A network diagram consisting of various sized circles connected by thin lines, set against a blue background. The circles vary in size and are distributed across the page, with some larger circles and many smaller ones. The lines connect these circles in a complex, interconnected pattern.

KWR 2025.036 | mei 2025

**Modelleren van
Legionella anisa en
Aeromonas in
distributieleidingen in
stedelijke omgeving
onder invloed van
klimaatverandering**

Colofon

Modelleren van *Legionella anisa* en *Aeromonas* in distributieleidingen in stedelijke omgeving onder invloed van klimaatverandering

KWR 2025.036 | Mei 2025

Opdrachtnummer

404339-008 (fase 1 en 2); 404744 (fase 3)

Projectmanager

B. Bram Hillebrand, MSc

Opdrachtgever

DPWE (Begeleidingsgroep Infrastructuur)

Auteur(s)

Dr. J.R.G. (Joost) van Summeren, BA; dr. D. (Djordje) Mitrovic; dr. P.W.J.J. (Paul) van der Wielen

Kwaliteitsborger(s)

Dr. ir. E.J.M. (Mirjam) Blokker

Verzonden naar

Dit rapport is verspreid onder DPWE-participanten.

Een jaar na publicatie is het openbaar.

Keywords

Legionella, *Aeromonas*, drinkwaterdistributie, klimaat

Jaar van publicatie
2025

Meer informatie

dr. Joost van Summeren, BA

T +31 (0)6 54294828

E Joost.van.Summeren@kwrwater.nl

PO Box 1072
3430 BB Nieuwegein
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511

E info@kwrwater.nl

I www.kwrwater.nl

KWR

Mei 2025 ©

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.

Samenvatting

De microbiologische waterkwaliteit is in Nederland van hoge kwaliteit: hoogstaande zuiveringstechnieken en intensieve monitoring maken drinkwaterlevering mogelijk zonder toevoeging van desinfectiemiddelen.

De microbiologische waterkwaliteit tijdens distributie wordt beïnvloed door veel verschillende factoren, waaronder de ingaande waterkwaliteit (via nutriënten en de drinkwatertemperatuur), hydraulische omstandigheden (onder meer de verplaatsing van nutriënten en sediment) en veranderingen in de omgeving die via de bodemtemperatuur inwerken op de temperatuur van het drinkwater (klimaat, stedelijke omgeving en ondergrondse infra). Vanwege een snel veranderende omgeving, willen drinkwaterbedrijven weten hoe leidingnetontwerpen, klimaatverandering of stedelijke infrastructuur van invloed zijn op de microbiologische parameters die wettelijk moeten worden bepaald als indicatie voor nagroei en op de risico's op de groei van ziekteverwekkers. Een voorspellend model dat de microbiologische waterkwaliteit, hydraulica en omgeving met elkaar in verband brengt, biedt hiertoe mogelijkheden.

In het hier beschreven onderzoek is een eerste stap gezet om te komen tot een dergelijk voorspellend model. Het onderliggende doel was om de mogelijkheden en onmogelijkheden van een modelbeschrijving te verkennen en kennishiaten inzichtelijk te maken. Hiervoor is een rekenmethode ontwikkeld waarmee de groei van de wettelijke parameters *Legionella (anisa)* en *Aeromonas* wordt berekend. *L. anisa* is een minder gevaarlijke legionellasoort dan *L. pneumophila*, maar wordt vaker aangetroffen in het distributiesysteem, omdat deze bij lagere temperaturen kan groeien. Invoer voor de berekeningen zijn tijdreeksen van de lokale omstandigheden: temperatuur, biologisch afbreekbaar organisch koolstof (BDOC) en ijzergehalte. De samenhang van invoer- en modelparameters en de berekende uitkomsten is onderzocht met een gevoeligheidsstudie.

Uitkomsten van de gevoeligheidsanalyse tonen hoe in het model:

- warmere langere zomers resulteren in langere periodes met meer *L. anisa* en *Aeromonas*;
- hogere BDOC-concentraties resulteren in meer groei van *L. anisa* en *Aeromonas*;
- drinkwaterleidingen van PE (ten opzichte van PVC) *L. anisa* groei bevorderen;
- een hoger ijzergehalte de groei van *Aeromonas* bevordert.

Deze trends zijn ook daadwerkelijk waargenomen in drinkwatersystemen en daarmee lijkt het model dus in staat om trends in deze parameters te beschrijven. Het ontwikkelde rekenmodel zal echter, gezien de modelaannames en onzekerheden, voorlopig alleen kwalitatief inzicht geven in de groei van *Aeromonas* en *L. anisa* onder verschillende scenario's. De uitgevoerde studie benadrukt welk toekomstig onderzoek de zeggingskracht van het model kan vergoten: beter bepaalde temperatuurtrajecten van *L. anisa* en *Aeromonas* (optimumtemperatuur, steilheid van trajectcurve en minimum en maximum aantallen), kennis van de invloed van nutriënten op groei van *L. anisa* en *Aeromonas* en inzicht in de rol van sediment en organismen op de groei van *Aeromonas*.

Het ontwikkelde rekenmodel is aanpasbaar en uit te breiden met inzichten uit toekomstig microbiologisch onderzoek. De belangrijkste aanbevelingen voor doorontwikkeling zijn: (i) het doorvoeren van drie reeds geformuleerde verbeterpunten zodat het model beter aansluit bij bestaande kennis: inactiveren van hysteresis-effect benden 18°C voor *L. anisa*; toevoegen van de invloed van BDOC op *Aeromonas* in drinkwater bereid met oppervlaktewater; nabootsen een van vertraagde groei / afname van *L. anisa* en *Aeromonas* als gevolg van veranderingen in temperatuur en BDOC; (ii) het vergroten van de toepasbaarheid door het rekenmodel te koppelen aan een hydraulisch leidingnetmodel en; (ii) het valideren van modeluitkomsten door deze te vergelijken met meetgegevens van werkelijke leidingnetten.

Inhoud

Colofon	2
Samenvatting	3
Inhoud	4
1 Inleiding	6
1.1 Context	6
1.2 Modellen voor microbiële groei in hydraulische leidingnetten	7
1.3 Onderzoeksdoel	8
1.4 Leeswijzer en aanpak	9
2 Conceptueel model	10
2.1 Uitgangspunten modellering	10
2.2 Invloedfactoren op <i>L. anisa</i> en <i>Aeromonas</i>	11
3 Beschrijving kwantitatief model	17
3.1 Algemene opzet	17
3.2 Invloedfactoren op <i>L. anisa</i>	18
3.2.1 Algemeen	18
3.2.2 Invloed van temperatuur	18
3.2.3 Hysterese-effect	19
3.2.4 Invloed van BDOC en leidingmateriaal	20
3.2.5 AOC-concentraties als functie van bron- en zuiveringstype	21
3.3 Invloedfactoren op <i>Aeromonas</i>	21
3.3.1 Invloed van temperatuur	22
3.3.2 Invloed van BDOC en ijzer	22
3.3.3 Invloed van sediment en <i>Asellus</i>	23
3.4 Ontwikkeling Python-script	24
4 Gevoeligheidsanalyse	25
4.1 Scenario's	25
4.2 Resultaten	27
4.2.1 Invloed drinkwatertemperatuur	27
4.2.2 Invloed optimum temperatuur en steilheid temperatuurtraject	27
4.2.3 Invloed BDOC- en ijzergehalte	28
5 Discussie	30
5.1 Algemeen	30
5.2 Belang van kennis temperatuurtrajecten en sediment	30

5.3	Mogelijkheden voor doorontwikkeling van het rekenmodel	31
5.4	Modeluitkomsten in context van uitwisseling micro-organismen biofilm en water	31
5.5	Koppelen aan leidingnetmodel	31
5.6	Validatie met praktijkmetingen en proefopstellingen	32
6	Conclusies	34
7	Aanbevelingen voor doorontwikkeling en vervolgonderzoek	35
8	Literatuur	37

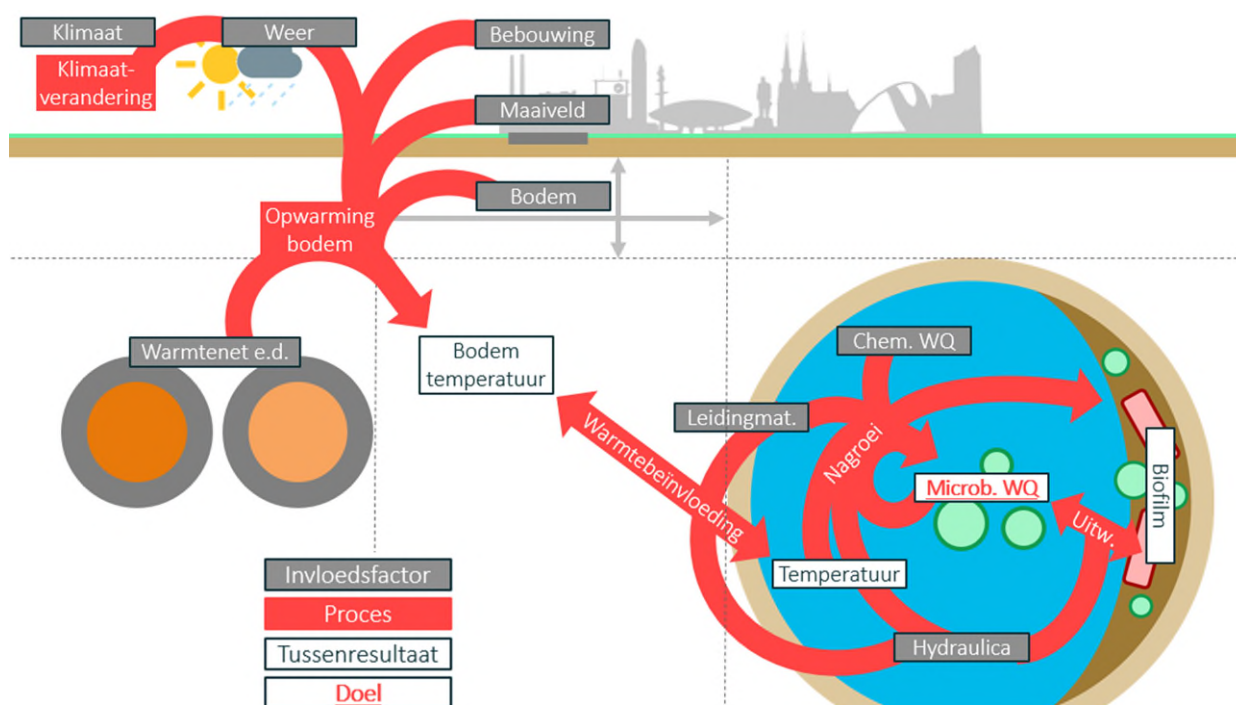
1 Inleiding

1.1 Context

De Nederlandse Drinkwaterwet stelt dat de temperatuur van drinkwater aan de tapkraan niet boven de 25°C mag uitkomen (Drinkwaterwet, 2011). Deze wettelijke bovengrens is mede gesteld om microbiologische waterkwaliteitsproblemen te voorkómen, wat relevant is voor de volksgezondheid en klantcomfort (geur-, kleur-, en smaak). Zo kunnen bij hogere temperaturen opportunistische ziekteverwekkers gaan groeien, waardoor bijvoorbeeld meer *Legionella*-overschrijdingen kunnen optreden. En als zomerse periodes langer aanhouden, leiden langere groeiperiodes van ongewervelde dieren (invertebraten) en *Aeromonas*-bacteriën, mogelijk tot meer *Aeromonas*-overschrijdingen in de toekomst. Drinkwaterbedrijven willen weten wat de risico's zijn van een verminderde microbiologische waterkwaliteit onder verschillende (toekomstige) omstandigheden en welk handelingsperspectief zij hebben om risico's te beperken. Concreter: moeten drinkwaterbedrijven hun leidingnetten anders ontwerpen (vertakt/vermaasd; keuze leidingdiameters; keuze materiaalsoort, enz.) anders aanleggen (vermijden hotspots; in schaduw; onder gras; dieper; enz.) of zich richten op zuiveringsprocessen en de ingaande waterkwaliteit, om onder klimaatverandering de (huidige) waterkwaliteit te blijven garanderen.

Door veranderingen in de leefomgeving (klimaatopwarming, verstedelijking en toenemende drukte in de ondergrond) neemt het risico op overschrijdingen van de 25°C-norm toe en is de drinkwatertemperatuur een opkomend punt van zorg (Agudelo-Vera et al., 2020; Agudelo-Vera et al., 2015). Om risico's en oplossingsrichtingen te bepalen zijn betrouwbare en voldoende precieze inschattingen van de microbiologische activiteit in het distributiesysteem nodig. Vanwege de sterke relatie met de omgeving is er behoefte aan een integraal raamwerk waarbij de relatie tussen omgeving, distributiesystemen, en de microbiologie van het drinkwater kan worden onderzocht. Een integraal model maakt het mogelijk om de microbiologische risico's in te schatten voor zowel huidige situaties en toekomstige scenario's, oorzaken van deze risico's te bepalen en oplossingsrichtingen te bepalen.

Een modelbeschrijving wordt echter bemoeilijkt door het grote aantal, soms onbekende, invloedfactoren en processen (Figuur 1). De groei van micro-organismen in water en aan de leidingwand bestaat uit een complexe wisselwerking waarbij de (nutriënten)samenstelling, temperatuur van het water en verblijftijd een rol spelen. Om deze groei in een leidingnet te bepalen zijn ook de eigenschappen van stromend drinkwater (temperatuur, stroomsnelheid, sediment, etc) van belang, die moeten worden ingeschat voor een complex en beperkt toegankelijk leidingstelsel. De drinkwatertemperatuur wordt bovendien beïnvloed door de eigenschappen van de bodem, de bovengrondse omgeving, weersomstandigheden en klimaat.



Figuur 1. Schematische voorstelling van het vraagstuk waarin kennis van microbiële groei in drinkwaterleidingen (rechtsonder) centraal staat. Relevante invloedsfactoren en processen zijn weergegeven met de grijze en rode tekstbalkjes; deze hebben betrekking op de ondergrondse infrastructuur (bodemsomstandigheden, warmtenetleidingen, elektriciteitskabels, enz.) en klimaat en stedelijke omgeving. De grijze pijlen en stippellijnen verwijzen naar diepteligging en de afstand tussen warmtebronnen en drinkwaterleidingen. Credits afbeelding: Karel van Laarhoven (KWR).

1.2 Modellen voor microbiële groei in hydraulische leidingnetten

Hieronder beschouwen we voorgaand onderzoek waarin rekenmodellen voor de microbiologische waterkwaliteit zijn gekoppeld aan hydraulische leidingnetmodellen. In drinkwaterdistributie-onderzoek is het gangbaar om de hydraulische omstandigheden in te schatten met hydraulische leidingnetmodellen, zoals EPANET (Rossman, 2000). Met rekenpakketten zoals EPANET-MSX is het ook mogelijk om het transport van meerdere chemische stoffen door een leidingnet te volgen en reacties of uitwisseling met de leidingwand te berekenen (Shang et al., 2008). Met een door KWR ontwikkelde methode die uitgaat van inert stoftransport is de bron van een mogelijke chemische verontreiniging te herleiden (Van Thienen & Vries, 2013). Deze methode is ook succesvol ingezet bij het opsporen van de bron van een werkelijk opgetreden *E. coli* besmetting in een Nederlands leidingnet (Blokker & Van Summeren, 2017).

Een eerste generatie mechanistische¹ modellen voor microbiologische groei in drinkwatersystemen stamt uit de jaren 1990. Deze modellen waren gericht op de biofilms in water- en afvalwaterzuiveringsprocessen en hadden als nadeel een groot aantal modelparameters die de modellen erg complex maakten, en niet allemaal een sterke invloed hadden op bacteriegroei in de waterfase (Gagnon et al. (1997) en referenties daarin). Zhang et al. (2004) bouwde hierop voort door een wiskundig model voor bacteriële groei in de waterfase en de biofilm te combineren met hydraulische leidingnetberekeningen. De aangenomen bepalende factoren voor bacteriegroei waren concentratie van biologisch afbreekbare organische koolstof, temperatuur en chloorconcentratie. Berekeningen uitgevoerd op een klein fictief netwerk met vijf leidingen toont de zeer dynamische verbanden tussen de

¹ Mechanistische modellen beschrijven de causaliteit van invoer-uitvoer verbanden waarbij een deel van de realiteit deductief wordt beschreven met de (aangenomen) meest relevante onderliggende mechanismes. Machine learning modellen daarentegen voorspellen de uitkomst van complexe mechanismes door relevante in- en uitvoergegevens te analyseren en inductief statistische verbanden te leggen. Hybride modellen vormen een synergie tussen mechanistische en data-driven modellen.

genoemde invloedfactoren en het belang van dispersie op de verspreiding van bacteriën in de waterfase in leidingen met zeer lage stroomsnelheden. De modeluitkomsten zijn niet gevalideerd met veldmetingen. Rubulis et al. (2007) pasten dit bacteriële groeimodel toe op een enkele leiding in een gevoeligheidsstudie, ook zonder validatie met veldmetingen.

