat het genotype van drinkwaterstammen en patiëntstammen hetzelfde zijn, laat zien dat de opportunistische ziekteverwekkers die in drinkwater kunnen voorkomen ook daadwerkelijk ziekte kunnen veroorzaken. Het laat echter niet zien hoe groot of klein het risico is dat patiënten ook daadwerkelijk ziek worden van deze opportunistische ziekteverwekkers via drinkwater. Naar de mening van de BTO-

drinkwaterbedrijven zou het doel van toekomstig BTO-onderzoek naar opportunistische pathogenen moeten zijn om het risico van de aanwezigheid van opportunistische pathogenen in drinkwater voor de volksgezondheid duidelijk te krijgen. Met behulp van die informatie kan namelijk worden besloten of verder BTO-onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers zinvol is. Mocht blijken dat het risico voor de volksgezondheid laag en acceptabel is, ook in vergelijking tot fecale ziekteverwekkers die in drinkwater voorkomen of tot andere bronnen dan drinkwater, dan lijkt verder onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater niet nodig, tenzij nieuwe inzichten zijn verkregen ten aanzien van het risico en/of nieuwe opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwater worden aangetroffen. Wanneer het risico echter te hoog en niet acceptabel is, dan dient verder onderzoek uitsluitend te geven over mogelijke milieucondities die groei in drinkwater veroorzaken en ook wat de invloed van bepaalde beheersmaatregelen is op deze opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater. De uitkomst van het onderzoek naar het risico van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater kan dus worden gebruikt om een go/no go te bepalen voor verder onderzoek naar deze organismen.

In 2008 is voor het laatst achterhaald welke opportunistische ziekteverwekkers van belang zijn voor het Nederlandse en Vlaamse drinkwater en het is uiteraard logisch dat onderzoek naar het achterhalen van het risico zich met name richt op de vijf eerder genoemde opportunistische ziekteverwekkers (*L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *M. kansasii* en *A. fumigatus*) die van belang zijn voor het Nederlandse en Vlaamse drinkwater. Om het risico van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater ook voor de langere termijn goed te beschrijven, is het verstandig om na te gaan of ook andere ziekteverwekkers dan de vijf eerder genoemde opportunistische pathogenen van belang zijn voor het Nederlandse en Vlaamse drinkwater. Dit kan worden gedaan door de literatuurstudie die in 2008 is uitgevoerd bij te werken met de literatuur die sinds 2008 is verschenen ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater. Een andere mogelijkheid is om op basis van moleculaire sequentiemethoden een brede screening te maken van de micro-organismen die vóórkomen in het drinkwater, om zo te achterhalen welke bekende opportunistische ziekteverwekkers van belang zijn voor het Nederlandse en Vlaamse drinkwater.

3.3.2 Milieucondities die bepalend zijn voor groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersysteem

In het eerste decennium van deze eeuw is uitgebreid onderzoek uitgevoerd naar de milieucondities die bepalend zijn voor groei van *L. pneumophila* in drinkwater. Tot nu toe is echter beperkt onderzoek uitgevoerd naar de milieucondities die bepalend zijn voor groei van de andere opportunistische ziekteverwekkers (*P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *A. fumigatus* en *M. kansasii*) in drinkwater. Er is vastgesteld dat deze opportunistische pathogenen zich vermeerderen in de biofilm en niet in het drinkwater en dat een verhoogde temperatuur (van 15,0 naar 30,0°C) resulteert in hogere aantallen in de biofilm die zich ontwikkelde op PVC-P onder semi-stagnante condities. Met deze resultaten blijft echter grotendeels onduidelijk welke milieucondities in het distributiesysteem bepalend zijn voor groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater. De BTO-drinkwaterbedrijven hebben daarom vastgesteld dat het verzamelen van die kennis een belangrijk doel is om te begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers zich in het drinkwatersysteem weten te vermeerderen. Hiervoor is het belangrijk om te weten in welke niche (biofilm op de leidingwand of in het sediment), in welk drinkwatersysteem (bijvoorbeeld primair, secundair en/of tertiair deel van distributiesysteem en/of koudwater-, warmwater- of mengwaterdeel van de drinkwaterinstallatie) en in drinkwater dat wordt gebruikt voor een bepaalde functie (bijvoorbeeld gebruik bij lenzenvloeistof, besproeien van de tuin, douchen) vermeerdering van opportunistische pathogenen optreedt. Die informatie kan worden gebruikt om gerichte experimenten op te zetten waarmee de invloed van verschillende fysisch-chemische condities (nutriënten uit drinkwater en/of leidingmaterialen, sedimentsamenstelling, NOM-samenstelling, temperatuur, hydraulica) en biologische samenstelling (bacteriën, protozoa, ongewervelde dieren, bacteriofagen) op groei van opportunistische ziekteverwekkers kan worden vastgesteld. Vervolgens wordt achterhaald of de verkregen resultaten het mogelijk maken om gerichte beheersmaatregelen voor te stellen die zouden kunnen werken om de aantallen opportunistische ziekteverwekkers in (bepaalde) drinkwatersystemen te

verlagen, wat wordt gebruikt als een go/no go voor onderzoek naar het effect van mogelijke beheersmaatregelen op opportunistische ziekteverwekkers.

Tevens hebben we vastgesteld dat monitoring van opportunistische ziekteverwekkers momenteel wordt uitgevoerd door drinkwatermonsters uit te platen op een medium met selectieve componenten of op een algemeen medium geïncubeerd onder selectieve condities of door drinkwatermonsters te filteren, DNA te isoleren en met een soortspecifieke qPCR het aantal genkopieën van iedere opportunistische pathogeen te bepalen. Deze methoden zijn echter tijdrovend en/of arbeidsintensief, waardoor het wenselijk is om te achterhalen of een eenvoudig te meten parameter een (voortijdig) signaal geeft voor groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwaterdistributiesysteem. Dit onderdeel valt tussen deze doelstelling en de derde doelstelling (beheersmaatregelen tegen opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater, zie paragraaf 3.3.1.3) in. Eventuele relaties van opportunistische pathogenen met andere parameters identificeren kan namelijk helpen om te begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwatersysteem. Daarnaast zou het meten van een eenvoudige indicatorparameter voor opportunistische ziekteverwekkers ook onderdeel kunnen zijn van beheersmaatregelen tegen opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater.

3.3.3 Beheersmaatregelen tegen opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater

Wanneer uit de eerste doelstelling (zie paragraaf 3.3.1) volgt dat het risico van de aanwezigheid van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater niet acceptabel is, dan zouden de BTO-drinkwaterbedrijven graag beheersmaatregelen willen nemen tegen opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem. Daarbij moet het wel mogelijk zijn om effectieve beheersmaatregelen te nemen en met een acceptabele kosten-batenanalyse. Momenteel is de kennis echter te beperkt om wetenschappelijke onderbouwde beheersmaatregelen tegen opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater te nemen die ook in de praktijk zijn getest. Aanvullende informatie over de condities waaronder opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn om zich in drinkwater te vermeerderen is hiervoor noodzakelijk. Deze informatie wordt verzameld bij uitvoering van de tweede doelstelling (zie paragraaf 3.3.2), wat hopelijk leidt tot het definiëren van mogelijke beheersmaatregelen die vervolgens getest moeten worden op effectiviteit in het laboratorium, pilots en/of praktijk.

Momenteel zijn in Nederland overigens al beheersmaatregelen geïmplementeerd tegen *Legionella* in met name collectieve drinkwaterinstallaties van prioritaire gebouwen. Indien deze maatregelen ook effectief zijn tegen de andere opportunistische ziekteverwekkers die in het Nederlandse drinkwater zijn aangetroffen, dan kan het risico op verspreiding van deze andere opportunistische pathogenen ook lager of afwezig zijn. De kern van deze legionellabeheersmaatregelen is om de temperatuur van het koud water lager dan 25°C te houden en van het warm water hoger dan 60°C. Daarnaast kunnen gebouweigenaren ook andere fysisch-chemische of chemische maatregelen nemen. Het onderzoek aan opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater tot nu toe heeft echter laten zien dat koudwatertemperaturen onder 25°C kunnen resulteren in vermeerdering van deze andere opportunistische pathogenen in drinkwaterbiofilms. De invloed van andere beheersmaatregelen op groei van opportunistische ziekteverwekkers, behalve *L. pneumophila*, is tot nu toe niet of nauwelijks onderzocht en zou een eerste stap kunnen zijn om het in deze paragraaf beschreven doel te halen.

3.3.4 Prioriteit doelstelling

Nadat deze drie doelstellingen met de BTO-drinkwaterbedrijven zijn vastgesteld, hebben de BTO-drinkwaterbedrijven de doelstellingen geprioriteerd. Uit deze prioritering volgde dat de bedrijven de onderzoeksdoelstelling *“Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen”* de hoogste prioriteit hebben gegeven, gevolgd door de onderzoeksdoelstelling *“Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem”*. De onderzoeksdoelstelling *“Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen in drinkwaterdistributiesysteem en/of*

drinkwaterinstallatie, waardoor het risico op verspreiding van opportunistische pathogenen via drinkwater wordt beheerst” kreeg de laagste prioriteit.

4 Onderzoeksvisie – onderzoeksvragen

In het vorige hoofdstuk zijn de drie doelstellingen beschreven waaraan volgens de BTO-drinkwaterbedrijven het onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers voor de middellange tot lange termijn moet voldoen. Daarnaast hebben de bedrijven de onderzoeksdoelstelling *“Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen”* de hoogste prioriteit gegeven, gevolgd door de onderzoeksdoelstelling *“Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem”*. Voor deze twee doelstellingen is in samenspraak met de BTO-drinkwaterbedrijven het onderzoek op de korte tot middellange termijn gedefinieerd en vastgelegd in een aantal onderzoeksvragen per doelstelling. De derde doelstelling uit het vorige hoofdstuk, *“Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen in drinkwaterdistributiesysteem en/of drinkwaterinstallatie, waardoor het risico op verspreiding van opportunistische pathogenen via drinkwater wordt beheerst”*, heeft de laagste prioriteit is daarom vooralsnog niet verder uitgewerkt in onderzoeksvragen.

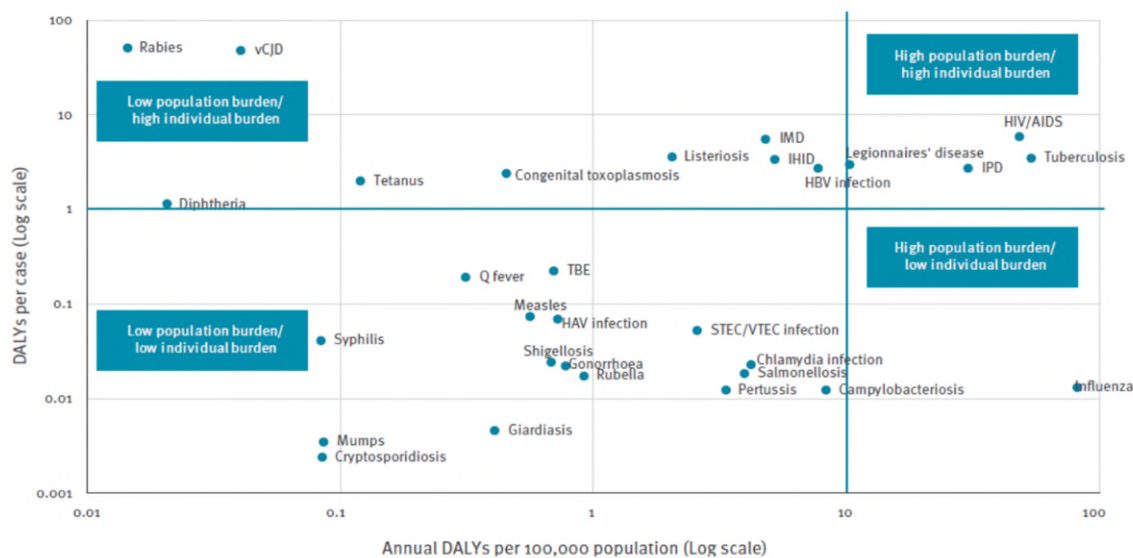
4.1 Onderzoeksvragen risico opportunistische ziekteverwekkers

De onderzoeksvragen die zijn opgesteld ten aanzien van het achterhalen van het risico van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater, ook in relatie tot fecale ziekteverwekkers en andere bronnen dan drinkwater, kunnen worden onderverdeeld in vier onderwerpen. Deze onderwerpen behandelen eventuele nieuwe opportunistische ziekteverwekkers voor drinkwater, het risico in relatie tot fecale ziekteverwekkers in drinkwater, het risico in relatie tot opportunistische ziekteverwekkers in andere bronnen dan drinkwater en de rol van verschillende drinkwaterfuncties en apparaten in het drinkwatersysteem op het risico van opportunistische ziekteverwekkers. Deze vier onderwerpen worden hieronder separaat beschreven.

4.1.1 Risico opportunistische pathogenen afwegen tot risico fecale ziekteverwekkers in drinkwater

Het Nederlandse Drinkwaterbesluit besteedt relatief veel aandacht aan fecale ziekteverwekkers. Zo dienen fecale indicatororganismen onder de wettelijke norm te blijven en moeten de productielocaties voldoen aan het 10^{-4} infectierisico (1 infectie per 10.000 mensen per jaar) voor een aantal fecale indexpathogenen. Daarentegen besteedt het Drinkwaterbesluit weinig aandacht aan opportunistische ziekteverwekkers, alleen de aantallen kweekbare *Legionella* spp. moeten onder de wettelijke norm blijven. Hierdoor blijft onduidelijk hoe het risico van opportunistische ziekteverwekkers in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater zich verhoudt tot het risico van fecale ziekteverwekkers. Uit eerder BTO-onderzoek werd geconcludeerd dat het gebruik van het infectierisico als eindpunt voor de risicoanalyse van ziekteverwekkers onvoldoende is, omdat de ernst van ziekte niet wordt meegewogen (van der Kooij et al., 2010). Tevens werd geconcludeerd dat het gebruik van disability adjusted life years (DALY) een uitkomst biedt om risico's tussen ziekteverwekkers beter af te wegen. In Figuur 4.1 is een voorbeeld gegeven van een DALY benadering voor verschillende ziekteverwekkers. In deze figuur is de jaarlijkse DALY per 100.000 mensen weergegeven op de x-as en de DALY per geïnfecteerd persoon op de y-as. Een hoge waarde op de x-as geeft aan dat veel mensen ziek worden van de ziekteverwekker (zoals bijvoorbeeld geldt voor het influenzavirus dat de griep veroorzaakt), terwijl een hoge waarde op de y-as aangeeft dat de gezondheid van de persoon zwaar wordt aangetast (zoals bijvoorbeeld geldt voor rabiës, ook wel hondsdoelheid genoemd). Ziekteverwekkers die op beide schalen hoog scoren hebben de grootste impact op de volksgezondheid in een populatie (zoals bijvoorbeeld geldt voor HIV/aids). In Figuur 4.1 zijn ook een aantal watergerelateerde ziekteverwekkers opgenomen, waaronder één opportunistische ziekteverwekker (*L. pneumophila*) en verschillende fecale ziekteverwekkers (*Campylobacter*, *Giardia* en *Cryptosporidium*). *L. pneumophila* scoort op beide assen hoog, terwijl *Campylobacter* alleen op de x-as hoog scoort. *Giardia* en *Cryptosporidium* scoren op beide assen laag. *L.*

pneumophila heeft als opportunistische ziekteverwekker dus een grotere impact op de volksgezondheid dan deze drie fecale ziekteverwekkers. Overigens is het van belang om op te merken dat deze gegevens geen onderscheid maken tussen infecties die zijn veroorzaakt door drinkwater of andere bronnen.



EU/EEA: European Union/European Economic Area; HAV: Hepatitis A virus; HBV: Hepatitis B virus; HIV/AIDS: Human immunodeficiency virus infection; IHID: Invasive *Haemophilus influenzae* disease; IMD: Invasive meningococcal disease; IPD: Invasive pneumococcal disease; STEC/VTEC: Shiga toxin/verocytotoxin-producing *Escherichia coli*; TBE: Tick-borne encephalitis; vCJD: variant Creutzfeldt–Jakob disease

Diseases were arbitrarily subdivided according to burden in DALYs per 100,000 population and DALYs per case.

Figuur 4.1 Jaarlijkse DALY's per 100.000 mensen uitgezet tegen DALY's per geval voor een groot aantal infectieziekten, uit Cassini et al. (2018).

De WHO heeft naast de richtlijn voor een infectierisiconorm van (fecale) ziekteverwekkers in drinkwater (10^{-4} per persoon per jaar) (Anonymous, 2011) ook een richtlijn voor een DALY-norm van ziekteverwekkers (en chemische contaminanten) in drinkwater (10^{-6} DALY's per persoonjaar) (Anonymous, 2011). In het Nederlandse Drinkwaterbesluit is het door de WHO voorgestelde infectierisico van 10^{-4} voor fecale ziekteverwekkers opgenomen, maar onduidelijk is aan welk risicocriterium het Nederlandse drinkwater moet voldoen in relatie tot opportunistische ziekteverwekkers. Wanneer een dergelijk risicocriterium bekend is, kan ook beter een vergelijking worden gemaakt hoe het risico van opportunistische ziekteverwekkers zich verhoudt tot fecale ziekteverwekkers in drinkwater. Daarom wordt voorgesteld om samen met het RIVM de volgende vraag te beantwoorden: *Aan welk infectiecriterium moeten opportunistische ziekteverwekkers in het Nederlandse drinkwater voldoen?* Vervolgens kan dan worden achterhaald hoe het risico van opportunistische en fecale ziekteverwekkers in drinkwater zich tot elkaar verhoudt door de volgende onderzoeksvraag te beantwoorden: *Wat is het verschil in infectierisico en DALY tussen fecale pathogenen en opportunistische pathogenen en hoe verhoudt het risico zich tot (i) het vastgestelde infectiecriterium voor opportunistische en fecale ziekteverwekkers, (ii) het in de Nederlandse wetgeving opgenomen 10^{-4} infectierisico en (iii) de door de WHO voorgestelde 10^{-6} DALY richtlijn?* Om deze onderzoeksvraag te kunnen beantwoorden is het belangrijk om met een bureaustudie te achterhalen of de gegevens die nodig zijn om het infectiecriterium, infectierisico en DALY van ieder van de geprioriteerde opportunistische ziekteverwekker ook voor handen is. Deze informatie wordt, indien beschikbaar, uit de literatuur gehaald of bij kennisexperts opgehaald middels interviews.

Naast de medische data die nodig zijn om het infectiecriterium, infectierisico en DALY te bepalen (bv dosisresponsrelatie, ziektelast), kunnen de gegevens ook worden gebruikt bij welke aantallen van fecale en opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater niet wordt voldaan aan de gestelde infectiecriteria. Door deze te

koppelen aan de aantallen opportunistische pathogenen die in drinkwater worden aangetroffen en de aantallen fecale ziekteverwekkers die volgens de kwantitatieve microbiële risicoassessment (quantitative microbial risk assessment, QMRA) in drinkwater voor kunnen komen kan een antwoord worden verkregen op de volgende onderzoeksvragen: *Bij welke aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater wordt niet voldaan aan het 10^{-4} infectierisico of 10^{-6} DALY-risico en hoe verhouden die aantallen zich tot wat is aangetroffen in drinkwater?* en *Hoe verhoudt het risico op infectie in de bevolking door opportunistische pathogenen via drinkwater zich tot die van fecale ziekteverwekkers via drinkwater?*

Het is bij deze vragen wel belangrijk om te realiseren dat het gedrag van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater anders is dan die van fecale ziekteverwekkers. Fecale ziekteverwekkers zijn namelijk niet in staat om zich in het drinkwatersysteem te vermeerderen, waardoor inactivatie en verwijdering van deze fecale ziekteverwekkers bij de verschillende zuiveringsprocessen de belangrijkste maatregelen zijn om het infectierisico onder de 10^{-4} te houden. Doordat opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich in het drinkwatersysteem te vermeerderen, speelt inactivatie en verwijdering bij deze organismen in de zuivering geen essentiële rol. Wanneer één micro-organisme door de zuivering weet te komen, kan deze zich namelijk in het distributiesysteem en /of drinkwaterinstallatie weer weten te vermeerderen tot hogere aantallen.

Het is ook belangrijk dat de begeleiding van een dergelijk project wordt uitgevoerd door een begeleidingsgroep waarin de drinkwaterbedrijven, het RIVM en KWR zijn vertegenwoordigd. Binnen het project kan dan in samenspraak met de begeleidingsgroep ook het punt ten aanzien van het pragmatisch vormgeven aan de levering van onberispelijk drinkwater, wat in paragraaf 3.2 is genoemd, worden meegenomen.

4.1.2 Nieuwe opportunistische pathogenen

Uit hoofdstuk 2 is gebleken dat in 2008 voor het laatst een inventarisatie is gemaakt van de wetenschappelijke literatuur ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater. Vervolgens is op basis van criteria die van belang zijn voor het Nederlandse drinkwater (bv aantal ziektegevallen in Nederland, epidemiologische link met drinkwater bewezen, eerder aangetroffen in Nederlands drinkwater) de opportunistische ziekteverwekkers geprioriteerd. De afgelopen twaalf jaar zijn relatief veel studies verschenen over opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater, omdat het onderwerp wereldwijd meer aandacht heeft gekregen dan voor 2008. Deze nieuwe informatie gaat voor een belangrijk deel over de opportunistische pathogenen die in het eerder BTO-onderzoek van 2008 al zijn geïdentificeerd. Het is niet ondenkbaar dat deze nieuwe informatie een invloed kan hebben op de prioritering die destijds van de opportunistische ziekteverwekkers werd gemaakt (zie Tabel 2.1). Het zou kunnen dat op basis van die nieuwe inzichten bepaalde organismen te hoog of te laag werden geprioriteerd. Tevens is het mogelijk dat nieuwe (stammen van) opportunistische ziekteverwekkers die zich in drinkwater kunnen vermeerderen zijn geïdentificeerd of dat drinkwater is geïdentificeerd als mogelijke nieuwe verspreidingsroute van bepaalde opportunistische pathogenen. Een voorbeeld van de eerste mogelijkheid is de ontwikkeling van antibioticaresistente stammen van *Acinetobacter baumannii*, waardoor infecties met dit organisme toenemen (Ramirez et al., 2020). Een voorbeeld van ziekteverwekkers waarvoor geldt dat drinkwater een mogelijke nieuwe infectieroute is, is de bacterie *Waddlia chondrophila* die ook in drinkwater kan voorkomen (van Dooremalen et al., 2020). Een realistische onderzoeksvraag is daarom: *Zijn er sinds 2008 nieuwe inzichten in de wetenschappelijke literatuur verschenen ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater?*

In de hierboven beschreven strategie worden op basis van literatuuronderzoek opportunistische pathogenen geprioriteerd, waarna specifieke detectiemethoden voor dergelijke organismen kunnen worden ontwikkeld, zodat drinkwater op de aanwezigheid van deze organismen kan worden gemonitord. Door het gebruik van nieuwe moleculaire detectiemethoden zou het echter ook mogelijk moeten zijn om een omgekeerde strategie te hanteren. Met een dergelijke methode wordt dan een direct brede screening uitgevoerd om de bacteriën in drinkwater tot soortniveau te identificeren. Door gebruik van databases kan vervolgens worden achterhaald of en welke opportunistische ziekteverwekkers aanwezig zijn in het drinkwatersysteem. Momenteel is next generation

sequencing (NGS) van een klein deel van het 16S rRNA gen van bacteriën een veel toegepaste methodiek om de samenstelling van de bacteriegemeenschap in drinkwater te achterhalen (zie bijvoorbeeld Roeselers et al., 2015). Met die methodiek is het niet mogelijk om bacteriën tot op soortniveau te karakteriseren. Recent zijn echter methodieken beschreven die het mogelijk maken om met NGS van het 16S rRNA gen bacteriën tot soortniveau te beschrijven (bv Karst et al., 2018). Met het toepassen van dergelijke methodieken wordt het mogelijk om het drinkwater direct te screenen op aanwezigheid van opportunistisch ziekteverwekkende bacteriën en zou daarmee de volgende onderzoeksvraag beantwoord kunnen worden: *Welke opportunistische pathogenen komen in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater voor wanneer met brede NGS-screening micro-organismen worden gekarakteriseerd en welke daarvan zijn het meest belangrijk?* Om deze vraag te beantwoorden is het wederom verstandig om te starten met een literatuurstudie om te achterhalen of studies zijn gepubliceerd die dit principe hebben toegepast, gevolgd door het toepassen van een dergelijke meetstrategie op verschillende drinkwatermonsters uit Nederland en Vlaanderen.

Wanneer uit de twee bovenstaande onderzoeksvragen als antwoord komt dat andere dan de nu geteste opportunistische ziekteverwekkers (*L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *A. fumigatus*, *M. avium*, *M. kansasii*, *Acanthamoeba* spp.) belangrijk lijken te zijn in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater, dan is het belangrijk om met specifieke kwantitatieve detectiemethoden (bv qPCR of kweek op een selectief medium) de volgende vervolgonderzoeksvraag te beantwoorden: *Hoe vaak en in welke aantallen komen de nieuw geprioriteerde ziekteverwekkers voor in het drinkwater van de bedrijven die deelnemen aan het BTO?* Wanneer de bemonsteringscampagne om die onderzoeksvraag te beantwoorden slim wordt opgezet, dan kan tevens een andere onderzoeksvraag worden beantwoord: *Welke grofmazige factoren (bv groeipotentie drinkwater, seizoen/temperatuur, afstand/verblijftijd tot pompstation, drinkwaterinstallatie versus distributiesysteem) beïnvloeden de aantallen van deze organismen?* Daarvoor is het nodig om gedurende een jaar monsters te nemen van het reinwater en drinkwater uit drinkwaterinstallaties, distributiesystemen op locaties met verschillende afstand en/of verblijftijd tot de productielocatie en bij productielocaties waar de groeipotentie van het drinkwater duidelijke verschil. Tevens dient onderzocht te worden voor de nieuw geprioriteerde opportunistische ziekteverwekker in hoeverre de drinkwaterstammen, die met een dergelijke monstercampagne worden verkregen, overeenkomen met patiëntstammen, zodat de onderzoeksvraag: *Zijn drinkwaterstammen van deze nieuw geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers genotypisch vergelijkbaar met patiëntstammen?*, wordt beantwoord. Met het antwoord op die onderzoeksvraag kan worden nagegaan of de drinkwaterstammen ook ziekte bij mensen kunnen veroorzaken. Daarvoor is het wel noodzakelijk dat ook de genotypen van voldoende patiëntstammen in een database beschikbaar zijn.

