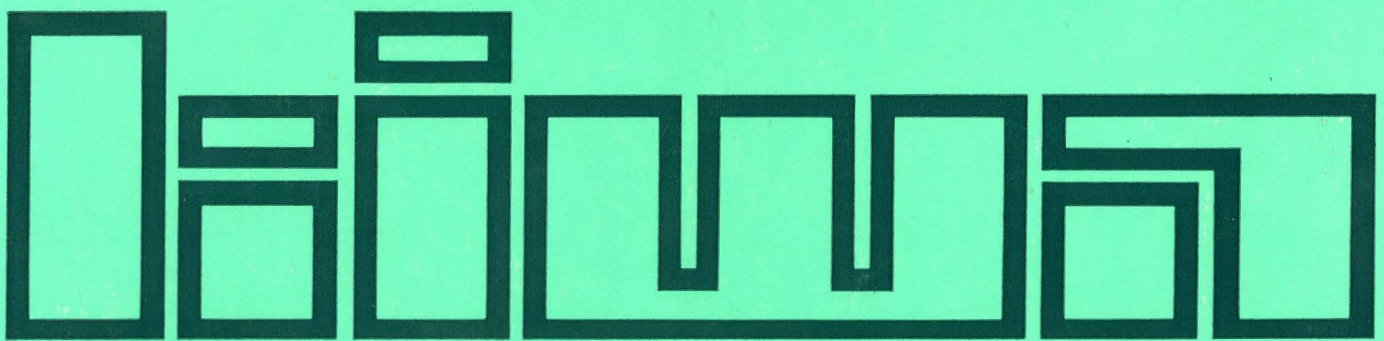


mededeling
nr. 69

virologisch onderzoek
van drinkwater



keurings
instituut
voor
waterleiding
artikelen
kiwa n.v.

MEDEDELING NR. 69

VIROLOGISCH ONDERZOEK VAN DRINKWATER

M. van Olphen

Nieuwegein, september 1981

	<u>Blz.</u>
INHOUD	
SUMMARY	3
SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
2 MATERIALEN EN METHODEN	13
2.1 Concentratietechnieken	13
2.2 Celvermeerdering en viruskwantificering	14
2.3 Bacteriologisch onderzoek	16
2.4 Zuiveringsschema's, plaats van de monsterpunten en monstername	17
3 RESULTATEN	19
3.1 Rendementen van de concentratie- technieken	19
3.2 Virologische en bacteriologische resultaten van het onderzoek van drinkwater	19
3.3 Virologische, bacteriologische en fysisch-chemische gegevens van niet of gedeeltelijk gezuiverd water	20
4 DISCUSSIE	29
4.1 Methoden	29
4.2 Indicator-organismen	30
4.3 Normstelling	33
5 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	35
6 LITERATUUR	41
BIJLAGE I Resultaten Gemeentewater- leidingen Amsterdam	49

Blz.

BIJLAGE II	Resultaten Provinciaal Waterleidingbedrijf van Noord-Holland	51
BIJLAGE III	Resultaten Westlandsche Drinkwaterleiding Maat- schappij	53
BIJLAGE IV	Resultaten Gemeentelijk Waterbedrijf Groningen	55
BIJLAGE V	Resultaten Drinkwater- leiding Rotterdam	57

SUMMARY

The examination of drinking water supplies for the presence of viruses was started in the Netherlands after reports in other countries about virus isolations from drinking water. The finding that the classical bacteriological examination of water cannot be used for the determination of the absence of viruses was another reason to find out if routine monitoring of drinking water for the presence of viruses would be necessary. Till the end of 1978 the virological research existed of optimisation of concentration techniques to detect small numbers of viruses in large volumes of water. Subsequently, six waterworks with different purification systems for the preparation of drinking water from surface water were selected to test the concentration procedures in the field. From December 1978 until April 1980 three sampling locations of each water supply were examined five to ten times. Sampling included water at the end of the purification system, water in the distribution network and the raw water source.

Out of the raw water samples a great variety of human enteric viruses could be isolated. The largest numbers of viruses were detected in the winterperiod. In none of the 100 samples of drinking water of 500 litres each, viruses could be detected. On account of this result the answer to the question if routine monitoring of drinking water for the presence of viruses is necessary in the Netherlands can as yet be negative. It is nevertheless recommendable to carry out virological surveys if there is doubt about the hygienic reliability of drinking water caused by failure of the purification processes or damage of the distribution system.

With the applied detection methods only a small fraction of the viruses present in the water could be detected. Moreover the number of samples was relatively small. Therefore it cannot be concluded from this survey that viruses will always be absent in 500 litres of drinking water. In order to prevent the occurrence of viruses in drinking water it is of great importance to determine to which degree the various treatment processes are capable to eliminate viruses in practice situations. Only with sufficient knowledge about the virological reduction capacity of these processes, it will be possible to produce drinking water free from viruses.

UDC : 578 : 628.1.033
Trefwoorden: virologisch onderzoek
drinkwater

SAMENVATTING

Omdat het klassieke bacteriologische onderzoek van water geen betrouwbare informatie geeft over de aan- of afwezigheid van virussen en in het buitenland virussen werden aangetoond in drinkwater, dat volgens conventionele methoden, inclusief desinfectie was bereid, werd in Nederland een begin gemaakt met virologisch onderzoek om na te gaan of dergelijk onderzoek deel moet gaan uitmaken van de verplichte kwaliteitscontrole van drinkwater.

Voor het bepalen van de virologische betrouwbaarheid van drinkwater waren geen bruikbare technieken beschikbaar, zodat het virologisch onderzoek tot eind 1978 bestond uit het optimaliseren van concentratietechnieken, waarmee kleine aantallen virussen in grote volumina water kunnen worden aangetoond.

Nadat de methodieken zodanig waren geoptimaliseerd dat deze in de praktijk konden worden toegepast, werden zes waterleidingbedrijven geselecteerd, die oppervlaktewater gebruiken voor de bereiding van drinkwater. Van ieder bedrijf werden drie monsterpunten, namelijk, niet of gedeeltelijk gezuiverd water, water "af pompstation" en water uit het distributiegebied in de periode van december 1978 tot april 1980 ieder vijf- tot tienmaal bemonsterd.

Bij het onderzoek van water, dat als grondstof dient voor de bereiding van drinkwater werd een grote verscheidenheid aan virussen aangetoond, waarbij de grootste aantallen in de wintermaanden werden geïsoleerd.

In geen van de ongeveer honderd monsters drinkwater van elk 500 liter werd virus aangetoond. Op basis

van dit gegeven kan de vraag of virologisch onderzoek deel moet uitmaken van de verplichte kwaliteitscontrole van drinkwater vooralsnog negatief worden beantwoord. Het is niettemin aanbevelenswaardig om wanneer bij leidingbreuk of onvolkomenheden bij de zuivering twijfel bestaat over de hygiënische betrouwbaarheid van drinkwater, virologisch onderzoek uit te voeren.

Omdat met de toegepaste detectietechnieken slechts een klein gedeelte van het aanwezige virusbestand kan worden aangetoond en bovendien het aantal onderzochte monsters relatief gering was, kan op grond van het uitgevoerde onderzoek niet worden geconcludeerd, dat virussen in 500 liter drinkwater steeds afwezig zullen zijn.

Daar het niet gewenst is dat virussen in drinkwater voorkomen en routinematig virologisch onderzoek niet het meest zinvol wordt geacht om dit te controleren, is het dan ook van groot belang dat nader wordt onderzocht in welke mate in de praktijk de diverse waterbehandelingen in staat zijn virussen te elimineren. Wanneer men voldoende kennis heeft verkregen omtrent het virusverwijderend vermogen van de zuiveringsstappen kan vervolgens virusvrij drinkwater met een hoge graad van zekerheid worden gegarandeerd.

1 INLEIDING

Een toenemende wereldbevolking en een grotere industriële activiteit doen een steeds groter beroep op de bestaande watervoorraden, waardoor de kans op virusoverdracht via water aanzienlijk is toegenomen. De virussen, die via water infecties bij de mens teweeg brengen, zijn voornamelijk die typen, die in het spijsverteringskanaal tot vermeerdering komen en in grote aantallen in de feces en urine worden uitgescheiden. Er bestaan meer dan 100 van deze zogenaamde "enteric" virussen, waarvan de enterovirussen en belangrijk deel uitmaken (Tabel 1).

Tabel 1 - Humane "enteric" virussen die in water kunnen voorkomen (lit.52)

<u>Virusgroepen</u>	<u>Aantal typen</u>
Enterovirussen	
Poliovirussen	3
ECHOvirussen	34
Coxsackie A-virussen	24
Coxsackie B-virussen	6
"Nieuwe enterovirussen"	4
Hepatitis type A virus	1
Gastroenteritis virussen (Norwalk type)	2
Rotavirussen	*
Reovirussen	3
Adenovirussen	30
Parvovirussen (verwant aan adenovirus)	3

* aantal typen nog niet bekend.

Deze virussen die alle pathogeen zijn voor de mens, zijn verantwoordelijk voor een groot scala ziektesyndromen, zoals huiduitslag, koorts, gastroenteri-

tis, ontstekingen van de hartspier (myocarditis) en van hersen- en ruggemervliezen (meningitis), aandoeningen van de luchtwegen en geelzucht (hepatitis).

Virusinfecties zullen in veel gevallen symptomeloos verlopen. Dit betekent dat het virus geen klinische verschijnselen veroorzaakt, maar wel tot vermeerdering komt in het lichaam en in grote aantallen wordt uitgescheiden. Aldus geïnfecteerde personen treden op als bron van verdere besmetting, hoewel zij zelf niet ziek zijn. Algemeen wordt aangenomen, dat de belangrijkste weg van virusbesmetting direct contact van persoon op persoon is. Infectie via besmet water is echter niet te verontachtzamen, omdat de minimale infectieuze dosis erg klein is. Theoretisch is één viruspartikel in staat om het infectieproces op gang te brengen (lit. 40, 23, 30, 51), hoewel in de praktijk de minimale infectieuze dosis voor de meeste mensen groter zal zijn. Wanneer virussen in lage concentraties in drinkwater voorkomen, kan hierdoor een endemische verspreiding in een populatie in stand worden gehouden (lit. 4). Dit is een ongewenste situatie (lit. 52). De huidige epidemiologische technieken zijn helaas niet gevoelig genoeg om een dergelijke 'low level' overdracht van virussen via drinkwater aan te tonen (lit. 52). Hiervoor is virologisch onderzoek van drinkwater nodig.

De virusconcentratie in huishoudelijk afvalwater kan 10.000-100.000 eenheden per liter bedragen. Hoewel afvalwaterzuiveringsinstallaties dit gehalte 10 tot 1000-voudig reduceren (lit. 46), zijn in de effluenten, zelfs na chloring, virussen nog gemakkelijk aantoonbaar (lit. 41). Lozing van deze effluenten en van onbehandeld afvalwater heeft een virologische besmetting van oppervlaktewater tot gevolg.

Virussen hebben levende gastheren nodig om tot vermeerdering te komen. Hun overlevingstijd in water en bodem is echter zeer lang en kan afhankelijk van o.a. het virustype, de waterkwaliteit en de samenstelling van de bodem enkele dagen tot vele maanden bedragen (lit.2).