Blokker et al. (2014) stellen dat het niet verantwoord is om het gedetailleerde model van Zhang et al. (2004) en Rubulis et al. (2007) toe te passen omdat modelvalidatie niet mogelijk is en sommige processen m.b.t. de biofilm of bacteriën niet goed zijn begrepen. Daarom versimpelen zij het model van Rubulis et al. (2007) tot een beschrijving van groei van micro-organismen in alleen de waterfase (niet de biofilm) en met als enige invloedparameter de temperatuur. De drinkwatertemperaturen zijn berekend met het door KWR ontwikkelde bodemtemperatuurmodel BTM (Blokker & Pieterse-Quirijns, 2013) waarin de eigenschappen van de bodem en bovengrondse omgeving en in de tijd variërende weersomstandigheden zijn verdisconteerd (Blokker et al., 2024; Van Esch, 2022). Dit groeimodel is toegepast op een hydraulisch model van het leidingnet van Eindhoven. De berekende aantallen bacteriën geven kwalitatief inzicht in de degradatie van de waterkwaliteit en zijn gevalideerd met *Aeromonas*-metingen. De berekende aantallen variëren sterk gedurende de dag en tussen verschillende dagen vanwege de diurnale verbruikspatronen. De sterke variatie illustreert de beperkte zeggingskracht van veldmetingen indien de variatie in de tijdstippen van meten beperkt of onbekend blijft. De auteurs benadrukken dit als cruciaal aandachtspunt voor het ontwikkelen en testen van meetprogramma's.

In Blokker (2017) is een conceptueel model opgesteld dat de hoeveelheid actieve biomassa in biofilm en het effect daarvan op de waterkwaliteit beschrijft. Het model richt zich op de instandhouding (maintenance) van biofilms; het loslaten van biofilms; en de condities waaronder loslaten van biofilm optreedt. De uitkomsten laten onder meer zien dat bij een bepaalde concentratie voedingsstoffen, die ook nog zeer beperkt afneemt over de lengte van het leidingnet, de biofilmdichtheid overal gelijk is, ongeacht de stroomsnelheid en leidingdiameter. Met betrekking tot loslaten van biofilm, lijkt het risico van loslaten (en daarmee op verhoging van de hoeveelheid biofilm bij een klant) groter voor kleinere leidingdiameters. Deze studie toont verder aan dat meer inzicht nodig is in parameters die de maintenance van de biofilm beïnvloeden.

1.3 Onderzoeksdoel

Het in dit rapport beschreven onderzoek heeft als doel een eerste stap te zetten in het ontwikkelen van een rekenmodel voor de groei van micro-organismen in drinkwaterdistributiesystemen. Vanwege de onzekerheden en complexiteit van het vraagstuk is de doelstelling niet om een rekenmodel te ontwikkelen dat kwantitatieve en betrouwbare uitspraken doet over de microbiologische waterkwaliteit in een heel leidingnet, maar om gevoel te krijgen voor op elkaar inwerkende invloedfactoren en welke stappen nodig zijn om de betrouwbaarheid van het model in de toekomst te vergroten. De ontwikkeling van het rekenmodel moet gezien worden als eerste stap in een langer onderzoekstraject, waarin het vakgebied van microbiologisch en distributie-onderzoek dichter bij elkaar komen. Met een rekenmodel kunnen bestaande kennishiaten inzichtelijk worden gemaakt en kan richting gegeven worden aan (microbiologisch) vervolgonderzoek. Ook kunnen met een rekenmodel allerlei scenario's (klimaat; stedelijke omgeving; enz.) worden doorgerekend en het effect van verschillende beheersmaatregelen beoordeeld (schaduw; oppervlaktebedekking; diepteligging; leidingnetstructuur; ingaande waterkwaliteit (in relatie tot zuiveringsprocessen); enz.). In dit onderzoek is een in situ rekenmodel ontwikkeld voor aantallen *Legionella anisa* en *Aeromonas* op de leidingwand (in de biofilm of op sediment). Er is voor deze twee organismen gekozen omdat het wettelijke waterkwaliteitsparameters zijn.

1.4 Leeswijzer en aanpak

In dit onderzoek is de volgende aanpak gevolgd.

1. *Opstellen van conceptueel model (Hoofdstuk 2)*

Tijdens een workshop met de DPWE-begeleidingsgroepen *Infrastructuur* en *Waterkwaliteit* zijn de uitgangspunten van het model opgesteld (§2.1). Een van de uitgangspunten was om de modelbeschrijving te richten op de wettelijke waterkwaliteitsparameters *Legionella* en *Aeromonas*. Vanuit gezondheidskundig oogpunt is *L. pneumophila* belangrijk als veroorzaker van de veteranenziekte. De focus van het onderzoek ligt echter op *L. anisa*. Dit is een minder gevaarlijke legionellasoort, maar wordt vaker aangetroffen in het distributiesysteem, omdat deze bij lagere temperaturen kan groeien. Op basis van deze uitgangspunten en met een literatuurstudie van microbiologisch onderzoek is een conceptueel model opgesteld (§2.2). Het conceptuele model beschrijft de belangrijkste invloedfactoren en processen kwalitatief (richting en sterkte) en maakt duidelijk waar nog relevante informatie ontbreekt.

2. *Uitwerken van een kwantitatief rekenmodel (Hoofdstuk 3)*

Het conceptuele model is uitgewerkt tot een rekenmodel met exacte wiskundige relaties en gekwantificeerde modelparameters waarvan ook het plausibele bereik is bepaald.

3. *Gevoeligheidsanalyse & scenarioberekeningen (Hoofdstuk 4)*

Met het rekenmodel is een gevoeligheidsanalyse uitgevoerd om de samenhang van factoren en processen te onderzoeken.

De Hoofdstukken 5, 6 en 7 bevatten de discussie, conclusies en aanbevelingen van het onderzoek.

2 Conceptueel model

2.1 Uitgangspunten modellering

Tijdens een workshop op 1 maart 2023 bij KWR met experts van de DPWE-themagroepen Distributie en Waterkwaliteit is het conceptuele model ingekaderd. De opgestelde uitgangspunten worden hieronder beschreven.

Niet-gechloord drinkwater

In tegenstelling tot veel plekken in het buitenland worden in Nederland geen desinfecterende stoffen zoals chloor toegevoegd aan het leidingwater. Dit is van invloed op de microbiologie van het water. Dit onderzoek gaat uit van desinfectievrij drinkwater, representatief voor de Nederlandse situatie. Daarmee is een groot deel van de internationale literatuur helaas beperkt bruikbaar.

Focus op distributienet

Het leidingnet vanaf de (drinkwater)productielocatie wordt beschouwd tot aan de aansluitleiding. Aansluitleidingen en de drinkwaterinstallatie vallen buiten de scope van het onderzoek.

Geen mengwater

De variatie in biologische activiteit aan de leidingwand en in het water kan worden versterkt door de aanvoer van meerdere watersoorten met verschillende samenstelling. Om de precieze effecten van menging van watertypen op de microbiologische waterkwaliteit te achterhalen, is meer onderzoek nodig (zie Hoofdstuk 4 in Van Summeren et al. (2014) en referenties daarin). Specifiek voor aantallen *Aeromonas*, concludeert Van Charante (2023) dat de precieze invloed van mengeffecten van drinkwater bereid uit verschillende bronnen nog onvoldoende is opgehelderd. Mengeffecten van meerdere watersoorten zijn daarom buiten de scope van het onderzoek gehouden; alleen water afkomstig van één leveringspunt wordt beschouwd.

Focus op Legionella anisa en Aeromonas

De modellering wordt toegespitst op de wettelijke parameters *Legionella anisa* en *Aeromonas*. Voor de wettelijke parameters zijn meer meetgegevens beschikbaar en dit biedt meer perspectief op validatie. Een interessante toekomstrichting is onderzoek naar het modelleren van opportunistische ziekteverwekkers en het leggen van de relaties met gezondheid, maar dit valt buiten de scope van het huidige onderzoek.

Veralgemeenen gedrag L. anisa met kennis van L. pneumophila

Afgezien van de invloed van temperatuur is voor *L. anisa* slechts beperkt kennis beschikbaar. Daar waar kennis over *L. anisa* ontbreekt, maar wel kennis over *Legionella* in het algemeen of *L. pneumophila* beschikbaar is, wordt deze kennis veralgemeeniseerd en toegepast op *L. anisa*. In afwachting van meer kennis over *L. pneumophila* is dit een verdedigbaar startpunt. Wel moet hier rekening mee worden gehouden in de interpretatie van de resultaten.

Maintenance fase van de biofilm

De ontwikkeling van de biofilm bestaat uit drie opeenvolgende fasen: exponentiële groei, lineaire groei, en stationair (Van der Kooij et al., 1995). In de stationaire fase is de biofilm in evenwicht met de omgeving. Deze fase wordt ook wel *maintenance fase* (instandhouding) genoemd en in niet-gechloord drinkwater wordt deze fase na zo'n drie maanden bereikt (Van der Kooij et al., 1995). Dit onderzoek beschouwt alleen de maintenance-fase; de groeifase en het loslaten van biofilm door bijvoorbeeld hydraulische verstoringen vallen buiten de strekking van het model.

In werkelijke leidingnetten zijn de omstandigheden zelden stationair, vanwege bijvoorbeeld dag/nacht-variaties in de temperatuur en stroomsnelheden die tijdens de dag variëren met het verbruik van klanten. Feitelijk gaat het dus om een dynamisch of *quasi*-stationair evenwicht, waarbij variaties op korte tijdschaal worden verwaarloosd. De maintenance-fase zal echter overheersen in leidingen die meestal meerdere decennia in de ondergrond liggen en waarvoor de relevante condities voor groei (aanvoer nutriënten, temperatuur, stroomcondities) klein is. Op de diepte van drinkwaterleidingen (ca. 1 meter) verandert de temperatuur veel minder sterk dan aan het maaiveld, max. 1°C per dag.

Verwaarlozen uitwisseling van biomassa tussen biofilm en waterfase

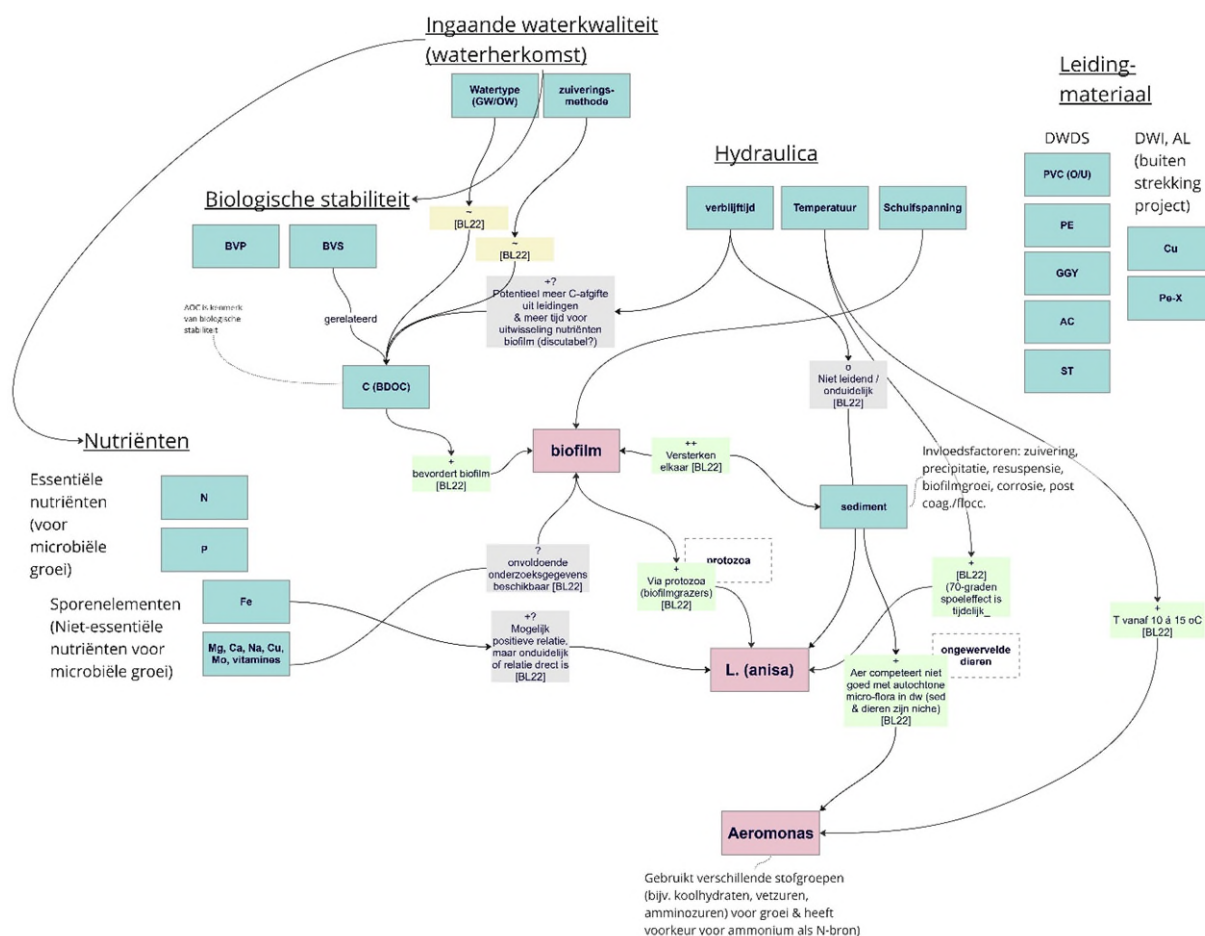
Het model verwaarloost nagroei in de waterfase en de netto uitwisseling van biomassa tussen de (maintenance) biofilm op de leidingwand en micro-organismen in de waterfase. Dit lijkt een redelijk uitgangspunt voor normale operatie van het distributiesysteem: experimenteel onderzoek naar de uitwisseling van bacteriën of *L. pneumophila* toont slechts beperkte uitwisseling van bacteriën in de biofilm en de waterfase en bovendien gelijke uitwisseling bij verschillende stroomsnelheden (0,2 en 0,5 m/s) (Learbuch, 2018). Het bovenstaande sluit overigens niet uit dat uitwisseling tussen biofilm en de waterfase *wel* plaatsvindt bij lange contacttijden in (bijna) stilstaand drinkwater, maar dit wordt niet gemodelleerd.

Experimenteel onderzoek wijst op *andere* bepalende mechanismes voor de groei van *Legionella* en *Aeromonas* dan de uitwisseling tussen waterfase en biofilm. In het distributienet komen *Aeromonas*-bacteriën voornamelijk voor in het sediment en in mindere mate in drinkwater en zijn ze nagenoeg afwezig in de biofilm (Van Bel & Learbuch (2022)) verwijzend naar experimenteel onderzoek van (Learbuch (2018); Liu et al. (2017)). Groeiproeven suggereren dat *Aeromonas* meestal niet of nauwelijks kan groeien in drinkwater in aanwezigheid van een concurrerende autochtone flora en zonder toevoeging van een koolstofbron (Van Der Kooij et al. (1980); Van Bel et al. (2021)). Ook *Legionella* kan in de nutriëntarme omgeving van drinkwater niet als losse bacterieel succesvol de competitie aangaan met andere oligotrofe bacteriën; in plaats daarvan vermenigvuldigt *Legionella* zich in verschillende soorten gastheerprotozoa. Als het aantal Legionellabacteriën te hoog wordt, barst de protozo open en komen de Legionellabacteriën vrij in het drinkwater, waarna ze zich aan de biofilm kunnen binden waarop de protozoa grazen.