4.1.3 De rol van drinkwater ten opzichte van andere bronnen bij infecties met opportunistische pathogenen

De opportunistische ziekteverwekkers die via drinkwater infecties kunnen veroorzaken, kunnen zich ook vermeerderen in andere ecosystemen dan het drinkwaterecosysteem. Zo zijn voor *L. pneumophila* diverse andere bronnen gevonden als oorzaak van een infectie (bv koeltorenwater, afvalwater) (van Heijnsbergen et al., 2015). *P. aeruginosa* is naast drinkwater bijvoorbeeld ook aangetroffen in oppervlaktewater (Romling et al., 1994) en koeltorens (Pereira et al., 2018). Daarnaast is patiënt-tot-patiënt transmissie ook een oorzaak van *P. aeruginosa* infecties in ziekenhuizen (Johnson et al., 2009). *A. fumigatus* kan zich vermeerderen in drinkwater, maar sporen van het organisme komen ook algemeen voor in de lucht en kunnen dus ook via inademing van lucht infecties veroorzaken (O’Gorman, 2011). Het zou kunnen dat dergelijke andere bronnen een belangrijkere rol spelen in de verspreiding van deze opportunistische pathogenen dan drinkwater. Om meer inzicht te krijgen in welke bronnen een rol spelen in de verspreiding van geprioriteerde opportunistische pathogenen en hoe dat zich verhoudt tot drinkwater dient als eerste de volgende onderzoeksvraag beantwoord te worden: *Welke bronnen spelen een risico voor het veroorzaken van infecties door opportunistische pathogenen?* Daarnaast dient ook de onderzoeksvraag *“Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in andere bronnen dan drinkwater?”* te worden opgehelderd. Door middel van literatuuronderzoek en gesprekken met kennisexperts kan getracht worden deze informatie te

verkrijgen. Het is mogelijk dat nog niet voor alle geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers is onderzocht welke bronnen van belang zijn of in welke aantallen deze organismen in de verschillende bronnen (anders dan drinkwater) aanwezig zijn. Daarom wordt ook voorzien dat er monstercampagnes moeten worden uitgevoerd om deze onderzoeksvragen te beantwoorden, waarbij voor bepaalde bronnen mogelijk de toestemming van derden nodig is. Daarbij kan het beste worden gestart met qPCR-monitoring van monsters van dergelijke andere bronnen dan drinkwater, gevolgd door selectieve kweekprocedures om isolaten te krijgen uit de milieus waar met qPCR hoge aantallen zijn gevonden. Tot slot kan het genotype van deze isolaten worden bepaald en vergeleken met het genotype van patiëntstammen zodat duidelijk wordt of deze milieustammen ook ziekte kunnen veroorzaken in patiënten.

Wanneer de aantallen opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater en andere bronnen bekend zijn, kan met behulp van een (Q)MRA benadering een schatting worden gemaakt over het infectierisico en/of DALY van iedere bron voor een bepaalde geprioriteerde opportunistische ziekteverwekker. Dat maakt het mogelijk om de volgende vraag te beantwoorden: *Hoe verhoudt het infectierisico en/of DALY van drinkwater zich tot het infectierisico en/of DALY van een andere bron voor een bepaalde opportunistische pathogeen?* Het is echter onduidelijk of alle informatie beschikbaar is om een betrouwbare (Q)MRA uit te voeren voor de opportunistische pathogenen, wat nodig is om het infectierisico of DALY te schatten. Daarom zal in eerste instantie met een literatuurstudie worden achterhaald welke informatie beschikbaar is voor het uitvoeren van (Q)MRA voor de geprioriteerde opportunistische pathogenen en welke informatie nog ontbreekt. De resultaten van een dergelijke literatuurstudie kunnen vervolgens worden gebruikt om aanvullend onderzoek te definiëren dat nodig is om een betrouwbare (Q)MRA uit te kunnen voeren. Tot slot dient ook een antwoord gevonden te worden op de onderzoeksvraag: *Aan welk infectierisico/DALY mag het drinkwater voldoen ten opzichte van andere bronnen in relatie tot opportunistische pathogenen?* Voorgesteld wordt om in samenspraak met de overheid (in andere woorden het RIVM) een antwoord te vinden op deze onderzoeksvraag.

4.1.4 De rol van verschillende drinkwaterfuncties en apparaten op de drinkwaterinstallatie bij verspreiding van opportunistische pathogenen

Drinkwater wordt door consumenten gebruikt voor verschillende doeleinden. Zo wordt er onder andere mee gedoucht, wordt het gedronken, als lenzenvloeistof gebruikt, om de jacuzzi of zwembad mee te vullen, om de tuin mee te besproeien of in de thuissauna. De verwachting is dat de verschillende functies ook een verschillende invloed hebben op de mogelijke verspreiding van opportunistische ziekteverwekkers. Zo levert het drinken van drinkwater met *L. pneumophila* vrijwel geen gevaar voor het oplopen van de veteranenziekte in tegenstelling tot het douchen met drinkwater waarin *L. pneumophila* aanwezig is (NASEM, 2019). Consumenten plaatsen in toenemende mate apparaten op hun drinkwaterinstallatie waarvan de fabrikanten claimen dat die de drinkwaterkwaliteit verbeteren. Zo worden er bijvoorbeeld onthardingsapparaten en waterkoelers (die soms ook actieve-koolfilters bevatten) door sommige consumenten op de drinkwaterinstallatie aangesloten. Onderzoek heeft laten zien dat dergelijke systemen mogelijk tot vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers kan leiden wanneer ze worden gebruikt in installaties die worden gevoed met drinkwater waar een desinfectieresidu in aanwezig is (Chaidez & Gerba, 2004). Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt doordat de filters in dergelijke apparaten het desinfectieresidu verwijderd, waardoor groei van micro-organismen niet meer wordt geremd. In hoeverre deze apparaten ook tot verhoging leidt van bepaalde opportunistische ziekteverwekkers in drinkwaterinstallaties die worden gevoed met drinkwater zonder desinfectieresidu (zoals in Nederland) is onduidelijk. Deze aspecten roepen daarom de volgende onderzoeksvraag op: *Welke drinkwaterfuncties en apparaten geïnstalleerd op een drinkwaterinstallatie leiden tot een verhoogd risico op infectie met opportunistische pathogenen?* Binnen de BTO themagroep Klant loopt in 2021/2022 een project waarin onder andere wordt geïnventariseerd wat voor soort point-of-use en point-of-entry apparaten door consumenten worden gebruikt voor drinkwater. Point-of-use apparaten zijn apparaten (bv filters) die op een watertappunt zijn geplaatst, terwijl point-of-entry apparaten zijn die op de binnengaande waterleiding zijn geplaatst. Informatie uit dat project kan als startpunt dienen om te achterhalen voor welke apparaten het zinvol is om na te gaan of deze groei van opportunistische ziekteverwekkers

versterken. Vervolgens kan met een literatuuronderzoek worden achterhaald wat de kritische drinkwaterfuncties en apparaten zijn in relatie tot opportunistische ziekteverwekkers.

Om in een vervolg het risico van deze kritische functies en apparaten te kunnen duiden, dient ook een antwoord gevonden te worden op de volgende onderzoeksvraag: *Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater dat voor risicovolle functies wordt gebruikt en wat zijn de aantallen in het drinkwater na een apparaat dat is geïnstalleerd op de drinkwaterinstallatie?* Het is mogelijk dat deze informatie voor (sommige van) de geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers in de literatuur kan worden gevonden, maar waarschijnlijk zijn daarnaast monstercampagnes en/of aanvullende laboratoriumexperimenten nodig om deze informatie te achterhalen. De monstercampagne zal zich dan richten op het bemonsteren en analyseren van drinkwater op de plek waar het voor een bepaalde functie wordt gebruikt of na een geïnstalleerd apparaat. Daarbij kunnen bijvoorbeeld ook burgerwetenschappers (citizen scientists) worden ingeschakeld die hun apparaat bemonsteren. Indien dergelijke monstercampagnes te weinig informatie opleveren over aantallen van de geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers (go/no go), dan kunnen doseerexperimenten met opportunistische pathogenen aan drinkwater (voor bepaald gebruik of bepaald apparaat) op het laboratorium worden uitgevoerd.

Met de op deze manier verzamelde informatie kan vervolgens de vraag worden beantwoord: *In welke mate vergroten bepaalde drinkwaterfuncties en/of geïnstalleerde apparaten op de drinkwaterinstallatie het risico op infectie met opportunistische ziekteverwekkers?* Het onderzoek naar drinkwaterfuncties en apparaten die soms zijn aangesloten op drinkwaterinstallaties richt zich dus sterk op het drinkwater achter de watermeter, waar de verantwoordelijkheid van het Nederlandse drinkwaterbedrijf een grijs gebied is. De drinkwaterbedrijven benadrukken echter dat het belangrijk voor ze is om dergelijke informatie te hebben, want daarmee zijn ze in staat om hun consumenten gericht te adviseren over het gebruik van drinkwater bij bepaalde functies en over het installeren van bepaalde apparaten die claimen de drinkwaterkwaliteit te verbeteren.

Tot slot kan ook de gebouwfunctie een belangrijke rol spelen in het risico op verspreiding van opportunistische ziekteverwekkers door drinkwater. Doordat opportunistische pathogenen voornamelijk ziekte veroorzaken met mensen met een verzwakt immuunsysteem, is het risico op verspreiding van deze organismen groter in gebouwen waar veel mensen met een verzwakt immuunsysteem samenkomen, bijvoorbeeld een ziekenhuis, verpleeghuis en verzorgingshuis. Het is daarom belangrijk om vast te stellen welke gebouwtypen een verhoogd risico geven en wat de aantallen van de geprioriteerde opportunistische pathogenen in het drinkwater van dergelijke gebouwen is. Als uitgangspunt zouden hiervoor de definities van prioritaire en niet-prioritaire gebouwen in de legionellawetgeving kunnen worden gebruikt. Daarbij dient ook gerealiseerd te worden dat bepaalde voorzieningen in deze gebouwen (bijvoorbeeld hydroforen, warmwatersystemen) of plaatsing van het drinkwatersysteem (bijvoorbeeld aan zon- of schaduwkant van het gebouw) ook van invloed kunnen zijn op de opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem.

4.1.5 Onderzoeksvragen samengevat

De onderzoeksvragen die in bovenstaande paragrafen zijn beschreven staan hieronder per onderwerp opgesomd.

Risico opportunistische pathogenen afwegen tot risico fecale ziekteverwekkers in drinkwater

- Aan welk infectiecriterium moeten opportunistische ziekteverwekkers in het Nederlandse drinkwater voldoen?
- Wat is het verschil in infectierisico en disability adjusted life years (DALY) tussen fecale pathogenen en opportunistische pathogenen en hoe verhoudt het risico zich tot (i) het vastgestelde infectiecriterium voor opportunistische en fecale ziekteverwekkers, (ii) het in de Nederlandse wetgeving opgenomen 10^{-4} infectierisico en (iii) de door de WHO voorgestelde 10^{-6} DALY richtlijn?

- Bij welke aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater wordt niet voldaan aan het 10^{-4} infectierisico of 10^{-6} DALY-risico en hoe verhouden die aantallen zich tot wat is aangetroffen in drinkwater?

Hoe verhoudt het risico op infectie in de bevolking door opportunistische pathogenen via drinkwater zich tot die van fecale ziekteverwekkers via drinkwater?

Nieuwe pathogenen

- Zijn er sinds 2008 nieuwe inzichten in de wetenschappelijke literatuur verschenen ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater?
- Welke opportunistische pathogenen komen in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater voor wanneer met brede NGS-screening micro-organismen worden gekarakteriseerd en welke daarvan zijn het meest belangrijk?
- Hoe vaak en in welke aantallen komen de nieuw geprioriteerde ziekteverwekkers voor in het drinkwater van de bedrijven die deelnemen aan het BTO?
- Welke grofmazige factoren (bv. groeipotentie drinkwater, seizoen/temperatuur, afstand/verblijftijd tot pompstation, drinkwaterinstallatie versus distributiesysteem) beïnvloeden de aantallen van deze organismen?
- Zijn drinkwaterstammen van deze nieuw geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers genotypisch vergelijkbaar met patiëntstammen?

De rol van drinkwater ten opzichte van andere bronnen bij infecties met opportunistische pathogenen

- Welke bronnen spelen een risico in het veroorzaken van infecties door opportunistische pathogenen?
- Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in andere bronnen dan drinkwater?
- Hoe verhoudt het infectierisico en/of DALY van drinkwater zich tot het infectierisico en/of DALY van een andere bron voor een bepaalde opportunistische pathogeen?
- Aan welk infectierisico/DALY mag het drinkwater voldoen ten opzichte van andere bronnen in relatie tot opportunistische pathogenen?

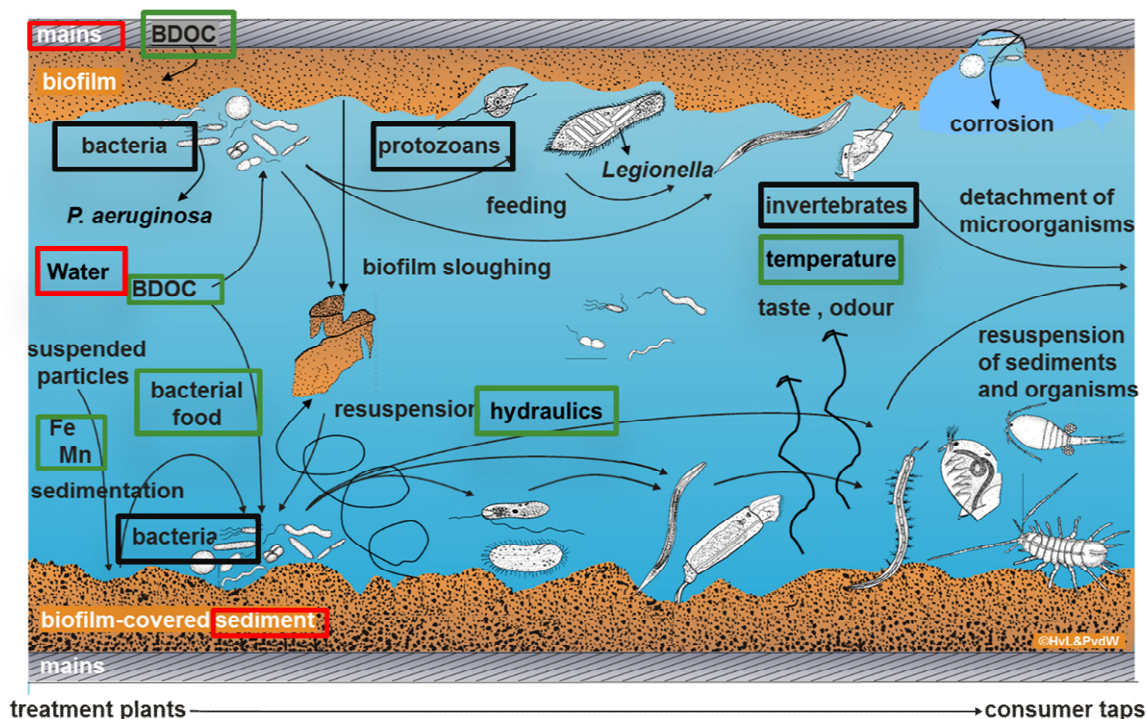
De rol van verschillende drinkwaterfuncties en apparaten op de drinkwaterinstallatie bij verspreiding van opportunistische pathogenen

- Welke drinkwaterfuncties en apparaten geïnstalleerd op een drinkwaterinstallatie leiden tot een verhoogd risico op infectie met opportunistische pathogenen?
- Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater dat voor risicovolle functies wordt gebruikt en wat zijn de aantallen in het drinkwater na een apparaat dat is geïnstalleerd op de drinkwaterinstallatie?
- In welke mate vergroten bepaalde drinkwaterfuncties en/of geïnstalleerde apparaten op de drinkwaterinstallatie het risico op infectie met opportunistische ziekteverwekkers?

4.2 Onderzoeksvragen Milieucondities die bepalend zijn voor groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem

De groei van opportunistische ziekteverwekkers in een drinkwatersysteem worden voor een groot deel bepaald door de condities en processen die kunnen optreden in een drinkwaterleiding. Deze condities en processen zijn weergegeven in Figuur 4.2. Daarbij zijn drie verschillende onderwerpen geïdentificeerd: niches, fysisch-chemische condities en interactie met andere (micro-)organismen. Drie verschillende hoofdniche's zijn geïdentificeerd in het drinkwatersysteem waar opportunistische ziekteverwekkers zich kunnen vermeerderen: het drinkwater, de leidingwand en het sediment. Daarnaast spelen verschillende fysisch-chemische condities, zoals biodegradeerbaar organisch koolstof (BDOC), andere nutriënten, temperatuur en hydraulica, waarschijnlijk een belangrijke rol in de vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers. Tot slot zullen ook de interacties met de (micro-)organismen die van nature voorkomen (bacteriën, protozoën en invertebraten) een rol spelen bij groei van

opportunistische ziekteverwekkers. Naast het ophelderen van de invloed van deze drie onderwerpen op groei van opportunistische pathogenen is het ook wenselijk om een goede indicator voor opportunistische ziekteverwekkers te vinden, dat is het vierde onderwerp binnen deze paragraaf. Hieronder worden deze vier onderwerpen afzonderlijk besproken.



Figuur 4.2 De condities en processen die in een drinkwaterleiding kunnen optreden. Rood omkaderd zijn de drie verschillende hoofdniches die voorkomen, groen omkaderd zijn enkele fysisch-chemische condities die van invloed kunnen zijn op groei van opportunistische ziekteverwekkers en zwart omkaderd zijn de (micro-)organismen die van nature kunnen voorkomen in een drinkwaterleiding.

4.2.1 Hoofdniches drinkwatersysteem

Het drinkwatersysteem bevat verschillende hoofdniches waar micro-organismen zich kunnen bevinden: drinkwater, biofilm op de leidingwand en biofilm op sediment. Eerder onderzoek heeft laten zien dat de bacteriële gemeenschappen in deze drie niches van elkaar verschillen (Liu et al., 2014; van der Wielen & Lut, 2016), wat aangeeft dat lokale condities in de verschillende hoofdniches bepalend zijn voor welke micro-organismen groeien. Eerder BTO-onderzoek heeft ook laten zien dat de meeste opportunistische ziekteverwekkers zich niet in drinkwater, maar wel in biofilm weten te vermeerderen (van der Wielen, 2014b). Het is echter nog onduidelijk in welke van deze drie hoofdniches de verschillende opportunistische ziekteverwekkers dominant zijn en zich voornamelijk weten te vermeerderen, terwijl dergelijke informatie belangrijk is om gericht onderzoek te kunnen definiëren naar de invloed van condities en processen op groei van opportunistische ziekteverwekkers. Het is daarom belangrijk om de volgende onderzoeksvraag te beantwoorden: *In welke niche(s) weten de opportunistische pathogenen zich voornamelijk te vermeerderen in het drinkwaterecosysteem?* Om deze onderzoeksvraag te beantwoorden wordt voorgesteld te starten met een literatuuronderzoek om te achterhalen of voor sommige opportunistische ziekteverwekkers al bekend is in welke niche ze domineren. De verwachting is dat die informatie voor de meeste geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers nog niet bekend is. Wanneer dit blijkt te

kloppen, dient een meetprogramma te worden uitgevoerd om deze onderzoeksvraag te beantwoorden. In een dergelijk meetprogramma wordt drinkwater, sediment (loose deposits en suspended solids) en biofilm op de leidingwand op groot aantal locaties in het distributiesysteem (en eventueel drinkwaterinstallatie) bemonsterd en geanalyseerd op de geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers middels qPCR, kweek en/of NGS op soortniveau. Mogelijk kunnen daarbij leidingnetmodellen worden gebruikt om op basis van bijvoorbeeld hydraulica en temperatuur gerichter locaties te selecteren in het voorzieningsgebied waar veel of weinig opportunistische ziekteverwekkers worden verwacht. De resultaten van een dergelijke studie kunnen vervolgens worden gebruikt om onderdelen 2 en 3 (invloed van fysisch-chemische condities en interacties met autochtone flora en fauna, paragraaf 4.2.2 en 4.2.3) gerichter in te vullen.

Naast het opsplitsen van een drinkwaterleiding in drie niches, kunnen drinkwatersystemen ook worden ingedeeld in twee verschillende hoofdvormen: het distributiesysteem en de drinkwaterinstallatie. Tussen deze twee hoofdvormen zijn veel verschillen die ook van invloed kunnen zijn op groei van opportunistische ziekteverwekkers. De belangrijkste verschillen zijn de diameter van de leidingen, die veel groter is in drinkwaterdistributiesystemen dan in drinkwaterinstallaties. Hierdoor is de oppervlakte/volumeverhouding van drinkwaterinstallaties veel groter dan van distributiesystemen, waardoor in drinkwaterinstallaties relatief meer oppervlakte voor biofilmvorming aanwezig is. Daarnaast vindt over het algemeen meer stilstand plaats in een drinkwaterinstallatie dan in een distributiesysteem en ligt de drinkwatertemperatuur in drinkwaterinstallaties vaak hoger dan in het distributiesysteem. Om te achterhalen waar het grootste risico is op vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers, is het wenselijk om een antwoord te vinden op de onderzoeksvraag: *Waar vindt de meeste groei van opportunistische ziekteverwekkers plaats, in het distributiesysteem of in de drinkwaterinstallatie?* Met het antwoord op die vraag wordt ook duidelijk waar beheersmaatregelen de meeste impact hebben op het verlagen van het risico van opportunistische pathogenen en kan ook gerichter onderzoek naar de ecologie van opportunistische ziekteverwekkers worden uitgevoerd. Eerder veldonderzoek heeft laten zien dat in de meeste gevallen opportunistische ziekteverwekkers in direct getapt water aan de kraan hoger zijn dan in het drinkwater bemonsterd na doorstroming van de drinkwaterinstallatie. Er zijn echter ook omgekeerde waarnemingen gedaan (van der Wielen, 2014a). Het aantal positieve monsters in die studie was daarnaast te laag om betrouwbare uitspraken te doen en er werd alleen drinkwater uit de koudwaterkeukenkraan bemonsterd, wat niet de meest risicovolle locatie voor vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers in een drinkwaterinstallatie hoeft te zijn. Met een uitgebreide meetcampagne (die eventueel gekoppeld kan zijn aan de meetcampagne die in bovenstaande alinea wordt besproken) kan duidelijkheid worden gekregen welk deel van de drinkwaterinstallatie het meest kritisch is. Het is daarbij wel noodzakelijk om de meest risicovolle locaties in het distributiesysteem (bv biofilm, sediment en water uit aansluitleidingen, ondiep gelegen leidingen, leidingen met weinig doorspoeling, hotspots ten aanzien van temperatuur, etc) en drinkwaterinstallaties (bv biofilm en water uit doucheslang en -kop, tuinslang, warmwaterdeel leiding, etc) te bemonsteren.

Eerder BTO-onderzoek heeft laten zien dat opportunistische ziekteverwekkers sporadisch voorkomen in het distributiesysteem (van der Wielen & van der Kooij, 2011; van der Wielen, 2014a), dus op de ene locatie van het distributiesysteem is het organisme wel aanwezig maar op een andere locatie in hetzelfde distributiesysteem niet. Daarnaast is waargenomen dat meestal maar één van de opportunistische ziekteverwekkers op een locatie in het distributiesysteem is verhoogd, terwijl op een andere locatie een andere opportunistische pathogeen is verhoogd. Het is onduidelijk waarom deze opportunistische pathogenen maar op enkele locaties in het distributiesysteem in verhoogde aantallen aanwezig zijn en waarom meestal maar één van de ziekteverwekkers is verhoogd. Een verdere identificatie en beschrijving van locaties met verhoogde aantallen opportunistische ziekteverwekkers kan helpen om te achterhalen wat de factoren zijn die een dergelijk lokale verhoging veroorzaken. De onderzoeksvraag die daar bij hoort is: *Waarom zijn bepaalde opportunistische pathogenen verhoogd aanwezig op bepaalde locaties in het distributiesysteem?* De resultaten van het hierboven beschreven onderzoek kan worden gebruikt om locaties met verhoogde aantallen te detecteren en voor die locaties kan dan aanvullende informatie worden verkregen. Voorbeelden hiervan zijn:

- Wat is de verblijftijd/afstand tot pompstation?
- Wat voor leidingmateriaal is gebruikt op die locatie en het gebied stroomopwaarts?
- Bevinden zich obstakels die de hydraulica op die locatie beïnvloeden?
- Is de temperatuur verhoogd op die locatie?
- Bevindt zich relatief veel biofilm op de leidingwand of sediment in de leiding op die locatie?
- Wat is de biologische stabiliteit van het drinkwater op deze locatie?
- Wat is de oppervlakte/volume-verhouding van de leiding?
- Wat is de hydraulica (bv stroomsnelheid, patroon stromingssnelheden, schuifspanning) in de leiding?
- Wat is de samenstelling van de autochtone microflora?
- Zijn er eventuele verstoringen geweest?

