


EEN KWANTITATIEVE AANPAK

Verwijderen ziekteverwekkende micro-organismen uit oppervlaktewater bij de drinkwaterbereiding

W. HIJNEN, KIWA ONDERZOEK EN ADVIES
P. NUHN, NV WATERLEIDING MAATSCHAPPIJ 'NOORD-WEST-BRABANT'
G. MEDEMA, KIWA ONDERZOEK EN ADVIES
D. VAN DER KOOIJ, KIWA ONDERZOEK EN ADVIES

Naar aanleiding van buitenlandse ervaringen met 'nieuwe' microbiologische bedreigingen van drinkwater voeren de Nederlandse waterleidingbedrijven en de overheid aanvullend onderzoek uit naar de microbiologische veiligheid van drinkwater. Omdat de huidige microbiologische kwaliteitsbewaking onvoldoende garanties biedt, is een nieuwe werkwijze ontwikkeld om aan te tonen dat het drinkwater betrouwbaar is. Deze bestaat uit drie stappen: het bepalen van de concentratie ziekteverwekkende micro-organismen in de grondstof, het vaststellen van de benodigde verwijdering op basis van grondstofkwaliteit en voorlopige normstelling[1] en het vaststellen van de werkelijke verwijderingscapaciteit van de zuivering aan de hand van surrogaatparameters (bacteriofagen en sporen van Clostridium).

De microbiologische veiligheid is al vanaf het eind van de vorige eeuw één van de belangrijkste kwaliteitsdoelen voor de drinkwaterbereiding. In de loop van deze eeuw is de hygiënische kwaliteit van het drinkwater sterk verbeterd dankzij meer en betere zuiveringsprocessen en een gerichte microbiologische kwaliteitscontrole. Toch is in het buitenland recentelijk aangetoond dat de persistente ziekteverwekkende protozoa *Giardia* en *Cryptosporidium* (zie kader op volgende pagina) en ook virussen nog steeds kans zien de mens via drinkwater te infecteren[2],[3]. De genoemde pathogene micro-organismen zijn ook in Nederlandse oppervlaktewateren aangetroffen[4],[5]. Uitbraken of gevallen van infecties, veroorzaakt door verspreiding van pathogenen via drinkwater, zijn in Nederland niet beschreven. Een belangrijke reden hiervoor is dat het grootste deel (80 procent) van het drinkwater wordt geproduceerd uit grondwater dat vrij is van besmetting en bij gebruik van oppervlaktewater uitgebreide bodempassage of een uitgebreide directe zuivering wordt toegepast. Daarnaast worden bij onderhoud en reparaties aan het distributiesysteem van drinkwater strikte hygiënische procedures toegepast.

Nog onduidelijk is echter of met deze preventieve maatregelen ook kan worden voldaan aan het maximaal geaccepteerd infectierisico zoals dat door het ministerie van VROM is opgenomen in een voorlopig beleidstandpunt[1]. Daarom voeren de drinkwaterbedrijven en de overheid een onderzoek uit om de (on)waarschijnlijkheid van de verspreiding van pathogenen via drinkwater in Nederland te kunnen vaststellen.

Vaststellen risiconiveau infecties

Om vast te kunnen stellen of met een zuivering kan worden voldaan aan het infectierisico van 10^{-4} (zie kader op volgende pagina) is informatie nodig over de concentratie pathogenen in drinkwater. Duidelijk is dat de MTGC-waarden voor pathogene micro-organismen in drinkwater te laag zijn om door middel van directe metingen te toet-

Nieuwe inzichten

Blootstelling van de mens aan protozoa via drinkwater is mogelijk zelfs bij afwezigheid van bacteriën van de coligroep in het drinkwater. Protozoa verspreiden zich in het milieu in de vorm van (oö)cysten, een soort spore, die veel langer overleven en resistenter zijn tegen chemische desinfectie dan bacteriën van de coligroep. Daar komt bij dat de genoemde protozoa en ook virussen in hoge mate infectieus zijn, dat wil zeggen dat één organisme in principe een infectie kan veroorzaken. Wetenschappelijk onderzoek met vrijwilligers naar de dosis/effect-relatie van de belangrijkste pathogene micro-organismen heeft het mogelijk gemaakt om maximaal toelaatbare gemiddelde concentraties (MTGC) in drinkwater te bepalen voor een geaccepteerd risiconiveau, zoals dat voor toxische verbindingen ook is gedaan. Een jaarlijks risico van één infectie op de 10.000 consumenten wordt door de overheid voorlopig als maximum geaccepteerd. Op grond hiervan zijn voor het rota-virus en *Giardia* en *Cryptosporidium* de MTGC-waarden voor drinkwater berekend:[1]

Organismen	Voorgestelde normwaarde (n/l)	Afwezigheid in drinkwater (m³)
Rotavirus	$2{,}2\times10^{-7}$	4500
Giardia	$5{,}5\times10^{-6}$	180
Cryptosporidium	$2{,}6\times10^{-5}$	38

sen[6],[7]. De concentratie pathogene micro-organismen in drinkwater moet daarom worden geschat aan de hand van de concentratie in de grondstof en het verwijderingsrendement van de zuivering. In dit artikel wordt met een voorbeeld geïllustreerd hoe op basis van gegevens over de grondstof de benodigde verwijderingscapaciteit van de zuivering kan worden vastgesteld, hoe de werkelijke verwijderingscapaciteit van de zuivering kan worden bepaald aan de hand van surrogaatparameters en hoe met deze gegevens een zuivering kan worden gedimensioneerd.