Verschillende zuiveringsprocessen, die bij de bereiding van drinkwater uit oppervlaktewater worden toegepast, kunnen het virusgehalte sterk reduceren, waarbij het reductiepercentage afhankelijk is van het virustype. Met name opslag in spaarbekkens, coagulatie, langzame zandfiltratie en desinfectie kunnen een effectieve virusverwijdering tot stand brengen (lit. 7, 45, 26, 39, 19, 42, 43). Uitsluitend bij desinfectie wordt een belangrijk deel van de aanwezige virussen geïnactiveerd. De andere processen verwijderen door adsorptie het virusmateriaal, dat bij gewijzigde omstandigheden weer vrij kan komen en infecties veroorzaken (lit. 49, 50). Niettegenstaande de sterke reductie van virusgehalten bij verschillende zuiveringsprocessen zijn virussen aangetoond in drinkwater, dat volgens conventionele methoden, inclusief desinfectie, was bereid (Tabel 2). Uit deze tabel blijkt, dat virussen konden worden geïsoleerd uit drinkwater, dat aan de bacteriologische normen voldeed. Het feit, dat diverse virustypen in het milieu meer resistent zijn dan bacteriën die indicatief zijn voor fecale verontreiniging (lit. 18) en bij verschillende zuiveringsprocessen bij de behandeling van afvalwater en de bereiding van drinkwater minder makkelijk worden verwijderd (lit. 31, 14, 5, 48, 44) verklaart bovengenoemde situatie. Er kan dan ook worden geconcludeerd, dat bacteriën, die indicatief zijn voor fecale verontreiniging en van oudsher worden gebruikt bij de beoordeling van de hygiënische betrouwbaarheid van drinkwater geen dienst kunnen

Tabel 2 - Virusisolaties uit drinkwater

plaats	periode	zuivering	bacterio- logische kwaliteit, E.coli-test	literatuur- verwijzing
Frankrijk - Parijs	1960-62	coagulatie, snelfiltratie, desinfectie (1)	niet vermeld	9
- Nancy e.o.	1961-63	idem	negatief	15
Roemenië	1962-71	coagulatie, snelfiltratie, desinfectie	niet vermeld	36
	1974-77	idem	3-10 coli- form/l	35
USSR	1968-71	coagulatie, snelfiltratie, desinfectie (2)	negatief	37,38
USA - Massachusetts	1969-73	coagulatie, snelfiltratie, desinfectie	niet vermeld	16,8
- Florida	1975	desinfectie (0,3-0,4 mg/l vrij chloor)	negatief	49,50
- Virginia	1975-76	coagulatie, snelfiltratie, desinfectie (ten minste 1,3 mg/l vrij chloor)	negatief	21,22,32 1,47,6,12
Canada	1977	breekp.chloring, coagulatie, snelfiltratie, desinfectie (ten minste 0,1 mg/l vrij chloor)	negatief	32

(1) Nadat de contacttijd bij een ozondosis van ten minste 0,4 mg/l verlengd werd tot ten minste 10 minuten werden geen virussen meer geïsoleerd (lit. 11)

(2) Sinds men in 1975 een vrij chloorgehalte van 0,3 mg/l na 30 minuten contacttijd voorschreef, werden geen virussen meer geïsoleerd uit drinkwater (lit. 3)

doen als indicator voor de aan- of afwezigheid van virussen (lit. 13).

Naar aanleiding van de bevindingen in het buitenland werd eind 1971 de Commissie Virologie opgericht met de opdracht "na te gaan of virologisch onderzoek in de toekomst deel zal moeten gaan uitmaken van de verplichte kwaliteitscontrole van gezuiverd oppervlaktewater" (lit. 25). In het kader van deze opdracht werden tot eind 1978 concentratietechnieken, die nodig zijn om kleine aantallen virussen in grote volumina water, in het bijzonder drinkwater, te kunnen aantonen, geoptimaliseerd. Deze werkzaamheden werden tot 1976 bij de Gemeentewaterleidingen (Amsterdam) uitgevoerd. Daarna werd het onderzoek als onderdeel van het speurwerkprogramma van de VEWIN bij het KIWA voortgezet.

Eind 1978 werd een begin gemaakt met het toepassen van de ontwikkelde methodieken in de praktijk. Hiertoe werden zes waterleidingbedrijven geselecteerd, die op verschillende wijzen drinkwater uit oppervlaktewater bereiden. Een van de criteria hierbij was het al dan niet aanwezig zijn van voorraadvorming, boven- of ondergronds. Ondergrondse opslag kan door duininfiltratie en oeverfiltratie worden verkregen, al dan niet na een voorzuivering. Omdat bij bovengenoemde systemen biologische processen een belangrijk deel van de zuivering uitmaken, werd ook een chemisch zuiveringssysteem bemonsterd. Per bedrijf werden drie monsterpunten gekozen, namelijk één punt voor bemonstering van niet of gedeeltelijk gezuiverd water, waarbij het oppervlaktewater zelf, respectievelijk het vorgezuiverde oppervlaktewater, dat het betreffende zuiveringssysteem als grondstof gebruikt, werd bemonsterd; één punt voor bemonstering van water af

pompstation, dat wil zeggen na zuivering en één punt in het distributiegebied. Dit laatste punt werd gekozen om na te gaan of herbesmetting bij distributie optreedt. De drinkwatermonsters hadden een volume van 500 liter. Van het niet of gedeeltelijk gezuiverde water werden in het algemeen kleinere volumina onderzocht. De monsters werden genomen in de periode van december 1978 tot april 1980, waarbij alle monsterpunten 5 tot 10-maal werden bemonsterd. Naast het virologisch onderzoek werd ook onderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid van bacteriën, die indicatief zijn voor fecale verontreinigingen.

2 MATERIALEN EN METHODEN

2.1 Concentratietechnieken

Omdat het aantal virussen in water klein is moeten concentratietechnieken worden toegepast. Voor drinkwater werden volumina van 500 liter verwerkt, voor niet of gedeeltelijk gezuiverd water varieerden de volumina van 0,25 liter tot 400 liter. Afhankelijk van het monstervolume werden verschillende concentratietechnieken toegepast.

Voor onderzoek van volumina van 10 tot 500 liter werd een concentratietechniek gebaseerd op onderzoek van Hill et al (1976) (lit. 20) en Wellings et al (1975) (lit. 49, 50) toegepast. In twee trappen werd het volume teruggebracht tot circa 20 ml. De eerste trap bestond uit adsorptie van virussen aan een filterkaars (poriegrootte 8 μ ; materiaal: epoxy-fiberglass; afmeting 2,5 cm bij 7,5 cm; fabrikaat Balston). Hiertoe werden aan het te onderzoeken water zoutzuur (HCl), magnesiumchloride ($MgCl_2$) en eventueel thiosulfaat ($Na_2S_2O_3$) toegevoegd in verdunning 100:1, zodat de adsorptie plaatsvond bij pH 3.5-4.0, terwijl de eindconcentraties $MgCl_2$ en $Na_2S_2O_3$ respectievelijk 0,05 M en 0,001 M waren. Nadat de te onderzoeken hoeveelheid water was gefiltreerd, werd het filter geëlueerd met 300 ml van een 3 % oplossing van vleesextract (Lab Lemco, Oxoid) in trisbuffer (pH 9,3). Door rondpompen werd het contact geïntensiveerd. Deze elutie werd eenmaal herhaald.

De tweede trap was de organische flocculatie bij pH 3,5 à 4,0 volgens Katzenelson et al (1976)(lit. 24). Hierbij werd met behulp van 2 N HCl bij bovengenoemd pH-traject vlokvorming tot stand gebracht in de elutievloeistof (600 ml). Alle bovengenoemde

werkzaamheden van filtreren, elueren van het filter en het uitvlokken van de elutievloeistof werden op de plaats van het monsterpunt verricht. Het uitgevlokte materiaal werd vervolgens gekoeld naar het virologisch laboratorium van het KIWA te Nieuwegein vervoerd, waar het bij - 70°C werd opgeslagen tot celmateriaal beschikbaar was voor beënting.

Na ontdooien werd het uitgevlokte materiaal door middel van centrifugeren (3000 g) neergeslagen. Het sediment werd in 3,6 ml fosfaatbuffer (Na_2HPO_4 0,15 M, pH 9) opgenomen. Na het toevoegen van antibiotica (penicilline 54.400 E/ml, streptomycine 14.400 µg/ml, fungizone 47 µg/ml, kanamycine 5300 µg/ml, gentamycine 3300 µg/ml en neomycine 1300 µg/ml) werd het concentraat geneutraliseerd en geënt.

Volumina van 0,25 tot 2 liter, in het algemeen oppervlaktewater, werden als volgt geconcentreerd. De pH van het monster werd met 2N HCl op 3,5-3,8 gebracht, waarna MgCl_2 werd toegevoegd (eindconcentratie 0,05 M). Na filtreren door een membraanfilter (0,45 µ, 47 mm doorsnede) met behulp van vacuüm of overdruk, werden de aan het filter geadsorbeerde virussen met behulp van een 3 % oplossing van vleesextract (Lab Lemco, Oxoid) in trisbuffer pH 9,3 (2 maal 3 ml) weer vrijgemaakt. Na toevoegen van antibiotica (penicilline 10.000 E/ml, streptomycine 2700 µg/ml, kanamycine 10.000 µg/ml, neomycine 25 µg/ml, gentamycine 600 µg/ml, fungizone 44 µg/ml) werd het concentraat geneutraliseerd en geënt.

2.2 Celvermeerdering en viruskwantificering

Voor de vermeerdering van geïsoleerde virussen werd gebruik gemaakt van BGM-cellen, een continue ape-

nier-cel lijn van de Afrikaanse groene aap (Cercopithecus aethiops), in de passages 80 t/m 140, die bij 37°C werden gekweekt. Hierbij werden de volgende media toegepast:

A = Eagle MEM op basis van Hanks; 0,09 % bicarbonaat; 10 % foetaal kalverserum; penicilline/streptomycine elk 100 E/ml; fungizone 2,5 µg/ml

B = Eagle MEM op basis van Earl; 0,15 % bicarbonaat. 0,02 M Hapes; 7 % foetaal kalverserum; penicilline/streptomycine elk 100 E/ml; fungizone 2,5 µg/ml.

C = medium B + 5 µg/ml in plaats van 2,5 µg/ml fungizone; 0,9 % agar (Bacto-Difco).

De cel- en virusvermeerdering werd als volgt uitgevoerd:

na afzuigen van medium B werd met behulp van trypsine van een "monolayer" van apeniercellen een celsuspensie verkregen. Deze suspensie werd over een twee à drievoudig aantal nieuwe flessen verdeeld, waarna medium A werd toegevoegd. Aldus werd een volgende passage verkregen. Na 3-4 dagen werd medium A vervangen door medium B. Na totaal 4-5 dagen was de celsuspensie uitgegroeid tot een nieuwe monolayer. Een deel van de flessen met deze monolayer werd gebruikt voor het instandhouden van de cellijn en het resterende deel voor het beënten van virusmateriaal.