Door dergelijke informatie voor meerdere locaties met verhoogde aantallen opportunistische pathogenen te verzamelen, wordt hopelijk duidelijk welke factoren een rol spelen bij deze verhoogde aantallen van opportunistische ziekteverwekkers op sommige locaties in het distributiesysteem.

Een ander aspect ten aanzien van niches in drinkwatersystemen zijn tot slot eventuele apparaten die op de drinkwaterinstallaties zijn aangesloten, zoals bijvoorbeeld waterontharders, waterfilters of koudwatersystemen. Eerder onderzoek naar sommige van deze apparaten heeft laten zien dat deze apparaten de microbiologische waterkwaliteit negatief kunnen beïnvloeden (Chaidez & Gerba, 2004). In die studie werd dat voornamelijk veroorzaakt doordat waterfilters het chloorresidu wegvangen, waardoor groei van micro-organismen niet langer onderdrukt wordt direct na een dergelijke installatie. Onduidelijk is echter de invloed van die apparaten op de kwaliteit van het Nederlandse drinkwater (zonder chloorresidu). De drinkwaterbedrijven kunnen informatie hierover gebruiken om hun klanten te adviseren over het gebruik van dergelijke apparaten op de drinkwaterinstallatie. Gestart kan worden met literatuuronderzoek om de bijbehorende onderzoeksvraag *‘Hoe beïnvloeden geïnstalleerde apparaten in een drinkwaterinstallatie de vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers?’* te beantwoorden. Indien onvoldoende kennis aanwezig is, dan kan de rol van dergelijke apparaten bijvoorbeeld op twee verschillende manieren worden onderzocht. De eerste optie is om een burgerwetenschappersproject te starten met geïnteresseerde drinkwaterconsumenten die een apparaat hebben geïnstalleerd op hun drinkwaterinstallatie en die monsters willen nemen gevolgd door analyses die worden uitgevoerd door deze burgerwetenschappers en/of KWR. Bij een dergelijk onderzoek is ook een controlegroep van burgerwetenschappers nodig die geen apparaten op hun drinkwaterinstallatie hebben staan. Het is met een dergelijke opzet echter niet mogelijk om opportunistische ziekteverwekkers te doseren, waardoor het succes van het project afhankelijk is van de opportunistische pathogenen die van nature vóórkomen in het drinkwatersysteem. De andere optie is om laboratoriumonderzoek uit te voeren waarbij de apparaten op het drinkwaterinstallatie van het laboratorium worden aangesloten, opportunistische ziekteverwekkers te doseren en te bepalen of deze organismen in staat zijn zich te vermeerderen. Overigens kan een dergelijk onderzoek ook de vraag beantwoorden ten aanzien van het risico van dergelijke apparaten op verspreiding van opportunistische pathogenen, zoals beschreven in paragraaf 4.1.4.

4.2.2 Fysisch-chemische condities

De geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers groeien chemo-organoheterotroof, dat betekent dat een organische koolstofbron wordt gebruikt als energie- en koolstofbron. Doordat de meeste micro-organismen in het distributiesysteem chemo-organoheterotroof zijn, moeten opportunistische ziekteverwekkers met niet-ziekteverwekkende autochtone micro-organismen concurreren om organisch koolstofverbindingen. De affiniteit die een micro-organisme heeft voor een organisch koolstofsubstraat bepaald in belangrijke mate of het organisme kan concurreren in een oligotroof milieu zoals het drinkwatersysteem. Om de onderzoeksvraag *‘Welke nutriënten en nutriëntenconcentraties bevorderen de groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwaterecosysteem?’* te beantwoorden, is het daarom van belang de groeikinetiek in water en biofilm, inclusief de affiniteitsconstante, van opportunistische ziekteverwekkers voor verschillende organische koolstofverbindingen te bepalen en te

vergelijken met de groeikinetiek van micro-organismen die van nature vóórkomen in het drinkwatersysteem en die in het verleden al zijn bepaald. Naast organisch koolstof zou ook fosfor limiterend kunnen zijn in het drinkwatersysteem, waardoor ook fosfaat of organisch fosfaat onderzocht zou moeten worden op de groeikinetiek. Het is aanbevelingswaardig om een dergelijk onderzoek te starten met een literatuuronderzoek naar (i) de vastgestelde groeikinetiek van opportunistische ziekteverwekkers voor organische koolstofverbindingen, fosfaat en organisch fosfaat, (ii) koolstofbronnen die door opportunistische ziekteverwekkers kunnen worden omgezet en (iii) geschikte fosforbronnen voor opportunistische ziekteverwekkers. Wanneer uit een dergelijk literatuuronderzoek blijkt dat onvoldoende informatie beschikbaar is (go/no go), dan dient aanvullend laboratoriumonderzoek uitgevoerd te worden. In een dergelijk laboratoriumonderzoek worden batchexperimenten voorzien om de K_s -waarden (affiniteitsconstante) en $\mu_{\max}$ (maximale groeisnelheid) te achterhalen op een aantal geprioriteerde koolstof- en fosforbronnen. Tevens worden experimenten voorzien met biofilmmonitoren die worden gevoed met drinkwater waaraan substraten met wisselende concentraties en opportunistische ziekteverwekkers worden toegevoegd. Indien nodig zouden ook experimenten met de boilerbiofilmmonitor (BBM) kunnen worden uitgevoerd op locaties waar opportunistische pathogenen regelmatig zijn vastgesteld en die variëren in biologische stabiliteit.

Naast nutriënten spelen ook andere fysisch-chemische condities een belangrijke rol in de vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem. De twee belangrijkste daarbij zijn waarschijnlijk de temperatuur van het drinkwatersysteem en de hydraulica in het drinkwatersysteem. Dat leidt tot de volgende twee onderzoeksvragen: *Wat is de invloed van temperatuur op groei van opportunistische ziekteverwekkers onder normale condities in het distributiesysteem en de drinkwaterinstallatie?* en *Wat is de invloed van hydraulica op groei van opportunistische ziekteverwekkers onder normale condities in het distributiesysteem en de drinkwaterinstallatie?* De invloed van een constante drinkwatertemperatuur, variërend tussen 15 en 30°C, op groei van opportunistische ziekteverwekkers onder semi-stagnante condities is binnen het BTO onderzocht (van der Wielen, 2020). De condities in het distributiesysteem zijn echter vaak anders dan de worstcasesituatie van een constante temperatuur en wekelijkse waterversing. Zo is normaliter de hydraulica dynamischer dan eens per week het vervangen van drinkwater, is de temperatuur niet constant maar varieert die over de dag en over de seizoenen en treden ook temperaturen op van lager dan 15°C (voornamelijk distributiesysteem) en hoger dan 30°C (alleen in drinkwaterinstallatie). Het is zinvol om de invloed van temperatuur op vermeerdering van opportunistische pathogenen ook onder die condities te bepalen. Daarvoor kan gestart worden met een literatuuronderzoek naar de laatste kennis van de invloed van temperatuur op groei van de geprioriteerde opportunistische pathogenen in het drinkwatersysteem. Tevens worden veld- en laboratoriumstudies voorzien. In de veldstudie kunnen locaties in het distributiesysteem en drinkwaterinstallaties worden geïdentificeerd waar de temperatuur hoger is dan gemiddeld (zogenaaide hotspots). Op deze locaties kunnen biofilm, drinkwater en sediment worden bemonsterd (mogelijke koppeling met de veldstudies die in paragraaf 4.2.1 zijn beschreven) en geanalyseerd op de aanwezigheid van opportunistische ziekteverwekkers. Wanneer de aantallen opportunistische ziekteverwekkers worden vergeleken met de aantallen die zijn aangetroffen op 'normale' locaties (gemiddelde temperatuur) kan worden achterhaald wat de invloed van de temperatuur is op groei van opportunistische ziekteverwekkers onder praktijkcondities. In een laboratoriumstudie kan de invloed van temperatuur op groei van opportunistische ziekteverwekkers worden onderzocht in een biofilm onder dynamische condities (bijvoorbeeld met behulp van een biofilmmonitor). Het is daarvoor wel nodig om een biofilmmonitor te hebben waarin gedoseerde opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn de biofilm te koloniseren. Door vervolgens zowel een constante als variabele temperatuurpatronen te testen op groei van geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers in een dergelijk dynamisch systeem, kan beter worden achterhaald wat de invloed van temperatuur is op groei van deze organismen onder condities zoals die optreden in de praktijksituatie.

Onderzoek naar *L. pneumophila* heeft laten zien dat de hydraulica in het drinkwatersysteem van invloed kan zijn op de groei van *Legionella* in een drinkwaterbiofilm (NASEM, 2019). Daarbij is bijvoorbeeld waargenomen dat stagnatie van water de groei van *L. pneumophila* in het watersysteem kan bevorderen. De invloed van hydraulica op

de groei van andere opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem is onduidelijk, hoewel in BTO aanwijzingen zijn verkregen dat deze organismen beter groeien onder (semi-)stagnante condities dan onder een continue stroomsnelheid van 0,2 m/s (van der Wielen, 2014b; 2020). Wanneer de precieze invloed van hydraulica op groei van opportunistische ziekteverwekkers duidelijk is, kunnen er mogelijk beheersmaatregelen worden voorgesteld die voorkómen dat onwenselijke hydraulica optreedt in het watersysteem. Tevens kunnen de resultaten worden gebruikt om gericht te zoeken naar locaties in het drinkwatersysteem waar verhoogde aantallen opportunistische pathogenen (hotspots) aanwezig zijn, om deze locaties vervolgens aan te pakken, zodat groei van deze ziekteverwekkers voorkómen kan worden. Onderzoek naar de invloed van hydraulica op de groei van geprioriteerde opportunistische pathogenen kan worden gestart met een literatuuronderzoek om te achterhalen wat bekend is over de relatie tussen hydraulica in een drinkwatersysteem en opportunistische pathogenen. Tevens kan het onderzoek beschreven in paragraaf 4.2.1 (met name de veldstudies) informatie hierover hebben opgeleverd. Daarnaast kan onderzoek met het KWR in vitro distributiesysteem (KIVODIS) en de boilerbiofilmmonitor (BBM) de invloed van stilstand versus verschillende stroomsnelheden op groei van opportunistische pathogenen in een distributiesysteem en drinkwaterinstallatie ophelderen. Deze twee systemen kunnen ook worden gebruikt om te achterhalen wat de invloed is van (i) tappatronen van bepaalde wijken op groei van opportunistische ziekteverwekkers in het distributiesysteem (KIVODIS) en (ii) tappatronen van drinkwaterinstallaties op groei van opportunistische pathogenen in de drinkwaterinstallatie (BBM). Naast de stroomsnelheid heeft overigens ook de oppervlakte-volumeverhouding een invloed op de hydraulica. Deze oppervlakte-volumeverhouding is vanwege de kleine leidingdiameter in drinkwaterinstallaties veel groter dan voor het distributiesysteem. Het is daarom belangrijk om ook dit aspect mee te nemen in het uit te voeren onderzoek.

In deze paragraaf worden experimenten besproken waarbij gebruik wordt gemaakt van biofilmmonitoren. Deze biofilmmonitoren bootsen de vorming van biofilm op de leidingwand na, waardoor dergelijke experimenten voorspellend zijn voor hoe micro-organismen zich gedragen in de biofilm op de wand van een drinkwaterleiding. Momenteel wijzen de meeste studies erop dat de geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers zich met name vermeerderen in de biofilm op de leidingwand (van der Wielen, 2014b; Falkinham et al., 2015). Onduidelijk is echter welke rol het sediment speelt en de biofilm die zich op sediment ontwikkelt bij de vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers. Mocht uit het onderzoek beschreven in paragraaf 4.2.1 blijken dat sediment een belangrijke rol speelt bij de vermeerdering van (bepaalde) opportunistische ziekteverwekkers, dan dienen de experimenten zoals beschreven in deze paragraaf uitgevoerd te worden met een laboratoriumopstelling waarin de rol van sediment (in plaats van de biofilm op de leidingwand) kan worden onderzocht.

4.2.3 Autochtone microflora

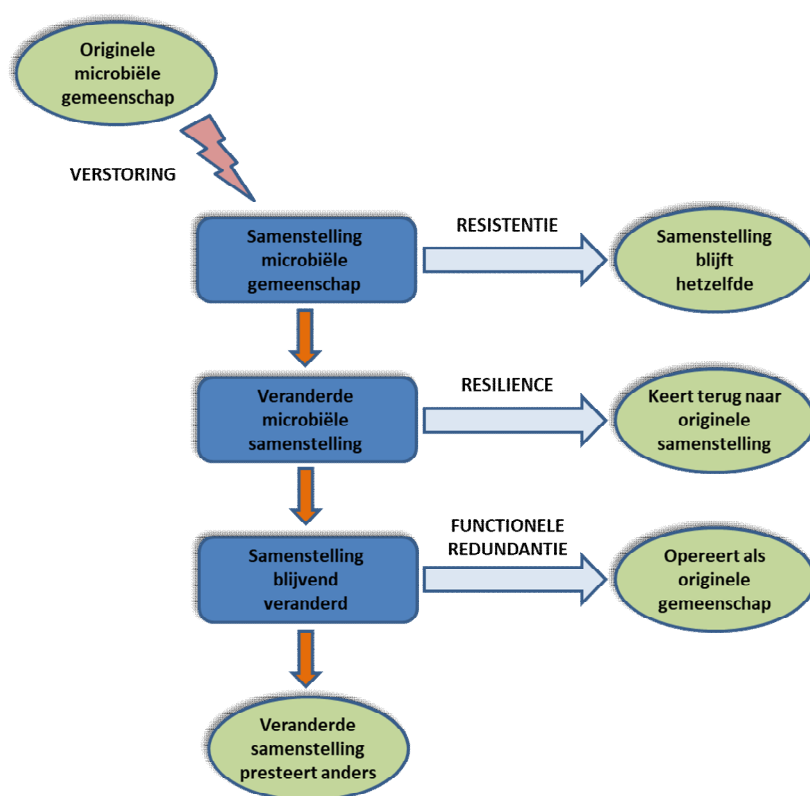
L. pneumophila vermeerdert zich in drinkwatersystemen alleen in gastheerprotozoa (NASEM, 2019). Voor veel van de geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers is ook aangetoond dat ze zich in bepaalde gastheerprotozoa kunnen vermeerderen (Cateau et al., 2014; Samba-Louaka et al., 2019). In tegenstelling tot *L. pneumophila* zijn deze organismen echter ook in staat zich zonder gastheerprotozoa in drinkwatersystemen te vermeerderen (Ashbolt, 2015). Het blijft echter onduidelijk welke rol gastheerprotozoa spelen bij vermeerdering van de geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem. Het kan voor deze ziekteverwekkers voordelig zijn om zich in gastheerprotozoa te vermeerderen, omdat ze dan niet met andere vrijlevende bacteriesoorten hoeven concurreren om nutriënten. Wanneer blijkt dat protozoa de belangrijkste route zijn voor vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers, dan spelen andere factoren (bijvoorbeeld biofilmconcentraties en/of -samenstelling) een belangrijke rol dan wanneer ze zich niet in protozoa vermeerderen (dan spelen bijvoorbeeld nutriëntenconcentratie en -samenstelling een directe rol). Daarom is het belangrijk om een antwoord te vinden op de volgende onderzoeksvraag: *Welke rol spelen gastheerprotozoa in de vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers?* De rol van protozoa bij vermeerdering van ziekteverwekkers in drinkwatersystemen krijgt de laatste jaren steeds meer aandacht, waardoor het verstandig is om eerst in de literatuur te achterhalen wat bekend is over de rol van deze protozoa bij groei van de geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem. Vervolgens kunnen in een laboratoriumomgeving

experimenten worden uitgevoerd waarbij leidingstukken in flessen worden gebracht. Vervolgens worden de flessen onderverdeeld in:

- Flessen waarin een autochtone microflora, inclusief protozoa, aanwezig is en (een) gedoseerde opportunistische ziekteverwekker(s)
- Flessen waarin een autochtone microflora aanwezig is zonder protozoa maar met (een) gedoseerde opportunistische ziekteverwekker(s)
- Flessen waarin een autochtone microflora aanwezig is met één gedoseerde gastheerprotozo (bv *V. vermiformis*) en (een) gedoseerde opportunistische ziekteverwekker(s)

Door in de tijd de groei van de opportunistische ziekteverwekker(s), protozoën, bacteriën en de bacterie- en protozoënsamenstelling te bepalen, kan de rol van protozoa in vermeerdering van geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers worden achterhaald.

In het verkennend onderzoek van het BTO is in 2019 een trendalert geschreven over resilience in de drinkwatermicrobiologie (van der Wielen, 2019). In Figuur 4.3 is het principe van resilience in de microbiële ecologie beschreven. Uit deze figuur blijkt dat na een verstoring in een ecosysteem de microflora op vier verschillende manieren kan reageren. De microbiële gemeenschap kan resistent tegen de verstoring zijn, waardoor de samenstelling niet verandert. De microbiële gemeenschap kan resiliënt zijn, wat betekent dat de samenstelling tijdelijk verandert maar uiteindelijk weer terugkeert naar de oorspronkelijke samenstelling. De microbiële gemeenschap kan functioneel redundant zijn, wat betekent dat de samenstelling van de gemeenschap blijvend is veranderd, maar dat de microbiologische processen die optreden hetzelfde zijn als voor de verstoring. Tot slot kan de microbiële gemeenschap door de verstoring blijvend zijn veranderd in zowel samenstelling als functie.



Figuur 4.3. Resistentie, resilience en functionele redundantie van de microbiële gemeenschap in een ecosysteem. Uit: Allison & Martiny, 2008.

De mate waarin een stabiel gevormde microbiële gemeenschap reageert op een verstoring zou van invloed kunnen zijn op groei van opportunistische pathogenen in een drinkwatersysteem. Het is aannemelijk dat opportunistische ziekteverwekkers een kans op kolonisatie en/of vermeerdering in het drinkwatersysteem krijgen wanneer de microflora niet resistent of resiliënt is bij bepaalde verstoringen. Het is echter onduidelijk of groei van opportunistische ziekteverwekkers optreedt na een verstoring en als het optreedt bij welke verstoringen dit gebeurt en bij welke verstoring de autochtone microflora resistent of resiliënt is. Het is daarom relevant om een antwoord te vinden op de volgende onderzoeksvraag: *Wat is de invloed van verstoringen en de rol van een resiliënt of resistente autochtone microflora op groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem?* De antwoorden op deze onderzoeksvraag maken het duidelijk of verstoringen in een drinkwatersysteem belangrijke momenten zijn voor vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers. Mocht dit zo zijn, dan kunnen tevens beheersmaatregelen worden bedacht om de meest kritische verstoringen te voorkómen. Het onderzoek naar de invloed van verstoring en resilience/resistentie van de autochtone microflora op groei van opportunistische ziekteverwekkers zou kunnen starten met een bureaustudie om mogelijke verstoringen van het drinkwaterdistributiesysteem en drinkwaterinstallatie in kaart te brengen. In het laboratorium kan dan vervolgens worden onderzocht in hoeverre opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn om een stabiele drinkwaterbiofilm in een biofilmmonitor (dus zonder verstoring) of een stabiele microflora in associatie met sediment te koloniseren wanneer verschillende aantallen worden gedoseerd. Daarna kan worden bestudeerd of opportunistische pathogenen een drinkwaterbiofilm in een biofilmmonitor of de microflora in associatie met sediment kunnen koloniseren direct nadat een verstoring heeft plaatsgevonden die ook in een drinkwatersysteem kan optreden. Het is daarbij ook van belang om te achterhalen wat de invloed van de diversiteit en de samenstelling van de microbiële gemeenschap is op groei van opportunistische ziekteverwekkers, zowel onder 'normale' condities als na een verstoring. Naast de onderzoeksvraag ten aanzien van verstoring wordt dus ook een antwoord gezocht op de onderzoeksvraag: *Wat is de invloed van de diversiteit en/of samenstelling van de microbiële gemeenschap op kolonisatie van opportunistische pathogenen in het drinkwatersysteem?*

Naast het effect van verstoring op de autochtone microflora zou een verstoring ook effect kunnen hebben op het gedrag van bepaalde opportunistische ziekteverwekkers. Zo zijn recent aanwijzingen gevonden dat bijvoorbeeld *Aeromonas* of *P. aeruginosa* onder invloed van bepaalde milieucondities cellen vormt die gemakkelijker loslaten van de biofilm dan wanneer die milieucondities niet optreden (Talagrand-Reboul et al., 2017; Yan & Wu, 2019). Daarnaast is bijvoorbeeld ook waargenomen dat onder invloed van milieucondities *L. pneumophila* in verschillende celtypen aanwezig kan zijn (NASEM, 2019). Deze studies zijn echter wel veelal uitgevoerd onder ideale laboratoriumcondities, waardoor onduidelijk is of dergelijke fenomenen ook onder praktijkcondities in het watersysteem optreden. Dit roept de volgende onderzoeksvraag op: *Is er een invloed van milieucondities op het gedrag en/of celtypen van opportunistische pathogenen die zich vermeerderen in het drinkwatersysteem, en zo ja, wat is de invloed van deze milieucondities?* Om deze vraag te beantwoorden wordt voorgesteld om middels een literatuuronderzoek te achterhalen bij welke opportunistische pathogenen dit gedrag optreedt, welke milieucondities van invloed zijn op dit gedrag en of het ook optreedt in drinkwatersystemen. Op basis van de uitkomst van een dergelijk literatuuronderzoek kan dan worden besloten of vervolgonderzoek naar dit fenomeen zinvol is.

4.2.4 Monitoren van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater

Het laatste onderwerp binnen de een-na-hoogste geprioriteerde doelstelling heeft niet direct te maken met het beter begrijpen van groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersystemen, maar is gerelateerd aan hoe drinkwatersystemen zijn te monitoren om verhoogde groei van opportunistische ziekteverwekkers tijdig te signaleren. Bij voorkeur maakt monitoring het mogelijk om verhoogde groei van opportunistische ziekteverwekkers te signaleren voordat de aantallen of groei van opportunistische ziekteverwekkers risicovol is geworden, zodat tijdig kan worden ingegrepen. Het beantwoorden van de volgende onderzoeksvraag is daarom belangrijk: *Welke relatief eenvoudig te meten parameter(s) (is)(zijn) een signaal voor groei van opportunistische pathogenen in het*

drinkwatersysteem? Eerder BTO-onderzoek heeft laten zien dat de aanwezigheid en/of aantallen van de geprioriteerde opportunistische pathogenen in het Nederlandse drinkwater niet gerelateerd is aan de wettelijke parameters voor nagroei (KG22 en *Aeromonas*) of de biologische stabiliteit van het drinkwater (van der Wielen & van der Kooij, 2011). De meest betrouwbare manier om opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater te monitoren is om een methode toe te passen waarmee alle geprioriteerde opportunistische pathogenen worden gedetecteerd. Indien het mogelijk is om met behulp van next generation sequencing (NGS) van het 16S of 18S rRNA gen micro-organismen tot soortniveau te classificeren (zie paragraaf 4.1.1), dan zou die methode kunnen worden toegepast als een monitoringstool. Daarbij dient overigens wel opgemerkt te worden dat deze methodiek momenteel nog relatief arbeidsintensief is. Een andere mogelijkheid is om een multiplex qPCR-methode voor de geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers te ontwikkelen. Een multiplex qPCR-methode is een methode waarin met één qPCR reactie meerdere organismen kunnen worden gedetecteerd. Daarmee kunnen dan op een relatief eenvoudige en snelle manier de belangrijkste opportunistische ziekteverwekkers in een drinkwatermonster worden bepaald.

Een andere mogelijkheid is om gericht te zoeken naar één of meerdere (microbiologische en/of fysisch-chemische) parameters die als indicator kunnen worden gebruikt voor groei van opportunistische ziekteverwekkers in het distributiesysteem (analoog aan bijvoorbeeld het gebruik van *Escherichia coli* als indicator voor fecale verontreiniging van drinkwater). Om een dergelijke indicator te vinden, dient als eerste een uitgebreide meetcampagne uitgevoerd te worden om locaties te vinden waar opportunistische pathogenen voorkomen (een dergelijke meetcampagne wordt ook voorgesteld om andere onderzoeksvragen te beantwoorden, zie paragraaf 4.2.1). Naast het meten van opportunistische pathogenen worden op de bemonsterde locaties ook fysisch-chemische parameters (bijvoorbeeld temperatuur, TOC, troebelheid) en microbiologische parameters (bijvoorbeeld biomassa, samenstelling van bacterie-, archaea-, schimmel- en protozoagemeenschap) bepaald. Vervolgens wordt in de verkregen data gezocht of bepaalde fysisch-chemische en/of microbiologische parameter(s) een duidelijk verband hebben met het vóórkomen van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem. De meest veelbelovende parameters worden vervolgens gevalideerd voor hun functie als indicatorparameter door een tweede meetcampagne uit te voeren waarin de opportunistische ziekteverwekkers en deze meest veelbelovende indicatorparameters worden gemeten.