Vanwege de aanname om microbiologische uitwisseling tussen waterfase en biofilm te verwaarlozen, is het model *in situ*: de groei en maintenance van bacteriën aan de wand wordt bepaald door *lokale* omstandigheden zoals temperatuur en nutriëntconcentraties. De microbiële groei en maintenance is alleen op indirecte wijze afhankelijk van het stromende water (als dragende medium van de lokale omstandigheden), maar niet afhankelijk van de microbiologie van het langstromende water.

2.2 Invloedfactoren op *L. anisa* en *Aeromonas*

Op basis van een literatuurstudie is een overzicht opgesteld van belangrijke invloedfactoren op *L. anisa* en *Aeromonas* in niet-gechloreerde drinkwaterdistributiesystemen. In Figuur 2 zijn de invloedsfactoren geschematiseerd weergegeven en onderverdeeld in een aantal aspecten (leidingmateriaal, ingaande waterkwaliteit, biologische stabiliteit en nutriënten). Tabel 1 bevat beknopte onderbouwingen met referenties, grotendeels gebaseerd op de bureaustudie van (Van Bel & Learbuch, 2022). Voor de modelaanpak is het nodig om veel details te negeren.



Figuur 2. Roze kaders: sleutelparameters (inclusief biofilm vanwege de grote invloed op Legionella. Blauwe kaders: belangrijkste invloedsfactoren. Pijlen geven richting van beïnvloeding weer. Daarbij is aangegeven: geel (*): modulatie; grijs (?): geen duidelijkheid over correlatie; groen (+): positieve correlatie.

Leidingmateriaal

Het leidingmateriaal is relevant vanwege de vrijkomende stoffen die een voedingsbodemp kunnen vormen voor micro-organismen (samen met andere bronnen zoals nutriënten uit het leidingwater of sediment). Uit microbiologische groei-experimenten zijn voor een aantal courante leidingmaterialen (PVC, PE) waarden voor de biofilmvormingspotentie (BVP) bekend; en uit onderzoek blijkt een significante correlatie tussen het gehalte oplosbaar organisch koolstof (AOC) en de BVP van drinkwater (Van der Kooij & Veenendaal, 2011). Voor andere leidingmaterialen (zoals grijs gietijzer, AC en staal) of de invloed op *Aeromonas* is in de geraadpleegde literatuur geen informatie gevonden. In §3.2.4 is de invloed van PVC en PE op *L. anisa* kwantitatief uitgewerkt.

Hydraulische omstandigheden en temperatuur

Lage snelheden of stilstaand water betekenen een lange contacttijd en bevorderen zodoende het weglekken van stoffen uit de leidingwand. Ook is er meer tijd voor bacteriën aan de wand om de in het drinkwater aanwezige nutriënten af te breken. Uit onderzoek met een proefopstelling met stromend drinkwater blijkt dat verschillende hydraulische regimes niet leiden tot verschillende dichtheidsverdelingen van micro-organismen tussen water en biofilm en geen invloed hebben op de microbiële populatie (Learbuch, 2018). Daarom is de stroomsnelheid opgenomen in het rekenmodel.

De temperatuur is een belangrijke parameter met betrekking tot microbiële groei (Tabel 1). Specifieke temperatuurafhankelijkheden zijn uitgewerkt voor *L. anisa* (zie §3.2.2 en §3.2.3) en *Aeromonas* (§3.3.1). In het model is de drinkwatertemperatuur gelijk gesteld aan de lokale bodemtemperatuur. De temperatuur van leidingwater neemt in veel gevallen binnen enkele uren de temperatuur aan van de omliggende bodem langs het

stroomtraject (Blokker & Pieterse-Quirijns, 2013). Impliciet gaat het model er vanuit dat bodemtemperatuurveranderingen langs het traject geen invloed hebben op de lokale drinkwatertemperatuur; de drinkwatertemperatuur wordt bepaald door de temperatuurcondities ter plaatse.

Nutriëntensamenstelling

De groei van biofilm kan op een complexe manier afhangen van de beschikbare nutriënten. Daarbij gaat het niet alleen om welk specifiek nutriënt aanwezig is, maar ook om de gehele nutriëntensamenstelling.

Voor alle micro-organismen is koolstof essentieel voor het maken van nieuw celmateriaal. In het model is de koolstofconcentratie (uitgedrukt als bioafbreekbaar organisch koolstof, BDOC) als invloedfactor op *L. anisa* en *Aeromonas* gemodelleerd (§3.2.4 en 3.3.2). Andere belangrijke nutriënten zijn stikstof en fosfaat. Specifiek voor *Aeromonas*-bacteriën geldt dat zij ammonium (NH₄) gebruiken als stikstofbron, waar de meeste bacteriën nitraat als enige stikstofbron gebruiken. Verder beïnvloeden sporenelementen zoals ijzer, mangaan en/of koper de biofilmmontwikkeling in drinkwaterdistributiesystemen.

In het algemeen kunnen lage concentraties metaalionen (zoals Mg, Mn, Cu, Fe, Zn en Ca) als sporenelementen groeibevorderlijk zijn voor bacteriën, maar te hoge concentraties zijn vaak toxisch, waarbij het omslagpunt rond 1 tot 10 mg/L ligt. De relatie van metaalionen met bacteriegroei, onderzocht voor *L. pneumophila*, is meestal niet duidelijk of resultaten van verschillende studies spreken elkaar tegen. Specifiek voor *L. anisa* geldt dat ijzer (Fe) de groei kan bevorderen, maar onduidelijk is of deze relatie direct is. De invloed van metaalionen voor *Legionella* is daarom buiten het model gehouden. De invloed van ijzer op *Aeromonas* is bekend en gemodelleerd (zie §3.3.2). *L. pneumophila* kan zich vermeerderen op een aantal aminozuren zoals serine en tyrosine, maar dit gebeurt alleen bij hogere concentraties dan die in drinkwater worden waargenomen. De invloed van aminozuren zijn daarom niet opgenomen in het model.

Koolstofgehalte

Er is een significante correlatie waargenomen tussen het AOC-gehalte in drinkwater en de biofilmvormingspotentie (BVP) en op basis hiervan is geconcludeerd dat AOC in drinkwater een belangrijk nutriënt is voor biofilmvorming op leidingwanden (Van Bel & Learbuch, 2022). Met AOC wordt in deze rapportage AOC-P17/NOX bedoeld, dat wil zeggen de AOC-concentratie die wordt gemeten met de bacteriestammen P17 en NOX.

In voorgaand onderzoek is een correlatie waargenomen tussen AOC en BDOC en tussen AOC en TOC (totale organische koolstof). Deze concentraties van organisch materiaal worden in belangrijke mate bepaald door de kwaliteit van het ingaande water die samenhangt met het brontype van het drinkwater en de zuiveringsprocessen. Nagroei in het distributienet beïnvloedt de concentraties slechts in beperkte mate (Van der Kooij, 2002). Uit leidingmaterialen kunnen wel stoffen vrijkomen die groei van micro-organismen veroorzaakt.

Niche van Legionella en Aeromonas

Legionella-bacteriën vermenigvuldigen zich voornamelijk in protozoa (biofilmgrazers). *Legionella* gebruikt meestal niet direct AOC in drinkwater als voedingsstof. AOC is wel indirect van invloed: het bepaalt mede de concentratie biofilm, de soortensamenstelling en de aantallen protozoa, en de hoeveelheid *L. pneumophila* correleert hiermee. In Nederlandse drinkwatersystemen is meestal voldoende AOC en biofilm aanwezig voor de vermeerdering van *Legionella*.

In de relevante literatuur is gevonden dat AOC een relatie gaf met *Legionella*-groei (zie Hoofdstuk 3), daarom is biofilmgroei niet expliciet gemodelleerd. De indirecte rol van biofilm zit besloten in de gemodelleerde AOC-*Legionella* relatie en in de maintenance-aanname (zie §2.1).

Aeromonas concurreert niet met autochtone microflora in drinkwater. Sediment en ongewervelde dieren vormen de niche voor *Aeromonas*. Het gebruikt verschillende stofgroepen (bijvoorbeeld koolhydraten, vetzuren, aminozuren) voor groei en ammonium als stikstofbron.

Voor *Aeromonas* zijn er aanwijzingen dat de bacterie overleeft op of in *Asellus* en dat sediment hierbij een belangrijke rol speelt (als voorwaarde voor het vóórkomen van *Aeromonas*). In het model ligt deze cyclus met *Asellus* indirect besloten in de temperatuurafhankelijkheid, maar is de cyclus niet expliciet gemodelleerd. Ook is het sediment niet gemodelleerd, omdat nog veel onduidelijk is over hoe de hoeveelheid sediment, de chemische samenstelling of de (verdeling van) deeltjesgrootte van het sediment direct of indirect van invloed is op *Aeromonas*.

Tabel 1. Overzicht van invloedfactoren op *Legionella (anisa)* en *Aeromonas*. "BL22" verwijst naar (Van Bel & Learbuch, 2022) en referenties daarin (na het koppelteken). Invloeden die onderdeel vormen van het rekenmodel zijn dikgedrukt weergegeven.

	Invloedfactor	Beïnvloedde parameter	Relatie & waardes	Referentie
Ingaande waterkwaliteit / biologische stabiliteit	Herkomst drinkwater & drinkwater-behandeling	AOC	AOC-concentraties in Nederlands drinkwater variëren van < 1 µg C/l voor drinkwatertypen bereid uit grondwater tot ca. 20 µg C/l voor drinkwatertypen gezuiverd met ozonatie en actieve-koolfiltratie. (*) Onderverdeling AOC (1 µg C/l) naar brontype (**): - Oxisch GW: <3 - Anoxisch GW 5-7 - Oevergrondwater <10 - OW na duinfiltratie <5 - OW na reservoir <20 Samenstelling AOC is niet vast te stellen vanwege zeer lage concentraties.	* [BL22-6,7,31] ** [BL22-7]
	Herkomst drinkwater & drinkwater-behandeling	BVS	BVS-waardes variëren van < 1 pg ATP cm ⁻² d ⁻¹ voor drinkwater bereid uit sommige oxische grondwaterbronnen tot 30 pg ATP cm ⁻² d ⁻¹ voor drinkwater bereid uit sommige anoxische grondwaterbronnen. Onderverdeling BVS (pg ATP cm ⁻² d ⁻¹) naar brontype: - Oxisch GW: <3 - Anoxisch GW: <30 - Oevergrondwater: <20 - OW na duinfiltratie: <10 - OW na reservoir: <20	* [BL22-6,7,31] ** [BL22-7]
Nutriënten	AOC	BVP	Significante correlatie tussen AOC-gehalte en BVP. Op basis hiervan wordt geconcludeerd dat AOC in drinkwater een belangrijk nutriënt is voor biofilmvorming in het distributiesysteem. (*)	* [BL22]
	AOC	Biofilm	Biofilms volgroeien sneller bij hogere AOC-concentraties. (*) Essentieel voor alle micro-organismen. (**) Voor biologisch stabiel water geldt: AOC < 10 µg/l. (***)	* (Pick, 2021) ** [BL22-5] *** [BL22-6]
	AOC, Biofilm	<i>Legionella</i>	<i>Legionella</i> vermenigvuldigt zich voornamelijk in (specifieke) protozoa (biofilmgrazers). <i>Legionella</i> gebruikt AOC in drinkwater meestal niet direct als voedingsstof, maar het aantal (kweekbare) <i>L. pneumophila</i> bacteriën is gecorreleerd aan de biofilmconcentratie, dat weer gecorreleerd is aan de AOC-concentratie van drinkwater. Aan de eerste vereiste (minimale biofilm van 50 pg ATP/cm²) en AOC-concentraties (>1 µg C/l) wordt meestal voldaan in distributienetten.	[BL22, par. 4.1,-4.2]

	Invloedfactor	Beïnvloedde parameter	Relatie & waardes	Referentie
	Essentiële elementen - C (koolstof), AOC; - N (stikstof); - P (fosfor) in de vorm van PO ₄ (fosfaat).	Biofilm	Essentieel voor microbiële groei; over het algemeen hebben bacteriën van deze drie nutriënten dezelfde hoeveelheid nodig. (*) De meeste bacteriën zijn in staat om nitraat als enige stikstofbron te gebruiken, maar sommige bacteriën (bijvoorbeeld <i>Aeromonas</i>) gebruiken ammonium (**).	* [BL22-4] ** [BL22-5, 18]
	Sporenelementen: Mg, Ca, Na, Cu, Mo, Fe, vitamines	Biofilm	Verschilt per bacteriesoort, hoeveel van deze elementen nodig zijn voor groei.	[BL22-5]
	Fe-hydroxide	Biofilm	Fe-hydroxide is aanwezig in alle drinkwatertypen, maar oplosbaarheid is zeer gering (<< 1 µg/L) in water met een pH van ca. 8. Fe-hydroxide adsorbeert op de buiswand en bindt met negatief geladen NOM en biomassa. (*) De aanwezigheid van Fe-hydroxide versterkt de accumulatie van biomassa in biofilm, mogelijk door moeilijk afbreekbare organische verbindingen aan zich te binden, die een extra nutriënt voor biofilmgroei vormen. (**)	* [BL22] ** [BL22-20]
	Biofilm	Fe, Mn	Biofilm verhoogt de neerslag van Fe en Mn op de leidingwand.	[BL22-19, 22]
	Acetaat, carbonzuur, sachariden, polysachariden, eiwitten	Biofilm	Verschillende stofgroepen bevorderen biofilmvorming en iedere stofgroep leidt tot een eigen specifieke soortensamenstelling in de biofilm. De invloed van nutriënten op biofilmgroei kan complex zijn en dus niet alleen afhankelijk van welk specifiek nutriënt aanwezig is, maar in wat de gehele nutriëntensamenstelling van het water is.	[BL22-11, 12, 18, 19]
	Nutriënten	<i>Aeromonas</i>	Metingen in het veld suggereren dat <i>Aeromonas</i> niet of amper kan groeien in drinkwater (d.w.z. in aanwezigheid van concurrerende autochtone flora en zonder toevoeging van een koolstofbron).	[BL22]
	N (stikstof)	<i>Aeromonas</i>	Meeste bacteriën zijn in staat om nitraat (NO ₃) als enige stikstofbron te gebruiken, maar (o.a.) <i>Aeromonas</i> gebruikt bij voorkeur ammonium (NH ₄).	[BL22]
	Fe (ijzer)	<i>L. anisa</i>	Mogelijk positieve relatie, maar onduidelijk of relatie direct is.	[BL22]
	Metaalionen (Mg, Mn, Cu, Fe, Zn, Ca, ...)	<i>L. pneumophila</i>	Relatie is meestal niet duidelijk of resultaten van verschillende studies spreken elkaar tegen. I.h.a. zijn concentraties <1 – 10 mg/ metaalionen bevorderlijk, maar te hoge concentraties (>1-10 mg/l) toxisch.	[BL22, par. 4.4]
Aminozuren	<i>L. pneumophila</i>	Kan zich direct vermeerderen op een aantal aminozuren (serine, tyrosine), maar alleen bij hogere concentraties dan die in drinkwater worden waargenomen.	[BL22, par. 4.4]	
Hydraulische omstandigheden	Temperatuur	<i>Legionella</i>	Spoelen van leidingen met 70°C kan, via dode biomassa, de groei van <i>Legionella</i> (tijdelijk) verhogen (*). Het risico op het aantreffen van <i>Legionella</i> is hoger bij hogere temperaturen (*). <i>L. anisa</i> kan bij lagere temperaturen groeien dan <i>L. pneumophila</i> . (**)	* [BL22] **[BL22-61-63]
	Temperatuur	<i>Aeromonas</i>	<i>Aeromonas</i>-aantallen stijgen langzaam bij temperaturen boven de 7 á 8°C. De groei (of afname) wordt echter mede bepaald door andere factoren (waaronder (seizoensafhankelijke) nutriënten en (seizoensafhankelijke) microbiële populatie).	[BL22-par.5.1]