Na afzuigen van medium B werd per fles 1,5 ml concentraat geënt. Na 60 minuten adsorptietijd werd vervolgens medium C aangebracht, na 10 dagen gevolgd door een tweede agarlaag, dat neutraal rood (0,03 %) bevatte, waardoor virus"plaques" als kleurloze ronde plekken tegen een rode achtergrond van het levende celmateriaal zijn te tellen. Het aantal plaques is een maat voor het aantal virussen

(plaque forming units, PFU) in het entmateriaal. Om te bevestigen dat de plaques waren ontstaan door virusvermeerdering werd plaquemateriaal overgeënt op apeniercellen, die met behulp van medium B maximaal 12 dagen werden aangehouden. Na het verschijnen van een cytopathologisch effect (CPE = celdegeneratie of celdood door virusvermeerdering), dat microscopisch is waar te nemen, werd het materiaal voor typering naar het Rijksinstituut voor de Volksgezondheid (Afdeling Virologie) gezonden.

2.3 Bacteriologisch onderzoek

Naast virologisch onderzoek werd tevens de bacteriologische gesteldheid van het water bepaald door middel van onderzoek naar de aanwezigheid van bacteriën van de coli-groep, thermotolerante bacteriën van de coli-groep en fecale streptococci. Dit onderzoek werd door de Duinwaterleiding van Den Haag uitgevoerd.

Met behulp van membraanfiltratie (cellulosenitraatfilters; poriegrootte 0,45 μ) werden volumina van ten hoogste 500 ml verwerkt. Voor de bepaling van de bacteriën van de coligroep werd gekweekt op Membrane Enriched Teepol Agar. Na een incubatietijd van 4 uur bij 30 °C gevolgd door 14 uur bij 37 °C werden de gele kolonies overgeënt voor bevestiging in Brilliant groen gal lactose bouillon, 48 uur bij 37 °C voor de bepaling van het totale aantal bacteriën van de coligroep en 48 uur bij 44 °C voor de bepaling van het aantal thermotoleranten. Het aantal kolonies, dat werd overgeënt voor bevestiging was de wortel van het aantal typische kolonies, doch tenminste 5. Voor de bepaling van de fecale streptococci werd gebruik gemaakt van KF-streptococcus agar. Na een incubatieperiode van 48 uur bij 37 °C werden alle verschillende rose en rode kolo-

nies overgeënt voor bevestiging op Brain Heart Infusion Agar, gevolgd door de katalase-proef.

2.4 Zuiveringsschema's, plaats van de monsterpunten en monsternamen

Bij zes waterleidingbedrijven, die drinkwater bereiden uit oppervlaktewater, werd op drie plaatsen per bedrijf het water virologisch en bacteriologisch onderzocht, namelijk het niet of gedeeltelijk gezuiverde water, water na de zuivering ('af pompstation', eventueel vóór de veiligheidschloring) en water in het distributiegebied. Hieronder worden de desbetreffende bedrijven genoemd en zijn in de zuiveringsschema's de monsterpunten aangegeven, waarbij I= niet of gedeeltelijk gezuiverd water; II= drinkwater af pompstation; III= water uit het distributienet.

Gemeentewaterleidingen (Amsterdam)(GWA), pompstation Leiduin; Watertransportmaatschappij Rijn-Kennemerland (Nieuwegein): Lek _____ coagulatie en vlokverwijdering _____ snelfiltratie transportchloring _____ I _____ duininfiltratie _____ beluchten, actieve kool, loog _____ snelfiltratie _____ langzame zandfiltratie _____ II veiligheidschloring distributie (III).

Provinciaal Waterleidingbedrijf Noord-Holland (PWN)
- pompstation Andijk:

IJsselmeer _____ microzeven (35 mu) _____ I _____ breekpuntschloring coagulatie en vlokverwijdering _____ snelfiltratie _____ koolfiltratie _____ veiligheidschloring ($\text{ClO}_2 + \text{Cl}_2$) _____ II _____ distributie (III).

Goudse Waterleiding Maatschappij (GWM), pompstation Rodenhuis:

Lek___oeverfiltratie___I___beluchten___snelfiltratie___II___distributie (III).

Westlandsche Drinkwater Maatschappij (WDM), pompstation Monster:

oppervlaktewater (Heemraadswater)___I___duininfiltratie___beluchten___snelfiltratie___langzame zandfiltratie___II___plus leidingwater DWL-Den Haag (1:1 - 1:4)___distributie (III).

Gemeentelijk Waterbedrijf Groningen (GWG), pompstation de Punt:

Drentse Aa___I___coagulatie en vlokverwijdering___beluchten___snelfiltratie___langzame zandfiltratie___II___40 % + 60% grondwater___veiligheidschloring___distributie (III).

Drinkwaterleiding Rotterdam (DWL-R), pompstation Kralingen; Waterwinningbedrijf Brabantse Biesbosch:

Maas___spaarbekken "130"___+NaOH___spaarbekken "Petrusplaat"___transportchloring___I___coagulatie en vlokverwijdering___ozonisatie___coagulatie___snelfiltratie___koolfiltratie___veiligheidschloring___II___distributie (III).

In de periode december 1978 tot april 1980 werden alle hierboven aangegeven monsterpunten elk 5 tot 10 maal bemonsterd, gelijkmatig over de tijd verdeeld. In totaal werden 102 monsters drinkwater onderzocht op de aanwezigheid van virussen. Het monstervolume van het water "af pompstation" en in het distributiegebied was steeds 500 liter, van het niet of gedeeltelijk gezuiverde water variëerden de volumina van 0,25 tot 400 liter.

3 RESULTATEN

3.1 Rendementen van de concentratietechnieken

Voor de uitvoering van rendementsbepalingen van de methode om in grote volumina water virussen aan te tonen werd aan leidingwater poliovirus type I "Glaxo" toegevoegd in een concentratie van ongeveer 100 PFU per 500 liter. Het rendement van de techniek, die in twee trappen, namelijk adsorptie-elutie gevolgd door organische flocculatie, het volume terugbracht van 10-500 liter tot 20 ml, was gemiddeld 50,1 % met een standaardafwijking van 12,7 (20 bepalingen).

Voor de rendementsbepaling van de methode om in kleine volumina water virussen aan te tonen door adsorptie en elutie met behulp van membraanfilters werd aan gesteriliseerd Lekwater poliovirus type I "Glaxo" (ongeveer 50 PFU per liter) toegevoegd. Het rendement was gemiddeld 65,3 %, met een standaardafwijking van 10,7 (12 bepalingen).

3.2 Virologische en bacteriologische resultaten van het onderzoek van drinkwater

De monsterpunten drinkwater betroffen de punten II en III, respectievelijk 42 monsters water "af pompstation" (bij GWA en GWG vóór de veiligheidschloring) en 60 monsters water uit het distributiesysteem. In geen van deze 102 monsters drinkwater van elk 500 liter kon virus worden aangetoond. Dit betekent, dat in deze gevallen de zuivering de virussen heeft verwijderd en er geen herbesmetting in het distributiesysteem is opgetreden.

Met uitzondering van enkele monsters (Tabel 3) waren de aantallen bacteriën van de coligroep (totaal

en thermotolerant) en fecale streptococcen steeds kleiner dan 2 per liter.

Tabel 3 Monsters, waarin het totale aantal bacteriën van de coligroep en/of het aantal fecale streptococcen groter was dan 2 per liter.

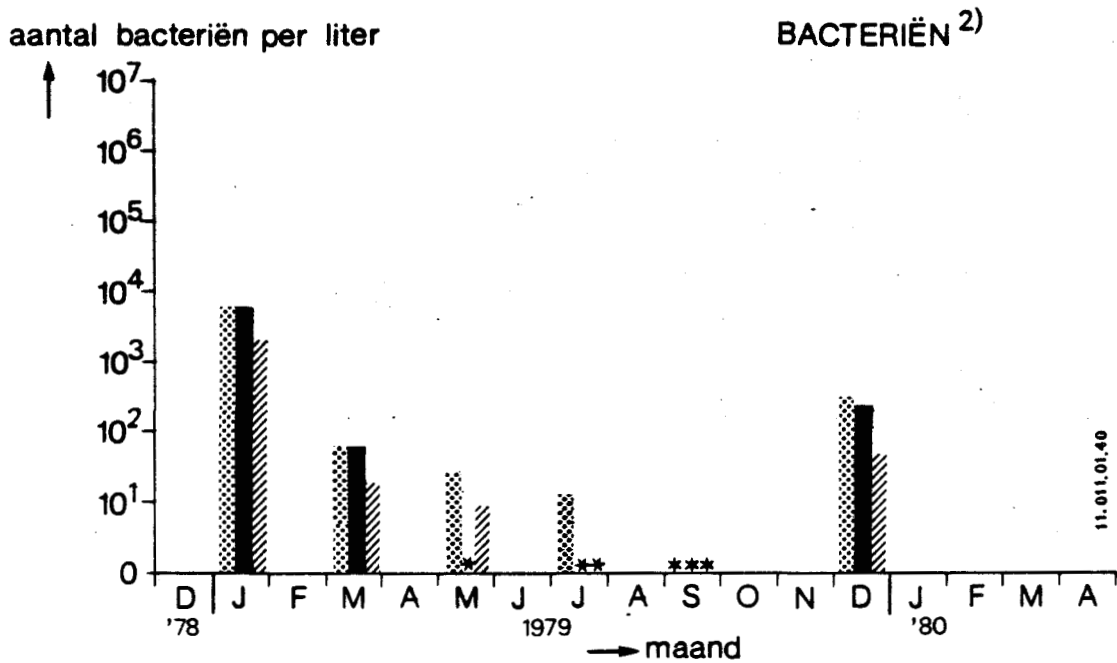
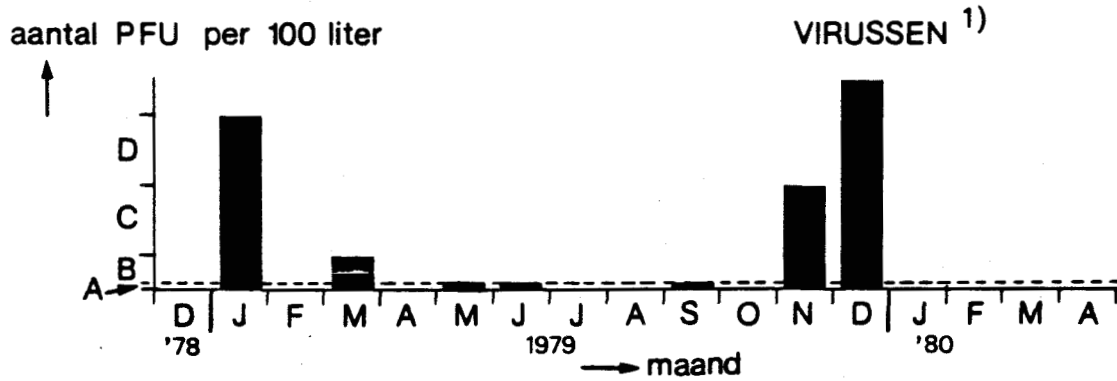
<u>datum</u>	<u>monsterpunt</u>	<u>totale aantal bacteriën van de coligroep/l</u>	<u>aantal fec.steptoc./l</u>
13-12-78	GWG-II	13	2
10- 1-79	GWA-II	2	6
13- 6-79	GWM-III	< 2	34
22- 2-79	WDM-II	< 2	15
20- 6-79	WDM-III	< 2	11
16- 8-79	WDM-III	2	< 2
10-10-79	WDM-III	4	< 2
17-10-79	DWL-R-II	< 2	4

3.3 Virologische, bacteriologische en fysisch-chemische gegevens van niet of gedeeltelijk gezuiverd water.

De resultaten van het onderzoek van het niet of gedeeltelijk gezuiverde water zijn weergegeven in de Bijlagen I t/m V en de Figuren 1 t/m 5.