4.2.5 Waterkwaliteit

In de beschrijving van het onderzoek om de onderzoeksvragen in relatie tot de doelstelling om de groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem te begrijpen is ook veel onderzoek op laboratoriumschaal voorgesteld. Dit betekent dat een belangrijk deel van het voorgestelde onderzoek zal plaatsvinden op het laboratorium van KWR, wat de indruk kan wekken dat de invloed van de verschillende factoren op groei van opportunistische ziekteverwekkers wordt uitgevoerd op het drinkwater dat aan KWR wordt geleverd (drinkwater afkomstig van productielocatie Tull en 't Waal). Doordat de drinkwaterkwaliteit per productielocatie anders is en deze drinkwaterkwaliteit van invloed zal zijn op de uitkomst van het voorgestelde laboratoriumonderzoek, is het belangrijk om niet alleen het drinkwater van KWR te gebruiken in de voorgestelde onderzoeken. De resultaten van dergelijk onderzoek krijgen meer zeggingskracht wanneer de experimenten ook zijn uitgevoerd met drinkwatertypen die verschillen in de drinkwaterkwaliteit. Een optie daarbij is om de experimenten uit te voeren met drinkwater met een relatief hoge, gemiddelde en lage groeipotentie, waarbij ook onderscheid wordt gemaakt tussen drinkwater bereid uit grondwater en oppervlaktewater. Bij drinkwater dat wordt bereid uit oppervlaktewater speelt ook nog mee dat de waterkwaliteit varieert tussen de seizoenen, een aspect dat ook meegewogen zou moeten worden bij het plannen van zowel het laboratoriumonderzoek als de veldstudies.

4.2.6 Onderzoeksvragen samengevat

De onderzoeksvragen die in bovenstaande paragrafen zijn beschreven staan hieronder per onderwerp opgesomd.

Hoofdniches drinkwater

- In welke niche(s) (drinkwater, sediment, biofilm leidingwand) weten de opportunistische pathogenen zich voornamelijk te vermeerderen in het drinkwaterecosysteem?
- Waar vindt de meeste groei van opportunistische ziekteverwekkers plaats, in het distributiesysteem of in de drinkwaterinstallatie?
- Waarom zijn bepaalde opportunistische pathogenen verhoogd aanwezig op bepaalde locaties in het distributiesysteem?
- Hoe beïnvloeden geïnstalleerde apparaten in een drinkwaterinstallatie de vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers?

Fysisch-chemische condities

- Welke nutriënten en nutriëntenconcentraties bevorderen de groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwaterecosysteem?
- Wat is de invloed van temperatuur op groei van opportunistische ziekteverwekkers onder normale condities in het distributiesysteem en de drinkwaterinstallatie?
- Wat is de invloed van hydraulica op groei van opportunistische ziekteverwekkers onder normale condities in het distributiesysteem en de drinkwaterinstallatie?

Autochtone microflora

- Welke rol spelen gastheerprotozoa in de vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers?
- Wat is de invloed van verstoringen en de rol van een resiliënt of resistente autochtone microflora op groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwatersysteem?
- Wat is de invloed van de diversiteit en/of samenstelling van de microbiële gemeenschap op kolonisatie van opportunistische pathogenen in het drinkwatersysteem?
- Is er een invloed van milieucondities op het gedrag en/of celtypen van opportunistische pathogenen die zich vermeerderen in het drinkwatersysteem, en zo ja, wat is de invloed van deze milieucondities?

Monitoren van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater

- Welke relatief eenvoudig te meten parameter(s) (is)(zijn) een signaal voor groei van opportunistische pathogenen in het drinkwatersysteem?

5 Onderzoeksvisie – Projectvoorstel BTO 2021/2022

In september/oktober 2020 hebben de vertegenwoordigers van de BTO-drinkwaterbedrijven en KWR die in de projectgroep 'Opportunistische Pathogenen' en/of TG 'Biologische Veiligheid' een BTO-projectvoorstel geschreven voor onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in de periode 2021-2022 en dat gekoppeld is aan de doelstelling ten aanzien van het kaart brengen van het risico van opportunistische pathogenen in drinkwater. In het voorstel zijn de hoogst geprioriteerde onderzoeksvragen binnen deze doelstelling verder uitgewerkt. Dit voorstel is in november 2020 aangenomen door het CO. Hieronder is dit projectvoorstel weergegeven.

5.1 Projectomschrijving

Achterhaal of het risico van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater wel of niet acceptabel is, ook ten opzichte van andere bronnen en in relatie tot het risico van fecale ziekteverwekkers in drinkwater.

5.2 Belang en doel

In de afgelopen tien jaar is binnen het BTO onderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersystemen in Nederland. Het onderzoek is gestart met een literatuurstudie om te achterhalen welke opportunistische ziekteverwekkers, die zich in drinkwater kunnen vermeerderen, van belang zijn voor de Nederlandse drinkwatersector. Vervolgens zijn voor die micro-organismen detectiemethoden ontwikkeld en geïmplementeerd en zijn grote monstercampagnes in verschillende distributiesystemen uitgevoerd. Uit dat onderzoek werd duidelijk dat, naast *Legionella pneumophila* ook *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus* en *Stenotrophomonas maltophilia* in het Nederlandse drinkwater kunnen voorkomen. Aanvullend onderzoek heeft vervolgens laten zien dat drinkwaterstammen van *P. aeruginosa* en *A. fumigatus* genetisch overeenkomen met patiëntstammen, wat aantoont dat het vóórkomen van *P. aeruginosa* en *A. fumigatus* in drinkwater een potentieel gezondheidsrisico kan opleveren. In 2020 is met een projectbegeleidingsgroep en de themagroep Biologische Veiligheid nagegaan of en waar de onderzoeksbehoefte van de BTO-drinkwaterbedrijven ligt ten aanzien van onderzoek naar opportunistische pathogenen. De drinkwaterbedrijven hebben aangegeven dat onderzoek naar opportunistische pathogenen belangrijk is. De prioriteit ligt daarbij om te achterhalen wat het risico van opportunistische pathogenen in drinkwater is (i) in relatie tot de fecale ziekteverwekkers en (ii) in relatie tot andere bronnen dan drinkwater en of dit risico acceptabel is of niet. Op basis van die resultaten kunnen de BTO-drinkwaterbedrijven een goed onderbouwde keuze maken of aanvullend onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater nodig is (om bijvoorbeeld beter te begrijpen welke condities groei van deze organismen veroorzaken).

5.3 Opbrengsten en toepassing

Het onderzoeksproject resulteert in een vastgesteld criterium voor het infectierisico en/of 'disability-adjusted life year' (DALY) van opportunistische pathogenen in drinkwater. Dit risicocriterium zal in samenspraak met het RIVM en eventueel de Vlaamse Milieu Maatschappij (VMM) worden vastgesteld. Daarnaast wordt getracht om voor iedere opportunistische pathogeen, die van belang is voor het Nederlandse en Vlaamse drinkwater, het infectierisico en/of DALY vast te stellen op basis van wetenschappelijke literatuur of externe kennisexperts en dit risico te toetsen aan het eerder vastgestelde risicocriterium. Indien het risico voor een opportunistische pathogeen kan worden vastgesteld op deze manier, dan wordt dus duidelijk of het risico van de aanwezigheid van deze

opportunistische ziekteverwekker wel of niet acceptabel is, ook in relatie tot andere fecale ziekteverwekkers of tot andere bronnen dan drinkwater. Indien uit deze bureaustudie blijkt dat het risico voor bepaalde opportunistische pathogenen niet kan worden bepaald doordat kennis ontbreekt, dan wordt geïnventariseerd wat voor onderzoek nodig is om dit risico wel te kunnen bepalen. De opportunistische ziekteverwekkers die van belang zijn voor het Nederlandse en Vlaamse drinkwater worden vastgesteld aan de hand van eerder onderzoek, en indien nodig, uit een aanvullend literatuuronderzoek.

Opbrengsten

- Criteri(um)(a) waaraan het infectierisico en/of DALY van opportunistische pathogenen in drinkwater moet(en) voldoen;
- Inzicht of het risico van aanwezigheid van opportunistische pathogenen in drinkwater wel of niet voldoet aan (het) vastgestelde criteri(um)a;
- Vergelijking van het risico van opportunistische ziekteverwekkers met het risico van fecale pathogenen in drinkwater;
- Vergelijking van het risico van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater ten opzichte van andere bronnen dan drinkwater;
- Rapportage en opiniepaper.

Typering onderzoek:

Verkenkend onderzoek voor kennisontwikkeling e/o oriëntatie op relevante ontwikkelingen

5.4 Doelgroep

De doelgroep van de projectopbrengsten zijn de drinkwaterbedrijven en overheid. De gegevens kunnen door beide doelgroepen worden gebruikt om duidelijkheid te scheppen over waar het risico van opportunistische pathogenen in drinkwater aan moet voldoen. De informatie kan door de leden van de TG Biologische Veiligheid en het CO worden gebruikt om een gewogen beslissing te nemen of aanvullend onderzoek naar deze organismen in de toekomst nodig is.

5.5 Activiteiten

Binnen het in 2020 uitgevoerde BTO-project 'Opportunistische ziekteverwekkers onderzoeksvisie en –plan' zijn door de drinkwatersector doelstellingen geformuleerd en geprioriteerd voor onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater en zijn voor de hoogst geprioriteerde doelstelling onderzoeksvragen gedefinieerd en geprioriteerd. De activiteiten binnen dit project richten zich op het beantwoorden van de hoogst geprioriteerde onderzoeksvragen. In de bijlage van dit voorstel is voor de volledigheid het complete overzicht gegeven van alle onderzoeksvragen van de hoogst geprioriteerde hoofddoelstelling, omdat de verwachting is dat het antwoord op de geprioriteerde onderzoeksvragen als input dient voor het uitvoeren van de overige onderzoeksvragen in eventuele toekomstige projecten.

- 1 Onderzoeksvraag 1: Aan welk infectierisico en/of DALY mag het drinkwater voldoen in relatie tot opportunistische pathogenen?
 - 1.1 Bij voorkeur wordt het infectierisico en/of DALY voor opportunistische ziekteverwekkers opgesteld in samenwerking met de overheid. Daarom wordt getracht om een begeleidingscommissie op te richten met daarin vertegenwoordigers van de drinkwaterbedrijven, RIVM, VMM (eventueel) en KWR en die het gehele project begeleidt. Met de themagroep 'Biologische Veiligheid' worden duidelijke afspraken gemaakt over het mandaat van deze begeleidingscommissie.
 - 1.2 Een aantal bijeenkomsten zullen worden georganiseerd waarin de volgende aspecten aan bod komen:
 - Infectierisico versus DALY benadering om ziekterisico te beschrijven

- o Risico opportunistische versus fecale ziekteverwekkers drinkwater
 - o Risico drinkwater versus andere bronnen die opportunistische pathogenen kunnen bevatten en waar mensen aan worden blootgesteld (bv koeltorenwater, afvalwater, zwemwater).
 - o Criteri(um)(a) waaraan risico OPs via drinkwater moet voldoen
- 1.3 De resultaten worden middels korte rapportage teruggekoppeld met de themagroep.
- 2 Onderzoeksvraag 2: Wat is het infectierisico en/of DALY van opportunistische pathogenen die van belang zijn in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater en hoe verhoudt het risico zich tot (het)(de) criteri(um)(a) vastgesteld in onderzoeksactiviteit 1?
- 2.1 Met de begeleidingscommissie wordt vastgesteld welke opportunistische ziekteverwekkers van belang zijn in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater. Indien blijkt dat behoefte is om na te gaan of sinds 2008 (laatste keer dat literatuuronderzoek is uitgevoerd naar nieuwe opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater) nieuwe inzichten zijn verkregen ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater dan wordt hier een literatuuronderzoek naar uitgevoerd (**go/no go van activiteit 3**)
- 2.2 Informatie over het infectierisico en DALY van de onder 2.1 geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers wordt opgezocht in de (wetenschappelijke) literatuur en getoetst aan (het)(de) criteri(um)(a) die onder activiteit 1 (is)(zijn) opgesteld. Met deze aanpak wordt duidelijk in hoeverre het risico op verspreiding van opportunistische ziekteverwekkers wel of niet acceptabel is. Indien blijkt dat voor sommige organismen deze informatie niet in de literatuur aanwezig is, worden medische en epidemiologische experts, die onderzoek doen aan deze organismen, benaderd om te trachten deze informatie als nog te verkrijgen. Mocht blijken dat deze informatie niet aanwezig is, dan wordt aan de experts gevraagd om een schatting te geven van dosisresponsrelatie en/of DALY. Tevens wordt vastgelegd wat voor aanvullend onderzoek nodig is om het infectierisico en DALY te kunnen bepalen.
- 2.3 De verkregen informatie wordt vergeleken met het infectierisico en DALY voor de fecale indexpathogenen die in het Drinkwaterbesluit zijn opgenomen (*Campylobacter*, (Enterovirussen, *Giardia* en *Cryptosporidium*). Met deze informatie kan worden vastgesteld hoe het risico op verspreiding van opportunistische ziekteverwekkers via drinkwater zich verhoudt ten opzichte van fecale ziekteverwekkers.
- 3 Onderzoeksvraag 3: Zijn er sinds 2008 nieuwe inzichten in de wetenschappelijke literatuur verschenen ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater?
- 3.1 Er worden duidelijke criteria opgesteld voor zoekopdrachten ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersystemen en deze zoekopdrachten worden uitgevoerd binnen de Scopus zoekmachine voor wetenschappelijke literatuur. Deze zoekopdrachten richten zich op eventuele nieuwe opportunistische ziekteverwekkers die zich in drinkwater kunnen vermeerderen alsook op nieuwe inzichten ten aanzien van de opportunistische ziekteverwekkers die tijdens de literatuurstudie in 2008 naar voren zijn gekomen en beschreven in BTO rapport 'Literatuurstudie naar opportunistische ziekteverwekkende micro-organismen die zich in drinkwater kunnen vermeerderen', rapportnummer BTO(s) 2009.001;
- 3.2 Criteria worden tevens opgesteld om opportunistische ziekteverwekkers te prioriteren ten aanzien van het Nederlandse en Vlaamse drinkwater. De criteria die in het verleden zijn opgesteld (BTO(s) 2009.001) dienen daarbij als uitgangspunt;
- 3.3 De nieuwe literatuur wordt bestudeerd en gebruikt om de in 2008 opgestelde prioritering voor opportunistische pathogenen (BTO(s) 2009.001) te updaten;
- 3.4 De resultaten worden middels een korte rapportage teruggekoppeld met de themagroep.
- 4 Rapportage en eventueel opiniepaper
- 4.1 De resultaten worden middels een rapportage teruggekoppeld met de begeleidingscommissie en de themagroep. Tevens wordt nagegaan of de resultaten van alle drie de onderdelen zich lenen tot een opiniepaper in een internationaal wetenschappelijk tijdschrift.

Een geïdentificeerd risico om tot een succesvol projectresultaat te komen, is dat te weinig informatie voor (sommige) opportunistische ziekteverwekkers beschikbaar is om het risico te toetsen aan (het)(de) opgestelde criteri(um)(a) of te vergelijken met het risico van opportunistische pathogenen in andere bronnen dan drinkwater en met het risico van fecale ziekteverwekkers in drinkwater. In dat geval worden de kennishiaten geïdentificeerd die nog ingevuld moeten worden, voordat een betrouwbare risicobenadering kan worden uitgevoerd. Met de TG Biologische Veiligheid wordt dan de discussie gevoerd of toekomstig BTO-onderzoek wordt ingezet om die geïdentificeerde kennishiaten in te vullen, zodat het risico wel kan worden vastgesteld.

5.6 Dwarsverbanden met andere BTO-onderdelen

Niet van toepassing.

5.7 Relatie met andere onderzoeksprogramma's

Niet van toepassing.

5.8 Projectorganisatie

Paul van der Wielen is de projectleider van het uit te voeren project, terwijl een nog nader in te vullen onderzoeker naast Paul ook aan het project werkt namens KWR. De inhoudelijke kwaliteit van het project wordt geborgd door Gertjan Medema en het projectmanagement wordt uitgevoerd door Michiel Hootsmans. Daarnaast wordt ook een begeleidingscommissie opgericht waarin mensen uit de drinkwatersector (bij voorkeur enkele leden vanuit de TG Biologische Veiligheid), RIVM (bij voorkeur iemand belast met onderzoek naar opportunistische pathogenen in water en iemand belast met beleidszaken ten aanzien van drinkwater) en KWR zullen plaatsnemen.

Verantwoordelijk onderzoeker:	Paul van der Wielen (KWR, microbioloog)
Onderzoekers:	Nog nader in te vullen
Projectmanager:	Michiel Hootsmans (KWR, aquatisch ecooloog)
Kwaliteitsborger:	Gertjan Medema (KWR, microbioloog)
Projectbegeleiding:	Nog nader in te vullen na start project
Samenwerkingspartners:	RIVM

5.9 Planning en kosten

Onderdeel	Kosten (k€)			Planning											
	2021	2022		2021				2022							
				I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Activiteiten															
1	10	10		5		5		5	5						
2	25	8			9	8	8	8							
3	10	10					10	10							
4		15								7.5	7.5				
Overige kosten															
Projectmanagement	3.5	3.5													
Analyses/lab	0	0													
Uitbestede werk	0	0													
Directe kosten	2.5	2.5													
Onvoorzien	0	0													
Totaal	100														

Financiering

Opdrachtgever	Financiering (k€)		
	2021	2022	
BTO	51	49	
Samenwerkingspartner			
Subsidie			
Totaal	51	49	

6 Discussie

Het doel van dit project was om een onderzoeksvisie en -plan te schrijven ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater dat door alle BTO-participanten wordt ondersteund. Hiervoor is een aparte projectgroep opgericht waarin themagroepleden van negen van de elf BTO-drinkwaterbedrijven waren vertegenwoordigd. Deze projectgroep is drie keer bij elkaar geweest om de doelstellingen en onderzoeksvragen ten aanzien van onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater vorm te geven, zodat deze vervolgens aan de hele themagroep 'Biologische veiligheid' kon worden voorgelegd. Door binnen de themagroep de verschillende doelstellingen en onderzoeksvragen te prioriteren is het uiteindelijk gelukt om tot een onderzoeksvisie te komen dat door de themagroepleden van alle elf drinkwaterbedrijven wordt ondersteund. Dit eindresultaat laat zien dat een aanpak waarin voldoende ruimte is voor discussie en afstemming met de drinkwaterbedrijven over een gevoelig onderwerp succesvol kan zijn om tot gezamenlijke afstemming te komen op toekomstig onderzoeksactiviteiten binnen het BTO.

De uitwerking van de hoogst geprioriteerde doelstelling (*Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen*) richt zich dus volledig op het risico voor de volksgezondheid. Dat risico is uiteraard ook het belangrijkste aspect in relatie tot de mogelijke aanwezigheid van opportunistische pathogenen in het drinkwatersysteem. Naast het gezondheidsrisico kan het vóórkomen van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater echter ook het drinkwaterimago negatief beïnvloeden. Zo zou het kunnen zijn dat we als drinkwatersector, op basis van het onderzoek naar de hoogst geprioriteerde doelstelling, tot de conclusie komen dat het risico van opportunistische ziekteverwekkers door drinkwater verwaarloosbaar is. Desondanks is het toch mogelijk dat ergens in Nederland of Vlaanderen een kleine uitbraak van een opportunistische ziekteverwekker via drinkwater optreedt, wat tot veel negatieve media-aandacht kan resulteren en daardoor uiteindelijk leidt tot imagoschade van het Nederlandse of Vlaamse drinkwater. Tevens wordt de klant steeds mondiger en gemakkelijker in staat gesteld om zelf onderzoek uit te laten voeren naar de kwaliteit van zijn/haar drinkwater, bijvoorbeeld middels next generation sequencing dat door kleine commerciële bedrijven kan worden uitgevoerd. Dergelijke bedrijven zijn momenteel bijvoorbeeld al actief om de microbiota van de darmflora van particulieren te analyseren en de verwachting is dat deze bedrijven hun activiteiten zullen uitbreiden naar analyses van voeding en drinkwater, omdat die een directe invloed kunnen hebben op de gezondheid. Het aantreffen van DNA-sequenties van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater door dit soort bedrijven kan vervolgens ook leiden tot imagoschade. De projectgroep 'Opportunistische Pathogenen' en themagroep 'Biologische Veiligheid' hebben het aspect van imagoschade daarom ook besproken in de vergaderingen en zijn van mening dat dit risico een andere reden is om het onderzoek uit te voeren zoals is beschreven in deze onderzoeksvisie. De antwoorden die met het beschreven onderzoek worden gevonden, kunnen namelijk worden gebruikt om eventuele kritische vragen, die vanuit de pers of klanten over de drinkwaterkwaliteit in relatie tot opportunistische ziekteverwekkers worden gesteld, te beantwoorden en te duiden in relatie tot de volksgezondheid.

Het uiteindelijke resultaat van het project is een onderzoeksvisie waarin de doelstellingen van het onderzoek voor de langere termijn zijn geprioriteerd alsook de onderzoeksvragen voor de hoogst geprioriteerde doelstelling. Daarnaast zijn onderzoeksvragen geformuleerd om de tweede geprioriteerde doelstelling (*Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem?*) te halen. Die onderzoeksvragen zijn nog niet geprioriteerd. Hiervoor is gekozen, omdat vooralsnog de focus ligt op het behalen van de hoogst geprioriteerde doelstelling. Wanneer uit die doelstelling zou blijken dat het risico van opportunistische pathogenen in drinkwatersystemen verwaarloosbaar is, dan is verder onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers binnen het BTO niet nodig en hoeven de onderzoeksvragen ten aanzien van de tweede doelstelling niet beantwoord en geprioriteerd te worden. Wanneer echter blijkt dat dit risico ten aanzien

van opportunistische pathogenen in drinkwater niet verwaarloosbaar is, dan wordt voorgesteld om de onderzoeksvragen ten aanzien van de tweede doelstelling met de projectgroep en themagroep te prioriteren. Het voordeel is dat de onderzoeksvragen dan alvast zijn vastgelegd in het onderhavige rapport.

Om de geformuleerde doelstellingen te behalen is het ook nodig om het onderzoek te richten op het drinkwaterdistributiesysteem en de drinkwaterinstallatie. De verantwoordelijkheid van de drinkwaterbedrijven stopt echter voor een belangrijk deel bij de watermeter, wat mogelijk een rol speelt bij latere prioritering van de onderzoeksvragen in relatie tot het beschikbare budget. Daarom wordt voorgesteld om voor onderzoek dat gericht is op de tweede doelstelling en waarin de drinkwaterinstallatie een rol speelt ook cofinanciering te zoeken bij partijen die verantwoordelijk zijn voor de drinkwaterinstallaties (bijvoorbeeld de installatiebranche en/of de gebouwbeheerders).

Het eindresultaat van het project heeft geleid tot het opstellen van een groot aantal onderzoeksvragen, met als gevolg dat budget nodig is om al deze onderzoeksvragen te beantwoorden. Het is daarom van belang dat binnen het thematisch BTO-onderzoek van het thema Biologische Veiligheid structureel budget beschikbaar is om aan dit onderwerp te werken, totdat de geformuleerde doelstellingen zijn gehaald. Het totale benodigde budget is afhankelijk van de uitkomsten van het onderzoek. Zoals in bovenstaande alinea beschreven, bepalen de uitkomsten van het onderzoek naar de eerste doelstelling of onderzoek naar de tweede (en uiteindelijk ook de derde) geprioriteerde doelstelling nodig is en dat bepaald dus uiteindelijk ook hoeveel budget nodig is. Het is onduidelijk of binnen het thematisch BTO-onderzoek voldoende budget aanwezig zal zijn om de onderzoeksvragen op de korte tot middellange termijn te beantwoorden. Het zou kunnen dat desondanks de geformuleerde doelstellingen toch gehaald kunnen worden. Ten eerste is de verwachting dat tussentijds verkregen onderzoeksresultaten kunnen worden gebruikt om meer gericht vervolgonderzoek te definiëren. Hierdoor zal het waarschijnlijk niet nodig zijn om alle onderzoeksvragen te beantwoorden. Ten tweede is het ook mogelijk om het voorgestelde onderzoek via andere kanalen te financieren. Zo kunnen drinkwaterbedrijven die voorop willen lopen met dit onderwerp financiering beschikbaar stellen uit het BTO-bedrijfsonderzoek, DPWE en/of uit eigen middelen. Tevens is een deel van het voorgestelde onderzoek geschikt om als promotieonderzoek door een AIO te laten uitvoeren (via de link die Paul van der Wielen heeft met de Wageningen Universiteit). Dit zou separaat door de drinkwaterbedrijven gefinancierd kunnen worden of via één van de subsidieprogramma's van NWO.

7 Conclusies en aanbevelingen

7.1 Conclusies

De gekozen aanpak van het oprichten van een aparte projectgroep waarin een belangrijk deel van de drinkwaterbedrijven zijn vertegenwoordigd en voldoende ruimte en tijd te nemen voor discussie en afstemming over een gevoelig onderwerp als opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater, heeft geleid tot een door alle BTO-drinkwaterbedrijven gedragen onderzoeksvisie ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater.

Het onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwatersystemen moet zich richten op de volgende drie doelstellingen:

1. Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen;
2. Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem;
3. Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen in drinkwaterdistributiesysteem en/of drinkwaterinstallatie, waardoor het risico op verspreiding van opportunistische pathogenen via drinkwater wordt beheerst.

De eerste doelstelling heeft daarbij de hoogste prioriteit, gevolgd door doelstelling 2 en tot slot doelstelling 3.