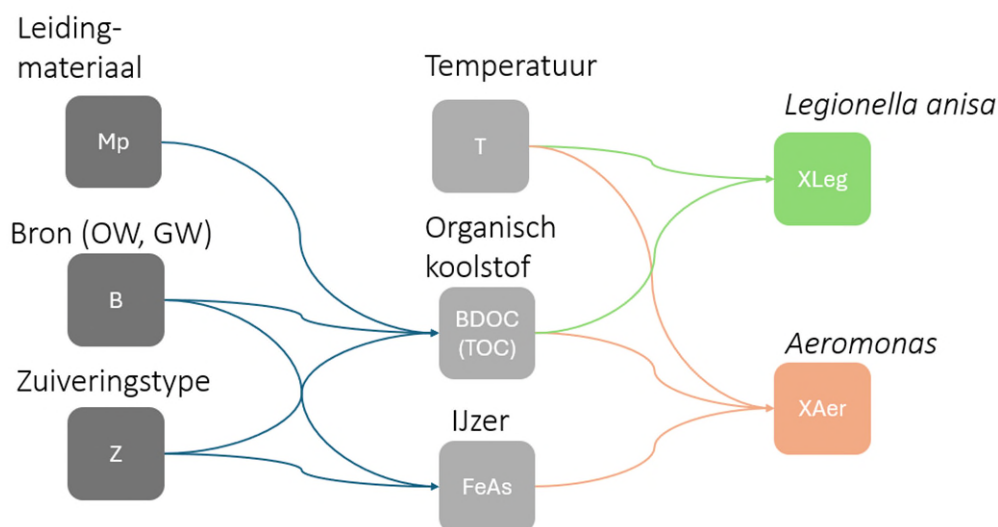
	Invloedfactor	Beïnvloedde parameter	Relatie & waardes	Referentie
	Contacttijd	<i>Legionella</i>	Het risico op het aantreffen van <i>Legionella</i> is hoger bij stilstaand water. Daarnaast krijgen bacteriën meer tijd om de nutriënten die in drinkwater aanwezig zijn af te breken, dan in stromend water.	[BL22]
Leidingmateriaal	PVC, PE	Biofilm (BVP)	Bij een bepaald AOC-gehalte geeft PVC-C ongeveer twee keer meer biofilmvorming dan op glas. Uitkomsten BPP-tests (pg ATP cm ⁻²) (**): Glas (76 ± 29) (ter referentie); PVC-U/C (160 ± 104); PE-100 (779±327).	* [BL-33] ** [BL22-23,24]
Sediment in leidingen	Sediment	<i>Aeromonas</i>	Micro-organismen zijn aanwezig op sedimentdeeltjes. (*) Bacteriën: in drinkwater (<2%), biofilm leidingwand (10-40%), losse deeltjes (50 – 90%). (**) In drinkwater met sediment kan <i>Aeromonas</i> toenemen (0 – 1,5 log in Berenplaat en Kralingen; 1,5 – 3 log in Braakman), maar er zijn ook gebieden met sediment waarin geen <i>Aeromonas</i> voorkomt, zoals het WLZK-gebied van PWN (Peter Schaap, persoonlijke communicatie). Het is niet goed te achterhalen of verschillen in groei worden veroorzaakt door variaties in de hoeveelheid sediment of de (chemische) samenstelling van de sedimentfracties. (***)	* [BL22-6, 7, 31] ** [BL22-34, 35] *** [BL22-1,90]

3 Beschrijving kwantitatief model

3.1 Algemene opzet

Het conceptuele model geformuleerd in Hoofdstuk 2 is uitgewerkt in een deterministisch rekenmodel. Figuur 3 geeft een schematische weergave. Het aantal modelparameters en -verbanden is beperkt, omdat voor slechts enkele verbanden kwantitatieve uitdrukkingen zijn gevonden in de geraadpleegde literatuur. Het model is *in situ* en instantaan: de berekende bacterieaantallen passen zich direct aan aan de lokaal heersende omstandigheden (het verloop van temperatuur, BDOC en ijzer). Deze groei (of krimp) van de populatie volgt niet de regels van de groeikinetiek, maar weerspiegelt welke evenwichtspopulatie wordt verwacht bij bepaalde omgevingsomstandigheden (maintenance aanname). Plotse veranderingen in omstandigheden kunnen dus sterke variaties in de berekende aantallen tot gevolg hebben, waar het in werkelijkheid enige tijd duurt voor een nieuw evenwicht is bereikt.

Figuur 3 toont dat in het rekenmodel de parameters leidingmateriaal, brontype van het water en zuiveringstype (mede) bepalend zijn voor de watertemperatuur en de concentraties BDOC en ijzer die op hun beurt de hoeveelheid *L. anisa* en *Aeromonas* bepalen. Het gaat hierbij over aantallen van deze bacteriën op de leidingwand (biofilm of sediment). De verbanden en de argumentatie zijn in de rest van dit hoofdstuk in meer detail uitgewerkt.



Figuur 3. Schematisch overzicht van factoren op *Legionella anisa* (groen) en *Aeromonas* (oranje) op de leidingwand.

3.2 Invloedfactoren op *L. anisa*

3.2.1 Algemeen

De hoeveelheid *L. anisa* in de biofilm aangehecht aan de leidingwand (X_{Leg} in kve/cm²) als functie van temperatuur (T in °C), biologisch afbreekbaar opgelost organisch koolstof ($BDOC$ in µg C/L)², en type leidingmateriaal (M) wordt beschreven als een cumulatief exponentieel verband:

$$x_{Leg}(T, BDOC, M) = f(BDOC(M)) + g(T),$$

met

$$x_{Leg} = \log_{10} X_{Leg}.$$

Legionella wordt in de literatuur weergegeven in aantallen, meer specifiek als kolonievormende eenheden (kve) per liter (drinkwater) of kve/cm² (biofilm). De invloed van temperatuur en BDOC wordt in het model onafhankelijk van elkaar verondersteld. In werkelijkheid is een (zwakke) onderlinge afhankelijkheid aannemelijk, maar deze zal secundair zijn en wordt hier vooralsnog verwaarloosd.

3.2.2 Invloed van temperatuur

Het temperatuurtraject voor *L. anisa* volgt een standaard normaalverdeling (Figuur 4):

$$g_{std}(T) = \begin{cases} x_{0,Leg} + (x_{1,Leg} - x_{0,Leg}) \exp\left[\frac{-1}{2} \left(\frac{T - T_{1,Leg}}{\sigma_{Leg}}\right)^2\right], & T < T_{1,Leg} \\ x_{1,Leg}, & T \geq T_{1,Leg} \end{cases}$$

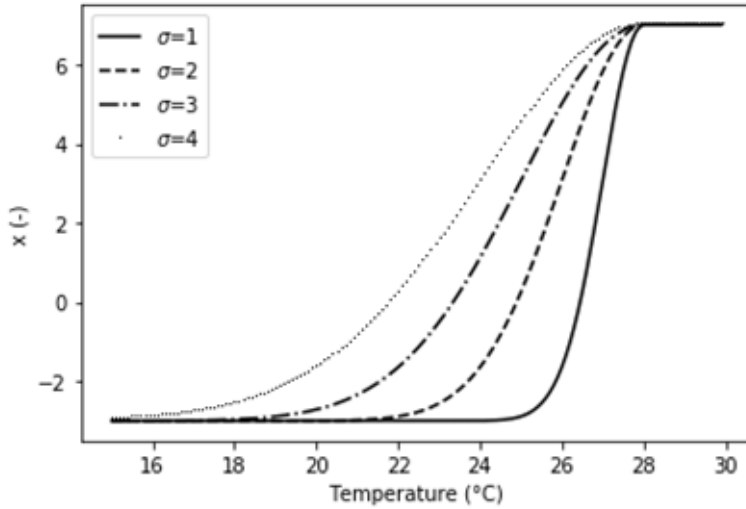
Hierin zijn $x_{0,Leg}$ en $x_{1,Leg}$ de minimale respectievelijk maximale hoeveelheid *Legionella* die ontstaat onder maintenance-conditions. De maximale hoeveelheid (x_1) vindt plaats bij de optimum temperatuur T_1 . Er wordt aangenomen dat x_{Leg} niet afneemt bij temperaturen hoger dan $T_{1,Leg}$. Hoewel het optimum temperatuurbereik voor het overleven van *L. anisa* een bovengrens kent, komen dergelijk hoge temperaturen niet voor onder normale operatie van distributiesystemen in Nederland. Deze bovengrens is daarom niet opgenomen in het model. Voor lage temperaturen ($T < T_{1,Leg}$) convergeert x_{Leg} naar het minimum $x_{0,Leg}$. De modelparameter σ_{Leg} bepaalt de steilheid van het temperatuurtraject. De keuze voor een normaalverdeling is conform bestaande uitdrukkingen voor microbiologische groei (zie bijvoorbeeld Zhang (2004)).

Als referentie voor X_0 en X_1 zijn de waarden $1 \cdot 10^{-3}$ respectievelijk $1 \cdot 10^7$ kve/cm² gebruikt (ofwel $x_0 = -3$; $x_1 = 7$). Deze waarden zijn ruwweg gebaseerd op experimenten met de biofilmmonitor waarin hoeveelheden *Legionella pneumophila* in de biofilm van 30 en 300 kve/cm² zijn gerapporteerd voor suboptimale temperaturen (tussen 25 en 33°C) en aantallen van $2 \cdot 10^6$ en $2 \cdot 10^7$ kve/cm² voor optimale temperaturen (tussen 35 en 39°C) (Van der Wielen & Smeets (2024), verwijzend naar Oosterholt & Van der Kooij (2007) en Van der Kooij et al. (2009) en de verwachting dat X_0 naar een waarde van 0 convergeert. Om een singulariteit te voorkomen ($\log_{10}(0) = -\infty$) te voorkomen, wordt in plaats hiervan een zeer lage waarde aangenomen, in de voorbeelden hierna $x_{0,Leg} = -3$.

² In dit onderzoek worden concentraties AOC (opneembaar organisch koolstof) als beginpunt genomen voor een uitdrukking in concentraties BDOC (bio-afbreekbaar opgelost organisch koolstof). AOC is een maat voor de direct beschikbare fractie koolstof voor bacteriële nagroei-potentie; BDOC voor de bioafbreekbare koolstoffractie. BDOC is gelijk aan AOC plus de hoeveelheid biopolymeren. In de literatuur worden zowel AOC en BDOC beschouwd als de primaire factor die de groei van heterotrofe bacteriën bevordert of beperkt.

Voorgaand onderzoek, aangehaald in Van der Kooij & Veenendaal (2011), toont dat in distributiesystemen onder een temperatuur van 20 °C niet-kweekbare, meestal nog niet beschreven *Legionella*-soorten groeien; bij hogere temperaturen (> 20 °C) bacteriën van de soort *L. anisa* kunnen worden waargenomen; en bij temperaturen hoger dan 25°C ook *L. pneumophila* kan worden aangetroffen. In overeenstemming met groei-experimenten wordt voor *L. anisa* als optimale temperatuur $T_{1,Leg} = 28^\circ\text{C}$ aangenomen (Van der Kooij et al., 2009).

Labexperimenten (Oosterholt et al., 2011; Van der Kooij et al., 2009) laten zien dat aantallen *L. pneumophila* vrij plots omslaan van lage naar hoge waarden bij een kritische temperatuur (tussen de 30 en 35°C). In het model wordt een referentiewaarde van $\sigma_{Leg} = 2$ gebruikt. Figuur 4 toont een voorbeeld met $T_1 = 28^\circ\text{C}$ en $\sigma_{Leg} = 1$ tot 4.



Figuur 4. Temperatuurtrajecten van *Legionella anisa* met een aangenomen optimale temperatuur van $T_1 = 28^\circ\text{C}$, $x_0 = -3$ en $x_1 = 7$, en σ_{Leg} -waarden tussen 1 en 4.

3.2.3 Hysterese-effect

Uit experimenten met de biofilmmonitor is afgeleid dat voor een afname van hoge naar lage temperatuur de aantallen *L. pneumophila* hoger blijven dan wanneer de temperatuur alleen de lage waarde had aangenomen (Van der Wielen & Smeets, 2024). Dit effect wordt hierna aangeduid met “hysterese”: het verschijnsel waarbij het verband tussen oorzaak en gevolg niet alleen afhangt van de grootte van de oorzaak, maar ook van de richting waarin de oorzaak verandert.

Wiskundig wordt het hysterese-effect beschreven met:

$$g(T) = \frac{x_r - x_0}{x_1 - x_0} g_{hyst}(T) + \frac{x_1 - x_r}{x_1 - x_0} g_{std}(T),$$

met:

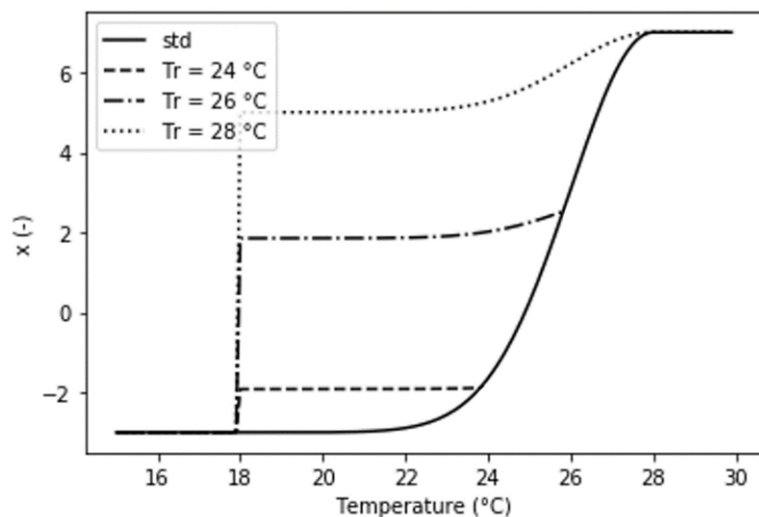
$$g_{hyst}(T) = \begin{cases} x_h + (x_1 - x_h) \exp\left[\frac{-1}{2} \left(\frac{T - T_1}{\sigma_{Leg}}\right)^2\right], & T < T_{1,leg} \\ x_1, & T \geq T_{1,leg} \end{cases}$$

En $g_{std}(T)$ zoals hiervoor beschreven. De hysterese-curve wordt bepaald door de hoogste temperatuur die in het verleden is bereikt (T_r , subscript “r” voor “reached”) en de daarbij horende minimum hoeveelheid *Legionella*: $x_r = g_{std}(T = T_r)$. Maximale hysterese treedt op indien de temperatuur het optimum heeft bereikt $T_r = T_1$. Er geldt dan $x_r = x_1$ en $g(T) = g_{hyst}(T)$. Bij lagere waarden voor $T_r < T_1$ ligt $g(T)$ tussen de uiterste trajecten $g_{hyst}(T)$ en $g_{std}(T)$. De hoeveelheid *Legionella* convergeert naar de waarde $x = x_h$, een door de gebruiker te kiezen parameter.

Het is bekend dat het hysterese-effect bij een temperatuur van ca. 18°C weer verdwijnt. Hierdoor dalen de aantallen *L. anisa* in Nederlandse drinkwatersystemen doorgaans elke winter naar een laag niveau. Dit reset-effect

is getoond in Figuur 5, maar niet opgenomen in het model (omdat de informatie hierover in een te laat stadium bekend werd); voor een representatief beeld wordt dit wel aanbevolen.

Figuur 5 toont een voorbeeld zonder (doorgetrokken curve) en met hysteresis (onderbroken curves). In dit voorbeeld is aangenomen: $x_0 = -3$, $x_1 = 7$, $x_h = 5$ en $\sigma_{Leg} = 2$. Het reset-effect bij 18°C is aangegeven.



Figuur 5. Temperatuurtrajecten voor *L. anisa* ($x_0 = -3$; $x_1 = 7$; $x_h = 5$; $\sigma_{Leg} = 2$) zonder hysteresis (als in Figuur 4) en met hysteresis voor drie maximum bereikte temperaturen (Tr) zoals aangegeven in de legenda. Voor $Tr = 28^\circ\text{C}$ is het hysteresis-effect maximaal. De discontinuïteit bij $T = 18^\circ\text{C}$ weerspiegelt het resetten van het hysteresis-effect beneden die temperatuur.