Gemeentewaterleidingen (Amsterdam): Lekwater, voorbehandeld door de WRK, bestemd voor duin-infiltratie (Bijlage I en Figuur 1). In het uit Nieuwegein aangevoerde en voor duininfiltratie bestemde water werden herhaaldelijk virussen aangetoond. De grootste aantallen werden in de winter aangetroffen, waarbij verschillende virustypen konden worden geïsoleerd. Deze grote variëteit is overeenkomstig de

Fig. 1 - Virologische en bacteriologische gegevens van Lekwater, voorbehandeld door de WRK, bestemd voor duininfiltratie



1) ingedeeld in klassen. A: niet aantoonbaar; B: 1-10 PFU; C: 11-100 PFU; D: >100 PFU

2) bacteriën van de coligroep, totaal en thermotolerant ; fecale streptococci .

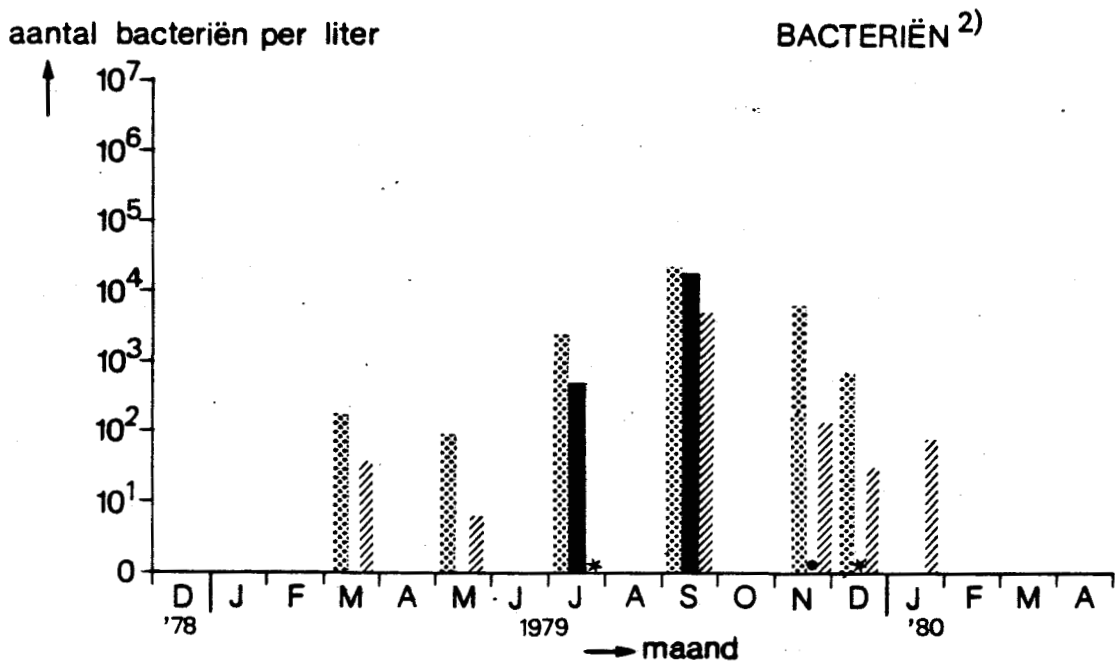
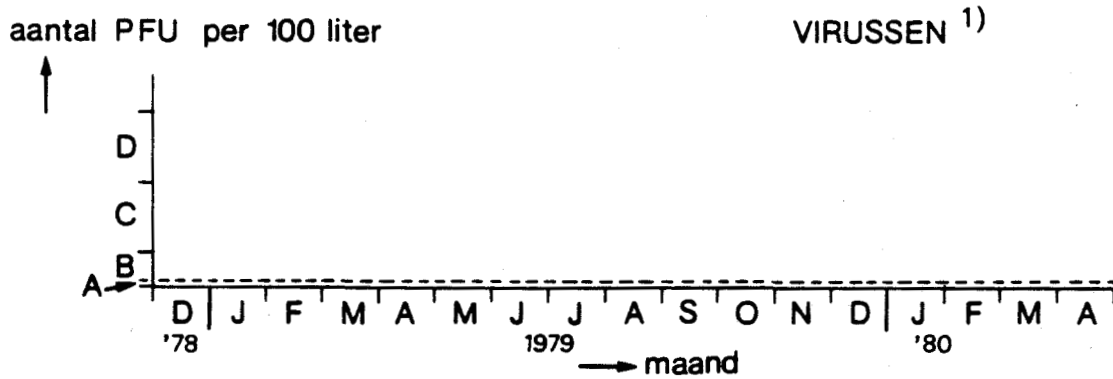
* aantal bacteriën per liter kleiner dan 10.

verwachting, omdat er op veel verschillende plaatsen op de Rijn (Lek) huishoudelijk afvalwater wordt geloosd. Wanneer de temperatuur van het Lekwater hoger dan 10 °C is, wordt door de WRK een transportchloring toegepast. Hoewel het niet waarschijnlijk is dat de bij dit onderzoek gemeten hoeveelheden vrij en gebonden chloor verantwoordelijk mogen worden gesteld voor het afwezig zijn van virussen in de zomer, is de invloed ervan op de bacteriën van de coligroep en de fecale streptococcen duidelijk merkbaar.

Provinciaal Waterleidingbedrijf van Noord-Holland: IJsselmeerwater, na bezinking in spaarbekken en microzeven (Bijlage II en Figuur 2). Het te onderzoeken water bleek zoveel stoffen te bevatten, die toxisch waren voor het celmateriaal, dat de toegepaste technieken niet geschikt waren voor virologisch onderzoek van dit water. Er werden dan ook geen virussen aangetoond, hoewel uit de bacteriologische gegevens bleek, dat het water duidelijk fecaal was verontreinigd.

Goudse Waterleiding Maatschappij: Lekwater, na oeverfiltratie. De resultaten van het onderzoek van water na oeverfiltratie zijn niet in een bijlage of figuur opgenomen, omdat in geen van de monsters virussen konden worden aangetoond. Hierbij werden volumina van 28 liter (29-11-1978), 100 liter (7-2, 28-3, 13-6, 2-8 en 3-10-1979) en 400 liter (4-11-1979) verwerkt. Het aantal bacteriën van de coligroep, totaal en thermotolerant, was in alle gevallen kleiner dan 10 per liter. Hetzelfde gold voor het aantal fecale streptococcen, met uitzondering van het monster van 13-6-1979, waarin 3×10^3 bacteriën per liter werden aangetoond.

Fig. 2 - Virologische en bacteriologische gegevens van IJsselmeerwater na passage door microzeven

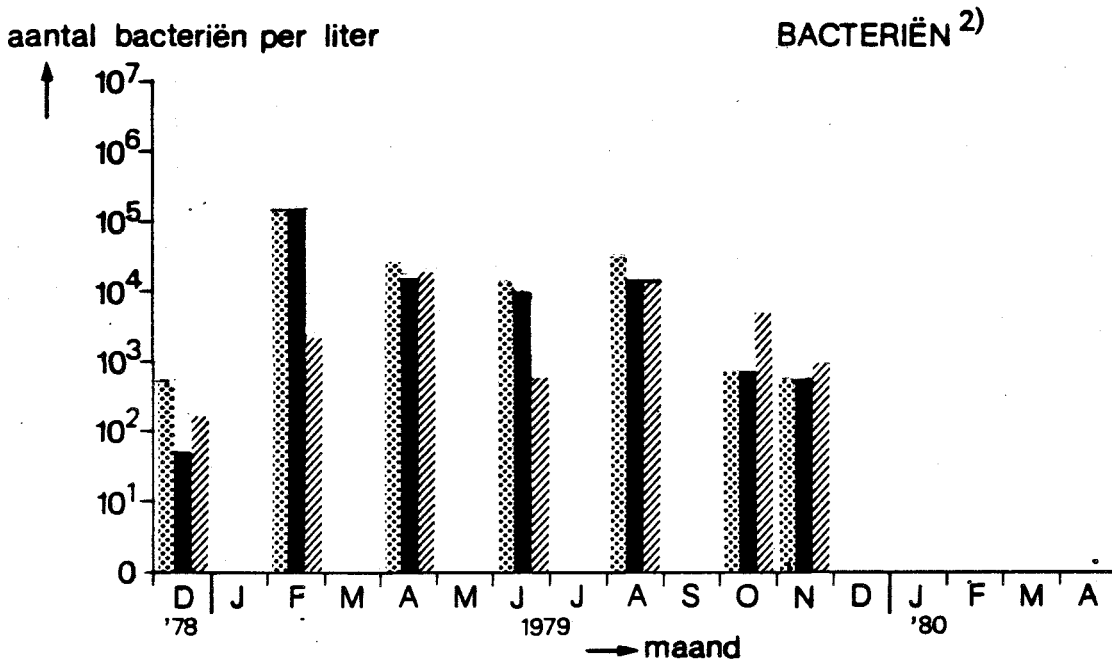
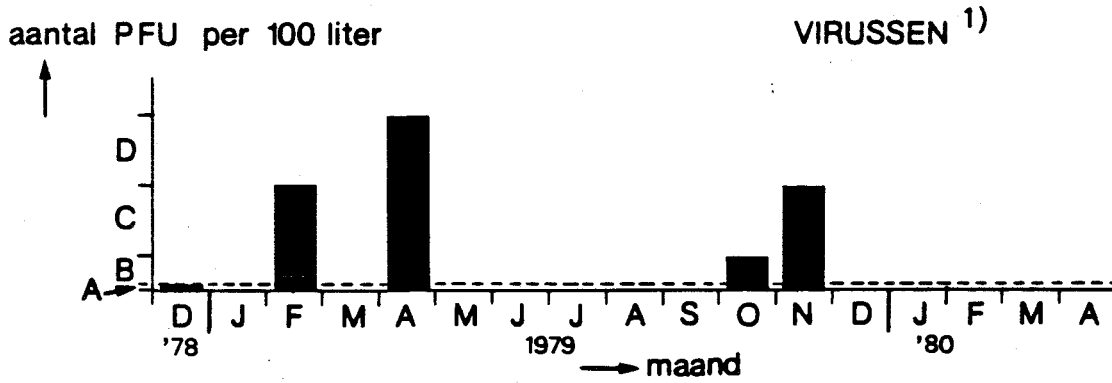


11.011.02.40

1) ingedeeld in klassen. A: niet aantoonbaar; B: 1-10 PFU;
C: 11-100 PFU; D: >100 PFU

2) bacteriën van de coligroep, totaal ☒ en thermotolerant ■;
fecale streptococci ☒.
* aantal bacteriën per liter kleiner dan 10³
• " " " " 10³

Fig. 3 - Virologische en bacteriologische gegevens van boezemwater Westland



11.011.03.40

1) ingedeeld in klassen. A: niet aantoonbaar; B: 1-10 PFU;
C: 11-100 PFU; D: >100 PFU

2) bacteriën van de coligroep, totaal en thermotolerant ;
fecale streptococci .