Voor de hoogst geprioriteerde doelstelling zijn 16 onderzoeksvragen gedefinieerd die zijn verdeeld over de volgende vier onderwerpen:

1. Risico opportunistische ziekteverwekkers afwegen tot risico fecale ziekteverwekkers in drinkwater
2. Nieuwe opportunistische pathogenen
3. De rol van drinkwater ten opzichte van andere bronnen bij infecties met opportunistische pathogenen
4. De rol van verschillende drinkwaterfuncties en apparaten op de drinkwaterinstallatie bij verspreiding van opportunistische pathogenen

Deze 16 onderzoeksvragen zijn samengevat in paragraaf 4.1.5 en de volgende onderzoeksvragen zijn vervolgens het hoogst geprioriteerd:

- a. Aan welk infectiecriterium moeten opportunistische ziekteverwekkers in het Nederlandse drinkwater voldoen?
- b. Wat is het verschil in infectierisico en disability adjusted life years (DALY) tussen fecale pathogenen en opportunistische pathogenen en hoe verhoudt het risico zich tot (i) het vastgestelde infectiecriterium voor opportunistische en fecale ziekteverwekkers, (ii) het in de Nederlandse wetgeving opgenomen 10^{-4} infectierisico en (iii) de door de WHO voorgestelde 10^{-6} DALY richtlijn?
- c. Bij welke aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater wordt niet voldaan aan het 10^{-4} infectierisico of 10^{-6} DALY-risico en hoe verhouden die aantallen zich tot wat is aangetroffen in drinkwater?
- d. Hoe verhoudt het risico op infectie in de bevolking door opportunistische pathogenen via drinkwater zich tot die van fecale ziekteverwekkers via drinkwater?
- e. Zijn er sinds 2008 nieuwe inzichten in de wetenschappelijke literatuur verschenen ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater?

Deze vijf hoogst geprioriteerde onderzoeksvragen zijn uitgewerkt in een BTO-projectvoorstel dat in november 2020 door het CO wordt beoordeeld.

Voor de op een-na-hoogst geprioriteerde doelstelling zijn twaalf onderzoeksvragen gedefinieerd die zijn verdeeld over de volgende vier onderwerpen:

1. Hoofdniches drinkwater
2. Fysisch-chemische condities
3. Autochtone microflora
4. Monitoren van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater

Deze twaalf onderzoeksvragen zijn samengevat in paragraaf 4.2.6.

7.2 Aanbevelingen

Het is aanbevelingswaardig om deze onderzoeksvisie leidend te laten zijn voor het BTO-onderzoek naar opportunistische pathogenen in drinkwater. Daarbij wordt gestart met het uitvoeren van de eerste doelstelling: *achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen*. Indien uit de resultaten naar deze doelstelling blijkt dat het risico voor opportunistische pathogenen in drinkwater verwaarloosbaar is, dan wordt aanbevolen om geen verder onderzoek naar opportunistische pathogenen in het BTO uit te voeren. Mocht uit de resultaten blijken dat dit risico niet verwaarloosbaar is, dan wordt aanbevolen om de onderzoeksvragen die zijn opgesteld in relatie tot de tweede doelstelling te prioriteren en binnen het BTO uit te voeren.

Er wordt ook aanbevolen om structureel budget binnen het thema Biologische Veiligheid vrij te maken om het in dit rapport beschreven onderzoeksvisie en -plan uit te kunnen voeren totdat de geformuleerde doelstelling of doelstellingen zijn behaald. Daarnaast wordt ook aanbevolen om te zoeken naar andere kanalen om dit onderzoek te financieren. Dit kan bijvoorbeeld via BTO-bedrijfsonderzoek, DPWE, afzonderlijke drinkwaterbedrijven, NWO of door andere partijen die hierin ook een verantwoordelijkheid hebben (bijvoorbeeld de installatiebranche, gebouwbeheerders, de overheid).

8 Referenties

Allison, S. D.; Martiny, J. B. H., Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. Proceedings of the National Academy of Sciences 2008, 105 (Supplement 1), 11512.

Anonymous. 2011. Guidelines for Drinking-Water Quality. Fourth Edition. World Health Organization: Geneva, Switzerland.

Anonym. 2020. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung - TrinkwV). Bundesamt für Justiz, Deutschland.

Anonymous, 2016. Health Technical Memorandum 04-01: Safe water in health premises. Part C: *Pseudomonas aeruginosa* – advice for augmented care units. Department of Health, UK government.

Ashbolt, N. J., Environmental (Saprozoic) Pathogens of Engineered Water Systems: Understanding Their Ecology for Risk Assessment and Management. Pathogens 2015, 4 (2), 390-405.

Bédard, E.; Prévost, M.; Déziel, E., *Pseudomonas aeruginosa* in premise plumbing of large buildings. Microbiology Open 2016, DOI: 10.1002/mbo3.391, n/a-n/a.

Cassini, A.; Colzani, E.; Pini, A.; Mangen, M.-J. J.; Plass, D.; McDonald, S. A.; Maringhini, G.; van Lier, A.; Haagsma, J. A.; Havelaar, A. H.; Kramarz, P.; Kretzschmar, M. E.; consortium, o. b. o. t. B., Impact of infectious diseases on population health using incidence-based disability-adjusted life years (DALYs): results from the Burden of Communicable Diseases in Europe study, European Union and European Economic Area countries, 2009 to 2013. Eurosurveillance 2018, 23 (16), 17-00454.

Cateau, E.; Maisonneuve, E.; Peguilhan, S.; Quellard, N.; Hechard, Y.; Rodier, M.-H., *Stenotrophomonas maltophilia* and *Vermamoeba vermiformis* relationships: Bacterial multiplication and protection in amoebal-derived structures. Res Microbiol 2014, 165 (10), 847-851.

Chaidez, C.; Gerba, C. P., Comparison of the microbiologic quality of point-of-use (POU)-treated water and tap water. Int J Environ Health Res 2004, 14 (4), 253-260.

Falkinham, J. O.; Hilborn, E. D.; Arduino, M. J.; Pruden, A.; Edwards, M. A., Epidemiology and ecology of opportunistic premise plumbing pathogens: *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium avium*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Environ Health Perspect 2015, 123 (8), 749-758.

Johnson, J. K.; Smith, G.; Lee, M. S.; Venezia, R. A.; Stine, O. C.; Nataro, J. P.; Hsiao, W.; Harris, A. D., The role of patient-to-patient transmission in the acquisition of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* colonization in the intensive care unit. The Journal of infectious diseases 2009, 200 (6), 900-905.

Karst, S. M.; Dueholm, M. S.; McIlroy, S. J.; Kirkegaard, R. H.; Nielsen, P. H.; Albertsen, M., Retrieval of a million high-quality, full-length microbial 16S and 18S rRNA gene sequences without primer bias. Nat Biotechnol 2018, 36 (2), 190-195.

Liu, G.; Bakker, G. L.; Li, S.; Vreeburg, J. H.; Verberk, J. Q.; Medema, G. J.; Liu, W. T.; Van Dijk, J. C., Pyrosequencing reveals bacterial communities in unchlorinated drinking water distribution system: an integral study of bulk water, suspended solids, loose deposits, and pipe wall biofilm. Environ Sci Technol 2014, 48 (10), 5467-5476.

NASEM 2019, National Academies of Sciences, Engineering and Medicine. Management of *Legionella* in Water Systems. The National Academies Press: Washington, DC, US; p 304.

Nobel, P., F. Oosterholt, B. Wullings & D. van der Kooij. 2001. Projectplan *Legionella*. Contractonderzoek 2001. BTO 2001.116 (C). Kiwa Onderzoek en Advies, Nieuwegein, Nederland.

O’Gorman, C. M., Airborne *Aspergillus fumigatus* conidia: a risk factor for aspergillosis. Fungal Biology Reviews 2011, 25 (3), 151-157.

Pereira, R. P. A.; Peplies, J.; Mushi, D.; Brettar, I.; Höfle, M. G., Pseudomonas-Specific NGS Assay Provides Insight Into Abundance and Dynamics of Pseudomonas Species Including *P. aeruginosa* in a Cooling Tower. Frontiers in microbiology 2018, 9, 1958-1958.

Perrin, Y.; Bouchon, D.; Héchard, Y.; Moulin, L., Spatio-temporal survey of opportunistic premise plumbing pathogens in the Paris drinking water distribution system. Int J Hyg Environ Health 2019, 222 (4), 687-694.

Ramirez, M. S.; Bonomo, R. A.; Tolmasky, M. E., Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. Biomolecules 2020, 10 (5).

Roeselers, G.; Coolen, J.; van der Wielen, P. W.; Jaspers, M. C.; Atsma, A.; de Graaf, B.; Schuren, F., Microbial biogeography of drinking water: patterns in phylogenetic diversity across space and time. Environ Microbiol 2015, 17 (7), 2505-14.

Römling, U.; Wingender, J.; Müller, H.; Tümmler, B., A major *Pseudomonas aeruginosa* clone common to patients and aquatic habitats. Appl Environ Microbiol 1994, 60 (6), 1734.

Samba-Louaka, A.; Delafont, V.; Rodier, M.-H.; Cateau, E.; Héchard, Y., Free-living amoebae and squatters in the wild: ecological and molecular features. FEMS Microbiol Rev 2019, 43 (4), 415-434.

Talagrand-Reboul, E.; Jumas-Bilak, E.; Lamy, B., The Social Life of *Aeromonas* through Biofilm and Quorum Sensing Systems. Frontiers in microbiology 2017, 8, 37-37.

van der Kooij, D.; van Genderen, J.; Heringa, M. B.; Hogenboom, A.; de Hoogh, C.; Mons, M. N.; Puijker, L. M.; Slaats, N. P. G.; Vreeburg, J. H.; van Wezel, A. Drinkwaterkwaliteit Q21. Een horizon voor onderzoek en actie.; KWR Water Research Institute: Nieuwegein, The Netherlands, 2010.

van der Wielen, P.W.J.J. & D. van der Kooij. 2009. Literatuurstudie naar opportunistische ziekteverwekkende micro-organismen die zich in drinkwater kunnen vermeerderen. BTO(s) 2009.001. KWR Water Research Institute, Nieuwegein, Nederland.

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

van der Wielen, P.W.J.J. & D. van der Kooij. 2011. Opportunistisch ziekteverwekkende micro-organismen in drinkwater. BTO 2011.035. KWR Water Research Institute, Nieuwegein, Nederland.

van der Wielen, P.W.J.J. & Uytewaal-Aarts. 2013. Non-tuberculeuze mycobacteriën in drinkwater. BTO 2013.054. KWR Water Research Institute, Nieuwegein, Nederland.

van der Wielen, P.W.J.J. & D. van der Kooij. 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., L. Heijnen & D. van der Kooij. 2013. Pyrosequence analysis of the hsp65 genes of nontuberculous *Mycobacterium* communities in unchlorinated drinking water in the Netherlands. *Appl. Environ. Microbiol.* 79(19): 6160-6166.

van der Wielen, P.W.J.J. 2014a. Effect van waterkwaliteit, seizoen, drinkwaterinstallatie en verblijftijd/afstand op opportunistische pathogenen in drinkwater. BTO 2014.015. KWR Water Research Institute, Nieuwegein, Nederland.

van der Wielen, P.W.J.J. 2014b. Rol van drinkwater, biofilm en temperatuur op groei van opportunistische pathogenen. BTO 2014.217(s). KWR Water Research Institute, Nieuwegein, Nederland.

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

van der Wielen, P.W.J.J. & B.A. Wullings. 2019. Genotype analyses of *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Aspergillus fumigatus* isolates from drinking water reveal similar genotypes with patient strains. 20th International Symposium on Health Related Water Microbiology, Vienna, Austria.

van der Wielen, P.W.J.J. 2019. Het belang van resilience in de drinkwatermicrobiologie. BTO 2019.047. KWR Water Research Institute, Nieuwegein, Nederland.

van der Wielen, P.W.J.J. 2020. Invloed van temperatuur op groei van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater. BTO 2020.036. KWR Water Research Institute, Nieuwegein, Nederland.

van Dooremalen, W. T. M.; Learbuch, K. L. G.; Morré, S. A.; van der Wielen, P. W. J. J.; Ammerdorffer, A., Limited presence of *Waddlia chondrophila* in drinking water systems in the Netherlands. *New Microbes and New Infections* 2020, 34, 100635.

van Heijnsbergen, E.; Schalk, J. A. C.; Euser, S. M.; Brandsema, P. S.; den Boer, J. W.; de Roda Husman, A. M., Confirmed and potential sources of *Legionella* reviewed. *Environ Sci Technol* 2015, 49 (8), 4797-4815.

Wang, H.; Masters, S.; Falkinham, J. O., 3rd; Edwards, M. A.; Pruden, A., Distribution System Water Quality Affects Responses of Opportunistic Pathogen Gene Markers in Household Water Heaters. *Environ Sci Technol* 2015, 49 (14), 8416-8424.

Wullings, B.A. 2017. Genetische typering van drinkwaterstammen van opportunistische ziekteverwekkers. BTO 2017.065. KWR Water Research Institute, Nieuwegein, Nederland.

Yan, S.; Wu, G., Can Biofilm Be Reversed Through Quorum Sensing in *Pseudomonas aeruginosa*? *Frontiers in Microbiology* 2019, 10 (1582).

Bijlage 1 Memo vastgesteld in CO 2014

Bestemd voor: TG Biologische Activiteit
Betreft: Onderzoek naar opportunistische pathogenen in de themagroep
Biologische Activiteit
Van: Paul van der Wielen
Datum: 22 april 2014

Deze memo richt zich op de vraag hoe verder te gaan binnen de themagroep Biologische Activiteit met het onderzoek naar opportunistische pathogenen die zich in drinkwater kunnen vermeerderen. Er zijn twee redenen om de memo op te stellen: (i) de onderzoeksresultaten van sommige BTO-projecten aanleiding geven om het onderzoek naar opportunistische pathogenen te heroverwegen en (ii) Vitens heeft aangegeven dat zij sterk de indruk hebben dat in Nederland niemand ziek wordt van opportunistische pathogenen in drinkwater en dat het onderwerp daarmee onbelangrijk is voor de drinkwatersector. Deze memo is verdeeld in verschillende paragrafen, waarbij in de eerste paragraaf wordt beschreven waarom onderzoek naar opportunistische pathogenen in het BTO-onderzoek is opgenomen. In de daaropvolgende paragraaf wordt het onderzoek tot nu toe kort samengevat en in de laatste paragraaf wordt voorgesteld hoe het onderzoek naar dit onderwerp verder vorm kan worden gegeven binnen de themagroep Biologische Activiteit.

1. Waarom BTO-onderzoek naar opportunistische pathogenen?

Het onderzoek naar opportunistische pathogenen in het BTO loopt al sinds de start van het BTO in 2002. Destijds riep de uitbraak met *Legionella pneumophila* in Bovenkarspel in 1999 veel vragen op over de rol die drinkwater speelt bij de vermeerdering en verspreiding van *L. pneumophila*. De eerste jaren richtte het onderzoek zich daarom op *L. pneumophila*. Eind 2007 heeft de PBC Microbiologie en het CVO besloten om het onderzoek te verbreden naar andere opportunistische ziekteverwekkers die zich in drinkwater kunnen vermeerderen. De reden voor deze verbreding was dat er op de middellange termijn twee trends zijn die het vóórkomen van opportunistische ziekteverwekkers, die zich in drinkwater kunnen vermeerderen, kunnen beïnvloeden. Zo leidt klimaatverandering waarschijnlijk tot verhoging van de drinkwatertemperatuur en, omdat de meeste opportunistische ziekteverwekkers zijn geadapteerd aan hogere temperaturen, kan deze temperatuurverhoging mogelijk leiden tot het vaker vóórkomen van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater. Daarnaast neemt het aantal mensen dat gevoelig is voor infectie met opportunistische ziekteverwekkers (mensen met een verzwakt immuunsysteem) toe in onze maatschappij door vergrijzing en verbeterde gezondheidszorg. De laatste jaren is daar als trend bijgekomen dat ook in andere landen meer aandacht is gekomen voor opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater, waarbij het risico bestaat dat door overheidsinstanties in Nederland wordt aangenomen dat bevindingen in andere landen ook voor Nederland gelden.

Een aantal opportunistisch pathogenen is in staat zich te vermeerderen in het drinkwatersysteem. Dat kan in het drinkwaterdistributiesysteem, maar zeker ook in de drinkwaterinstallatie in gebouwen of andere systemen waarin drinkwater wordt gebruikt (koelinstallaties, vernevelaars, whirl pools, respiratoren etc.). Voor een effectieve beheersing van deze opportunistisch pathogenen is het voor de drinkwatersector van belang om te weten welke rol het drinkwaterdistributiesysteem en de drinkwaterkwaliteit heeft op blootstelling van de bevolking aan deze groep pathogenen. Deze twee aspecten liggen immers in het directe verantwoordelijkheidsgebied van de drinkwatersector. Ook van belang is de rol van de installaties die worden gevoed door drinkwater te kennen, om de gebruikers van het drinkwater te kunnen adviseren over de “do’s en don’ts” met drinkwater. Zodoende levert de drinkwatersector ook in hun adviserende rol naar de klanten een bijdrage aan de beheersing van het risico op blootstelling aan opportunistische ziekteverwekkers.

Het vóórkomen van opportunistische ziekteverwekkers (anders dan *L. pneumophila*) in drinkwater kan op drie manieren een bedreiging vormen voor het Nederlandse drinkwater:

a) *Volksgezondheid*

Bepaalde stammen van opportunistische ziekteverwekkers kunnen ziekte veroorzaken bij mensen met een verzwakt immuunsysteem. Omdat deze ziektes niet meldingsplichtig zijn in Nederland, is het niet mogelijk om in te schatten hoeveel mensen er per jaar ziek worden door de verschillende opportunistische ziekteverwekkers. Ook wordt er geen bronopsporing gedaan wanneer mensen met een verzwakt immuunsysteem een infectie met deze micro-organismen hebben opgelopen. Het is daardoor niet aan te geven wat voor rol drinkwater of drinkwaterinstallaties spelen als bron van infectie. In een enkel geval is er wel onderzoek gedaan in Nederland en/of andere landen naar bronnen van infectie en daaruit is gebleken dat in sommige gevallen (i) patiëntstammen van verschillende opportunistische ziekteverwekkers overeenkomen met drinkwaterstammen en (ii) het implementeren van end-of-point maatregelen op drinkwater (bv installatie van ultrafiltratie) verdere infectie voorkómt (van der Wielen & van der Kooij, 2009; van der Wielen et al., 2014; Verweij et al. 1998, persoonlijke communicatie prof. dr. Paul Verweij, UMC Radboud Nijmegen). Deze resultaten geven sterke aanwijzingen dat drinkwater dus een bron van infectie kan zijn. Ook het Center for Disease Control and Prevention (CDC) in de VS classificeert (naast *Legionella pneumophila*) non-tuberculeuze mycobacteriën en *Pseudomonas aeruginosa* als opportunistisch pathogenen die typisch vanuit drinkwater(installaties) afkomstig zijn.

b) *Imago/vertrouwen*

Het drinkwater in Nederland heeft een goed imago en het vertrouwen van de consument in het Nederlandse drinkwater (zonder desinfectieresidu) is groot. Het vóórkomen van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater kan hier echter een bedreiging voor zijn, zeker wanneer er een (kleine) uitbraak optreedt, die wordt uitvergroot door de landelijke pers.

c) *Wetgeving*

Wanneer opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater vóórkomen en deze leiden tot een (kleine) uitbraak bij patiënten, dan is het niet ondenkbaar dat, bij gebrek aan onderzoeksresultaten, de overheid wetgeving invoert om deze organismen te monitoren in drinkwater. In Nederland is dat in het verleden bijvoorbeeld gebeurd met wetgeving voor *Legionella* in reactie op de uitbraak van legionellose bij de floriade van Bovenkarspel. Doordat de Nederlandse drinkwatersector destijds onvoldoende kennis had over (i) het vóórkomen van ziekteverwekkende stammen van *L. pneumophila* in drinkwater, (ii) de rol die drinkwater speelt in de epidemiologie van *L. pneumophila* en (iii) de relatie tussen *L. non-pneumophila* en *L. pneumophila*, kon de drinkwatersector destijds niet hard maken dat de voorgestelde wetgeving ook zinvol was. Daarnaast laat een recent voorbeeld in Groot-Brittannië zien dat, door de druk vanuit de media, de tijd tussen een uitbraak van *P. aeruginosa* in drinkwater van een ziekenhuis en een overheidsadvies om water safety plans voor *P. aeruginosa* in drinkwater op te stellen (inclusief een monitoringsprogramma) ongeveer een jaar kan zijn (Anoniem, 2013). Het is niet ondenkbaar dat de Nederlandse politiek een vergelijkbare reactie laat zien, wanneer er een kleine uitbraak is waarbij een aantal patiënten sterven en de pers dit uitvergroot in de media.

De beste manier om als drinkwatersector een antwoord te hebben op deze eventuele potentiële bedreigingen op de korte tot middellange termijn, is om een antwoord te hebben over de rol van drinkwater bij infectie met deze opportunistische ziekteverwekkers, de mate waarin deze opportunistische ziekteverwekkers vóórkomen in drinkwater en welke maatregelen drinkwaterbedrijven hebben genomen om het eventuele risico te verlagen. Naar verwachting zorgt een dergelijke proactieve houding voor (i) inzicht in de mate waarin deze opportunistische

ziekteverwekkers een gevaar vormen voor de volksgezondheid, (ii) het handhaven van het goede imago van drinkwater door accuraat te kunnen reageren wanneer er negatieve verhalen in de pers verschijnen en (iii) het mogelijk voorkómen van eventuele onnodige wetgeving bij een kleine uitbraak. Het collectieve deel van het BTO-onderzoek richt zich onder andere op zaken die op de middellange termijn een bedreiging vormen voor de meeste Nederlandse drinkwaterbedrijven. In dat perspectief past het onderwerp 'opportunistische pathogenen' goed in het collectief BTO-onderzoek.

2. Resultaten onderzoek opportunistische pathogenen binnen BTO

Het onderzoek naar opportunistische pathogenen is in 2008 gestart met een literatuurstudie naar welke opportunistische ziekteverwekkers die zich in drinkwater kunnen vermeerderen van belang zijn voor de Nederlandse situatie. Er zijn namelijk een zeer groot aantal ziekteverwekkende micro-organismen die zich in drinkwater kunnen vermeerderen, maar het is niet zinvol om die organismen te bestuderen die in Nederland (vrijwel) geen rol spelen bij ziekte of die in het Nederlandse drinkwater niet lijken voor te komen. De resultaten van deze literatuurstudie hebben laten zien dat zes van de zestien (groepen van) opportunistische ziekteverwekkende micro-organismen die zich in drinkwater kunnen vermeerderen van belang kunnen zijn voor het Nederlandse drinkwater. Van deze zes (groepen van) organismen is bekend dat (i) ze ziektegevallen in Nederland veroorzaken, (ii) in Nederland of in andere Westerse landen drinkwaterstammen ook bij patiënten zijn aangetroffen en (iii) ze in het verleden in het Nederlandse drinkwater zijn aangetroffen (van der Wielen & van der Kooij, 2009; van der Wielen et al., 2014). Het verdere onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers binnen het BTO heeft zich dan ook alleen gericht op deze zes (groepen van) micro-organismen.

Eén van deze zes micro-organismen, *L. pneumophila*, is al uitgebreid onderzocht binnen het BTO en is daardoor niet meegenomen in verder onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers. Voor de overige vijf organismen zijn kwantitatieve detectiemethoden ontwikkeld, gebaseerd op specifieke detectie van een deel van het DNA van deze organismen, en vervolgens is onderzocht in hoeverre deze organismen in het Nederlandse drinkwater worden aangetroffen. De resultaten van dat onderzoek lieten zien dat *Acanthamoeba* en ziekteverwekkende non-tuberculeuze mycobacteriesoorten niet in het gedistribueerde drinkwater van verschillende pompstations zijn aangetroffen (van der Wielen & van der Kooij, 2011; van der Wielen & van der Kooij, 2013; van der Wielen et al., 2013; van der Wielen, 2014; van der Wielen et al., 2014) en verder onderzoek naar deze organismen in het BTO wordt daarom ook niet uitgevoerd. *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus* en *Stenotrophomonas maltophilia* worden wel sporadisch aangetroffen in het Nederlandse drinkwater (van der Wielen & van der Kooij, 2011; van der Wielen et al., 2013; van der Wielen, 2014; van der Wielen et al., 2014) en daarom is in 2011 aanvullend onderzoek in het BTO gestart om te achterhalen of leidingmateriaal, temperatuur, biofilm, biologische stabiliteit, afstand/verblijftijd tot pompstation en de drinkwaterinstallatie de groei van deze organismen beïnvloed.

Laboratoriumexperimenten hebben laten zien dat deze drie micro-organismen zich voornamelijk vermeerderen in de biofilm en niet of in mindere mate in het drinkwater (van der Wielen, ongepubliceerd). Ook het speerpuntonderzoek van Oasen heeft laten zien dat deze micro-organismen worden teruggevonden in de biofilm op de buiswand in het distributiesysteem van ps Kamerik (van der Wielen, 2013). Het lijkt er dus op dat de biofilm de voornaamste locatie is waar deze micro-organismen zich weten te vestigen, te vermeerderen en te handhaven. Zacht PVC en EPDM rubber bevorderen de groei van *P. aeruginosa* en *A. fumigatus* in de biofilm, terwijl PVC-C en PE-100 deze groei niet lijken te bevorderen (Bereschenko et al., 2012). Het effect van temperatuur is getracht te onderzoeken in biofilmmonitoren die werden doorstroomt met drinkwater van verschillende temperatuur, maar het lukte onvoldoende om de opportunistische ziekteverwekkende micro-organismen groeiende te krijgen in de biofilm van deze monitoren, waardoor het effect van temperatuur onvoldoende kon worden bestudeerd (van der Wielen, ongepubliceerd). Het drinkwater is ook aan de tap na doorstroming bemonsterd in de zomer en winter op verschillende locaties in het distributiesysteem van een aantal pompstations. Uit de resultaten van die studie blijkt dat sommige opportunistische ziekteverwekkers vaker in de zomer worden waargenomen dan in de winter (van der Wielen, 2014), maar omdat het aantal positieve monsters laag was, is het ook moeilijk om op basis van die

resultaten een definitieve conclusie over het effect van temperatuur te trekken. De biologische stabiliteit van het drinkwater af pompstation en de verblijftijd/afstand lijken geen duidelijke invloed te hebben op het aantal positieve monsters die zijn genomen aan de tap na doorstroming, maar ook hier geldt dat het aantal positieve monsters dusdanig laag was dat deze conclusies verder bevestigd moeten worden (van der Wielen, 2014). Daarnaast heeft het onderzoek in het distributiesysteem van Zs Kamerik laten zien dat deze drie micro-organismen wel algemeen worden aangetroffen in het distributiesysteem (van der Wielen, 2013). Drinkwater bemonsterd aan de tap lijkt dan ook niet een goede representatie te geven van de aantallen van deze micro-organismen in het distributiesysteem. Drinkwatermonsters die direct worden genomen aan de tap (zonder doorstroming) zijn vaker positief dan drinkwatermonsters die worden genomen na doorstroming, dus deze drie micro-organismen zijn in staat om zich ook te vermeerderen in de drinkwaterinstallatie (van der Wielen, 2014). Onduidelijk is echter in hoeverre deze micro-organismen initieel afkomstig waren van het aangeleverde drinkwater, ook omdat de mate van uitwisseling tussen bacteriën in de biofilm en de waterfase (nog) niet is onderzocht.