3.2.4 Invloed van BDOC en leidingmateriaal

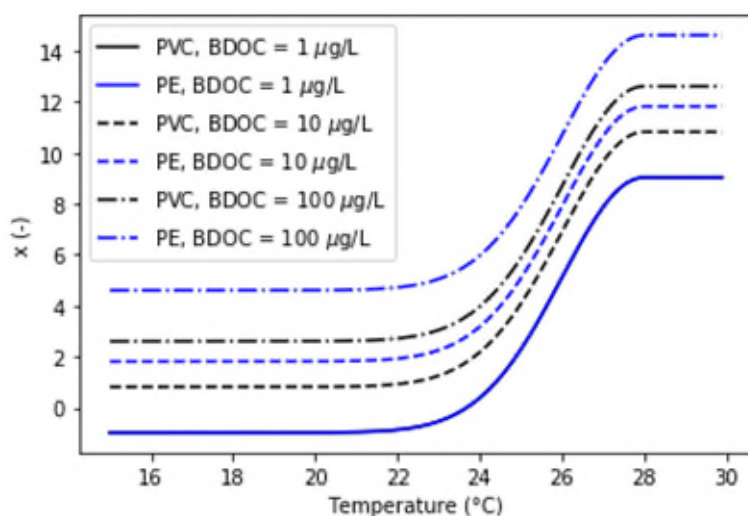
In het model wordt aangenomen dat BDOC het limiterende nutriënt is voor de groei van *L. anisa* (zie §2.1). AOC-concentraties worden als beginpunt genomen voor een uitdrukking in BDOC-waarden. Uit experimenteel onderzoek volgt een relatie tussen AOC ($\mu\text{g C / L}$) en legionellagroeiopotentie LGP (kve/cm^2) op glas (Van der Kooij & Veenendaal, 2011):

$$\log_{10}LGP = 1.79\log_{10}AOC + 2.03.$$

Op PVC-C (nagechloord PVC) wordt meer biomassa gevormd dan op glas vanwege de afgifte van BDOC uit het materiaal, maar op de groei van *Legionella*-bacteriën lijkt dit weinig invloed te hebben (Van der Kooij & Veenendaal, 2011). Verder tonen experimenten voor *L. pneumophila* bij 37°C een LGP-waarde die ruim 10 maal hoger is voor PE(X) dan voor PVC-U. Op basis van deze aanknopingspunten wordt de BDOC-afhankelijkheid van *L. anisa* uitgedrukt als:

$$f(\text{BDOC}(M)) = (1.79 + \alpha(M)) \cdot \log_{10}\text{BDOC} + 2.03.$$

Met $\alpha(\text{PVC}) = 0$; $\alpha(\text{PE}) = 1$; en M het soort leidingmateriaal. Hierin is de LGP gelijkgesteld aan de aantallen *L. anisa* ($LGP = X_{Leg}$) en de concentratie BDOC aan die van AOC. Figuur 6 illustreert hoe een verhoging van de BDOC (i) de aantallen *L. anisa* met dezelfde (logaritmische) factor toenemen over het gehele temperatuurtraject en (ii) het effect van het leidingmateriaal sterker wordt. Het model bevat op dit moment PE en PVC maar kan in de toekomst worden uitgebreid met andere leidingmaterialen als daar informatie van beschikbaar komt.



Figuur 6. Invloed van BDOC en leidingmateriaal (PVC vs. PE) op het temperatuurtraject voor *L. anisa*. De twee doorgetrokken curves (BDOC-concentratie 1 µg/L) zijn vrijwel overlappend en daardoor nauwelijks van elkaar te onderscheiden.

3.2.5 AOC-concentraties als functie van bron- en zuiveringstype

Het type waterbron (grondwater, oppervlaktewater, geïnfiltreerd duinwater) en de manier van zuivering is van invloed op de AOC-concentraties van drinkwater, waarbij wordt opgemerkt dat ook de waterkwaliteit van de specifieke bron van belang is. In dit onderzoek gebruiken we de AOC-waarden uit de studie van Van der Kooij & Veenendaal (2014). Op een aantal van de onderzochte locaties varieerde de AOC van het ingaande water, waarbij de AOC het laagst was in de zomer. Op veruit de meeste locaties was de AOC vrijwel constant (zie Tabel 2). Zoals valt af te lezen, vallen de AOC waarden boven of onder de richtlijn voor biologisch stabiel drinkwater (10 µg C/L), afhankelijk van het watertype. In het model wordt voorzien om BDOC (in de context van dit model gelijk aan AOC) van het ingaande water te kiezen als constante waarde of als patroon waarbij de gebruiker de waardes invoert.

Tabel 2. AOC-waarden bepaald voor verschillende types drinkwater bij Nederlandse productielocaties (Van der Kooij & Veenendaal, 2014).

Type drinkwater	AOC (P17/NOX) (µg C/L)			Aantal meetlocaties
	Minimum	Gemiddelde	Maximum	
Grondwater Aeroob	0,95	1,3	1,6	2
Grondwater Anaeroob	3,3	5,8	13,3	10
Oppervlaktewater	2,8	8,1	13,2	8

3.3 Invloedfactoren op *Aeromonas*

In de geraadpleegde literatuur zijn voor *Aeromonas* in ongechloorde drinkwatersystemen als relevante invloedfactoren gevonden: temperatuur, BDOC en ijzergehalte. De bijbehorende samengestelde normaalverdeling is:

$$x_{Aer} = h(BDOC) + k(T) + m(Fe),$$

met:

$$x_{Aer} = \log_{10} X_{Aer}.$$

Voor de eenheid van X_{Aer} is kve per cm² buiswand gekozen, conform de eenheid voor *L. anisa* (§3.2).

Deze keuze komt met een disclaimer: het is alleen een goed startpunt als het wandoppervlak bepalend is voor de hoeveelheid sediment (als substraat voor *Aeromonas*). Veel is echter nog onduidelijk over het verband tussen aantallen *Aeromonas*, wandoppervlak en sediment (zie ook §3.3.3).

3.3.1 Invloed van temperatuur

Vergelijkbaar met de uitdrukking voor *L. anisa* wordt voor het temperatuurtraject van *Aeromonas* een normaalverdeling aangenomen:

$$k_{Aer}(T) = \begin{cases} x_{0,Aer} + (x_{1,Aer} - x_{0,Aer}) \exp\left[\frac{-1}{2} \left(\frac{T - T_{1,Aer}}{\sigma_{Aer}}\right)^2\right], & T < T_{1,Aer} \\ x_{1,Aer}, & T \geq T_{1,Aer} \end{cases}$$

De optimumtemperatuur ($T_{1,Aer}$) en steilheid van het temperatuurtraject (σ_{Aer}) zijn als vrije inputparameters door de gebruiker van het model te kiezen. In de geraadpleegde literatuur zijn geen indicaties gevonden voor een hysteresis-effect; dit is voor *Aeromonas* dan ook niet opgenomen in het model.

Aeromonas-bacteriën kunnen overleven in een temperatuurbereik van 4 tot ten minste 40°C (Rasmussen-lvey et al., 2016). Uit groeiproeven blijkt dat er een omslagpunt lijkt te liggen tussen de 15 °C en 20 °C voor de groei van *Aeromonas* en dat de groei sneller verloopt bij hogere (20 – 30 °C), dan bij lagere temperaturen (Learbuch & Van Bel, 2018). Maximum aantallen *Aeromonas* in het distributienet zijn waargenomen tussen 20 en 25°C (Van Charante, 2023) en het ligt voor de hand een optimumtemperatuur te kiezen in dit bereik. In dit onderzoek wordt uitgegaan van $T_{1,Aer} = 22^\circ\text{C}$. Zoals bij de uitdrukking voor *Legionella* is geen bovengrens aangenomen. Temperaturen boven de optimumtemperatuur (20°C tot 25°C; 22°C in het model) komen voor in Nederlandse leidingnetten, maar er is geen informatie is gevonden over een mogelijke afname van de groei boven dergelijk hoge temperaturen. Hiermee is dan ook geen rekening gehouden in het model, maar betere bepalingen in de toekomst zijn in het model te verdisconteren.

Voor de steilheid van het temperatuurtraject is een referentiewaarde gekozen van $\sigma_{Aer} = 5$ (zie Figuur 7). Met deze waarde voorspelt het model dat de hoeveelheid *Aeromonas* bij 4°C (d.w.z. de minimumtemperatuur voor overleven volgens Rasmussen-lvey et al. (2016)) slechts 1,5 ‰ is van die bij de aangenomen optimale temperatuur van $T_{1,Aer} = 22^\circ\text{C}$.

In de geraadpleegde literatuur zijn geen waarden gevonden voor de hoeveelheid *Aeromonas* die in de maintenance-fase ontstaat bij ontoereikende of optimale temperatuur (x_0 en x_1 , respectievelijk). Deze waarden worden op dit moment als arbitrair beschouwd. Om een uitgangspunt te hebben, worden dezelfde waarden gebruikt als voor *L. anisa*: $x_{0,Aer} = -3$ en $x_{1,Aer} = 7$.

3.3.2 Invloed van BDOC en ijzer

Voor de invloed van afbreekbaar koolstof op *Aeromonas* zijn geen bruikbare gegevens gevonden voor BDOC of AOC, maar wel voor de totale hoeveelheid organisch koolstof (TOC in mg C/L). Voor grondwater is bekend:

$$\log_{10} Aer_{90} = 0,747 TOC - 0,30.$$

Hierin is Aer_{90} de 90 percentiel-waarde van gemeten *Aeromonas*-aantallen die zijn bepaald in een periode van een jaar. Dit wordt als uitgangspunt genomen voor de hoeveelheid *Aeromonas*: $X_{Aer} = Aer_{90}$. Als startpunt wordt de TOC-invloed gebruikt en een proportioneel verband met BDOC aangenomen: BDOC = TOC/1000 (bij gelijke eenheden, maar omdat in bovenstaande formule de eenheid van TOC mg/L en die van BDOC µg/L is, heft dit de factor 1000 op). Deze proportionaliteit is een ruwe inschatting die beter gesubstantieerd moet worden.

Voor oppervlaktewater is een relatie bekend tussen de microbiologische groeipotentie en AOC uit biomassa-productiepotentie (BPP)-tests van drinkwater bij Nederlandse pompstations (Van der Kooij & Veenendaal, 2014):

$$\log_{10} X_{Aer} = 0,4303 AOC - 0,30.$$

Zoals eerder stellen we de concentratie BDOC gelijk aan die van AOC. Hieruit volgt (Figuur 7):

$$h(BDOC) = \begin{cases} 0,747 BDOC - 0,30 & \text{(grondwater)} \\ 0,4303 BDOC - 0,30 & \text{(oppervlaktewater)}. \end{cases}$$

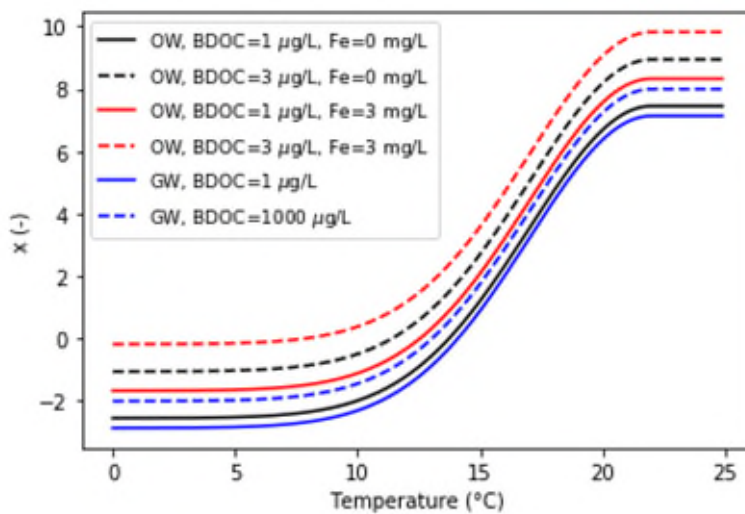
Alleen de relatie voor grondwater is opgenomen in het rekenmodel, omdat de informatie van oppervlaktewater pas compleet was nadat de gevoeligheidsstudie was uitgevoerd.

Voor oppervlaktewater is bekend dat de accumulatiesnelheid van ijzer ($FeAs$, in $mg\ Fe\ m^{-2}\ dag^{-1}$) van invloed is op de groei van *Aeromonas*. Er geldt een relatie:

$$\log_{10} Aer_{90} = 1,04 \log_{10} Fe_{As} + 3,37$$

Uit experimenten met de biofilmmontor is een significant en sterk lineair verband gevonden tussen de accumulatiesnelheid ($FeAs$) en concentratie (Fe) van ijzer: $Fe \sim 750 FeAS$ (Van der Kooij & Bereschenko, 2015). De in het model aangenomen invloed van ijzer op *Aeromonas* is (Figuur 7):

$$m(Fe) = 1,04 \log_{10} Fe + 0,38 \quad \text{(oppervlaktewater)}.$$



Figuur 7. Temperatuurtrajecten van *Aeromonas* voor BDOC-concentraties van 1 (doorgetrokken curves) en 3 $\mu g/L$ (onderbroken curves) voor oppervlakte- en grondwater (zwarte en blauwe curves, respectievelijk). De invloed van het ijzergehalte op oppervlaktewater is weergegeven met de rode curves. Alle curves zijn berekend met $T1 = 22^{\circ}C$, $x0 = -3$, $x1 = 7$ en $\sigma_{Aer} = 5$.

3.3.3 Invloed van sediment en *Asellus*

In het Nederlandse distributienet komen *Aeromonas*-bacteriën voornamelijk voor in het sediment en in mindere mate in het drinkwater (Van Bel & Learbuch, 2022). Groeiproeven laten zien dat *Aeromonas* niet groeit in biologisch stabiel drinkwater in competitie met de autochtone microbiële populatie en in minder biologisch stabiel drinkwater groeit *Aeromonas* in 10 tot 15 % van de gevallen en is de groei beperkt (Van Bel et al. (2021)). *Aeromonas* is nagenoeg afwezig in de biofilm op de buiswand (Liu et al. (2017); Learbuch & Hijnen (2018)). In spuiwater, of drinkwater waaraan sediment is toegevoegd, neemt *Aeromonas* in alle onderzochte gevallen wel toe. De mate waarin verschilt per distributienet; in hoeverre de groei van *Aeromonas* afhangt van de *hoeveelheid* sediment en de *deeltjesgroottesamenstelling* ervan is niet goed bekend (Van Bel & Learbuch (2022); Van Charante (2023)). Ook is er onvoldoende kennis over de invloed op de toename van *Aeromonas* van de chemische *samenstelling*, *compactie* van sediment, of *ouderdom* van het sediment.

Er zijn aanwijzingen dat bepaalde soorten ongewervelde dierlijke organismen in het drinkwatermilieu de vermeerdering van *Aeromonas* beïnvloeden (Van Bel & Learbuch (2022); Van Charante (2023)). Draadwormen zorgen daarbij voor een snelle afsterving, terwijl waterpissebedden (*Asellus*) en borstelwormen de groei van *Aeromonas* bevorderen (Van Bel et al., 2021). *Aeromonas*-bacteriën lijken te groeien in levende of dode *Asellus* of op stoffen die uit *Asellus* vrijkomen.

Vanwege de vele vragen die er nog zijn over de invloed van zowel *Asellus* (of andere organismen) als die van sedimentdeeltjes zijn deze niet gemodelleerd in dit onderzoek. In Hoofdstuk 5 worden de mogelijkheden hiervoor besproken.

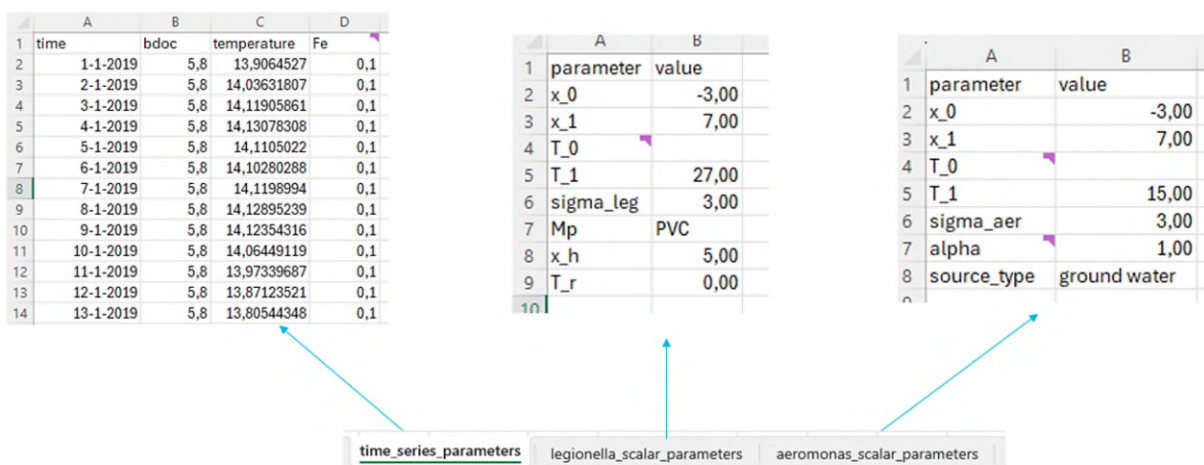
3.4 Ontwikkeling Python-script

Het kwantitatieve model is geïmplementeerd als een Python-script. De workflow is schematisch weergegeven in Figuur 8. De invoergegevens bestaan uit (i) tijdreeksen van de drinkwatertemperatuur en het BDOC- en ijzergehalte en (ii) modelparameters: x_0 , x_1 , x_h , T_1 , σ (voor zowel *L. anisa* en *Aeromonas*) en M_p . Het script berekent in twee aparte modules tijdreeksen van de aantallen *L. anisa* en *Aeromonas*. De uitvoer bestaat uit tabellen en figuren. Het model is in de huidige vorm niet rekenintensief: een berekening voor ca. 100 tijdstappen duurt minder dan enkele seconden (de rekentijd is onafhankelijk van de tijdstaplenkte). Figuur 9 geeft een indruk van de invoerparameters die de gebruiker moet opgeven in een MS Excel spreadsheet.