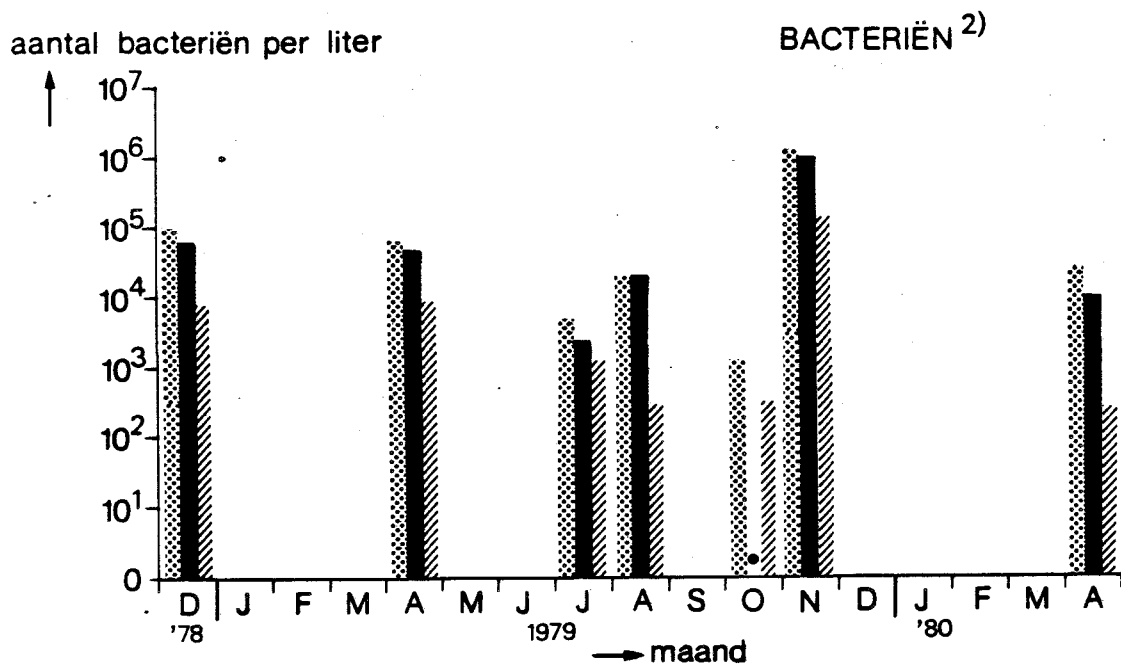
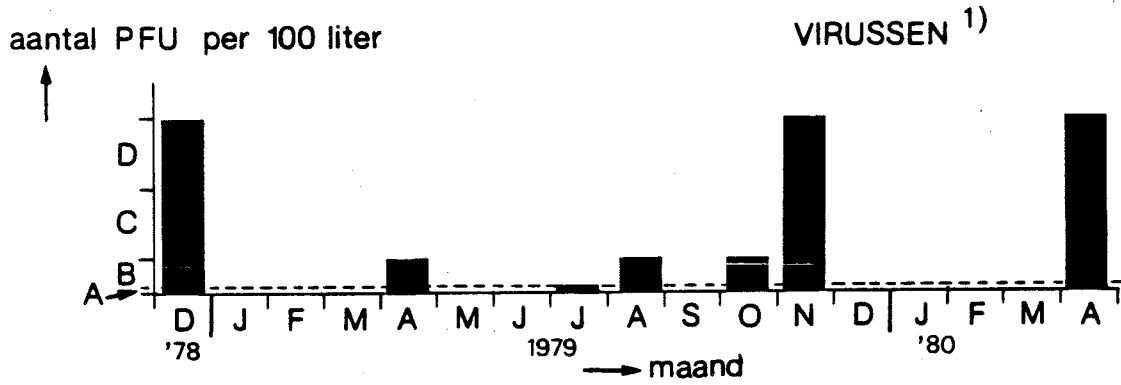
Westlandsche Drinkwatermaatschappij: boezemwater (Bijlage III en Figuur 3). In dit oppervlaktewater werden herhaaldelijk virussen aangetoond, met name in de wintermaanden. Dit water bleek bovendien steeds in sterke mate fecaal verontreinigd.

Gemeentelijk Waterbedrijf Groningen: Drentse Aa (Bijlage IV en Figuur 4). Uit het water, dat door het pompstation werd ingenomen, werden gedurende bijna het hele jaar virussen geïsoleerd. De aantallen waren 's zomers evenwel laag. De in vergelijking met het Lekwater geringere verscheidenheid aan virustypen in het water van de Drentse Aa houdt verband met het feit dat het stroomgebied van de Drentse Aa relatief klein is. De bacteriën, die indicatief zijn voor fecale verontreiniging waren steeds in grote aantallen aanwezig.

Drinkwaterleiding Rotterdam: Maaswater, voorgezuiverd door Waterwinningbedrijf Brabantse Biesbosch en aangevoerd bij pompstation Kralingen (Bijlage V en Figuur 5). In het voorgezuiverde Maaswater werd slechts eenmaal 1 virus aangetoond, namelijk in februari 1979 in een monster van 100 liter. In de winter van 1979-1980 werden 2 grotere monsters genomen, namelijk van 350 en 400 liter. Hierin werden geen virussen gevonden.

In het water, waarin virus werd aangetoond bedroeg het totale aantal bacteriën van de coligroep 12 per liter en waren eveneens fecale streptococci aanwezig (30/1). Thermotolerante bacteriën van de coligroep werden niet aangetroffen (< 10/1).

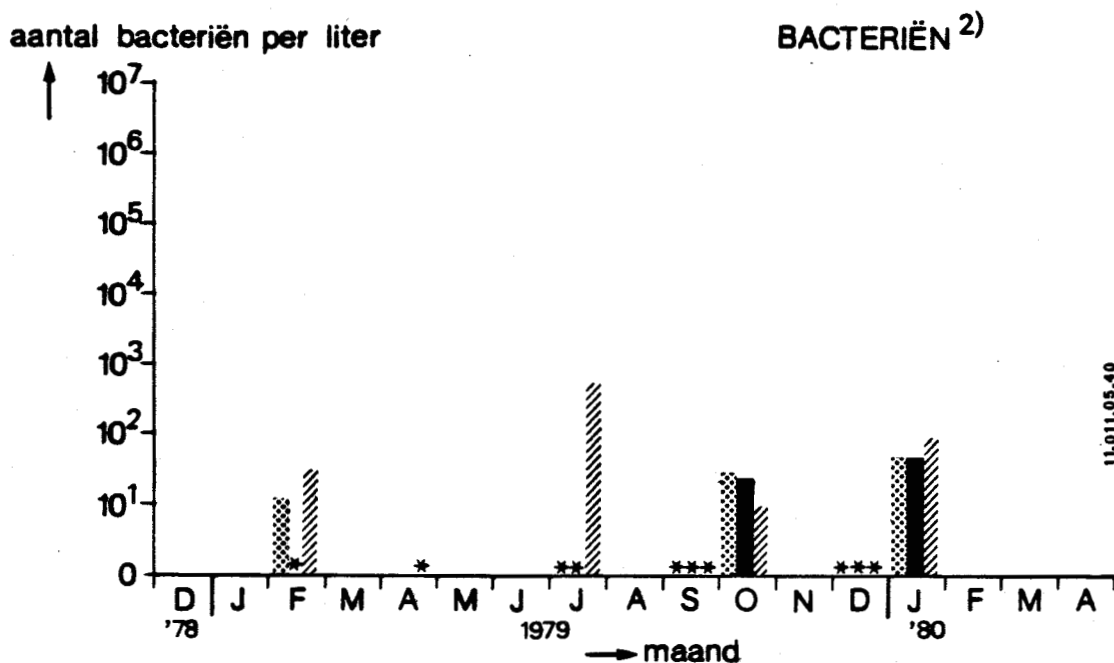
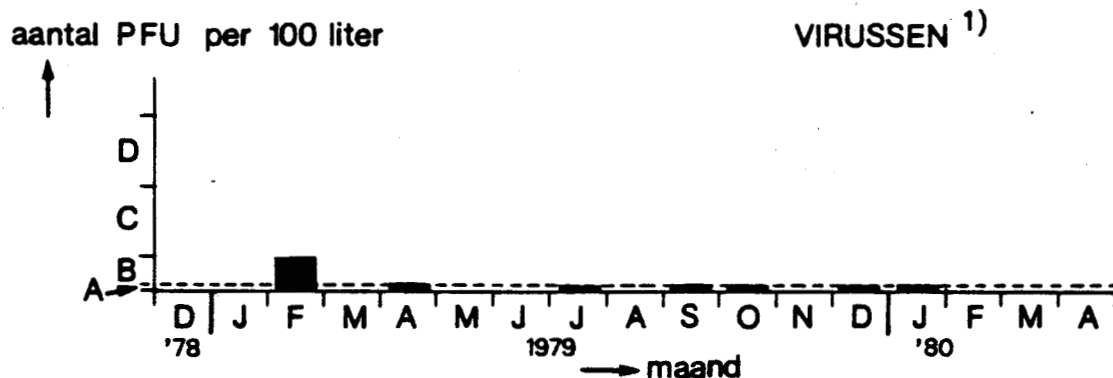
Fig. 4 - Virologische en bacteriologische gegevens van Drentse Aa-water



11.011.04.40

- 1) ingedeeld in klassen. A: niet aantoonbaar; B: 1-10 PFU; C: 11-100 PFU; D: >100 PFU
- 2) bacteriën van de coligroep, totaal ☐ en thermotolerant ■; fecale streptococci ▨.
 • aantal bacteriën per liter kleiner dan 10³

Fig. 5 - Virologische en bacteriologische gegevens van Maaswater, voorgezuiverd door het Waterwinningbedrijf Brabantse Biesbosch



- 1) ingedeeld in klassen. A: niet aantoonbaar; B: 1-10 PFU; C: 11-100 PFU; D: >100 PFU
- 2) bacteriën van de coligroep, totaal en thermotolerant ; fecale streptococci .
* aantal bacteriën per liter kleiner dan 10.