3. Voorstel tot verder onderzoek binnen de themagroep Biologische Activiteit

Het onderzoek naar opportunistische pathogenen in de periode 2008 t/m 2013 heeft laten zien dat een aantal opportunistische ziekteverwekkende micro-organismen sporadisch kunnen vóórkomen in het Nederlandse drinkwater bemonsterd aan de tap na doorstroming. Het collectief BTO-onderzoek heeft ook aangetoond dat de biologische stabiliteit van het drinkwater weinig of geen invloed heeft op het vóórkomen van deze micro-organismen in drinkwater bemonsterd aan de tap na doorstroming. Doordat het aantal positieve monsters voor de drie opportunistische ziekteverwekkers laag was in deze studie, blijft het lastig om definitieve conclusies te trekken op basis van de verkregen resultaten van de verschillende pompstations. Daarnaast heeft het speerpuntonderzoek van Oasen laten zien dat deze drie micro-organismen wel algemeen vóórkomen in de biofilm in het distributiesysteem van Zs Kamerik. Er is geen aanleiding om aan te nemen dat het distributiesysteem en zuiveringsstation van Kamerik dermate afwijkt van andere distributiesystemen en pompstations, dat deze waarneming uniek is voor Zs Kamerik. Met andere woorden, het is aannemelijk dat deze opportunistisch pathogenen ook in de biofilm van andere distributiesystemen in Nederland aanwezig zijn. Het is daarom dan ook waarschijnlijk dat het bemonsteren van drinkwater aan de tap een slechte indicatie is voor het vóórkomen van deze micro-organismen in het distributiesysteem. Het blijft in ieder geval onduidelijk of de waterkwaliteit af pompstation een invloed heeft op het aantal opportunistische pathogenen in het distributiesysteem. Het onderzoek in de periode 2008 t/m 2013 heeft nog niet geleid tot het identificeren van factoren in het distributiesysteem en/of waterkwaliteit die de groei van deze micro-organismen beïnvloeden, zodat het ook nog niet mogelijk is om eventuele beheersmaatregelen te definiëren. Er is dus aanvullend onderzoek nodig naar bijvoorbeeld het vóórkomen van deze micro-organismen in de biofilm in het distributiesysteem, naar de factoren die de groei van deze micro-organismen in de biofilm beïnvloeden en naar de mate van uitwisseling tussen biofilm en waterfase.

Voordat met dergelijk onderzoek wordt gestart binnen de themagroep Biologische Activiteit, is het van belang om duidelijker te krijgen in hoeverre het vóórkomen van deze micro-organismen in het gedistribueerde drinkwater een risico vormt voor de volksgezondheid. In 2014 is binnen de themagroep daarom een collectief BTO-project gestart om te achterhalen of de drinkwaterstammen van deze micro-organismen ook ziekte veroorzaken bij patiënten, door drinkwaterstammen te isoleren, met genotypische methoden te typeren en het genotype vervolgens te vergelijken met stammen die zijn geïsoleerd uit patiënten. Mocht uit dit onderzoek blijken dat de geïsoleerde drinkwaterstammen niet overeenkomen met patiëntstammen, dan kan worden gevraagd of aanvullend onderzoek naar het vóórkomen van deze micro-organismen in het distributiesysteem en factoren die de groei in het distributiesysteem beïnvloeden nog nodig is. Het lijkt dan in ieder geval wenselijk om te achterhalen wanneer patiëntstammen zich in drinkwater gaan vermeerderen, zoals ook in het BTO is gedaan met het onderzoek naar *Legionella*. De drinkwatersector kan dan immers laten zien dat geïsoleerde drinkwaterstammen die tot dan toe uit het distributiesysteem zijn geïsoleerd, ongevaarlijk zijn voor consumenten of bij welke omstandigheden deze

micro-organismen wel een risico vormen voor de volksgezondheid. Wanneer drinkwaterstammen ook zijn aangetroffen bij patiënten, is aanvullend onderzoek van belang.

Het voorstel voor verder onderzoek naar opportunistische pathogenen in drinkwater is om de aankomende twee jaren te achterhalen of drinkwaterstammen van *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *A. fumigatus* ook zijn aangetroffen bij patiënten (project is gestart in 2014). Wanneer met redelijke zekerheid kan worden gesteld dat drinkwaterstammen verschillen van patiëntstammen, dan wordt aanvullend onderzoek naar deze drie micro-organismen binnen de themagroep Biologische Activiteit ter discussie gesteld, waarbij wordt afgevraagd of het wenselijk is om te achterhalen wanneer patiëntstammen van deze opportunistische pathogenen zich in drinkwater kunnen gaan vermeerderen. Wanneer met redelijke zekerheid kan worden vastgesteld dat drinkwaterstammen van deze opportunistische pathogenen een risico vormen voor de volksgezondheid, dan wordt aanbevolen om aanvullend onderzoek binnen de themagroep uit te voeren. Dit aanvullend onderzoek richt zich op het vóórkomen van deze micro-organismen in de biofilm van het distributiesysteem, naar de factoren die de groei van deze micro-organismen in de biofilm beïnvloeden en naar de mate van uitwisseling tussen biofilm en waterfase.

4. Referenties

Anoniem. 2013. Water Systems: *Pseudomonas aeruginosa* – Advice for augmented care units. United Kingdom, Department of Health, Leeds, United Kingdom.

Bereschenko, L. & P.W.J.J. van der Wielen. 2013. Enhanced growth potential for opportunistic pathogens on plastic materials in contact with drinking water. Conference proceedings: Microbial Ecology & Water Engineering, 7-10 July 2013, Ann Arbor, Michigan, US.

van der Wielen, P.W.J.J. & D. van der Kooij. 2009. Literatuurstudie naar opportunistische ziekteverwekkende micro-organismen die zich in drinkwater kunnen vermeerderen. BTO(s) 2009.001, KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein.

van der Wielen, P.W.J.J. & D. van der Kooij. 2011. Opportunistisch ziekteverwekkende micro-organismen in drinkwater. BTO 2011.036, KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein.

van der Wielen, P.W.J.J. & D. van der Kooij. 2013. Nontuberculous mycobacteria, fungi, and opportunistic pathogens in unchlorinated drinking water in the Netherlands. Applied and Environmental Microbiology 79(19), 6160-6166.

van der Wielen, P.W.J.J., L. Heijnen & D. van der Kooij. 2013. Pyrosequence analysis of the hsp65 genes of nontuberculous *Mycobacterium* communities in unchlorinated drinking water in the Netherlands. Applied and Environmental Microbiology 79(3), 825-834.

van der Wielen, P.W.J.J. 2013. Micro-organismen in sedimentfracties en op de buiswand in het voorzieningsgebied van Zs Kamerik. KWR 2013.019, KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein.

van der Wielen, P.W.J.J. 2014. Effect van waterkwaliteit, seizoen, drinkwaterinstallatie en verblijftijd/afstand op opportunistische pathogenen in drinkwater. BTO 2014.???, in preparatie, KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein.

van der Wielen, P.W.J.J., R. Italiaander, B.A. Wullings, L. Heijnen & D. van der Kooij. 2014. Opportunistic pathogens in drinking water in the Netherlands. In: D. van der Kooij & P.W.J.J. van der Wielen (eds), Microbial Growth in Drinking Water Supplies. Problems, Causes, Control and Research Needs, pp 177-205.

Verweij, P.E., Meis, J.F., Christmann, V., Van der Bor, M., Melchers, W.J., Hilderink, B.G. & A. Voss. 1998. Nosocomial outbreak of colonization and infection with *Stenotrophomonas maltophilia* in preterm infants associated with contaminated tap water. *Epidemiology and Infection* 120(3), 251-256.

Bijlage 2. Memo doelstellingen onderzoek opportunistische pathogenen

Verslag 1^e vergadering projectgroep

Inleiding

Op 14 juli jongstleden heeft de eerste vergadering van de Projectgroep Onderzoeksvisie/plan Opportunistische Pathogenen plaatsgevonden. In deze memo een verslag van deze bijeenkomst alsook de uitkomst van de discussie ten aanzien van de doelstelling van onderzoek naar opportunistische pathogenen in het BTO. Op basis van deze memo wordt aan het einde gevraagd om per drinkwaterbedrijf een prioritering van de doelstellingen te geven.

Bij het overleg waren aanwezig: Agata Donocik (Brabant Water), Jamal El Majjaoui (Dunea), Wim Hijnen (Evides), Maarten Lut (Oasen), Emmanuelle Prest (PWN), Marco Dignum (Waternet), Gerhard Wubbels (WLN, vertegenwoordiger Waterbedrijf Groningen en WMD) en Paul van der Wielen. Anneke Roosma (Vitens) had zich afgemeld, maar de voorkeuren van Vitens via de e-mail doorgegeven.

Doelstellingen

Presentatie

Paul van der Wielen licht eerst kort het projectvoorstel toe en geeft aan dat het doel van deze vergadering is om verschillende mogelijke doelstellingen te formuleren die het onderzoek naar opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater kan hebben, deze vervolgens te bediscussiëren en een richting van prioritering van deze doelstellingen aan te geven richting de themagroep. Paul is gestart met het bespreken van een aantal doelstellingen die op basis van eerdere discussies met de bedrijfstak en ideeën vanuit KWR naar voren zijn gekomen. Hieronder volgt een korte beschrijving van deze doelstellingen. Bij deze doelstellingen komt de term opportunistische pathogenen veelal terug. In het verleden zijn op basis van een aantal criteria vijf opportunistische ziekteverwekkers geselecteerd die voor het *Nederlandse drinkwater van belang kunnen zijn*: *L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *A. fumigatus* en *M. kansasii*. Voor de meeste van deze ziekteverwekkers is aanvullend onderzoek nodig zoals wordt verwoord in onderstaande doelstellingen. Het kan echter zijn dat de genoemde doelstellingen ook van toepassing zijn op nieuwe opportunistische ziekteverwekkers die in het Nederlandse drinkwater kunnen voorkomen.

- A. Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem:
 - a. Voor *L. pneumophila* is dit uitgebreid onderzocht, maar voor de andere ziekteverwekkers is tot nu toe alleen bekend zien dat de temperatuur een rol speelt bij vermeerdering, maar temperatuur alleen kan niet verklaren waarom monsters uit het distributiesysteem soms positief zijn.
 - b. Welke condities, naast temperatuur, van belang zijn is niet bekend.
 - c. Als dergelijke condities bekend zijn, is de verwachting dat gerichte beheersmaatregelen kunnen worden onderzocht op effectiviteit.
- B. Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot andere bronnen:
 - a. Eerder BTO onderzoek heeft laten zien dat patiëntstammen en drinkwaterstammen van *P. aeruginosa* en *A. fumigatus* identiek zijn, terwijl voor *S. maltophilia* dit onduidelijk is.

- b. Ondanks deze resultaten blijft onbekend hoe belangrijk drinkwater is voor infecties met deze ziekteverwekkers ook in vergelijking tot andere routes.
 - c. De ziektes veroorzaakt door *P. aeruginosa*, *A. fumigatus*, *S. maltophilia* en *M. kansasii* zijn niet meldingsplichtig in Nederland. Hierdoor is ook niet bekend hoe het aantal ziektegevallen in verhouding staat tot bijvoorbeeld de veteranenziekte
 - d. Informatie over punt b en c geeft de mogelijkheid om een betere schatting te maken over wat het risico van overdraagbaarheid via drinkwater is voor de ziektelast van deze organismen.
- C. Achterhalen of andere opportunistische pathogenen ook in het Nederlandse drinkwater voorkomen en linken aan patiëntstammen.
 - a. In 2008 is voor het laatst een uitgebreide literatuurstudie uitgevoerd naar welke opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater kunnen voorkomen.
 - b. Nieuwe ziekteverwekkers of nieuwe inzichten kunnen van invloed zijn op de prioriteringslijst die destijds is opgesteld (bv *Acinetobacter baumannii*, *Waddlia chondrophila*, antibioticaresistente opp. pathogenen).
- D. Duidelijkheid of klimaatverandering (hogere drinkwatertemperatuur en langere perioden met een hoge drinkwatertemperatuur) leidt tot hogere aantallen opportunistische pathogenen in het distributiesysteem.
 - a. In het verleden is ten tijde van de PBC Microbiologie binnen het BTO onderzoek gedaan naar de invloed van temperatuur op vermeerdering van *L. pneumophila* onder dynamische condities. Hierdoor is de kritische temperatuur voor vermeerdering van *L. pneumophila* (> 28°C) voldoende bekend.
 - b. In BTO-BO is recent ook de invloed van drinkwatertemperatuur op groei van opportunistische pathogenen onderzocht. Dit is gedaan onder semistagnante condities op PVC-P en met constante temperatuur.
 - c. Onduidelijk blijft in hoeverre deze resultaten zich vertalen naar de praktijksituatie van het distributiesysteem.
 - d. Het resultaat van deze doelstelling zou informatie moeten opleveren of opwarming ook daadwerkelijk een risico vormt in het distributiesysteem en in hoeverre de temperatuurnorm van 25°C gehandhaafd zou moeten blijven.
- E. Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen die ook in de praktijk zijn getest op effectiviteit, waardoor de groei van opportunistische pathogenen in het distributiesysteem kan worden beheerst.
 - a. Dit kan een doelstelling voor de langere termijn zijn, maar de kennis hiervoor is op dit moment nog te beperkt.
 - b. In ieder is kennis nodig over:
 - i. de condities die groei van opportunistische pathogenen in het distributiesysteem bepalen.
 - ii. hoe belangrijk de drinkwaterroute is in de verspreiding van de opportunistische pathogenen. Duidelijkheid over dit aspect kan van invloed zijn of beheersmaatregelen überhaupt nodig zijn.
- F. Achterhalen waar het grootste risico voor vermeerdering in het drinkwatersysteem optreedt.
 - a. Het drinkwatersysteem kan ruwweg worden verdeeld in het drinkwaterdistributiesysteem en drinkwaterinstallatie van gebouwen.
 - b. Onduidelijk is in welke van deze twee systemen het hoogste risico op vermeerdering is (vermoeden is drinkwaterinstallatie).
 - c. Duidelijkheid welke van de twee drinkwatersystemen het belangrijkste is voor vermeerdering kan worden gebruikt om meer op maat gesneden beheersmaatregelen te definiëren.
 - d. Mocht blijken dat de drinkwaterinstallatie het belangrijkste is dan blijft wel overeind dat het drinkwaterdistributiesysteem deze opportunistische pathogenen vanuit het distributiesysteem aanleveren aan de drinkwaterinstallatie.

- e. Overigens kan het drinkwaterdistributiesysteem weer worden onderverdeeld in primair, secundair en tertiair net, én aansluitleidingen en de drinkwaterinstallatie in koudwaterleidingen, warmwaterleidingen, kraan, douche, etc.
- G. Achterhaal wat het effect is van de beheersmaatregelen die voor *Legionella* worden genomen, op de andere opportunistische ziekteverwekkers.
 - a. *Legionellawetgeving* in Nederland bevat beheersmaatregelen tegen *Legionella* die gericht zijn op de drinkwaterinstallaties.
 - b. De kern van deze wetgeving is temperatuurbeheersing (koud water < 25°C en warm water > 60°C), maar bij problematische groei mogen ook alternatieve beheersmaatregelen worden toegepast.
 - c. Onduidelijk is of de beheersmaatregelen tegen *Legionella* ook werken om andere opportunistische ziekteverwekkers voldoende te beheersen. In ieder geval is al duidelijk geworden dat een watertemperatuur < 25°C onvoldoende is voor beheersing van *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* en *M. kansasii*.
 - d. Informatie over het effect van andere beheersmaatregelen op de opportunistische ziekteverwekkers laat zien of het aanleveren van opportunistische pathogenen via het distributiesysteem aan drinkwaterinstallaties tot risico's leidt.
 - e. De *Legionellawetgeving* is echter voornamelijk gericht op collectieve drinkwaterinstallaties van prioritaire gebouwen.
- H. Achterhaal het belang van een resistente en/of resiliënt microbiële gemeenschap in het voorkomen van groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwaterdistributiesysteem.
 - a. Opportunistische ziekteverwekkers lijken sporadisch en lokaal in het distributiesysteem voor te komen.
 - b. Dit kan er op duiden dat 'normaliter' de autochtone microflora groei van deze ziekteverwekkers onderdrukt, maar aanvullend onderzoek is nodig om dit te bevestigen.
 - c. Resultaten uit een dergelijk onderzoek geven inzicht of resilience een strategie is om groei van ongewenste micro-organismen te voorkomen.
 - d. Mogelijk dat ten aanzien van resistentie of resilience ook verschillen worden gezien tussen drinkwater bereid uit grondwater of uit oppervlaktewater of dat waterbehandelingsprocessen daar een invloed op hebben.

Aanvullende doelen

Op basis van de hierboven beschreven presentatie van Paul wordt de discussie gevoerd. Uit de discussie komt naar voren dat de volgende doelstelling wordt gemist:

- I. Achterhaal welke (eenvoudig te meten) parameter een signaal geeft voor groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwaterdistributiesysteem.
 - a. Uit eerder BTO onderzoek is gebleken dat de aanwezigheid en aantallen van opportunistische pathogenen in het Nederlandse drinkwater geen relatie lijkt te hebben met de wettelijke parameters voor nagroei of de biologische stabiliteit van het drinkwater.
 - b. Een indicatorparameter voor deze problematiek is echter wenselijk, zodat op een eenvoudige wijze gemonitord kan worden of problematiek met opportunistische ziekteverwekkers optreedt in het drinkwaterdistributiesysteem en meer gericht beheersmaatregelen kunnen worden genomen.
 - c. Hierbij wordt opgemerkt dat nieuwe moleculaire methoden, zoals NGS, mogelijk kunnen worden toegepast voor dit doel, waarbij het in de toekomst misschien ook mogelijk is om opportunistische pathogenen op een relatief eenvoudige manier direct te meten.

Aanvulling op iedere doelstelling

Daarnaast geven de leden van de projectgroep aan dat ze bij sommige doelstellingen nog bepaalde zaken missen. Deze worden hieronder kort opgesomd:

- Voeg aan risico (B) toe dat het ook wenselijk is om risico fecale pathogenen versus opportunistische pathogenen (inclusief *Legionella*) helder te hebben, zowel voor drinkwater als andere routes. Is dit risico bijvoorbeeld belangrijk dan wanneer *E. coli* in drinkwater wordt aangetroffen. Daarnaast is het uiteindelijke doel (langere termijn) om een QMRA beschikbaar te hebben.
- Neem daarnaast ook mee of het om uitbraken gaat waar veel mensen acuut last van hebben of om losse ziektegevallen die jaarrond ontstaan. In het eerste geval zijn acute beheersmaatregelen nodig, in het tweede geval permanente beheersmaatregelen.
- Neem in het risico ook mee of het om grote groepen mensen of kleine groep mensen gaat die risico lopen op besmetting. Dit is ook van belang voor eventuele beheersmaatregelen. Wanneer het om kleine groep mensen gaat die op bepaalde plek samenkomen (bv ziekenhuis), dan zijn mogelijk alleen gerichte maatregelen bij een ziekenhuis nodig.
- Voeg aan drinkwaterdistributiesysteem versus drinkwaterinstallatie (F) toe dat vanuit het drinkwaterdistributiesysteem niet alleen opportunistische pathogenen worden aangeleverd, maar ook een waterkwaliteit die mogelijk van invloed is op vermeerdering in de drinkwaterinstallatie. Deze waterkwaliteit is ook de verantwoordelijkheid van het drinkwaterbedrijf.
- Neem ook verwachtingsmanagement mee in deze doelen. Wanneer binnen het BTO aan slag wordt gegaan met een bepaalde doelstelling, is het waarschijnlijk dat sommige onderzoeken complex kunnen zijn. Denk daarbij ook na over hoe ver het onderzoek moet gaan.
- Neem ook mee dat drinkwater voor verschillende doeleinden wordt gebruikt: om te drinken, onder te douchen, als lensvloeistof voor contactlenzen, het vullen van zwembadjes/jacuzzi, etc. Het drinkwaterbedrijf wil graag gerichte adviezen aan hun consumenten, bv gebruik geen drinkwater voor contactlenzen.
- Overzicht van mogelijke nieuwe ziekteverwekkers in drinkwater zou iedere tien jaar gemaakt moeten worden. Hierin wordt ook belangrijke rol gezien voor DNA sequentiemethoden, mits het in de toekomst mogelijk is om met next generation sequencing/microbial profiling de micro-organismen tot op soortenniveau te classificeren.

Belang en prioritering doelstelling

Tot slot is in de discussie ook stil gestaan bij het belang en prioritering van doelstellingen A t/m I zoals hierboven genoemd. Daarbij werd vastgesteld dat sommige doelstellingen subdoelen zijn van een paar hoofddoelstellingen. Hieronder worden de hoofddoelstelling kort neergezet met daaronder de subdoelen die tot deze hoofddoelstelling behoren. De hoofdletters die hierbij worden gebruikt verwijzen naar de doelstellingen die hierboven zijn beschreven.

Hoofddoelstelling 1 (A): Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem.

Subdoel dat hier ook onder valt:

D (klimaatverandering), F (drinkwaterdistributiesysteem vs installatie), H (resistentie/resilience), I (indacororganisme)

Hoofddoelstelling 2 (B): Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen.

Subdoel dat hier ook onder valt:

C (literatuurstudie)

Hoofddoelstelling 3 (E): Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen, waardoor de groei van opportunistische pathogenen in het distributiesysteem kan worden beheerst.

Subdoel dat hier ook onder valt:

G (Effect *Legionella* beheersmaatregelen)

De projectgroep geeft aan dat het behalen van de eerste twee doelstellingen belangrijk is, voordat besloten kan worden of het nodig is om ook hoofddoelstelling 3 te behalen. Er is ook een lichte voorkeur om met hoofddoelstelling 2 te starten.

Overige opmerkingen

Neem in het rapport van dit project een DALY (Disability Adjusted Life Year) plaatje op waarin het verschil in DALY van de ziekten veroorzaakt door de verschillende ziekteverwekkers wordt weergegeven (draagt in die vorm al bij aan hoofddoelstelling 2), evenals een overzicht van de onderzoeken naar opportunistische ziekteverwekkers die binnen het BTO zijn uitgevoerd.

Ten aanzien van de rol van temperatuur. Door de energietransitie en toepassing van warmte- of koudewinning uit drinkwater is het belangrijk om de rol van temperatuur duidelijk te hebben. Een eerste slag naar de invloed van temperatuur op groei van opportunistische ziekteverwekkers is gemaakt in het Bedrijfsonderzoek, maar een vertaling naar de praktijksituatie (variabele temperaturen, perioden van hogere temperatuur worden afgewisseld met perioden lagere temperatuur, dynamische condities, etc) moet nog worden gemaakt. Daar is ook aanvullend onderzoek voor nodig. Paul geeft aan dat binnen het TKI Warming Up hier verder aan wordt gewerkt en dat tevens een subsidieaanvraag binnen het programma MOOI wordt ingediend waar dit onderwerp ook verder wordt onderzocht. Binnen beide initiatieven zijn ook de drinkwaterbedrijven (deels) betrokken. De onderzoeksplannen van projecten die zijn goed gekeurd binnen deze programma's zullen met de TG BV worden gedeeld, zodat ook de themagroepleden hiervan op de hoogte zijn.

Conclusies en hoe nu verder

Op basis van de uitkomsten van de bespreking zijn we als projectgroep tot de volgende drie hoofddoelstellingen gekomen (weergegeven in willekeurige volgorde) waar het toekomstig onderzoek aan opportunistische pathogenen zich op zou moeten richten:

1. Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem.
2. Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen.
3. Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen in drinkwaterdistributiesysteem en/of drinkwaterinstallatie, waardoor het risico op verspreiding van opportunistische pathogenen via drinkwater wordt beheerst.

In de tweede activiteit van dit BTO project willen we komen tot gezamenlijke onderzoeksvragen die beantwoord dienen te worden om deze doelstellingen te kunnen behalen. Het voorstel is om ons daarbij te richten op twee van de drie hoofddoelstellingen. Het is daarvoor van belang dat ieder drinkwaterbedrijf zijn prioritering doorgeeft ten aanzien van deze drie hoofddoelstellingen, zodat we verder kunnen gaan met het definiëren en bespreken van de onderzoeksvragen. Daarom het verzoek aan ieder themagroeplid van de themagroep Biologische Veiligheid om zijn/haar prioritering door te geven voor 31 juli 2020.

Prioritering Themagroep Biologische Veiligheid

Vanwege de vakantieperiode hebben niet alle drinkwaterbedrijven hun prioritering voor 31 juli 2020 door kunnen geven, maar de acht drinkwaterbedrijven die hun prioritering hebben doorgegeven waren unaniem in hun prioritering van de doelstellingen:

1. Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen.
2. Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem.

Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen in drinkwaterdistributiesysteem en/of drinkwaterinstallatie, waardoor het risico op verspreiding van opportunistische pathogenen via drinkwater wordt beheerst.

Bijlage 3. Memo onderzoeksvragen doelstelling risico opportunistische pathogenen

Verslag 2^e vergadering projectgroep

Inleiding

Op 18 augustus jongstleden heeft de tweede vergadering van de Projectgroep Onderzoeksvisie/plan Opportunistische Pathogenen plaatsgevonden. In deze memo een verslag van deze bijeenkomst alsook de uitkomst van de discussie ten aanzien van de onderzoeksvragen om te voldoen aan de eerder geprioriteerde doelstelling 'Achterhalen hoe groot het risico is van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen'. Tijdens de TG-vergadering van 10 september wordt deze memo besproken en aan de bedrijven gevraagd om een prioritering van de onderzoeksvragen te geven.

Bij het overleg waren aanwezig: Wim Hijnen (Evides), Emmanuelle Prest (PWN), Marco Dignum (Waternet), Gerhard Wubbels (WLN, vertegenwoordiger Waterbedrijf Groningen en WMD), Anneke Roosma (Vitens) en Paul van der Wielen. Agata Donocik (Brabant Water), Jamal El Majjaoui (Dunea) en Maarten Lut (Oasen) hadden zich afgemeld.

Onderzoeksvragen

Presentatie

Paul van der Wielen benoemt kort het resultaat van de vorige vergadering waarin drie hoofddoelstellingen ten aanzien van onderzoek naar opportunistische pathogenen zijn gedefinieerd:

1. Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem.
2. Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen.
3. Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen in drinkwaterdistributiesysteem en/of drinkwaterinstallatie, waardoor het risico op verspreiding van opportunistische pathogenen via drinkwater wordt beheerst.

Acht van de elf drinkwaterbedrijven hebben hun prioritering ten aanzien van deze drie doelstellingen doorgegeven en alle acht hebben aangegeven dat hoofddoelstelling 2 (Risico) de hoogste prioriteit heeft, gevolgd door 1 (Begrijpen) en 3 (beheersmaatregelen).

Op basis van de discussies tijdens de vorige vergadering heeft KWR onderzoeksvragen in relatie tot hoofddoelstelling 1 uitgewerkt en deze worden door Paul gepresenteerd. Hierbij is de hoofddoelstelling uitgewerkt in vier verschillende onderdelen.

Nieuwe opportunistische pathogenen

- A. Zijn sinds 2008 nieuwe inzichten in de wetenschappelijke literatuur verschenen ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater?
 - In 2008 is voor het laatst een indeling gemaakt naar prioriteit voor Nederlandse drinkwater van verschillende opportunistische pathogenen die zich in drinkwater kunnen vermeerderen.

- Sinds 2008 zijn nieuwe ziekteverwekkers ontdekt (bv sars-cov-2 Coronavirus) of is drinkwater als mogelijke infectieroute voor pathogenen beschreven (bv *Waddlia chondrophila*).
 - De vraag is daarom of nieuwe inzichten ten aanzien van opportunistische ziekteverwekkers aanleiding zijn om andere opportunistische pathogenen aan de lijst toe te voegen die in 2008 is opgesteld. Wanneer dat zo is dan is de vervolgvraag of deze nieuwe opportunistische pathogenen een hoge prioritering hebben voor het Nederlandse drinkwater.
- B. Welke opportunistische pathogenen komen in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater voor?
- De strategie tot nu toe was om opportunistische pathogenen te prioriteren op basis van publicaties in de wetenschappelijke literatuur, vervolgens detectiemethoden voor deze organismen te ontwikkelen en te achterhalen of deze organismen voorkomen in het drinkwater.
 - Nieuwe moleculaire methoden geven echter de mogelijkheid tot een omgekeerde strategie:
 - i. NGS analyse van volledige 16S rRNA genen die in drinkwater aanwezig zijn
 - ii. De sequentiedata met behulp van internationale databases omzetten naar bacteriesoorten
 - iii. Nagaan of bekende opportunistische pathogenen tussen de geïdentificeerde soorten aanwezig zijn.
 - iv. Methoden voor NGS analyse van volledig 16S rRNA gen zijn beschreven, maar dienen nog te worden getest/geoptimaliseerd voor drinkwater.
 - Informatie uit een dergelijk project kan worden gebruikt om opportunistische pathogenen te prioriteren op basis van aanwezigheid in het drinkwater.
- C. Hoe vaak en in welke aantallen komen nieuwe geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers voor in het drinkwater van de bedrijven die deelnemen aan het BTO?
- D. Welke grofmazige factoren (bv groeipotentie drinkwater, seizoen/temperatuur, afstand/verblijftijd tot pompstation, drinkwaterinstallatie versus distributiesysteem) beïnvloeden de aantallen van deze organismen?
- Wanneer de antwoorden op onderzoeksvraag A (en/of B) leiden tot prioritering van nieuwe opportunistische ziekteverwekkers, dan is een belangrijke vervolgvraag hoeveel drinkwatermonsters positief zijn voor deze organismen en in welke aantallen ze vóórkomen.
 - Die informatie geeft duidelijkheid of deze nieuwe geprioriteerde opportunistische pathogenen ook van belang zijn voor het Nederlandse/Vlaamse drinkwater.
 - Door het monitoringsprogramma, dat nodig is om vraag C te beantwoorden, slim op te zetten, kan ook onderzoeksvraag D worden beantwoord.
- E. Zijn drinkwaterstammen van deze nieuw geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers genotypisch vergelijkbaar met patiëntstammen.
- Indien blijkt dat de nieuw prioriteerde opportunistische ziekteverwekkers aanwezig zijn in het Nederlands drinkwater, dan is het vervolgens belangrijk om te weten in hoeverre de aanwezigheid van het organisme in drinkwater ook een risico vormt voor de volksgezondheid.
 - Binnen de moleculaire epidemiologie wordt een genotypische match tussen een milieustam en een patiëntstam zo geïnterpreteerd dat de milieustam ook ziekte kan veroorzaken. Daarom is het beantwoorden van onderzoeksvraag E noodzakelijk om te achterhalen of het vóórkomen van een nieuw geprioriteerd organisme in het drinkwater ook een gevaar kan vormen voor de volksgezondheid.

Onderzoeksvragen A en C t/m E lijken sterk op het onderzoek en de onderzoekvolgorde dat sinds 2008 is uitgevoerd ten aanzien van *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, ziekteverwekkende non-tuberculeuze mycobacteriën, *A. fumigatus* en *Acanthamoeba* spp.

Risico opportunistische pathogenen in drinkwater afwegen in vergelijking met risico fecale ziekteverwekkers in drinkwater

Het onderzoek sinds 2008 heeft laten zien dat de aanwezigheid van *P. aeruginosa*, *S. maltophilila*, *A. fumigatus* (en in mindere mate *M. kansasii*) in drinkwater een mogelijk gevaar kan vormen voor de volksgezondheid. In paragrafen 2.1.2, 2.1.3 en 2.1.4 wordt daarom met opportunistische ziekteverwekkers deze drie tot vier organismen bedoeld.

- A. Wat is het verschil in infectierisico en disability adjusted life years (DALY) tussen fecale pathogenen en opportunistische pathogenen en hoe verhoudt het risico zich tot de Nederlandse wetgeving (10^{-4} infectierisico) en WHO richtlijn (10^{-6} DALY)?
- In het Nederlandse Drinkwaterbesluit is opgenomen dat het risico op infectie met ziekteverwekkers 10^{-4} per persoon per jaar mag zijn.
 - Binnen het Q21 BTO project dat van 2008 t/m 2010 heeft gelopen is gesteld dat: “het gebruik van infectierisico als eindpunt voor risicoanalyses is onvoldoende, omdat de ernst van de ziekte niet wordt meegenomen”. Daarnaast is aangegeven dat om risico’s tussen ziekteverwekkers beter te kunnen afwegen, DALY een uitkomst biedt.
 - DALY is een maat die de totale ziektelast in de blootgestelde populatie berekent en daarbij de ernst en mortaliteit van de ziekte meeweegt.
 - De WHO-richtlijn voor drinkwater is 10^{-6} DALY’s per persoonjaar
 - Nadere informatie over DALY kan worden gevonden in hoofdstuk 4 van het Q21 rapport (BTO 2010.042).
 - Een bureaustudie is nodig om onderzoeksvraag A te beantwoorden.
 - Er bestaat de mogelijkheid dat deze informatie niet voor alle organismen bekend is
- B. Bij welke aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater wordt niet voldaan aan het 10^{-4} infectierisico of 10^{-6} DALY-risico en hoe verhouden die aantallen zich tot wat is aangetroffen in drinkwater?
- Het infectie- of DALY-risico kan worden gekoppeld aan aantallen die in drinkwater aanwezig mogen zijn met behulp van een QMRA.
 - Het achterhalen bij welke aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater er een risico is die niet voldoet aan wetgeving of richtlijn, maakt het mogelijk om te onderzoeken in hoeverre de aantallen opportunistische pathogenen die in drinkwater worden aangetroffen überhaupt een risico zijn.
 - Het is tevens belangrijk om die gegevens af te zetten tegen de fecale ziekteverwekkers.
 - Dosisresponsrelaties voor opportunistische ziekteverwekkers zijn nodig in een dergelijke QMRA-analyse. Een mogelijke kennishiaat is dat dergelijke informatie niet of niet voldoende beschikbaar is voor een aantal opportunistische ziekteverwekkers.
 - Een bureaustudie is nodig om onderzoeksvraag B te beantwoorden.
- C. Hoe verhoudt het risico op infectie in de bevolking door opportunistische pathogenen zich tot die van fecale ziekteverwekkers?
- Fecale ziekteverwekkers zijn over het algemeen ziekteverwekkend voor een groot deel van de bevolking, terwijl opportunistisch ziekteverwekkend zijn voor een (klein) deel van de bevolking (diegene met een verzwakt immuunsysteem)
 - Daar staat tegenover dat de ziektelast van fecale ziekteverwekkers over het algemeen genomen klein is, terwijl ziektelast voor sommige opportunistische ziekteverwekkers juist hoog is.
 - Onder onderzoeksvraag A is uitgelegd dat de DALY-benadering daar rekening mee houdt.
 - Deze onderzoeksvraag wordt dus al meegenomen onder onderzoeksvraag A.

*De rol van drinkwater in verspreiding van opportunistische pathogenen (inclusief *L. pneumophila*) ten opzichte van andere bronnen.*

- A. Welke bronnen spelen een risico voor het veroorzaken van infecties door opportunistische pathogenen?
- De opportunistische pathogenen die zich in het Nederlandse drinkwater kunnen vermeerderen, kunnen ook vóórkomen/groeien in andere ecosystemen dan drinkwater. Het is niet ondenkbaar dat deze andere bronnen een belangrijkere infectierisicoroute zijn dan drinkwater.
 - Een literatuurstudie is nodig om te achterhalen in welke andere ecosystemen dan drinkwater de geprioriteerde opportunistische pathogenen (*inclusief L. pneumophila*) kunnen voorkomen
- B. Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in andere bronnen dan drinkwater?
- Om het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater af te wegen tegen andere bronnen, is het vervolgens van belang om te achterhalen in welke aantallen de opportunistische pathogenen vóórkomen in de onder vraag A geïdentificeerde andere bronnen.
 - Voor sommige opportunistische pathogenen (*L. pneumophila*) is uitgebreid onderzoek uitgevoerd naar het vóórkomen in verschillende milieus, maar voor andere opportunistische pathogenen is dergelijk onderzoek waarschijnlijk nog niet grootschalig uitgevoerd.
 - De verwachting is daarom dat de volgende onderzoeksopzet nodig is om deze onderzoeksvraag te beantwoorden:
 - i. Uitvoeren van literatuurstudie om te achterhalen in hoeverre deze onderzoeksvraag kan worden beantwoord met gegevens uit gepubliceerde studies;
 - ii. Voor opportunistische pathogenen waarover nog onvoldoende kennis te vinden is in de literatuur, dient een uitgebreide monstercampagne te worden uitgevoerd bij mogelijke andere bronnen dan drinkwater;
 - iii. Deze monstercampagne kan het beste worden uitgevoerd met qPCR (en eventueel NGS) om hoogrisicobronnen te identificeren, gevolgd door kweek op specifieke agarmedia, zodat isolaten kunnen worden gegenotypeerd en vergeleken met patiënt- en drinkwaterstammen.
- C. Aan welk infectierisico/DALY mag het drinkwater voldoen ten opzichte van andere bronnen in relatie tot opportunistische pathogenen?
- Wanneer de aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater en andere bronnen bekend zijn, kan met behulp van QMRA een schatting worden gemaakt over het infectierisico en/of DALY in relatie tot iedere bron.
 - Op deze manier kan het infectierisico of DALY van drinkwater worden vergeleken met die van andere bronnen.
 - Het is echter onduidelijk of alle informatie beschikbaar is om een betrouwbare QMRA uit te voeren voor de opportunistische pathogenen, wat nodig is om infectierisico of DALY te schatten.
 - Daarom zal in eerste instantie met een literatuurstudie worden achterhaald welke informatie beschikbaar is om een QMRA uit te voeren voor deze opportunistische pathogenen en welke informatie nog ontbreekt.
 - De resultaten van de literatuurstudie kan worden gebruikt om aanvullend onderzoek te definiëren, wat nodig is om een betrouwbare QMRA uit te kunnen voeren.
 - Deze onderzoeksvraag roept tevens de vraag op aan welke norm (infectierisico of DALY) drinkwater moet voldoen en hoe en door wie dat wordt bepaald. Deze aspecten kunnen worden opgepakt in samenspraak met wetgevende instanties of het kan door de drinkwatersector zelf worden opgesteld.

De rol van de verschillende drinkwaterfuncties en apparaten in de drinkwaterinstallatie op verspreiding van opportunistische pathogenen

- A. Welke drinkwaterfuncties en apparaten geïnstalleerd op een drinkwaterinstallatie leiden tot risico op infectie met opportunistische pathogenen?
- Drinkwater wordt door consumenten gebruikt voor diverse functies, bv drinken, douchen, lenzenvloeistof, jacuzzi of zwembad vullen, tuin besproeien, thuissauna, etc.
 - Het is de verwachting dat het risico op infectie met opportunistische pathogenen via drinkwater verschilt tussen deze verschillende drinkwaterfuncties
 - Daarnaast kunnen gebruikers ook nog apparaten op hun drinkwaterinstallatie zetten, die mogelijk ook van invloed zijn op het infectierisico van opportunistische pathogenen. Zo zou een geïnstalleerde waterontharder misschien kunnen leiden tot vermeerdering van bepaalde opportunistische pathogenen (bv *P. aeruginosa*), waardoor het drinkwater in de drinkwaterinstallatie wordt gevoed met hogere aantallen opportunistische pathogenen
 - Om als drinkwaterbedrijf de consument specifiek te kunnen adviseren over het risico van opportunistische pathogenen via drinkwater, is het belangrijk om het risico van de verschillende functiegebruik alsook van installatie van bepaalde apparaten te weten
 - Om deze onderzoeksvraag te beantwoorden kan worden gestart met literatuuronderzoek waarin wordt achterhaald welke drinkwaterfunctie(s) voor iedere geprioriteerde opportunistische pathogeen een risico op infectie geeft en wat de invloed is van het installeren van bepaalde apparaten in de drinkwaterinstallatie op vermeerdering van opportunistische pathogenen.
- B. Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater dat voor risicovolle functies wordt gebruikt?
- Uit antwoord op onderzoeksvraag A volgt welke drinkwaterfuncties mogelijk een risico zouden kunnen zijn voor verspreiding van (bepaalde) opportunistische pathogenen
 - Om aan te kunnen geven in hoeverre deze risicovolle drinkwaterfuncties ook tot 'echte' risico's met opportunistische pathogenen leiden, is het ook nodig om te weten welke aantallen opportunistische pathogenen voorkomen in het drinkwater bij verschillend functiegebruik (bijvoorbeeld de aantallen in douchewater, jacuzziwater, lenzenvloeistofwater, etc)
 - Om deze onderzoeksvraag te kunnen beantwoorden, zijn (uitgebreide) monstercampagnes nodig
- C. Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater na risicovolle apparaten die op drinkwaterinstallaties worden geïnstalleerd (deze onderzoeksvraag is toegevoegd nadat de bijeenkomst van de Projectgroep heeft plaatsgevonden en is op basis van gesprek met Merijn Schriks van Vitens)?
- Uit antwoord op onderzoeksvraag A volgt welke apparaten mogelijk een risico zouden kunnen zijn voor vermeerdering van opportunistische pathogenen
 - Om aan te kunnen geven welke apparaten ook daadwerkelijk tot verhoogde risico's met opportunistische pathogenen leiden, is het nodig om te achterhalen tot welke aantallen opportunistische pathogenen in bepaalde apparaten kunnen vermeerderen.
 - De verwachting is dat hier onvoldoende gegevens over zijn in de wetenschappelijke literatuur, waardoor aanvullende experimenten nodig zijn.

Het onderzoek naar drinkwaterfuncties en apparaten die soms zijn aangesloten op drinkwaterinstallaties richt zich dus sterk op het drinkwater achter de watermeter, waar de verantwoordelijkheid van het drinkwaterbedrijf een grijs gebied is. De resultaten van een dergelijk onderzoek kan echter wel gebruikt worden om klanten gericht te adviseren over bepaalde functies of om onderbouwde antwoorden te geven aan klanten, wanneer deze vragen heeft over het inzetten van bepaalde apparaten in de drinkwaterinstallatie.

Imagoschade

Dit uitgewerkte plan naar de overkoepelende doelstelling om te achterhalen wat het risico van opportunistische pathogenen is in drinkwater, richt zich voornamelijk op de volksgezondheid. Dit is uiteraard ook het meest belangrijke aspect in relatie tot opportunistische pathogenen. Het is echter verstandig om te realiseren dat het drinkwaterimago, en dan met name het risico dat het goede drinkwaterimago onder druk komt te staan, niet meegenomen is in deze uitwerking. Het kan bijvoorbeeld zijn dat we op basis van het risico voor de volksgezondheid tot de conclusie komen als sector om geen aanvullend onderzoek te doen naar een bepaalde opportunistische pathogeen, maar dat in Nederland wel ergens een kleine uitbraak van deze pathogeen in drinkwater kan optreden, wat veel negatieve media-aandacht kan krijgen en daardoor leidt tot imagoschade.

Discussie met de projectgroep

De projectgroep is over het algemeen positief gestemd over de lijn van de onderzoeksvragen die is opgesteld ten aanzien van de hoofddoelstelling 'Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen'. De projectgroepleden hebben wel een aantal vragen gesteld en zaken meegegeven die nu nog worden gemist in de uitwerking van de onderzoeksvragen:

- Bij literatuuronderzoek naar nieuwe opportunistische pathogenen wordt voorgesteld om ook te zoeken naar studies die de omgekeerde benadering hebben toegepast (breed screenen naar ziekteverwekkers in drinkwater middels sequentieanalyses).
- De omgekeerde benadering die onder vraag B van onderwerp 'Nieuwe opportunistische pathogenen' wordt voorgesteld past ook thuis in het BTO projectvoorstel ten aanzien van alternatieve meetstrategieën dat momenteel wordt opgesteld. Neem het ook in dat voorstel mee, maar zorg dat het ook in de onderzoeksvisie naar opportunistische pathogenen wordt genoemd.
- Onderzoeksvraag E onder het onderwerp 'Nieuwe opportunistische pathogenen' zou moeten worden uitgevoerd voordat onderzoeksvraag C en D worden uitgevoerd.
- De drinkwaterbedrijven vinden het belangrijk dat ook een verwachting wordt meegenomen bij de verschillende onderzoeksvragen, oftewel: hoe hoog wordt de kans ingeschat dat de onderzoeksvraag ook kan worden beantwoord? Dat geeft de drinkwaterbedrijven een extra mogelijkheid bij het prioriteren van deze onderzoeksvragen.
- Een belangrijk onderdeel bij deze hoofddoelstelling is hoe het risico wordt gedefinieerd, wat daar de meest geschikte methodiek voor is (bijvoorbeeld infectierisico versus DALY) en wat voor norm acceptabel is in drinkwater. Deze definitie, gekozen methodiek en normering zouden we niet als drinkwatersector alleen moeten bepalen, maar in nauwe samenspraak met de adviseur van de wetgever (het RIVM).
- In de onderzoeksvragen is momenteel opgenomen om te achterhalen welke drinkwaterfuncties mogelijk een verhoogd risico opleveren. Een ander aspect dat hierin ook meegenomen dient te worden, is het gebouw waar het drinkwater wordt gedistribueerd. Zo is het risico van opportunistische ziekteverwekkers hoger in een gebouw waar veel mensen met een gecompromitteerd immuunsysteem bij elkaar komen (bijvoorbeeld ziekenhuizen) dan in gebouwen waar dat niet zo is.
- Hoewel imagoschade niet expliciet is opgenomen, blijft dit aspect belangrijk, ook omdat de klant steeds mondiger wordt en in staat wordt gesteld om zelf onderzoek uit te laten voeren naar de microbiologie in drinkwater.

Algemene visie versus onderzoeksvisie drinkwatersector op opportunistische pathogenen

Het projectvoorstel van het huidige project richt zich op het opstellen van een onderzoeksvisie ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater, maar daarnaast is het voor de drinkwaterbedrijven ook belangrijk om een gezamenlijke algemene visie over opportunistische pathogenen in drinkwater te ontwikkelen. Die algemene visie zou zich bijvoorbeeld moeten richten op wanneer moeten we als drinkwatersector nou iets doen aan

(opportunistische) ziekteverwekkers en waar moeten we dan aan werken. Nu de hoofddoelstelling over risico is uitgewerkt in onderzoeksvragen komt dit voor een belangrijk deel wel terug in de onderzoeksvragen, maar toch blijven een aantal punten openstaan. Zo is in de DALY benadering verwezen naar het BTO rapport Q21 waterkwaliteit, waarin de term onberispelijk drinkwater is geïntroduceerd. In de benadering die met de hierboven genoemde onderzoeksvragen wordt voorgesteld, gaat het ten aanzien van opportunistische pathogenen niet om onberispelijk drinkwater (dat impliceert dat opportunistische pathogenen afwezig zijn in drinkwater) maar om drinkwater dat een acceptabel risico voor de volksgezondheid heeft. Het is wenselijk om de invulling van onberispelijk versus acceptabel risico (en hoe dat risico dan te definiëren) op te pakken door een brede workshop te organiseren waarin de drinkwatersector en de overheid (RIVM en Ministerie) samen vorm geven aan de invulling hiervan. Neem dit aspect mee in de Inleiding van het te schrijven rapport over dit project. Voor de drinkwaterbedrijven geldt ook dat de klant hierbij centraal staat en daarbij spelen drie aspecten: (i) gezondheid van de klant, (ii) drinkwaterimago voor de klant en (iii) hoe communiceer je hierover naar de klant. Denk ook na om hier invulling aan te geven.

Prioritering onderzoeksvragen

De volgende stap in het project is dat de themagroep Biologische Veiligheid de onderzoeksvragen verder prioriteert. Daarvoor worden de onderzoeksvragen hieronder per thema kort samengevat en zijn ze voorzien van een go/no go moment die kunnen worden gebruikt om vooralsnog onderzoek te honoreren tot een go/no go moment. Door deze go/no go momenten kan worden nagegaan of de eerste onderzoeksvragen van een bepaald thema voldoende zijn beantwoord en of de resultaten daarvan vervolgonderzoek voldoende rechtvaardigen.

Thema Nieuwe pathogenen

- A. Zijn sinds 2008 nieuwe inzichten in de wetenschappelijke literatuur verschenen ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater? (go/no go)
- B. Welke opportunistische pathogenen komen in het Nederlandse en Vlaamse drinkwater voor? (go/no go)
- C. Zijn drinkwaterstammen van deze nieuw geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers genotypisch vergelijkbaar met patiëntstammen? (go/no go)
- D. Hoe vaak en in welke aantallen komen nieuwe geprioriteerde opportunistische ziekteverwekkers voor in het drinkwater van de bedrijven die deelnemen aan het BTO?
- E. Welke grofmazige factoren (bv groeipotentie drinkwater, seizoen/temperatuur, afstand/verblijftijd tot pompstation, drinkwaterinstallatie versus distributiesysteem) beïnvloeden de aantallen van deze organismen?

Ad B: Om onderzoeksvraag B te kunnen beantwoorden, is methodeontwikkeling nodig (high throughput sequencing van volledige 16S rRNA genen). Voorgesteld wordt om deze methodeontwikkeling in BTO-project Moleculaire Methoden op te pakken.

Thema opportunistische versus fecale ziekteverwekkers

- A. Wat is het verschil in infectierisico en disability adjusted life years (DALY) tussen fecale pathogenen en opportunistische pathogenen en hoe verhoudt het risico zich tot de Nederlandse wetgeving (10^{-4} infectierisico) en WHO richtlijn (10^{-6} DALY)? (go/no go)
- B. Bij welke aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater wordt niet voldaan aan het 10^{-4} infectierisico of 10^{-6} DALY-risico en hoe verhouden die aantallen zich tot wat is aangetroffen in drinkwater?
- C. Aan welk criterium moet het risico van opportunistische ziekteverwekkers in drinkwater voldoen?

Thema rol drinkwater versus andere bronnen in verspreiding opportunistische ziekteverwekkers

- A. Aan welk infectierisico/DALY mag het drinkwater voldoen ten opzichte van andere bronnen in relatie tot opportunistische pathogenen? (go/no go)

- B. Welke bronnen spelen een risico voor het veroorzaken van infecties door opportunistische pathogenen? (go/no go)
- C. Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in andere bronnen dan drinkwater? (go/no go)
- D. Hoe verhoudt zich het risico van drinkwater ten opzichte van andere bronnen?