De invloed van BDOC op *Aeromonas* voor oppervlaktewater (§3.3.2) is niet in het model opgenomen.



Figuur 8. Geschematiseerde workflow van het rekenmodel.



Figuur 9. Indruk van invoerwaarden van het Python-script.

4 Gevoeligheidsanalyse

4.1 Scenario's

De invloed van een aantal modelparameters is onderzocht door deze elf scenario's te variëren ten opzichte van een referentiescenario ("GRAS") met modelparameters als in Tabel 3.

Temperatuur-tijdreeksen zijn berekend met het door KWR ontwikkelde bodemtemperatuurmodel 1D-BTM (Blokker & Pieterse-Quirijns, 2013). In het 1D-BTM worden weersomstandigheden verdisconteerd als warmteflux aan het bodemoppervlak. Met vergelijkingen voor warmtegeleiding berekent het model het verloop van temperaturen in de bodem en van stilstaand water in een leiding. De opwarming van het leidingwater is situatie-specifiek, maar neemt in distributiesystemen meestal binnen enkele uren de bodemtemperatuur aan (Blokker and Pieterse-Quirijns, 2013).

Merk op dat de in de gevoeligheidsstudie gebruikte referentiewaarden voor T_1 van *L. anisa* en *Aeromonas* (27°C en 15°C, respectievelijk) afwijken van de eerder genoemde meest aannemelijke waarden (28°C en 22°C, respectievelijk). De reden hiervoor is dat laatstgenoemde waarden zijn bijgesteld nadat de gevoeligheidsanalyse was uitgevoerd. De analyse voldoet aan het doel om inzicht te geven in de gevoeligheden van modelparameters en daarom is gekozen deze niet opnieuw uit te voeren.

De belangrijkste modelparameters voor het bodemtemperatuurmodel zijn weergegeven in Tabel 1. De scenario's gebruiken vijf verschillende temperatuurreeksen voor het jaar 2019 (Figuur 10).

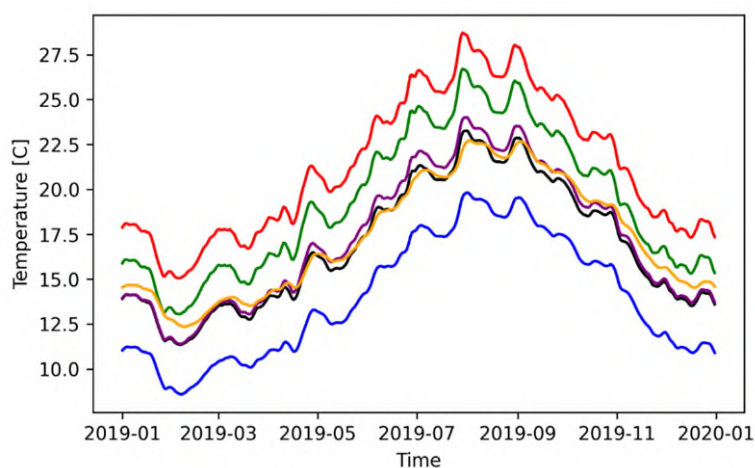
1. *PERI*: Peri-urbaan; tegels; leidingdiepte -1 m (blauwe curve);
2. *GRAS*: Urbaan; gras; leidingdiepte -1, m (zwarte curve);
3. *DIEP*: Urbaan; tegels; leidingdiepte -1,3 m (oranje curve);
4. *MEAN*: Urbaan; tegels; leidingdiepte -1 m (paarse curve);
5. *HOTS*: Hotspot; tegels; leidingdiepte -1 m (groene curve);
6. *2100*: Hotspot+2; tegels ; leidingdiepte -1 m (rode curve getoond).

De parameters die afwijken van de standaard (scenario *MEAN*) zijn onderlijnd. Scenario *2100* bootst sterke klimaatopwarming voor Nederland na in het jaar 2100; de drinkwatertemperatuur is 2°C opgehoogd ten opzichte van het hotspot-scenario (*HOTS*). Omgevingstype "hotspot" verwijst naar een hoge stedelijke warmtestroom (100 W/m²); "peri-urbaan" verwijst naar een vochtig klimaat.

Merk op dat het scenario met diepere ligging (*DIEP*; oranje curve) lagere maximumtemperaturen kent in de zomer ten opzichte van de referentie (*GRAS*, zwarte curve), maar dat wintertemperaturen minder lage minima bereikt. De effectieve bescherming van diepe ligging in de zomer (tragere groei) wordt, afhankelijk van de precieze temperatuurafhankelijkheid van een micro-organisme, dus mogelijk beperkt omdat leidingen in de winter aan minder koude worden blootgesteld (minder sterke afname).

Tabel 3. Parameterwaarden van het referentiemodel GRAS.

	Parameter	Symbool	Waarde	Eenheid
Rekenmodel <i>L. anisa</i> en <i>Aeromonas</i>	Biodegradeerbaar opgelost organisch koolstof	$BDOC$	5,8	$\mu\text{g C/L}$
	Ijzer-gehalte	Fe	0,1	mg/L
	Optimumtemperatuur voor <i>L. anisa</i>	$T_{1,Leg}$	27	$^{\circ}\text{C}$
	Optimumtemperatuur voor <i>Aeromonas</i>	$T_{1,Aer}$	15	$^{\circ}\text{C}$
	Steilheid temperatuurtraject <i>L. anisa</i>	σ_{Leg}	3	-
	Steilheid temperatuurtraject <i>Aeromonas</i>	σ_{Aer}	3	-
	Minimumhoeveelheid (<i>L. anisa</i> en <i>Aeromonas</i>)	x_0	-3	-
	Minimumhoeveelheid (<i>L. anisa</i> en <i>Aeromonas</i>)	x_1	7	-
	Evenwichtshoeveelheid bij volledige hysteresis (<i>L. anisa</i>)	x_h	5	-
	Brontype	B	Aeroob grondwater	-
	Leidingmateriaal	M_P	PVC	-
Bodemtemperatuurmodel	Warmtestroom (invloed stad)		50 (urbaan)	W/m^2
	Klimaatype		Droog (urbaan)	-
	Oppervlaktebedekking		Gras	-
	Bodemsoort		Zand	-
	Leidingdiepte	D_P	-1	m



Figuur 10. Tijdreeksen van de leidingwatertemperatuur, berekend met bodemtemperatuurmodel 1D-BTM voor 6 omgevingsscenario's: PERI (blauw); GRAS (zwart); MEAN (paars); DIEP (oranje); HOTS (groen); 2100 (rood).

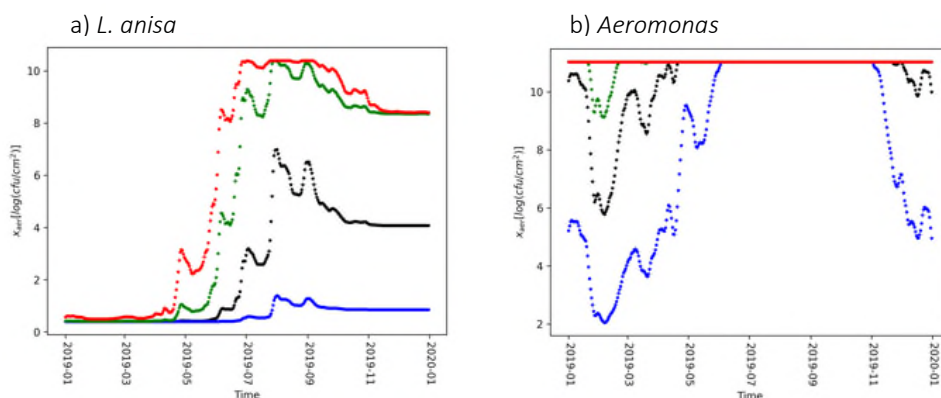
4.2 Resultaten

4.2.1 Invloed drinkwatertemperatuur

Figuur 11 toont de berekende aantallen *L. anisa* en *Aeromonas* voor vier scenario's (PERI, GRAS, HOTS, en 2100) met steeds warmere temperatuursenario's. De berekende aantallen zijn hoger voor de "warmere" scenario's en hoger in de zomer dan in de winter (Figuur 11 (midden en rechts)). Voor *Aeromonas* wordt in de zomer de toegepaste optimumtemperatuur ($T_{1,Aer} = 15^{\circ}\text{C}$) bereikt voor alle vier de scenario's. Voor het warmste scenario ("2100", rode curves) is de temperatuur zelfs het gehele jaar boven het optimum. Hierbij wordt opgemerkt dat de hier aangenomen optimumtemperatuur voor *Aeromonas* (15°C) lager is dan de meest plausibele waarde van 22°C (§ 3.3.1), wat het bereiken van de maximum-aantallen in de hand werkt. (Zie ook §4.2.2 voor de invloed van de optimumtemperatuur T_1 op de resultaten.)

Voor *L. anisa* wordt het maximum minder vaak bereikt en alleen voor de twee warmste scenario's (Figuur 11, midden), vanwege de hogere optimumtemperatuur van 27°C . Dit is wel dicht in de buurt van de meest waarschijnlijk waarde van 28°C (§3.2.2).

Het hysteresis-effect is zichtbaar in de berekende aantallen *L. anisa*: deze zijn ná de zomer (november, december) veel hoger dan vóór de zomer (januari t./m. april), terwijl de temperatuur dan alweer sterk is afgenomen. Het gemodelleerde hysteresis-effect is sterker voor scenario's met hogere temperaturen, zoals voorgeschreven door het model. Zoals in §3.2.3 al werd opgemerkt, is in het model geen reset van het hysteresis-effect beneden ca. 18°C opgenomen. Met een reset is te verwachten dat (i) het na-ijl effect in de nazomer enige tijd zal aanhouden, maar bij kouder weer (herfst) weer verdwijnt en (ii) dat de reset later in het najaar zal plaatsvinden voor een warmere omgeving.



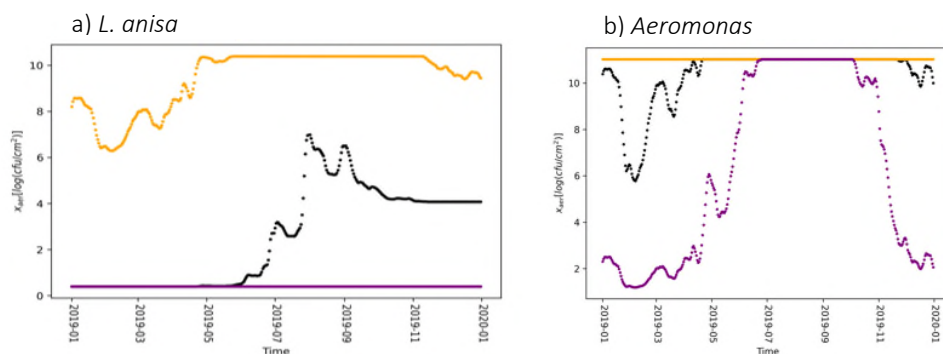
Figuur 11. Gemodelleerde aantallen *L. anisa* (a) en *Aeromonas* (b) voor scenario's met verschillende drinkwatertemperatuur: PERI (blauwe curves); GRAS (zwart); HOTS (groen); en 2100 (rood).

4.2.2 Invloed optimum temperatuur en steilheid temperatuurtraject

Omdat het temperatuurtraject van een micro-organisme in drinkwater niet altijd nauwkeurig bekend is, zijn de consequenties van deze onzekerheden voor de gemodelleerde populaties onderzocht door twee bepalende parameters te variëren: de optimumtemperatuur (T_1) en standaarddeviatie (σ).

De optimumtemperatuur is gevarieerd voor *L. anisa* ($17, 27$ en 37°C) en *Aeromonas* ($10, 15, 20^{\circ}\text{C}$). De steilheid van het temperatuurtraject is hierbij constant gehouden: $\sigma = 3$. De gebruikte temperatuurreeks is in alle gevallen het scenario GRAS (zwarte curve, Figuur 10). Figuur 12 laat zien hoe een lager optimum resulteert in hogere aantallen *L. anisa* of *Aeromonas*. Dit is verklaarbaar, aangezien een drinkwatertemperatuur dicht bij een lager optimum ligt of het optimum zal overschrijden. Om dezelfde reden is voor *L. anisa* het na-ijleffect in de nazomer sterker (hystere-effect) en houden de periodes met maximum hoeveelheden langer aan in de zomerperiode.

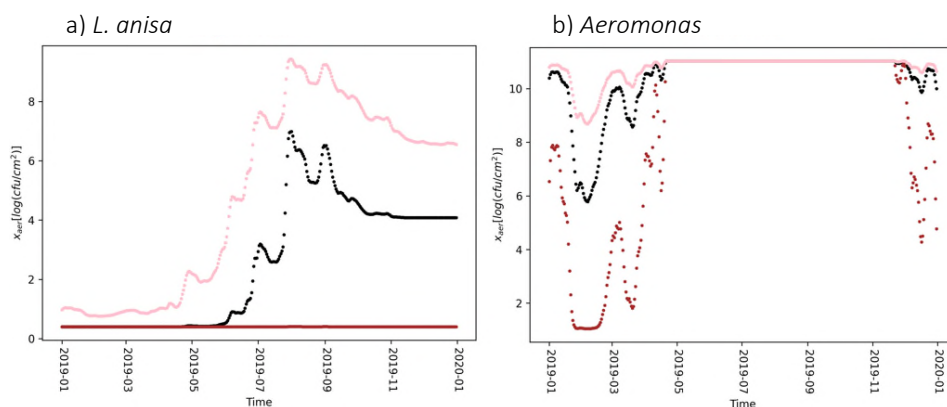
Voor *L. anisa* wordt de experimenteel bepaalde optimumtemperatuur (ca. 28°C) benaderd door het medium scenario (zwarte curve). Voor *Aeromonas* wordt de optimumtemperatuur (20 tot 25°C) het best benaderd door het “hoge” scenario ($T_{1,Aer} = 20^\circ\text{C}$; paarse curve).



Figuur 12. Gemodelleerde aantallen *L. anisa* (a) en *Aeromonas* (b) voor varianten van scenario GRAS. De oranje, zwarte en paarse curven komen respectievelijk overeen met een optimum-temperatuur T_1 van 17, 27 en 37°C (*L. anisa*) en 10, 15 en 20°C (*Aeromonas*).

Naast de optimumtemperatuur is ook de standaarddeviatie σ van belang. In de gevoeligheidsanalyse zijn de waarden gevarieerd als $\sigma = 1; 3; 5$. Als meest plausibele waarden zijn voor *L. anisa* $\sigma_{Leg} = 2$ en voor *Aeromonas* $\sigma_{Aer} = 5$ aangenomen (§3.2.2 en 3.3.1). De optimumtemperaturen voor *L. anisa* en *Aeromonas* zijn in deze berekeningen constant gehouden: $T_{1Leg} = 27^\circ\text{C}$ en $T_{1Aer} = 15^\circ\text{C}$, respectievelijk.