4 DISCUSSIE

4.1 Methoden

In het bij dit onderzoek bemonsterde drinkwater werden geen virussen aangetroffen. Men dient er bij de interpretatie van de resultaten echter rekening mee te houden, dat met de gehanteerde methodiek slechts een klein gedeelte van het aanwezige virusbestand kan worden aangetoond. Het rendement van de concentratietechniek is namelijk sterk afhankelijk van de waterkwaliteit (lit. 33). Naarmate bijvoorbeeld de troebeling groter is, zal het rendement afnemen. Ook zal het rendement niet gelijk zijn voor de verschillende virustypen die in water kunnen voorkomen. Ten behoeve van het onderhavige onderzoek werden rendementsbepalingen uitsluitend met een poliovirus uitgevoerd, zodat geen informatie is verkregen over het rendement van andere groepen virussen. Een andere beperking is, dat de keuze van de celkweek de verscheidenheid van de te isoleren virussen bepaalt. Alleen de virustypen die op het celmateriaal, in dit geval apeniercellen, tot vermeerdering kunnen komen, kan men aantonen. Van belang is in dit verband dat voor een aantal virustypen, waaronder het hepatitisvirus, waarvan bekend is, dat in een aantal gevallen overdracht via water verantwoordelijk was voor het uitbreken van geelzucht, nog geen detectietechniek beschikbaar is. Ondanks genoemde beperkingen werden in het bij dit onderzoek onderzochte niet of gedeeltelijk gezuiverde water evenwel 14 verschillende virustypen aangetoond, namelijk 4 typen Poliovirus, 4 typen Cocksackie B virus, 3 typen Echovirus en alle 3 typen van het Reovirus, terwijl 2,4 % (2/82) van de isolaten niet typeerbaar bleek. Op grond hiervan mag worden gesteld dat de gehanteerde detectietechniek

nieken aan de verwachtingen hebben voldaan. Wat betreft de aantallen virussen, die uit niet of gedeeltelijk gezuiverd water werden geïsoleerd, moet worden opgemerkt dat deze om bovenstaande redenen als minimale aantallen moeten worden beschouwd en niet een definitieve kwantiteit aangeven. Hierbij komt nog dat het rendement van de concentratietechniek voor het aantonen van virussen in grote volumina water is bepaald op grond van experimenten met leidingwater. Aangezien een aantal monsters oppervlaktewater troebel was, zal bij het verwerken van grote volumina van dit water het rendement lager zijn dan de 50 % die bij de rendementsbepalingen met leidingwater werd verkregen. Bovendien zijn de twee concentratietechnieken genoemd bij hoofdstuk 2-1 door elkaar gebruikt, afhankelijk van de te verwachten virusbelasting, zodat de onderlinge vergelijkbaarheid van de resultaten beperkt is. Om deze redenen zijn in de Figuren 1, 3, 4 en 5 de aantallen virussen niet logaritmisches uitgezet, maar in 4 klassen ingedeeld, na omrekening van de aantallen per volume-eenheid van 100 liter.

Uit de figuren is af te lezen dat er voor "enteric" virussen duidelijk sprake is van seizoensinvloeden. Deze virussen worden in de nazomer en herfst uitgescheiden en zijn daardoor in de wintermaanden in grotere aantallen uit het water te isoleren dan in de zomer.

4.2 Indicator-organismen

Hoewel thermotolerante bacteriën van de coligroep, die indicatief zijn voor een fecale besmetting en van oudsher worden gebruikt voor de beoordeling van de hygiënische betrouwbaarheid van water, in verontreinigd water meestal in grotere aantallen

voorkomen dan virussen (Bijlagen I t/m V en Figuren 1 t/m 5), kunnen deze echter niet worden gebruikt als indicator voor virussen, omdat de afwezigheid van E. coli geen garantie is voor de afwezigheid van virussen, zoals reeds in de inleiding is vermeld (Tabel 2). Bij het hier beschreven onderzoek werd slechts in één monster dat aan de drinkwaterkwaliteitsnorm voldeed wat betreft het aantal thermotolerante bacteriën van de coligroep (< 10 per liter) 1 virus in 100 l aangetoond. Dit water bevatte echter wel (niet thermotolerante) bacteriën van de coligroep (12 per liter) en fecale streptococci (30 per liter (Bijlage 5)). In drinkwater waarin thermotolerante bacteriën van de coligroep afwezig bleken in 100 ml, konden echter geen virussen worden aangetoond.

In Tabel 4 zijn, om enige informatie te krijgen over de relatie tussen de aanwezigheid van thermotolerante bacteriën van de coligroep en die van virussen, de monsters niet of gedeeltelijk gezuiverd water in klassen ingedeeld op basis van de aanwezige aantallen thermotolerante bacteriën van de coligroep, waarbij vervolgens is aangegeven of virussen in het water werden aangetroffen.

Uit Tabel 4 blijkt, dat in water dat aan de kwaliteitsnorm voor drinkwater voldoet, namelijk thermotolerante bacteriën van de coligroep afwezig in 100 ml (minder dan 10/liter) slechts éénmaal virus (1 PFU) werd aangetoond.

De kolom van het percentage monsters, waaruit virussen werden geïsoleerd wijst op enige relatie tussen het aantal thermotolerante bacteriën van de coligroep en het aanwezig zijn van virussen. Voor het vaststellen van een duidelijk verband zijn echter meer kwantitatieve gegevens nodig.

Tabel 4 - De aanwezigheid van virussen in de onderzochte monsters in relatie tot de besmettingsgraad van het water met thermotolerante bacteriën van de coligroep

aantal thermo- tolerante bac- teriën van de coligroep (EC) per liter	GWA		GWM		WDM		GNG		DWL-R		to- taal x y	% monsters waarin virus- sen werden aangetoond	
	x	y	x	y	x	y	x	y	x	y			
EC <10 b)	3	0	7	0					4	1	14	1	7
10 <EC <10 ²	1	1			1	0			2	0	4	1	25
10 ² <EC <10 ³	1	1			2	2	1	c			4	4	100
10 ³ <EC <10 ⁴	1	1					2	1			3	2	67
10 ⁴ <EC <10 ⁵					1	1	3	3			4	4	100
10 ⁵ <EC <10 ⁶					1	1	1	1			2	2	100
Totaal	6	3	7	0	5	4	7	6	6	1			

a) Van IJsselmeerwater (PWN) werden geen virologische gegevens verkregen, omdat de technieken niet geschikt bleken voor het verwerken van dit water.

b) Komt overeen met drinkwaterkwaliteit.

c) Aantal thermotolerante bacteriën van de coligroep kleiner dan 10³ per liter

4.3

Normstelling

Omdat exacte gegevens ontbreken over de relatie van een virologische besmetting van water en daardoor veroorzaakte ziekten, is er geen wetenschappelijke basis op grond waarvan men een virologische norm kan vaststellen (lit. 17). Theoretisch is één viruspartikel in staat om het infectieproces te initiëren. In de praktijk zal de minimale infectieuze dosis voor de meeste mensen toch groter zijn.

Nadat technieken waren ontwikkeld voor virologisch onderzoek van grote volumina water, zijn desalniettemin de volgende aanbevelingen opgesteld:

< 1 PFU per 38 liter recreatiewater en < 1 PFU per 380-3800 liter drinkwater (lit. 31) en "geen virussen aantoonbaar in drinkwater bij onderzoek van volumina van 100 tot 1000 liter" (lit. 52). Deze aanbevelingen berusten in hoofdzaak op praktische en economische gronden.

Bij het in dit rapport beschreven onderzoek werden in totaal 102 drinkwatermonsters van elk 500 liter onderzocht, te weten 40 monsters van water "af pompstation" en 62 monsters van water in het distributiesysteem. Aangezien hierin geen virussen zijn aangetoond kan met een betrouwbaarheid van tenminste 97 % worden gesteld, dat het onderzochte drinkwater aan de norm "geen virussen aantoonbaar (< 1 PFU) per 500 liter" voldeed. Om de betrouwbaarheid van deze uitspraak tot tenminste 99 % te verhogen zouden minimaal 600 monsters van 500 l. moeten worden onderzocht, waarbij in geen van de monsters virussen mogen worden aangetroffen. Voor de berekening werd echter geen rekening gehouden met het optreden van seizoeninvloeden en werden alle monsters van water na zuivering en in het distributiegebied van de zes verschillende bedrijven bij elkaar opgeteld. Deze getallen gelden dus niet voor de afzonderlijke bedrijven.

CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Hoewel het aantal onderzochte monsters te gering is om een uit virologisch oogpunt betrouwbare uitspraak te doen over het al dan niet aantoonbaar zijn van virussen in Nederlands drinkwater, kan op grond van de resultaten van het beschreven onderzoek de vraag of virologisch onderzoek deel moet uitmaken van de verplichte kwaliteitscontrole van drinkwater, vooralsnog negatief worden beantwoord. Er zijn namelijk geen zodanige resultaten verkregen (zoals aanwezigheid van virussen in drinkwater bij afwezigheid van bacteriën, die indicatief zijn voor fecale verontreiniging) dat hierdoor routinematig virologisch onderzoek van drinkwater als noodzakelijk moet worden gezien. Deze stellingname is niet definitief, daar toekomstige ontwikkelingen tot andere inzichten zouden kunnen leiden. Er zijn momenteel meerdere argumenten aan te voeren die bovenstaande uitspraak ondersteunen. Virologisch onderzoek van drinkwater duurt bij toepassing van de in dit rapport beschreven techniek twee weken alvorens vast staat, dat het betreffende monster negatief is, hoewel, omdat een aantal virustypen zich binnen enkele dagen in apeniercellen kan vermeerderen bij aanwezigheid van deze virussen eerder een uitspraak kan worden gedaan. De te verkrijgen informatie is bovendien niet volledig, terwijl de kosten van routinematig onderzoek van drinkwater relatief hoog zullen zijn.

Door de WHO (1979) (lit. 52) wordt evenwel routinematig virologisch onderzoek van drinkwater toch aanbevolen voor situaties, waarbij sprake is van hergebruik van afvalwater of waar grote bevolkingscentra voor hun drinkwatervoorziening afhankelijk zijn van oppervlaktewater, dat sterk met huishoude-

lijk afvalwater is verontreinigd. De eerste situatie doet zich in Nederland echter niet voor, terwijl in de andere situatie een dermate grondige zuivering wordt toegepast dat routinematig virologisch onderzoek van het eindprodukt in Nederland veel minder zinvol is dan in andere landen waar met een eenvoudiger zuiveringssysteem wordt volstaan.

Hoewel er thans geen argumenten zijn om in Nederland het drinkwater routinematig te onderzoeken op de aanwezigheid van virussen, is het aanbevelenswaardig om in situaties waarbij, ten gevolge van leidingbreuk of onvolkomenheden bij de zuivering twijfel over de hygiënische betrouwbaarheid van drinkwater bestaat, virologisch onderzoek uit te laten voeren. Op deze wijze kan kennis worden verkregen die kan worden benut bij een verdere verbetering van de hygiënische gesteldheid van het drinkwater. Hiervoor moet men voortdurend kunnen beschikken over een virologisch laboratorium.

Aan de vraag om na te gaan of virologisch onderzoek van drinkwater onderdeel van het routineonderzoek dient uit te maken ligt uiteraard de wens ten grondslag om met zekerheid vast te kunnen stellen dat het bereide drinkwater in virologisch opzicht steeds onberispelijk is. Zoals vermeld wordt voortzetting van het virologisch onderzoek van drinkwater voor het bereiken van dit doel niet het meest zinvol geacht. Daar zoals bij het onderzoek is gebleken een grote verscheidenheid aan virussen in het water, waaruit het drinkwater wordt bereid werden aangetroffen, is het van groot belang dat nader wordt onderzocht in welke mate in de praktijk de diverse waterbehandelingen in staat zijn het aangevoerde virus in gunstige en minder gunstige omstan-

digheden te verwijderen en te inactiveren. Wanneer men de huidige problematiek ten aanzien van de vorming van ongewenste nevenprodukten bij desinfectieprocessen hierbij betreft, waarbij een kritische beschouwing wordt gevraagd ten aanzien van het toepassen van chemische desinfectiemiddelen (met name chloren) in het zuiveringssysteem, wordt kennis omtrent het virusverwijderend vermogen van de verschillende zuiveringsstappen van groot belang.