Ad A: Het is van belang om deze onderzoeksvraag in nauwe samenwerking met de overheid op te pakken.

Thema drinkwaterfuncties en apparaten geïnstalleerd op de drinkwaterinstallatie

- A. Welke drinkwaterfuncties leiden tot risico op infectie met opportunistische pathogenen?
- B. Welke gebouwen vormen een hoogrisicoinstelling, matigrisicoinstelling en laagrisicoinstelling voor opportunistische pathogenen? (go/no go)
- C. Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater dat voor risicovolle functies wordt gebruikt?
- D. Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in drinkwater na risicovolle apparaten die op drinkwaterinstallaties worden geïnstalleerd?
- E. Wat zijn de aantallen opportunistische pathogenen in de verschillende risicocategorieën voor gebouwen en bij welke aantallen zijn deze organismen problematisch?

Vraag aan de themagroep en verder verloop project

De volgende stap binnen dit project is om de onderzoeksvragen te prioriteren, zodat een projectvoorstel voor het BTO kan worden uitgewerkt. Er kan gekozen worden om met één van de vier gestelde thema's aan de slag te gaan, of om te starten met de eerste onderzoeksvragen van enkele thema's. Een logische opzet zou bijvoorbeeld kunnen zijn om een workshop te organiseren met het RIVM en het Ministerie om onderzoeksvraag 3A (Aan welk infectierisico/DALY mag het drinkwater voldoen ten opzichte van andere bronnen in relatie tot opportunistische pathogenen?) op te pakken, zodat voor de overige onderzoeksvragen duidelijk wordt aan welk criterium het risico moet voldoen. In direct vervolg op deze workshop zou dan een start kunnen worden gemaakt met onderzoeksvraag 2A (Wat is het verschil in infectierisico en disability adjusted life years (DALY) tussen fecale pathogenen en opportunistische pathogenen en hoe verhoudt het risico zich tot de Nederlandse wetgeving (10^{-4} infectierisico) en WHO richtlijn (10^{-6} DALY)?). Tegelijkertijd kan binnen een dergelijk project onderzoek lopen om onderzoeksvraag 1A te beantwoorden (Zijn sinds 2008 nieuwe inzichten in de wetenschappelijke literatuur verschenen ten aanzien van opportunistische pathogenen in drinkwater?). Op basis van de antwoorden op deze onderzoeksvragen kan dan besloten worden of het zinvol is om vervolgprojecten op deze thema's uit te voeren binnen het BTO.

De bovenstaande beschrijving is een voorbeeld hoe een onderzoekslijn op dit onderwerp eruit zou kunnen komen te zien. De vraag aan de themagroepleden is om deze memo kritisch door te lezen en voor het betreffende drinkwaterbedrijf een prioritering aan te geven ten aanzien van de onderzoeksvragen. We zullen de uitkomst dan kort bespreken op de themagroepvergadering om tot een breed gedragen prioritering te komen. Deze prioritering zal worden uitgewerkt in een projectvoorstel voor het BTO 2021 en verder.

Naast het opstellen van een dergelijk projectvoorstel zal binnen dit project een nieuwe vergadering met de projectgroep worden gepland, waarin door KWR uitgewerkte onderzoeksvragen ten aanzien van hoofddoelstelling 2 (Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem) worden besproken. Op basis van de drie besprekingen met de projectgroep en de prioritering die door de themagroep is vastgesteld, wordt een rapportage opgesteld. In het rapport wordt de onderzoeksvisie beschreven aan de hand van de hoofddoelstellingen waaraan het onderzoek moet voldoen en de uitgewerkte onderzoeksvragen van de twee hoogst geprioriteerde hoofddoelstellingen. Tevens wordt het onderzoeksvoorstel voor BTO 2021 en verder opgenomen.

Bijlage 4. Memo onderzoeksvragen doelstelling condities die groei veroorzaken

Verslag 3^e vergadering projectgroep

Inleiding

Op 20 oktober jongstleden heeft de derde vergadering van de Projectgroep Onderzoeksvisie/plan Opportunistische Pathogenen plaatsgevonden. In deze memo een verslag van deze bijeenkomst alsook de uitkomst van de discussie ten aanzien van de onderzoeksvragen om te voldoen aan de eerder geprioriteerde doelstelling 'Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwatersysteem'.

Bij het overleg waren aanwezig: Agata Donocik (Brabant Water), Wim Hijnen (Evides), Maarten Lut (Oasen), Emmanuelle Prest (PWN), Marco Dignum (Waternet), Gerhard Wubbels (WLN, vertegenwoordiger Waterbedrijf Groningen en WMD), Anneke Roosma (Vitens) en Paul van der Wielen (KWR). Jamal El Majjaoui (Dunea) had zich afgemeld.

Onderzoeksvragen

Presentatie

Paul van der Wielen benoemt kort het resultaat van de eerste vergadering waarin drie hoofddoelstellingen ten aanzien van onderzoek naar opportunistische pathogenen zijn gedefinieerd:

4. Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwaterdistributiesysteem.
5. Achterhalen hoe groot het risico van het voorkomen van opportunistische pathogenen in drinkwater is voor de volksgezondheid, ook in relatie tot fecale pathogenen en andere bronnen.
6. Het nemen van wetenschappelijk onderbouwde beheersmaatregelen in drinkwaterdistributiesysteem en/of drinkwaterinstallatie, waardoor het risico op verspreiding van opportunistische pathogenen via drinkwater wordt beheerst.

Acht van de elf drinkwaterbedrijven hebben hun prioritering ten aanzien van deze drie doelstellingen doorgegeven en alle acht hebben aangegeven dat hoofddoelstelling 2 (Risico) de hoogste prioriteit heeft, gevolgd door 1 (Begrijpen) en 3 (beheersmaatregelen). In de vorige vergadering zijn de onderzoeksvragen in relatie tot hoofddoelstelling 1 uitgewerkt en deze zijn met de TG besproken en geprioriteerd. Van de geprioriteerde onderzoeksvragen is een BTO-projectvoorstel geschreven, dat in november door het CO wordt besproken.

In deze derde vergadering worden de onderzoeksvragen uitgewerkt in relatie tot de doelstelling om de groei van opportunistische pathogenen in het drinkwatersysteem te begrijpen. Deze onderzoeksvragen richten zich op vier verschillende onderwerpen.

Niches

- A. In welke matrix/matrices (water, leidingwand en sediment) weten de opportunistische pathogenen zich te vermeerderen in het drinkwatersysteem?
- Eerder labonderzoek heeft laten zien dat *P. aeruginosa* zich kan vermeerderen in drinkwater en biofilm, *A. fumigatus* en *M. kansasii* waren in staat zich in biofilm, maar niet drinkwater, te vermeerderen en voor *S. maltophilia* hebben we dit niet kunnen vaststellen
 - Onduidelijk is echter wat de matrices voor deze opportunistische pathogenen in het distributiesysteem is/zijn en welke matrix het belangrijkste lijkt te zijn voor de verschillende opportunistische pathogenen. Informatie hierover kan worden gebruikt om gericht onderzoek te doen naar de ecologie en geeft duidelijkheid op welke niche beheersmaatregelen zich zouden moeten richten
 - Het onderzoek zou er als volgt uit kunnen zien:
 - i. Literatuuronderzoek
 - ii. Uitvoeren meetprogramma waarbij sediment (loose deposits en suspended solids), biofilm op wand en drinkwater wordt bemonsterd en geanalyseerd op de verschillende opportunistische ziekteverwekkers (kweek, qPCR, eventueel NGS op soortsniveau)
 - iii. Resultaten worden gebruikt voor nadere invulling van de onderwerpen beschreven in paragraaf 2.1.2 en 2.1.3
- B. Waar vindt de meeste groei van opportunistische pathogenen plaats, in het distributiesysteem of in de drinkwaterinstallatie?
- Eerder veldonderzoek heeft laten zien dat in de meeste gevallen de aantallen opportunistische pathogenen in direct getapt water aan de kraan hoger zijn dan in water na doorstroming. Er zijn echter ook enkele omgekeerde waarnemingen gedaan. Het aantal positieve monsters is echter (te) beperkt om betrouwbare uitspraken te doen over het verschil tussen distributiesysteem en drinkwaterinstallatie
 - Duidelijkheid hierover (i) laat zien welke rol het distributiesysteem (verantwoordelijkheid drinkwaterbedrijf) ten opzichte van drinkwaterinstallatie speelt in de vermeerdering van opportunistische pathogenen, (ii) kan gebruikt worden voor gericht onderzoek ecologie en (iii) laat zien waar beheersmaatregelen het meeste effect zullen hebben
 - Het onderzoek zou er als volgt uit kunnen zien:
 - i. Uitvoeren meetcampagne waarbij monsters worden genomen van water en biofilm in distributiesysteem en drinkwaterinstallaties die worden gevoed door distributiesysteem. Daarbij zou ook gekozen kunnen worden om ook prioritaire versus niet-prioritaire gebouwen mee te nemen. Deze meetcampagne kan worden uitgevoerd in combinatie met onderzoek op vraag A
 - ii. Monsters in de drinkwaterinstallatie dienen ook genomen te worden van de meest risicovolle locaties (bv biofilm en water uit douchekop, tuinslang, warm water deel van de leiding)
- C. Waarom zijn opportunistische pathogenen verhoogd aanwezig op bepaalde locaties in het distributiesysteem?
- Eerder onderzoek heeft laten zien dat opportunistische pathogenen sporadisch vóórkomen in het distributiesysteem, dus op de ene locatie wel en de andere niet. Een aantal locaties lijken daarbij een tijdelijke hotspot te zijn
 - Onduidelijk is waarom opportunistische pathogenen in verhoogde aantallen op sommige locaties aanwezig zijn en wanneer hotspots worden geïdentificeerd, zou een nadere inspectie van dergelijke locaties kunnen helpen om te achterhalen wat de mogelijke oorzaak is.

- Wanneer uit de resultaten van het onderzoek naar vraag A volgt dat een opportunistische pathogeen op bepaalde locaties is verhoogd, dan wordt voorgesteld om deze locaties nader te inspecteren:
 - i. Wat is de verblijftijd/afstand tot pompstation?
 - ii. Wat voor leidingmateriaal is gebruikt op die locatie en het gebied stroomopwaarts?
 - iii. Bevinden er zich obstakels die de hydraulica op die locatie beïnvloeden?
 - iv. Is de temperatuur verhoogd op die locatie?
 - v. Bevindt zich veel biofilm op leidingwand of sediment op die locatie?
 - vi. Wat is de biologische stabiliteit van het water op deze locatie?
 - vii. Wat is de oppervlakte/volume-verhouding van de leiding?
 - viii. Wat is de hydraulica in de leiding?
 - ix. Wat is de samenstelling van de autochtone microflora?
 - x. Zijn er eventuele verstoring geweest?
 - xi. Et cetera
 - Door dit op meerdere locaties te doen, wordt het hopelijk duidelijk welke factoren van invloed zijn op deze hotspotlocaties
- D. Wat is de invloed van geïnstalleerde apparaten (bv ontharders, waterfilters) in de drinkwaterinstallatie op opportunistische pathogenen?
- Consumenten plaatsen vaker apparaten in hun drinkwaterinstallatie omdat wordt geclaimd dat daardoor de waterkwaliteit verbeterd. Er zijn echter aanwijzingen dat dergelijke apparaten ook kan leiden tot verhoogde bacteriële groei en vóórkomen van opportunistische pathogenen
 - Duidelijkheid hierover kan door de drinkwaterbedrijven worden gebruikt om hun klanten te adviseren over het gebruik van dergelijke apparaten
 - Het onderzoek zou er als volgt uit kunnen zien:
 - i. Literatuuronderzoek
 - ii. De rol van deze apparaten op opportunistische pathogenen kan bijvoorbeeld op twee verschillende manieren worden onderzocht
 1. Citizen-scienceproject waar consumenten die een dergelijk apparaat hebben staan aan meewerken alsook consumenten die geen apparaat hebben staan. Deze consumenten nemen monsters en vervolgens worden analyses uitgevoerd door de citizen scientists en KWR
 2. Plaatsen van apparaten op drinkwater onder laboratoriumcondities en dan met opportunistische-pathogenendoseringen achterhalen wat de invloed is.

Fysisch-chemische condities

- D. Welke nutriënten en nutriëntenconcentraties bevorderen de groei van opportunistische ziekteverwekkers in het drinkwaterecosysteem?
- Opportunistische ziekteverwekkers zijn chemo-organoheterotroof (organische koolstofverbinding is energie- en koolstofbron).
 - De affiniteitsconstante (K_s) voor organische substraten is belangrijk om te achterhalen of deze micro-organismen in staat zijn te concurreren (en dus te groeien) in aanwezigheid van andere micro-organismen.
 - Naast koolstof hebben ze ook stikstof en fosfor nodig voor groei. Stikstof in de vorm van nitraat is in voldoende mate aanwezig in drinkwater. Onduidelijk is of P in vorm van fosfaat en/of organisch P ook altijd in voldoende mate aanwezig is.
 - Voorgesteld wordt om het onderzoek hiernaar te starten met een literatuuronderzoek naar:
 - i. Groeikinetiek opportunistische ziekteverwekkers
 - ii. Geschikte koolstofbronnen voor opportunistische ziekteverwekkers
 - iii. Geschikte fosforbronnen voor opportunistische ziekteverwekkers

- Vervolgonderzoek kan dan zijn:
 - i. Ks-waarden en $\mu_{\max}$ achterhalen met batchexperimenten waaraan geprioriteerde koolstofbronnen of fosforbronnen worden toegevoegd
 - ii. Biofilmexperimenten waaraan substraat wordt toegevoegd (vaste en wisselende concentraties)
 - iii. Biofilmexperimenten met BBM op locaties waar opportunistische pathogenen regelmatig zijn vastgesteld en die variëren in biologische stabiliteit
- E. Wat is de invloed van temperatuur op groei van opportunistische pathogenen onder normale condities in het distributiesysteem en drinkwaterinstallatie?
 - De invloed van temperatuur op groei van opportunistische pathogenen is eerder onderzocht onder semi-stagnante condities bij een constante temperatuur (range 15 tot 30°C)
 - De condities in het distributiesysteem en/of drinkwaterinstallatie zijn echter meestal anders:
 - i. De hydraulica is dynamischer
 - ii. Temperatuur is niet constant maar varieert
 - iii. Temperaturen zijn ook < 15°C of > 30°C (drinkwaterinstallatie)
 - Aanvullend onderzoek (veldonderzoek en laboratoriumonderzoek) kan de invloed onder 'normale' praktijksituatie ophelderen.
 - Veldonderzoek
 - i. Identificeer locaties in het distributiesysteem waar de temperatuur hoger is dan gemiddeld (zogenaamde hotspots) en bemonster biofilm, drinkwater en sediment van deze locaties (koppeling met 2.1.1A) en analyseer op de aanwezigheid van opportunistische pathogenen.
 - ii. Vergelijk de resultaten op deze hotspots met opportunistische pathogenen en temperatuur op 'normale' locaties.
 - Laboratoriumonderzoek
 - i. In eerder onderzoek lukte het niet om kolonisatie van de opportunistische pathogenen in een dynamisch biofilmsysteem te krijgen. Daarom wordt eerst achterhaald op welke manier opportunistische pathogenen een dynamisch systeem (biofilmmonitor) kan koloniseren (bv PVC-P, acetaatdosering, langdurige dosering, BBM)
 - ii. Het ontwikkelde dynamische systeem wordt vervolgens gebruikt om de invloed van verschillende constante drinkwatertemperaturen alsook variabel temperatuurpatroon te onderzoeken op aantallen opportunistische pathogenen in het systeem. De temperatuurpatronen en hydraulica zijn daarbij representatief voor distributiesysteem en drinkwaterinstallaties
- F. Wat is de invloed van hydraulica op groei van opportunistische pathogenen in het distributiesysteem en drinkwaterinstallatie?
 - Onderzoek heeft laten zien dat de hydraulica van invloed kan zijn op de groei van *L. pneumophila* in een drinkwaterbiofilm, maar in hoeverre hydraulica een rol speelt bij groei van andere opportunistische pathogenen is onduidelijk, hoewel BTO onderzoek heeft laten zien dat ze beter lijken te groeien onder semi-stagnante condities dan onder continue flowcondities
 - Duidelijkheid over de invloed van hydraulica geeft de mogelijkheid om gerichter mogelijke hotspots in het distributiesysteem (en drinkwaterinstallatie) te vinden en aan te pakken.
 - Dit aspect kan op de volgende manier worden onderzocht:
 - i. Literatuuronderzoek en gebruik van informatie uit 2.1.1 B en 2.1.1 C
 - ii. Onderzoek met KIVODIS en BBM de invloed van stilstand versus stroming op groei van opportunistische pathogenen in het distributiesysteem en drinkwaterinstallatie
 - iii. Onderzoek de invloed van tappatronen van een wijk op groei van opportunistische pathogenen met behulp van KIVODIS en BBM

Autochtone microflora

- D. Welke rol spelen gastheerprotozoa in de vermeerdering van opportunistische pathogenen?
- Voor veel opportunistische pathogenen is aangetoond dat deze zich zowel in bepaalde protozoa kunnen vermeerderen, maar ook zonder protozoa. Hierdoor blijft onduidelijk of protozoa een rol spelen bij vermeerdering van deze opportunistische pathogenen.
 - Wanneer protozoa de belangrijkste route voor vermeerdering zijn, dan spelen andere factoren (bijvoorbeeld biofilmconcentraties) een rol bij opportunistische pathogenen vermeerdering dan zonder protozoa (bijvoorbeeld directe groeisubstraten).
 - De rol van protozoa in de vermeerdering van opportunistische ziekteverwekkers kan op de volgende manier worden onderzocht:
 - i. Literatuuronderzoek, gevolgd door laboratoriumonderzoek:
 - ii. Semi-stagnante condities met leidingmateriaal in flessen waaraan autochtone microflora, autochtone microflora zonder protozoa en autochtone microflora met een gecultiveerde protozo (bv *Vermamoeba vermiformis*) zijn toegevoegd
 - iii. Vervolgens worden de opportunistische pathogenen gedoseerd aan de flessen en wordt groei van opportunistische pathogenen gevolgd in de tijd.
- E. Wat is de invloed van resilience/resistentie van de autochtone microflora op het voorkómen van groei van opportunistische pathogenen?
- Onduidelijk is hoe microflora reageert tijdens en na een verstoring (resistentie, resilience, functionele redundantie of verandering) in een distributiesysteem en in welke mate deze reactie een rol speelt bij het voorkómen van groei van opportunistische pathogenen
 - Dergelijke informatie is belangrijk want daarmee wordt duidelijk of verstoringen een belangrijke rol spelen bij vermeerdering van opportunistische pathogenen en als dat zo is dan kunnen beheersmaatregelen worden bedacht die verstoringen voorkómen.
 - Onderzoek naar deze aspecten zou er als volgt uit kunnen zien:
 - i. Breng in kaart welke verstoringen die kunnen optreden in het distributiesysteem of drinkwaterinstallatie mogelijk een invloed hebben op de autochtone microflora in het drinkwatersysteem (bureaustudie)
 - ii. Dien opportunistische pathogenen in verschillende concentraties toe aan een stabiele biofilm in een biofilmmonitor om na te gaan of en wanneer (bij welke concentratie) opportunistische pathogenen in staat zijn een stabiele biofilm te koloniseren
 - iii. Boots mogelijke verstoring van een stabiele biofilm na in het laboratorium en achterhaal of toegediende opportunistische pathogenen op die momenten in staat zijn de biofilm te koloniseren

Monitoren

- D. Welke relatief eenvoudig te meten parameter is een signaal voor groei van opportunistische pathogenen in het drinkwatersysteem?
- Uit eerder BTO onderzoek is gebleken dat de aanwezigheid en aantallen van opportunistische pathogenen in het Nederlandse drinkwater geen relatie lijkt te hebben met de wettelijke parameters voor nagroei of de biologische stabiliteit van het drinkwater.
 - Een indicatorparameter voor deze problematiek is echter wenselijk, zodat op een eenvoudige wijze gemonitord kan worden of problematiek met opportunistische pathogenen optreedt in het drinkwaterdistributiesysteem.
 - De beste indicator is om de hele range opportunistische pathogenen direct te kunnen meten:
 - i. Mogelijk biedt NGS van hele 16S rRNA gen hier mogelijkheden voor, omdat opportunistische ziekteverwekkers dan direct kunnen worden bepaald (is wel arbeidsintensieve en dure methode)

- ii. Andere optie is om multiplex qPCR of multiplex droplet PCR te ontwikkelen waarmee de geprioriteerde opportunistische pathogenen in een PCR reactie kunnen worden bepaald
- Ook kan gericht worden gezocht naar een indicatorparameter, waarvoor de volgende stappen nodig zijn:
 - i. Voer een meetcampagne uit om locaties te vinden waar opportunistische pathogenen voorkomen
 - ii. Bepaal bij detectie opportunistische pathogenen op die locatie ook fysisch-chemische parameters en doe NGS om de bacteriegemeenschap en eukaryote gemeenschap te bepalen
 - iii. Onderzoek of bepaald fysisch-chemische parameters, bacteriën en/of eukaryoten een duidelijk verband hebben met het voorkomen van opportunistische pathogenen
 - iv. Voer een tweede campagne uit waarin de geïdentificeerde parameters worden gevalideerd als indicator voor opportunistische pathogenen

Discussie met de projectgroep

De projectgroep is over het algemeen positief gestemd over de lijn van de onderzoeksvragen die is opgesteld ten aanzien van de hoofddoelstelling 'Begrijpen waarom opportunistische ziekteverwekkers in staat zijn zich te vermeerderen in het drinkwatersysteem'. De leden van de projectgroep hebben wel een aantal vragen gesteld en zaken meegegeven die nu nog worden gemist in de uitwerking van de onderzoeksvragen:

- In het onderzoek naar de drie verschillende matrices (drinkwater, leidingwand, sediment) dient ook meegewogen te worden dat de aanwezigheid in drinkwater een groter risico vormt dan aanwezigheid in de biofilm op de leidingwand, omdat het drinkwater bij de consument wordt afgeleverd.
- Een deelfactor bij veel van de onderzoeksvragen is dat de waterkwaliteit van de verschillende productielocatie verschillend is. Neem dat mee in de verschillende onderzoeken, bijvoorbeeld door onderscheid te maken in drinkwater bereid uit grondwater en drinkwater bereid uit oppervlaktewater.
- Bij de meetcampagnes die worden voorgesteld bij verschillende distributiesystemen en drinkwaterinstallaties kunnen monsters ook gericht worden genomen door gebruik te maken van leidingmodellen. Daardoor is het misschien mogelijk om locaties te selecteren waar de meeste en waar de minste opportunistische pathogenen worden verwacht.
- Bij een deel van de onderzoeken is het ook belangrijk te realiseren dat de fysisch-chemische condities en de autochtone microflora een seizoensvariatie laat zien, waardoor het nodig is om in meerdere seizoenen te meten.
- Op de meeste locaties is nitraat waarschijnlijk niet limiterend, maar de nieuwe zuiveringen van Oasen, waar nitraat voor een groot deel door RO uit het water wordt gehaald, kan stikstof misschien wel limiterend zijn voor microbiologische groei in het distributiesysteem.
- In veel van de laboratoriumonderzoeken worden monitoren toegepast die zich richten op de biofilm op de leidingwand. Daarmee wordt de sedimentmatrix genegeerd. Wanneer de resultaten van het eerste onderwerp laten zien dat sediment een belangrijkere niche is dan de leidingwand, dan dienen experimenten te worden uitgevoerd met sediment en niet met biofilmmonitoren.
- Niet alleen de stroomsnelheid en stagnatie is van belang in relatie tot hydraulica, maar ook de oppervlakte/volumeverhouding van de leiding. Neem dat ook mee in het onderzoek.
- Recent onderzoek heeft laten zien dat bepaalde micro-organismen in de biofilm onder invloed van bepaalde milieucondities cellen maken die gemakkelijk loslaten van de biofilm. Dat onderwerp is nog niet meegenomen in het voorgestelde onderzoek. Het zou goed zijn om hier literatuuronderzoek naar uit te voeren.
- In het resilience/resistentiedeel na een verstoring wordt voornamelijk gesproken over de samenstelling van de microbiële gemeenschap, maar mogelijk speelt de diversiteit (dat deels wordt ondervangen met de samenstelling) hierbij ook een belangrijke rol. Daarnaast is het ook de vraag wat het belang van diversiteit

is in de ontwikkeling van opportunistische pathogenen onder normale condities (zonder verstoring), waarbij het zou kunnen dat opportunistische ziekteverwekkers minder een kans maken als de bacteriegemeenschap (drinkwater, biofilm leidingwand, sediment) meer divers is.

Verder verloop project

De onderzoeksvragen die ten aanzien van deze tweede doelstelling zijn opgesteld, worden nog niet geprioriteerd, omdat daarvoor eerst de resultaten van het onderzoek naar de hoogst geprioriteerde doelstelling (risico van opportunistische pathogenen in drinkwatersystemen) worden afgewacht. Wanneer uit dat onderzoek blijkt dat verder onderzoek naar opportunistische pathogenen nodig is, kunnen de hier beschreven onderzoeksvragen in samenwerking met de themagroep worden geprioriteerd.

Op basis van de drie vergaderingen met de projectgroep en de terugkoppeling binnen de TG Biologische Veiligheid wordt een rapportage over de onderzoeksvisie Opportunistische Pathogenen geschreven en besproken met projectgroep en themagroep, waarna het rapport wordt aangepast en definitief wordt opgeleverd.