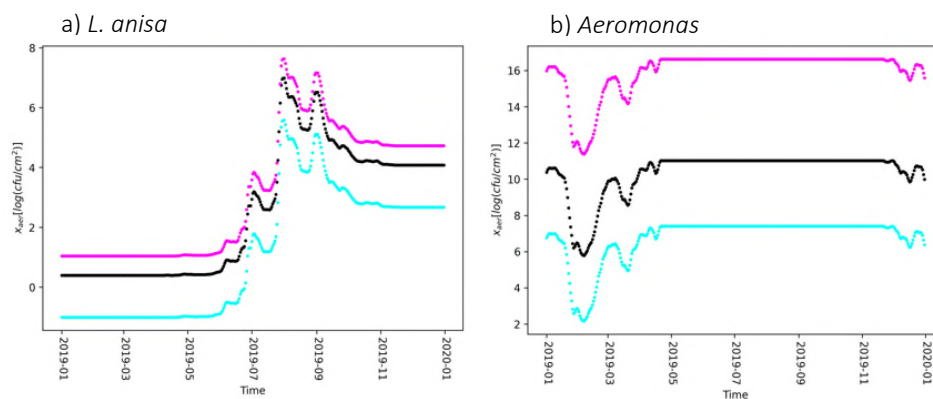
Een hogere σ -waarde (minder steil temperatuurtraject) betekent dat er meer groei kan plaatsvinden beneden de optimumtemperatuur. Dit verklaart de aantallen in Figuur 13. Voor temperaturen boven de optimale temperatuur, heeft de waarde van σ geen invloed op de gemodelleerd groei; deze is immers maximaal (zie de drie overlappende curven voor *Aeromonas* in de zomerperiode, Figuur 13, rechts). Voor verdergaande afname van de temperatuur zal de gemodelleerde groei uiteindelijk het minimum benaderen, maar voor een hoge σ -waarde gebeurt dit bij een steeds lagere temperatuur. Dit is zichtbaar in de gemodelleerde groei voor *L. anisa*: in de eerste maanden is de temperatuur laag en de groei minimaal voor zowel $\sigma = 1$ en 3, maar niet voor $\sigma = 5$ (Figuur 13, links).



Figuur 13. Gemodelleerde aantallen *L. anisa* (a) en *Aeromonas* (b) voor varianten van scenario GRAS. De rode, zwarte en roze curven komen overeen met σ -waarden van 1; 3; en 5, respectievelijk.

4.2.3 Invloed BDOC- en ijzergehalte

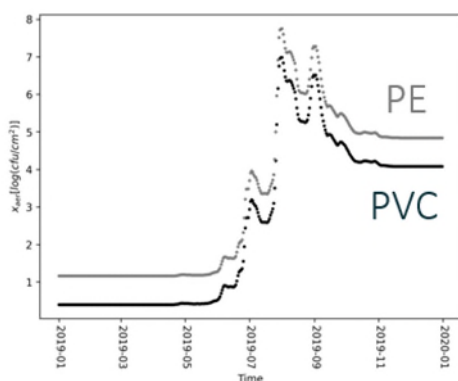
In drie scenario's zijn voor de (in de tijd constante) BDOC-concentratie de waarden 0,95; 5,8; en $13,3 \mu\text{g C/L}$ aangenomen. Figuur 14 laat zien dat deze constante verhoging resulteert in een versterking van de groei door het hele jaar heen met een constante factor boven op de temperatuuffecten. Deze factor is groter voor *Aeromonas* dan voor *L. anisa*, zoals het model voorschrijft (§3.2.4 en §3.3.2).



Figuur 14. Gemodelleerde groei van *L. anisa* (a) en *Aeromonas* (b) voor constante BDOC-concentraties van 0,95 µg C/L (cyankleurige curves); 5,8 µg C/L (zwart); en 13,3 µg C/L (magenta).

Figuur 15 toont hoe de modelresultaten veranderen als PE in plaats van PVC wordt aangenomen als leidingmateriaal. De groei neemt toe met een constante factor die groter is naarmate de BDOC-concentratie van het water toeneemt, zoals het model voorschrijft (§3.2.4). *Aeromonas* is in het model niet afhankelijk van het materiaaltype.

De Fe-afhankelijkheid van *Aeromonas* in oppervlaktewater is nagegaan, maar niet getoond. Een constante verhoging van het Fe-gehalte, resulteert net zoals voor BDOC, in een sterkere groei door het hele jaar met een constante factor in de tijd die losstaat van de temperatureffecten.



Figuur 15. Gemodelleerde groei van *L. anisa* voor PVC en PE.

5 Discussie

5.1 Algemeen

In dit onderzoek zijn de mogelijkheden onderzocht voor een rekenmodel voor de micro-organismen *L. anisa* en *Aeromonas* in drinkwater. Een dergelijk model kan de werkvelden van distributie en microbiologie dicht bij elkaar brengen: drinkwaterdistributie-onderzoek omvat de (stedelijke) omgeving, klantgedrag, infrastructuur van het leidingnet en hydraulische condities; de microbiologie bestudeerd o.a. de microbiologische groei in de waterfase, op de leidingwand en sediment, en uitwisseling tussen deze fases. De intentie van dit onderzoek was om een eerste stap te zetten in de ontwikkeling van een voorspellend model dat de microbiologische groei in drinkwatersystemen en/of aan de tap voorspelt. De bedoeling was om te inventariseren wat hiervoor nodig is (identificeren van kennishiaten) en te demonstreren hoe zo'n model kan worden ingezet om de relevantie van verschillende invloedfactoren inzichtelijk te maken.

Tegen deze achtergrond is de keuze voor een mechanistisch rekenmodel een logische, omdat daarin de relaties tussen modelparameters zijn gebaseerd op natuurwetenschappelijke processen en empirische relaties. Er is afgezien van een machine-learning aanpak, waarin de relaties tussen modelparameters worden bepaald uit een statistische model getraind met meetgegevens. Een dergelijk aanpak is alleen betrouwbaar voor gebieden en/of omstandigheden waarvoor het model getraind is; dit beperkt de toepasbaarheid voor andere gebieden/omstandigheden.

De aannames van het rekenmodel zijn gestoeld op wetenschappelijk onderzoek, maar bevatten vereenvoudigingen en onzekerheden, zoals beschreven in Hoofdstuk 2 en 3. Daarom is enige voorzichtigheid geboden bij het interpreteren van de modeluitkomsten. De kracht van het rekenmodel ligt voorlopig in het inzichtelijk maken van kennishiaten en gevoeligheden van model- en inputparameters. Ook na doorontwikkeling zal het model voorlopig inzicht geven op een kwalitatief niveau, zoals het aangeven van lage / gemiddelde / hoge risicogebieden en -scenario's. Het is niet te verwachten dat het voorspellen van kwantitatieve risico's op het niveau van huishoudens op korte termijn kan worden gerealiseerd.

5.2 Belang van kennis temperatuurtrajecten en sediment

Het opstellen van een rekenmodel maakte duidelijk welke informatie belangrijk is en welke informatie nog ontbreekt. Zo onderstreept de gevoeligheidsanalyse (Hoofdstuk 4) het belang van een goed bepaald temperatuurtraject voor de berekende aantallen *L. anisa* en *Aeromonas*. In het model wordt het traject bepaald door vier parameters: optimum-temperatuur (T_1), scherpte van de overgang (σ) en minimum en maximum aantallen (x_0 en x_1). Ter illustratie van de sterke invloed van het temperatuurtraject kan $T_{1/2}$ worden beschouwd: de temperatuur waarbij x de waarde halverwege het minimum en maximum aanneemt ($x = (x_0 + x_1)/2$). In de gekozen parameterisering neemt $T_{1/2}$ af met 1 °C voor iedere verlaging van T_1 met 1 °C en met 1,18 °C voor elke verhoging van σ met 1 °C.

Ook werd duidelijk dat meer informatie nodig is over de aanwezigheid, hoeveelheid, en eigenschappen (chemische samenstelling, korrelgrootteverdeling) van sediment in drinkwaterleidingen op de groei van *Aeromonas*: met de beschikbare kennis is het niet zinvol om de invloed van sediment op te nemen in het model (§3.3.3). In de huidige berekeningen is de groei van *Aeromonas* in de biofilm gemodelleerd en uitgedrukt per kve/cm² leidingwand. *Aeromonas* groeit in het sediment (zie Hoofdstuk 2) en daarom is het beter om de *Aeromonas*-aantallen uit te drukken in een eenheid die relateert aan sediment (bijvoorbeeld kve/gewicht sediment of kve/meter leiding waarin

de hoeveelheid sediment is verdisconteerd), maar daarvoor is extra kennis over sediment nodig. De eigenschappen van sediment in drinkwaterleidingen zijn in de praktijk niet makkelijk te bepalen. KWR heeft het model *Aquarellus* ontwikkeld voor het voorspellen van de verplaatsing door leidingnetten van sediment bij verschillende korrelgroottes (Van Summeren et al., 2022) en dit kan als hulpmiddel dienen om de hoeveelheden en korrelgroottesamenstelling van sediment in te schatten. Het modelleren van sediment wordt vooral interessant als het rekenmodel wordt gekoppeld aan een hydraulisch leidingnetmodel, aangezien het vóórkomen van sediment samenhangt met de hydraulische condities (zie ook §5.3).

5.3 Mogelijkheden voor doorontwikkeling van het rekenmodel

Voor een drietal verbeteringen van het rekenmodel was in dit onderzoek geen ruimte, maar deze zijn met een kleine inspanning te realiseren:

- *Reset hysteresis*
Het hysteresis-effect inactiveren beneden ca. 18°C voor *L. anisa* (§3.2.3). Hiervoor zijn voldoende aanwijzingen uit microbiologisch onderzoek en veldmetingen. Met deze aanpassing zal het model lagere *L. anisa* aantallen beter voorspellen in het herfst- en winterseizoen.
- *BDOC-invloed op Aeromonas*
Het opnemen van de invloed van BDOC op *Aeromonas* in drinkwater bereid met oppervlaktewater (naast die op grondwater), gebaseerd op BPP tests. Een uitwerking hiervan is gegeven in §3.3.2;
- *Vertraagde microbiële groei*
De berekende hoeveelheden *L. anisa* en *Aeromonas* volgen niet de groeikinetiek van micro-organismen, maar volgen instantaan veranderingen in omgevingsfactoren. In werkelijkheid zullen vanwege veranderingen in temperatuur en/of BDOC, populaties zich aanpassen naar een nieuw evenwicht op een tijdschaal van ca. 5 en ca. 2 dagen voor *L. anisa* en *Aeromonas*, respectievelijk. Op dit moment voorspelt het model voor bijvoorbeeld een enkele warme dag een verhoogde groei, die in werkelijkheid beperkt zal zijn, vanwege de vertraagde respons op temperatuursveranderingen. Dit kan worden ondervangen door een (instelbare) tijdsvertraging op te nemen in het model, bijvoorbeeld met een logistische vergelijking (bedoeld om de groei van populaties naar een nieuw evenwicht te beschrijven). Met een dergelijk groei-mechanisme wordt meer recht gedaan aan de semi-statische of dynamische staat van maintenance-condities van de biofilm.

5.4 Modeluitkomsten in context van uitwisseling micro-organismen biofilm en water

Het in dit onderzoek ontwikkelde rekenmodel voorspelt de *aanwezigheid* van micro-organismen in de biofilm van de drinkwaterleiding. Of en hoe deze micro-organismen uiteindelijk de tap bereiken wordt mede bepaald door het losraken van biofilm / opwervelen van sediment en het daaropvolgende transport door het leidingnet. Uit de bureaustudie van Blokker (2017), bleek dat nog onvoldoende bekend is over de invloed van hydraulische omstandigheden op de sterkte van de biofilmstructuur. Theoretisch gezien zou onder een constante voedingstoffenconcentratie bij hogere temperaturen een groter deel van de biofilm kunnen loslaten (omdat de diffusie van voedingsstoffen naar de biofilm minder snel toeneemt dan de stofwisseling van de biofilm) en een relatief kleine verhoging van de schuifspanning (van het stromende water op de biofilm) kunnen leiden tot het vrijkomen van een groot deel van de relatief “losse” biofilm, maar deze aspecten moeten beter getest worden onder condities van een echt leidingnet (Blokker, 2017).

5.5 Koppelen aan leidingnetmodel

Het rekenmodel is uitgewerkt als Python-script. Het model is geschikt om uit te breiden naar inzichten uit toekomstig onderzoek en integratie in hydraulische leidingnetmodellen zoals EPANET (Rossman, 2000). Dit laatste maakt het mogelijk om voorspellingen te doen voor een heel leidingnet, met populaties voor afzonderlijke

leidingen die zich aanpassen aan de lokale, actuele omstandigheden. Dit zou de toepassingsmogelijkheden vergroten ten aanzien van het:

- vergelijken/beoordelen van het presteren van huidige en toekomstige leidingnetontwerpen met betrekking tot groeirisico's voor *L. anisa* en *Aeromonas*;
- in kaart brengen van risico's in verschillende deelgebieden (zoals buurten en wijken) en de achterliggende oorzaken en mogelijke oplossingsrichtingen;
- berekenen van concentraties (zoals BDOC en ijzer) consistent met stoftransport in stromend drinkwater in complexe leidingnetten;
- berekenen van de drinkwatertemperatuur onder invloed van bodemomstandigheden, (stedelijke) omgeving en het weer/klimaat consistent met stromend drinkwater in complexe leidingnetten. De door KWR ontwikkelde BTM+ en WTM+ modellen zijn hiervoor geschikt (Blokker & Pan, 2022; Van Esch, 2022);
- berekenen van sediment met een sedimenttransportmodel zoals Aquarellus (zie § 5.2).

Na implementatie van het rekenmodel in een hydraulisch rekenpakket kan het worden toegepast op aansluitleidingen en huishoudelijke drinkwaterinstallaties. Deze zijn relevant, omdat de kleine leidingdiameters, (lange) periodes van stilstand en de uitdrukking daarvan in het temperatuurverloop leidt tot condities die afwijken van die in distributieleidingen.

Het rekenmodel gepresenteerd in dit rapport is een lichtgewicht model: het berekent jaarreeksen en produceert figuren binnen enkele seconden (Intel i7, 8GB laptop). Het rekenmodel is modulair opgezet en geschikt voor uitbreidingen en aanpassingen aan voortschrijdende wetenschappelijke inzichten. Toenemende complexiteit (meer modelparameters, onderling afhankelijke micro-organismen, enz.) zal de rekentijd verhogen en bij koppeling aan een leidingnetmodel moet worden onderzocht hoe de rekentijd en nauwkeurigheid afhangen van de tijdstapgrootte en ruimtelijke schaal.

5.6 Validatie met praktijkmetingen en proefopstellingen

De gevoeligheidsanalyse (Hoofdstuk 4) maakt inzichtelijk hoe onzekerheden in invoerparameters en modelparameters doorwerken in de modeluitkomsten. Om de zeggingskracht van het ontwikkelde groeimodel te bepalen is het nodig te valideren met meetgegevens uit werkelijke leidingnetten. Directe bemonstering van ondergrondse leidingen, hoewel lastiger uit te voeren dan metingen aan de tap, is wenselijk vanwege de informatie over in situ condities. Dit is cruciaal omdat de lokale microbiologische activiteit en samenstelling van biofilm (aan de buiswand, in sediment en in het drinkwater) lokaal kan variëren vanwege veranderende volumestromen, verblijftijd, temperatuur en waterkwaliteit (Van Summeren et al. (2014), Hoofdstuk 4). Ook het stoftransport wordt beïnvloedt door allerlei lokale processen die zich op microscopische schaal afspelen, zoals menging op leidingsplitsingen (Van Summeren et al. (2014), dispersie in (bijna) stilstaand water (Zhang, 2004) en effecten van bochten, groeven, en diameterovergangen (Van Thienen, 2012). Bij het opstellen van een meetplan is het aan te bevelen om eenvoudig te beginnen door een leidingnetsituatie met weinig complexiteit te kiezen (recht leidingstuk zonder bochten, diameterovergangen, appendages, waterlevering uit één pompstation) en waarin de essentiële parameters makkelijk zijn te meten (temperatuur, volumestroom, nutriëntenconcentraties, monsternamen van biofilm voor labanalyse).