Hoewel bij het in dit rapport beschreven onderzoek slechts 5 tot 7 gegevens per monsterpunt zijn verkregen, kan worden aangenomen dat zowel opslag van water in spaarbekkens als oeverfiltratie een sterke reductie van het aantal virussen teweeg brengen, omdat zowel de Maas als de Lek sterk fecaal en dus ook virologisch zijn besmet. Na coagulatie (bij een pH van ongeveer 8,5), gevolgd door vlokverwijdering en snelfiltratie van Lekwater zijn echter talrijke virusisolaties mogelijk gebleken. Zuiveringsprocessen, die in aanmerking komen voor nader onderzoek zijn met name desinfectie, coagulatie en vlokverwijdering, bodempassage (duinfiltratie, langzame zandfiltratie) en opslag in spaarbekkens. De frequentie van bemonstering, met name die van het ruwe water, moet hoog zijn om de fluctuaties in de besmettingsgraad te kunnen vaststellen.

Met nadruk moet erop worden gewezen, dat onderzoek van de virusverwijdering bij het zuiveringsproces in de praktijk moet worden uitgevoerd. Laboratoriumexperimenten hebben namelijk uitgewezen, dat laboratoriumvirusstammen minder resistent zijn in het milieu en bij een aantal zuiveringsstappen gemakkelijker worden verwijderd dan virussen, zoals die in de natuur voorkomen (lit. 14).

Wanneer men voldoende kennis omtrent het virusverwijderend vermogen van de waterbehandelingen heeft verkregen, kan vervolgens een virusvrij drinkwater

worden gewaarborgd. Ook in de Verenigde Staten is men van mening dat zuiveringscriteria de garantie voor virusvrij drinkwater moeten opleveren (lit. 10,14)

Wanneer blijkt dat door een bepaald zuiveringsproces een grote verscheidenheid aan virussen sterk wordt gereduceerd, mag men verwachten, dat ook virussen, die met de toegepaste detectiesystemen niet kunnen worden aangetoond, worden verwijderd. Wanneer dit echter met name voor rota- en hepatitisvirussen niet blijkt op te gaan, is het gewenst, dat een beperkt hernieuwd inventarisatieonderzoek van drinkwater wordt uitgevoerd. Juist van deze virustypen die zeer resistent en virulent zijn en waarvoor op korte termijn detectietechnieken beschikbaar komen, zijn herhaaldelijk infecties door overdracht via water voorgekomen. Naast onderzoek naar virussen en bacteriën, die indicatief zijn voor fecale verontreiniging, is het gewenst ook de gedragingen van virussen van deze bacteriën (met name colifagen) bij het onderzoek naar het effect van zuiveringsprocessen te betrekken. De bepaling van colifagen is namelijk sneller uitvoerbaar, eenvoudiger en goedkoper dan dat van humane virussen (lit. 27, 28). Hoewel reeds is aangetoond, dat fagen niet zonder meer als indicator voor humane virussen kunnen worden gebruikt, omdat bepaalde typen humane virussen meer resistent bleken, kan met behulp van fagen wellicht zinvolle aanvullende informatie over het virusverwijderend effect van bepaalde zuiveringsprocessen worden verkregen.

Door onderzoek naar de overeenkomsten en verschillen betreffende het effect van diverse waterbehandelingen op zowel humane virussen als fecale bacteriën en de virussen van deze organismen kan een goed inzicht worden verkregen in de hygiënische betrouwbaarheid van drinkwater, dat een bepaalde zuivering heeft ondergaan.

DANKBETUIGING

Het beschreven onderzoek werd mogelijk door de medewerking van de betrokken waterleidingbedrijven. Het bacteriologisch onderzoek werd uitgevoerd door het laboratorium van de Duinwaterleiding van 's-Gravenhage (drs. A.C. Hoekstra). De typeringen van de geïsoleerde virussen werden uitgevoerd door de afdeling Virologie (dr. J.G. Kapsenberg) van het Rijksinstituut voor de Volksgezondheid te Bilthoven. Het onderzoek werd in samenwerking met het Rijksinstituut voor de Drinkwatervoorziening (drs. H.J. Kool en ing. H.J. van Kranen) uitgevoerd en begeleid door de Commissie Virologie van het KIWA, bestaande uit de volgende personen:

drs. G. Drost (voorzitter), Duinwaterleiding van 's-Gravenhage;

C.H.J. Elzenga (secretaris tot december 1979), KIWA N.V.;

ir. M. van Olphen (secretaris met ingang van december 1979) KIWA N.V.;

drs. A.C. Hoekstra, Duinwaterleiding van 's-Gravenhage;

drs. H.J.M. Lips (tot december 1979) Provinciaal Waterleidingbedrijf Noord-Holland;

drs. R.M. Tierie (met ingang van december 1979), Provinciaal Waterleidingbedrijf Noord-Holland;

dr. J.J. Rook (tot mei 1980) Drinkwaterleiding Rotterdam;

ir. P.J. Nobel (met ingang van mei 1980) Drinkwaterleiding Rotterdam;

dr.ir. J.A. Schellart, Gemeentewaterleidingen Amsterdam;

drs. H.J. Kool, Rijksinstituut voor de Drinkwatervoorziening.

LITERATUUR

1. Akin, E.W.; Trihalomethanes and viruses in a water supply.
J.Env. Eng.Div., 104 (1978) EE4, p. 829-830
2. Akin, E.W.; Benton, W.H.; Hill, W.F.; Enteric Viruses in Ground and Surface Waters: A Review of Their Occurrence and Survival.
In: Snoeyink, V. (ed.) "Virus and Water Quality: Occurrence and Control"; Proceedings of the Thirteenth Water Quality Conference, February 1971. University of Illinois Bulletin, 69 p. 59-74.
3. Bagdasaryan, G.A.
In: WHO; Human viruses in water, wastewater and soil.
Geneva, 1979, p. 16
Techn.Rep. Series no. 639
4. Berg, G.; Virus transmission by the water vehicle.
I.Viruses.
Health Lab.Science, 3 (1966)4, p. 86
5. Berg, G.; Berman, D.; Destruction by anaerobic mesophilic and thermophilic digestion of viruses and indicator bacteria indigenous to domestic sludges.
Appl.and Env. Microbiol. 39 (1980)2, p. 361-368
6. Berry, J.W.; Shaffer, P.T.B.; Viruses: monitoring is the key.
Water & Wastes Engrg. 15 (1978)1, p. 14-17

7. Chang, S.L.; Waterborne viral infections and their prevention.
Bull. World Health Org., 38 (1968) p. 401-414
8. Clarke, N.A.; Akin, E.W.; Liu, O.C.; e.a.; Virus study for drinking water supplies.
JAWWA. 67 (1975) p. 192-197
9. Coin, L.; Menetrier, M.L.; Labonde, J.; e.a.; Modern microbiological and virological aspects of water pollution.
In: Jaag, O. (ed.); Adv. in Water Pollution Research; Vol. 1.
London, Perg. Press, 1964
10. Committee Report; Viruses in drinking water.
JAWWA, 71 (1979)8, p. 441-444
11. Coulon, G.; Netter, R.; La recherche des virus dans l'eau potable. Etude critique des méthodes et résultats.
Bull. INSERM 22 (1967) p. 941-956
12. Craun, G.F.; Waterborne disease-- a status report emphasizing outbreaks in groundwater systems.
Ground Water, 17 (1979)2, p. 183-191
13. Dahling, D.R.; Safferman, R.S.; Survival of enteric viruses under natural conditions in a subarctic river.
Appl. and Env. Microbiol., 38 (1979)6, p. 1103-1110
14. EPA; Human viruses in the aquatic environment: a status report with emphasis on the EPA

research program.
Washington, 1979, 37 blz.
EPA 570/9-78/006

15. Foliguet,; J.M. Schwartzbrod, L.; Gaudin, O.G.;
La pollution virale des eaux usées, de surface
et d'alimentation.
Bull. WHO., 35 (1966)p. 737-749
16. Fri, R.W.; McDermott, J.H.; Hearings before the
Com.on Commerce, US Senate 92nd Congr. Serial
92-57 March 20, 1972, USGPO
17. Gamble, D.R.; Viruses in drinking water.
The Lancet (1979)1/8113, p. 425-428
18. Gerba, C.P.; Goyal, S.M.; Labelle, R.L.; e.a.;
Failure of indicator bacteria to reflect the
occurrence of enteroviruses in marine waters.
American J. Public Health, 69 (1979)11,
p. 1116-1119.
19. Guy, M.D.; McIver, J.D.; Lewis. M.J.; The
removal of virus by a pilot treatment plant.
Water Research 11 (1977)5, p. 421-428
20. Hill, W.F.; Jakubowski, W.; Akin, E.W.; e.a.;
Detection of virus in water: Sensitivity of the
tentative standard method for drinking water.
Appl. and Env.Microbiol., 31 (1976) p. 254-261
21. Hoehn, R.C.; Randall, C.W.; Bell, F.A.;
Trihalomethanes and viruses in a water supply.
J. Env.Eng.Div., 103 (1977) EE5, p. 803-814

22. Hoehn, R.C.; Randall, C.W.; Bell, F.A.;
Trihalomethanes and viruses in a water supply.
J.Env.Eng.Div., 105 (1979) EE1, p. 176-177
23. Katz, M.; Plotkin, S.A.; Minimal infective dose
of attenuated poliovirus for man.
J.Am.Publ.Hlth.Assn., 57 (1967) p. 1837-1840
24. Katzenelson, E.; Fattal, B.; Hostovesky, T.;
Organic flocculation: an efficient second-step
concentration method for the detection of
viruses in tap water.
Appl.and Env. Microbiol. 32 (1976)4, p. 638-639
25. Keuringsinstituut voor Waterleidingartikelen
(KIWA N.V.).
Spurwerkcommissie virologisch onderzoek, brief
nr. 59232 deL.
Rijswijk, 1971
26. Köhler, H.G.; Schatz, O.; Report on experiments
on disinfection of drinking water by ozone.
G.W.F.- Wasser/Abwasser 116 (1975)9, p. 417-423
27. Kott, Y.; Some thoughts concerning water
pollution indicators.
Israel J.Med.Sci., 13 (1977)6, p. 646
28. Kott, Y.; Roze, N., Sperber, S., e.a.;
Bacteriophages as viral pollution indicators.
Water Research 8 (1974)3, p. 165-171
29. Mahdy, M.S.; Viruses in the water environment:
An underestimated problem.
JAWWA, 71 (1979)8, p. 445-449

30. McLean, D.M.; Human enteroviruses in water and wastewater and their implications.
In: Mahdy and Dutka (ed's.) Proc. of Symp: Viruses in the environment and their potential hazards, 1973, p. 140-154.
31. Melnick, J.L.; Gerba, C.P.; Wallis, C.; Viruses in water.
Bull. Wld.Hlth.Org. 56 (1978)4, p.499-508
32. Metcalf, T.G.; Shaffer, P.T.B.; Mooney, R.; Incidence of virus in water; case histories.
In: AWWA; Proc. 1978 annual conference, paper 35-2
33. Metcalf, T.G.; Wallis, C.; Melnick, J.L.; Environmental factors influencing isolation of enteroviruses from polluted surface waters.
Appl.Microbiol, 27 (1974) p. 920-926
34. Nat.Ac. of Scientists USA.; Drinking Water and Health.
Washington, The safe drinking water Committee, 1977
35. Nestor, I.; Enteroviruses in drinking water correlated with the physical-chemical and bacteriological indicators of water quality.
Zbl.Bakt.Hyg. I. Abt.Orig. B, 171 (1980) p. 218-223
36. Nestor, I.; Costin, L; Presence of certain enteroviruses (Coxsackie) in sewage effluents and in river waters of Roumania.
J.Hyg.Epid.Microb.Immun. 20 (1976)2, p. 137-149