Onderzoek met proefinstallaties heeft als voordelen de beheersbare omgeving en de toegankelijkheid voor het uitvoeren van metingen. Het opzetten van dergelijk onderzoek kost echter een grote inspanning zonder dat de complexiteit van het werkelijke leidingnet wordt benaderd; de ultieme toets voor het rekenmodel ontbreekt. Deze richting van onderzoek wordt niet als vervolgstap aanbevolen, maar indien met proefinstallaties wordt gewerkt, is aan te raden om de mate van complexiteit stapsgewijs te verhogen:

- In een eerste stap kan met een proefinstallatie van een enkele leiding worden gewerkt. Op die manier kan de invloed van temperatuur, BDOC en ijzergehalte worden onderzocht bij gelijkblijvende hydraulische

- omstandigheden en andere omgevingsfactoren. Hiervoor biedt de door KWR ontwikkelde KIVODIS-proefinstallatie, of een variatie daarop, mogelijkheden. KIVODIS bevat twee leidinglussen van minimaal 12 meter rechte PVC Ø110 mm buizen die (niet-recirculair) worden doorstroomd met drinkwater. De volumestroom kan worden ingesteld en zowel het water als de biofilm kan worden gemonitord met 32 coupons (Learbuch, 2018). Een dergelijke opstelling is geschikt om combinatie-effecten (BDOC en temperatuur bijvoorbeeld) of de groeirespons op een plotse temperatuurverhoging te onderzoeken.
- Een grotere mate van complexiteit is mogelijk met een proefopstelling zoals TUBES dat door KWR in samenwerking met Nederlandse drinkwaterbedrijven is gebouwd. Hierin is een compact bovengronds leidingnet nagebouwd, waarin praktijkgetrouwe materialen en componenten zijn gebruikt en voor Nederlandse leidingnetten realistische volumestromen kunnen worden ingesteld (De Waal et al., 2021). Met enkele aanpassingen is TUBES geschikt te maken voor stofdoseringen en microbiologische bemonstering in leidingen van Ø50 tot 400 mm, bijvoorbeeld met coupons. Ten opzichte van een enkele leiding opstelling kan de validatie worden uitgebreid naar de invloed van onder meer sediment, menging van verschillende watertypes, bochten, appendages, diameter(overgangen).

6 Conclusies

Er is een rekenmodel ontwikkeld dat de aantallen *Legionella anisa* en *Aeromonas* in de biofilm aan de leidingwand berekent op basis van lokale omstandigheden (temperatuur, BDOC-concentratie en ijzergehalte). Dit rekenmodel is een eerste stap in de ontwikkeling van een integraal model dat microbiologische parameters in het drinkwatersysteem, hydraulische omstandigheden in een leidingnet en de omgeving (bodem, stedelijke omgeving, weer/klimaat) met elkaar in verband brengt. Dit maakt het mogelijk om de gevolgen van bijvoorbeeld klimaatscenario's of toekomstig leidingnetontwerp op de microbiologische waterkwaliteit te bepalen. Dit is relevant voor de (her)aanleg van robuuste distributiesystemen met een levensduur van vele decennia in een omgeving die snel verandert door klimaatopwarming, verstedelijking en intensivering van de ondergrondse infrastructuur.

De gevoeligheidsanalyse (Hoofdstuk 4) onderstreept het belang van goed bepaalde temperatuurtrajecten van zowel *L. anisa* en *Aeromonas*. Met de hierboven genoemde punten in aanmerking genomen, maakt het rekenmodel de relaties tussen klimaat en omgeving en hydraulica en de groei van *L. anisa* en *Aeromonas* inzichtelijk en expliciet. Specifieke uitkomsten van het model zijn:

- Warmere langere zomers (zoals te verwachten rond 2100) leiden tot zomerperiodes met maximale *L. anisa* aantallen gedurende de periode van begin juli t/m eind oktober, tegenover slechts enkele dagen in augustus in een anderszins vergelijkbare berekening voor het huidige klimaat (Figuur 11a, scenario's 2100 en GRAS, berekent met een optimum-temperatuur van 27 °C).
- Eveneens nemen voor dezelfde twee temperatuurscenario's het berekende aantal dagen met maximum *Aeromonas*-aantallen substantieel toe (Figuur 11b), maar omdat de berekening is uitgevoerd met een optimumtemperatuur van 15 °C (i.p.v. een realistischere 22 °C) worden hier geen conclusies aan verbonden.
- Een verhoging van de BDOC-concentraties van laag (0,95 µg C/L) naar hoog (13,3 µg C/L) resulteert in het model tot een verhoging van de aantallen *L. anisa* (met een factor van ca. 100) en *Aeromonas* (factor orde 10^{10} voor drinkwater bereid uit grondwater). Het BDOC-effect stapelt bovenop (en is onafhankelijk van) temperatuur-afhankelijke groei. Het model weerspiegelt hiermee het multi-dimensionale karakter van microbiologische groei in drinkwater, waarin temperatuur een voorname maar niet de enige rol speelt.
- Drinkwaterleidingen van PE (ten opzichte van PVC) bevorderen de groei van *L. anisa* via de BDOC-afhankelijkheid die met 56% toeneemt.
- Een vertienvoudiging van het ijzergehalte bevordert de groei van *Aeromonas* met een factor 11 (onafhankelijk van andere invloedfactoren). Dit effect is secundair ten opzichte van temperatuur en BDOC, maar draagt bij aan het verhogen van *Aeromonas*-aantallen tot boven een bepaalde grenswaarde.

Deze voorspellingen van het model zijn ook waargenomen met metingen op laboratorium-, pilot- en/of fullscale-schaal en laat dus zien dat op hoog abstractieniveau het huidige model trends bepaalt die overeenkomen met de praktijk.

7 Aanbevelingen voor doorontwikkeling en vervolgonderzoek

Het opstellen van het rekenmodel (Hoofdstuk 2 en 3) onderstreept dat meer onderzoek nodig is om een aantal factoren en processen (gedetailleerder) te bepalen die waarschijnlijk een rol spelen in de groei van *L. anisa* en *Aeromonas*. Meer kennis is nodig over de invloed van niet-essentiële elementen op microbiële groei, zoals beschreven in (Van Bel & Learbuch, 2022). Cruciaal voor de ontwikkeling van *Aeromonas* is de rol van (aanwezigheid en eigenschappen van) sediment in het leidingnet en de gastheerrol van *Asellus* of andere organismes.

Om de zeggingskracht van de het rekenmodel te vergroten worden de volgende stappen voor doorontwikkeling aanbevolen.

1. Realiseer de drie verbeterpunten – het laaghangende fruit – genoemd in §5.3: (i) inactiveren van hysteresis-effect beneden ca. 18°C voor *L. anisa*; (ii) toevoegen van de invloed van BDOC op *Aeromonas*, in drinkwater bereid met oppervlaktewater (iii) nabootsen van een vertraagde groei / afname van *L. anisa* en *Aeromonas* als gevolg van veranderingen in temperatuur en BDOC.
2. Vergroot de toepasbaarheid door het rekenmodel te koppelen aan een hydraulisch leidingnetmodel zoals EPANET (zie §5.5). Dit maakt het mogelijk om de impact van leidingnetontwerpen op de berekende groei van *L. anisa* en *Aeromonas* te onderzoeken, en opent mogelijkheden om fluctuaties in nutriëntconcentraties (met bijvoorbeeld EPANET of Phreeqc), temperatuur (met het watertemperatuurmodel WTM+) en sediment (Aquarellus) te berekenen, consistent met drinkwatertransport in een leidingnetmodel. Hiermee komt het vergelijken van modelberekeningen met metingen aan de tap binnen bereik. Voorafgaand aan deze stap moet met de validatieresultaten uit stap ii de nauwkeurigheid van de modelberekeningen worden ingeschat.
3. Valideer het rekenmodel met meetgegevens uit het werkelijke leidingnet (zie §5.6). Directe bemonstering van ondergrondse leidingen – eventueel naast meten aan de tap – is wenselijk vanwege de informatie over de in situ condities die doorwerken op de lokale microbiologische activiteit en samenstelling van biofilm. Vanwege de complexiteit van groei van *L. anisa* en *Aeromonas* in drinkwatersystemen is de aanbeveling om te beginnen met leidingnetsituaties met weinig complexiteit en waarin de relevante parameters makkelijk zijn te meten (temperatuur, volumestroom, nutriëntconcentraties, monsternamen van biofilm voor labanalyse).

Toekomstig microbiologisch onderzoek kan de betrouwbaarheid van modelberekeningen vergroten. Specifieke aanbevelingen zijn:

- Vergroot de kennis van de temperatuurtrajecten voor *L. anisa* en *Aeromonas* (optimale temperatuur; helling van het traject en minimum en maximum aantallen). Vanaf 2025 gaat binnen het Waterwijs onderzoeksprogramma een project lopen naar de invloed van temperatuur door toekomstige klimaatverandering op groei van *L. pneumophila* in de biofilm, waar eventueel *L. anisa* ook in kan worden meegenomen. In dat geval kan de informatie uit dat project worden gebruikt voor verdere optimalisatie van het groeimodel voor *L. anisa*;
- Vergroot de kennis van de invloed van sedimenteigenschappen (aanwezigheid, hoeveelheid, chemische samenstelling, korrelgrootteverdeling) en de rol van *Asellus* of andere dierlijke organismes op de groei van *Aeromonas*. Gezien de complexiteit van de betreffende processen (voor zover bekend) zou dit een groot onderzoek vergen.

- Vergroot de kennis van groei van micro-organismen die een direct risico vormen voor de volksgezondheid en in staat zijn om in het drinkwatersysteem te vermeerderen (*L. pneumophila*, *P. aeruginosa*, *M. kansasii* en *A. fumigatus*). Een interessante stip op de horizon is om deze organismes te modelleren en met een QMRA-model de invloed op ziekerisico's in te schatten. Vooralsnog zijn er echter te veel onzekerheden voor een dergelijke benadering, zowel in het groeiemodel als het QMRA-model voor deze organismen.

8 Literatuur

- Agudelo-Vera, C., Avvedimento, S., Boxall, J., Creaco, E., De Kater, H., Di Nardo, A., . . . Blokker, M. (2020). Drinking Water Temperature around the Globe: Understanding Policies, Challenges and opprtunities. *Water*, 12(1049). doi:10.3390/w12041049
- Agudelo-Vera, C., Blokker, M., Van der Wielen, P., & Raterman, B. (2015). *Drinking water temperature in future urban areas* (BTO 2015.012)
- Blokker, E. J. M. (2017). *Modelling growth in the distribution network* (BTO 2017.077). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Blokker, E. J. M., & Pan, Q. (2022). *Invloed warmtenetten op drinkwatertemperatuur - Inzicht in invloed onderlinge afstanden* (KWR 2022.121). KWR Water Research Institute, Nieuwegein
- Blokker, E. J. M., & Pieterse-Quirijns, E. J. (2013). Modeling temperature in the drinking water distribution system. *Journal - American Water Works Association*, 105(1), E19-E29.
- Blokker, E. J. M., Pieterse-Quirijns, E. J., Vogelaar, A., & Sperber, V. (2014). *Bacterial growth model in the drinking water distribution system. An early warning system* (PREPARED 2014.023)<http://www.prepared-fp7.eu/viewer/file.aspx?FileInfoID=594>.
- Blokker, E. J. M., & Van Summeren, J. R. G. (2017). *Bronopsporing E. Coli besmetting Vlaardingen* (KWR 2018.001). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Blokker, M., Pan, Q., & Van Laarhoven, K. (2024). Validation of an Enhanced Drinking Water Temperature Model during Distribution. *Water*, 16(19). doi:<https://doi.org/10.3390/w16192796>
- De Waal, L., Van Summeren, J. R. G., Meijering, S., Van Thienen, P., & Van den Burg, P. (2021). Praktijkgetrouwe afspiegeling van het Nederlandse drinkwaterdistributiesysteem in één compacte proefinstallatie. *H2O-Online*, 10 juni 2021.
- Gagnon, G. A., Ollos, P. J., & Huck, P. M. (1997). Modelling BOM utilisation and biofilm growth in distribution systems: review and identification of reserach needs. *J. Water Supply: Research Technology - Aqua*, 46(1), 165-180.
- Learbuch, K., & Hijnen, W. A. M. (2018). *Onderzoek naar de biologische condities in water, sediment en op de buiswand en de Aeromonas toename in een transportleiding als functie van het seizoen in 2016* (BTO 2018.031). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Learbuch, K., & Van Bel, N. (2018). *Temperatuurafhankelijke groei van Aeromonas in drinkwater* (BTO 2018.097). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Learbuch, K. L. G. (2018). *Invloed van stroomsnelheid op de hoeveelheid bacteriën in biofilm en water* (BTO 2018.090). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Liu, G., Tao, Y., Zhang, Y., Lut, M., Knibbe, W.-J., Van der Wielen, P., . . . Van der Meer, W. (2017). Hotspots for Selected Metal Elements and Microbes Accumulation and the Corresponding Water Quality Deterioration Potential in an Unchlorinated Drinking Water Distribution System. *Water Research*, 124, 435-445.
- Oosterholt, F. I. H. M., & Van der Kooij, D. (2007). *Invloed van de watertemperatuur op de groei van Legionella in een proefleidinginstallatie met verschillende leidingmaterialen* (KWR 06.110). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Pick, F. C., Fish, K., Boxall, J. B. (2021). Assimilable organic carbon cycling within drinking water distribution systems. *Water Research*, 198(117147), 1-13.
- Rasmussen-Ivey, C. R., Figueras, M. J., McGarey, D., & Liles, M. R. (2016). Virulence Factors of *Aeromonas hydrophila*: In the wake of reclassification. *Frontiers of Microbiology*, 7. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01337>
- Rossmann, L. A. (2000). *EPANET 2 USERS MANUAL*. Cincinnati, OH, U.S.A.:
- Van Bel, N., & Learbuch, K. (2022). *Bureaustudies naar de (groepen van) stoffen waarop Aeromonas, Legionella en coliformen groeien en parameters van biofilm groei*. (BTO 2022.007). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Van Bel, N., Van der Wielen, P., Wullings, B., Van Rijn, J., Van der Mark, E., Ketelaars, H., & Hijnen, W. (2021). *Aeromonas Species from Nonchlorinated Distribution Systems and Their Competitive Planktonic Growth in Drinking Water*. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(e02867-02820).
- Van Charante, F. (2023). *Evaluatie van Aeromonas als wettelijke parameter in drinkwater* (BTO 2023.041)
- Van der Kooij, D. (2002). *Encyclopedia of Environmental Microbiology*. New York, NY, U.S.: Wiley & Sons.

- Van der Kooij, D., & Bereschenko, L. (2015). *De invloed van ijzer op de biomassa-accumulatie in de continue biofoulingmonitor (CBM)*. (BTO 2015.216(s)). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Van der Kooij, D., Brouwers-Hanzens, A. H., & Veenendaal, H. R. (2009). *Invloed van de temperatuur op de groei van Legionella pneumophila en Legionella anisa in biofilms* (KWR 09.056). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Van der Kooij, D., & Veenendaal, H. R. (2011). *Bepaling en beoordeling van de Legionellagroei-potentie van drinkwater* (BTO 2011.037). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Van der Kooij, D., & Veenendaal, H. R. (2014). *Bepaling van biomassa-productie-potentie van drinkwater* (BTO 2014.038). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Van Der Kooij, D., Visser, A., & Hijnen, W. A. M. (1980). Growth of *Aeromonas hydrophila* at Low Concentrations of Substrates Added to Tap Water. *Applied and Environmental Microbiology*, 39, 1198-1204.
- Van der Kooij, D., Vrouwenvelder, H., & Veenendaal, H. (1995). Kinetic aspects of biofilm formation on surfaces exposed to drinking water. *Water Science and Technology*, 32(8), 61-65.
- Van der Wielen, P. W. J. J., & Smeets, P. (2024). *De invloed van warmtenetten op het ziekterisico van Legionella pneumophila via drinkwater* (BTO 2024.050). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Van Esch, J. (2022). *Engine - BTM+ model and Expert tool* (11205555-006-GEO-001-v2-engine)
- Van Summeren, J., Meijering, S., Hijnen, W., Beverloo, H., & Van Thienen, P. (2014). *Meeting of Waters: Ontwerp van een proefinstallatie voor drinkwatertransport in de Vitens Innovation Playground*. (BTO 2014.041). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Van Summeren, J. R. G., Morley, M. S., Dash, A., & De Waal, L. (2022). *Toepasbaar maken van Aquarellus - Een numerieke methode voor het voorspellen van sedimentatie in het leidingnet* (BTO 2022.043). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Van Thienen, P. (2012). Microfysische beschouwing van afzetting en resuspensie van deeltjes in bochten, groeven en verwijdingen in het distributienet. (BTO 2012.001(s)). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Van Thienen, P., & Vries, D. (2013). *Backtracing van verontreinigingen in het distributienet - Methoden en bronbepaling met stochastische watervraag* (BTO 2013.030). KWR Water Research Institute, Nieuwegein.
- Zhang, W., Miller, C. T., DiGiano, F. A. (2004). Bacterial Regrowth Model for Water Distribution Systems Incorporating Alternating Split-Operator Solution Technique *Journal of Environmental Engineering*, 130(9), 932-941.