37. Oserovic, A.; Experience of sanitary virological investigations of environmental factors.
Transactions of the Institute of Poliomyelitis and virus encephalitides (Moscow), 14 (1970)
p. 119-125
38. Rabyšo, E.V.; Some aspects of the circulation of enteroviruses in the environment.
Gigiena i sanitarya, 39 (1974) p. 105-106
39. Richards, W.N.; Shaw, B.; Developments in the microbiology and disinfection of water supplies.
J.Inst.Water.Eng.and Scientists, 30 (1976)4,
p. 191-202
40. Sabin, A.B.; Properties of attenuated polio-
viruses and their behavior in human beings.
Spec. Publ.NY Acad.of Sc., 5 (1957) p. 113-127
41. Sattar, S.A.; Westwood, J.C.N.; Viral pollution of surface waters due to chlorinated primary effluents.
Appl.and Env.Microbiol., 36 (1978)3, p. 427-431
42. Slade, J.S.; Enteroviruses in partially purified water.
J.Inst.Water Engrs. and Scientists, 31 (1977) 3,
p. 219-224
43. Slade, J.S.; Enteroviruses in slow sand filtered water.
J.Inst. of Water Engrs. and Scientists, 32
(1978)6, p. 530-536
44. Snead, M.C.; Olivieri, V.P.; Kawata, K.; e.a.;
The effectiveness of chlorine residuals in

inactivation of bacteria and viruses introduced by post-treatment contamination. *Water Research*, 14 (1980) p. 403-408

45. Sproul, O.J.; Virus inactivation by water treatment.
JAWWA. 64 (1972) p. 31-35
46. Unz, R.F.; Traitement des eaux usées microbiologie sanitaire.
JWPCF 51 (1979)6, p. 1778-1783
47. Vaughn, J.M.; Landry, E.F.; Baranosky, L.J.; e.a.; Survey of human virus occurrence in wastewater-recharged groundwater on Long Island. *Appl. and Env. Microbiol.*, 36 (1978)1, p. 47-51
48. Vial, J.; Seux, R.; Boutin, P.; Disinfection of waste waters by chlorine. Difficulties in assessing the efficiency of microbiological contamination using conventional indicators. *Technique de L'eau* (1980) 399, p. 11-20, 42
49. Wellings, F.M.; Mountain, C.W.; Lewis, A.L.; Virus in groundwater. Proc. 2nd.Natl.Conf.- Individual on site wastewater systems. Ann Arbor (Michigan), Natl. Sanit. Fdn., 1975
50. Wellings, F.M.; Lewis, A.L.; Mountain, C.W.; e.a.; Demonstration of virus in groundwater after effluent discharge onto soil. *Appl. Microbiol.* 29 (1975) p. 751-757
51. Westwood, J.C.N.; Sattar, S.A.; Environmental transmission of infections. Is there a hazard? In: Mahdy and Dutka, (ed.'s); Proc. of Symp.

viruses in the environment and their potential hazards. 1973, p. 155-166

52. World Health Organization; Human viruses in water, wastewater and soil. Geneva, 1979, 50 blz. Technical Report Series no. 639

BIJLAGE I Gemeentewaterleidingen (Amsterdam), monsterpunt Lekwater, voorbehandeld door de WRK, bestemd voor duininfiltratie.

Virologie				Bacteriologie		Fysisch-chemische parameters					
datum	volume (l)	aantal PFU	virustypen	bacteriën v.d. coligroep aantal per liter		fecale strep- tococcen aantal per l	temp. (°C)	pH	vrij chloor (mg/l)	totaal chloor (mg/l)	troeb. (FTU)
				totaal	thermoto- lerant						
10- 1-'79	5	17	2 Polio 1 wild 2 Polio 2 vaccin 1 Polio 2 interm. 1 Coxsackie B2 3 Coxsackie B5 4 Reo 1 2 Reo 2 1 Reo 3 1 Niet typeerbaar	$6,3 \times 10^3$	$6,3 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	2	7,3	0,1	0,1	0,4
8- 3-'79	100	1	1 Reo	60	60	20	6	7,3	<0,02	<0,02	0,4
23- 5-'79	130	<1		25	<10	10	16	7,4	<0,02	0,25	0,1
18- 7-'79	100	<1		13	<10	<10	20	7,5	0,07	0,25	0,1
12- 9-'79	100	<1		<10	<10	<10	19	7,6	0,2	0,5	0,2
5-11-'79	3	1	1 Coxsackie B5	-a)	-	-	10	7,3	<0,02	<0,02	0,2
19-12-'79	6,5	8	2 Polio 1 vaccin 1 Polio 2 vaccin 4 Reo 1 Niet typeerbaar	$3,5 \times 10^2$	$2,8 \times 10^2$	40	8	7,9	<0,02	<0,02	0,2

a)- = niet bepaald

BIJLAGE II Provinciaal Waterleidingbedrijf van Noord-Holland, monsterpunt IJsselmeerwater,
na bezinking in spaarbekkens en microzeven (35 mu)

Virologie			Bacteriologie		Fysisch-chemische parameters						
datum	volume (l)	aantal PFU	virustypen	bacteriën v.d. coligroep aantal per liter		fecale strep- tococcen aantal per l	temp. (°C)	pH	vrij chloor (mg/l)	totaal chloor (mg/l)	troeb. (FTU)
				totaal	thermoto- lerant						
21- 3-'79	100	<1a)		$2,0 \times 10^2$	<10	40	5	8,5	-	-	-
30- 5-'79	100	<1a)		$1,0 \times 10^2$	-b)	5	16	8,2	-	-	2,2
26- 7-'79	50	<1a)		$1,9 \times 10^3$	$4,8 \times 10^2$	<10	18	8,6	-	-	2,1
19- 9-'79	50	<1		$2,2 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	$5,5 \times 10^3$	17	8,6	-	-	6,1
8-11-'79	50	<1		$5,5 \times 10^3$	<10 ³	$1,5 \times 10^2$	9	8,4	-	-	3,8
12-12-'79	65	<1		$7,3 \times 10^2$	<10	30	8	8,0	-	-	4,6
23- 1-'80	50	<1		-	-	75	2	8,1	< 0,02	< 0,02	2,5

a) het concentraat bleek toxisch voor de BGM cellen.

b)- = niet bepaald.

BIJLAGE III Westlandsche Drinkwaterleiding Maatschappij, monsterpunt boezemwater (Heemraadswater)

Virologie			Bacteriologie		Fysisch-chemische parameters						
datum	volume (l)	aantal PFU	virustypen	bacteriën v.d. coligroep aantal per liter		fecale strep- tococci aantal per l	temp. (°C)	pH	vrij chloor (mg/l)	totaal chloor (mg/l)	troeb. (FTU)
				totaal	thermoto- lerant						
6-12-'78	3,5	<1		$5,3 \times 10^2$	53	$1,7 \times 10^2$	3	7,6	-a)	-	-
22- 2-'79	4	2	1 niet typeerbaar A 1 niet typeerbaar B	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$1,9 \times 10^3$	-	7,2		-	-
11- 4-'79	0,9	20	14 niet typeerbaar A 5 niet typeerbaar B 1 Echo 31	$2,6 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	14	8,8	-	-	7,4
20- 6-'79	b)			$1,3 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$5,0 \times 10^2$	-	7,6	-	-	4,2
16- 8-'79	b)			$3,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	-	7,8	-	-	2,8
10-10-'79	100	2	2 niet typeerbaar B	$8,2 \times 10^2$	$8,2 \times 10^2$	$5,4 \times 10^3$	16	7,7	-	-	2,2
22-11-'79	35	5	1 niet typeerbaar A 4 Coxsackie B3	$5,2 \times 10^2$	$5,2 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$	8	7,4	-	-	2,4

a)- = niet bepaald

b) geen virologische bemonstering

BIJLAGE IV Gemeentelijk Waterbedrijf Groningen, monsterpunt Drentse Aa

datum	Virologie			Bacteriologie		Fysisch-chemische parameters					
	volume (l)	aantal PFU	virustypen	bacteriën v.d. coligroep aantal per liter		fecale strep- tococcen aantal per l	temp. (°C)	pH	vrij chloor (mg/l)	totaal chloor (mg/l)	troeb. (FTU)
				totaal	thermoto- lerant						
13-12-'78	46	114	1 Coxsackie B3 rest niet getypeerd	$9,5 \times 10^4$	$7,1 \times 10^4$	$8,3 \times 10^3$	6	7,5	-a)	-	-
18- 4-'79	100	4	1 Coxsackie B2	$7,0 \times 10^4$	$5,3 \times 10^4$	$8,0 \times 10^3$	8	7,5	-	-	-
			3 Reo 2								
5- 7-'79	50	< 1		$4,7 \times 10^3$	$2,8 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	17	7,4	-	-	8,1
29- 8-'79	50	1	1 Coxsackie B3	$1,9 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$	$3,5 \times 10^2$	17	7,5	-	-	7,0
24-10-'79	100	1	1 Coxsackie B4	$1,2 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$3,2 \times 10^2$	7	7,7	-	-	4,4
28-11-'79	1,4	11	4 Coxsackie B4	$1,3 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,3 \times 10^5$	8	7,1	-	-	11,0
			1 Echo 9								
			6 Echo 11								
9- 4-'80	2,1	7	7 Echo 11	$2,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$2,3 \times 10^2$	7	7,7	-	-	9,3

a)- = niet bepaald

BIJLAGE V Drinkwaterleiding Rotterdam, monsterpunt Maaswater vorgezuiverd door Waterwinningbedrijf Brabantse Biesbosch, aangevoerd bij pompstation Kralingen

Virologie		Bacteriologie			Fysisch-chemische parameters						
datum	volume (l)	aantal PFU	virustypen	bacteriën v.d. coligroep aantal per liter		fecale strep- tococcen aantal per l	temp. (°C)	pH	vrij chloor (mg/l)	totaal chloor (mg/l)	troeb. (FTU)
				totaal	thermoto- lerant						
28- 2-'79	100	1	Reo	12	<10	30	2	8,5	< 0,02	< 0,02	-
25- 4-'79	100	<1		-a)	-	< 10	9	9,0	0,6	0,7	-
11- 7-'79	50	<1		<10	<10	6,5x10 ²	18	8,6	-	-	0,9
5- 9-'79	26	<1		<10	<10	< 10	18	8,8	< 0,02	0,25	0,9
17-10-'79	100	<1		35	23	10	16	8,9	< 0,02	0,3	0,8
6-12-'79	400	<1		<10	< 10	< 10	9	9,0	0,02	0,3	1,1
3- 1-'80	350	<1		50	50	1,1x10 ²	6	9,0	< 0,02	< 0,02	2,2

a)- = niet bepaald