Locatie

Op productiebedrijf Zevenbergen van de NV Waterleiding Maatschappij Noord-West Brabant (WNWB)[11] is een onderzoek uitgevoerd met een proefinstallatie voor het ontwerp van een volledige drinkwaterbereiding met coagulatie/flotatie (FLOT), ozonisatie, dubbellaagsfiltratie (DLF en antraciet/zand) en actieve koolfiltratie (AKF, verblijftijd 40 minuten). Als ruw water wordt gebruik gemaakt van water afkomstig uit de bekkens in de Brabantse Biesbosch. Voordat het water de proefinstallatie ingaat, wordt een flotatieproces met 7,5 mg/l $FeCl_3$ toegepast (afbeelding 1). De verwijderingscapaciteit voor micro-organismen van de flotatie, de ozonisatie en van de beide filtratieprocessen (zonder voorafgaande ozonisatie voor een voldoende hoog aanbod) is afzonderlijk van elkaar bepaald.

Pathogene micro-organismen	Gemiddelde concentratie ruwe water (n/l)	Vereiste verwijdering totale zuivering (^{10}log)	Werkelijke verwijdering bepaald met surrogaat parameter (^{10}log±SD)[a]		Vereiste verwijdering door ozon (^{10}log)
			FLOT/DLF	AKF	
Enterovirussen	0,002	4,0	1,9 (±0,07)	0 (nb)	2,1
Giardia	0,013[b]	3,4	1,9 (±0,5)	0 (±0,4)	1,5
Cryptosporidium	0,013[b]	2,7	1,9 (±0,5)	0 (±0,4)	0,8

[a] SD = standaard deviatie; [b] gecorrigeerd voor rendement van de meetmethode en de levensvatbaarheid.

Tabel 1. De concentratie pathogene micro-organismen in het aangevoerde water en de vereiste verwijderingscapaciteit door ozon voor de verschillende pathogene micro-organismen.

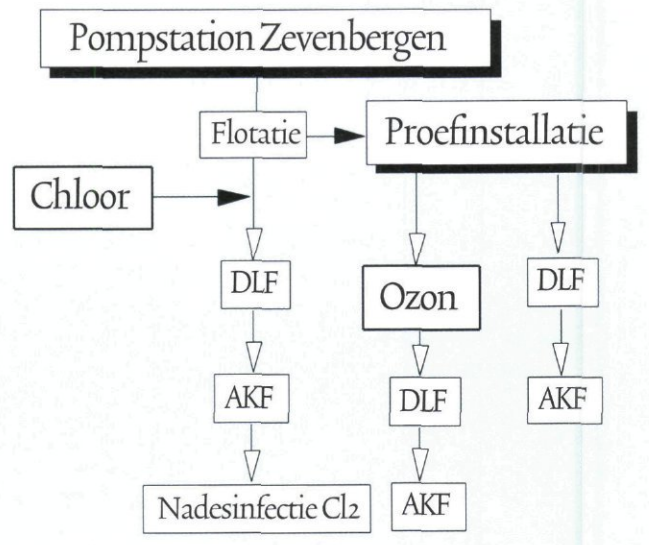
Concentratie pathogenen in de grondstof

Er zijn een aantal meetprogramma's uitgevoerd naar het voorkomen van enterovirussen, *Cryptosporidium* en *Giardia* in het afgeleverde water van de NV Waterwinningbedrijf Brabantse Biesbosch (WBB). In de winterperioden van 1983/1984 en 1984/1985 zijn maandelijks metingen verricht naar de concentratie enterovirussen[12]. De winterperiode is geselecteerd, omdat dan de concentraties enterovirussen het hoogst zijn. De gemeten concentratie varieerde van < 0,001 tot 0,011 plaque vormende eenheden (pve) per liter en was gemiddeld 0,002 pve/l. Gedurende 1994 zijn door de WBB wekelijks monsters genomen voor onderzoek naar *Cryptosporidium* en *Giardia*[13]. De gemeten gemiddelde concentratie was 0,053 (oö)cysten per liter voor beide parasieten (gecorrigeerd voor het gemiddelde rendement van de meetmethode). Uit onderzoek komen indicaties dat circa 25 procent van deze (oö)cysten levensvatbaar zijn[14],[15]. Dit betekent dat gemiddeld circa 0,013 levensvatbare (oö)cysten van *Cryptosporidium* en *Giardia* in de grondstof voorkomen (zie tabel 1).

Vereiste verwijdering van pathogenen door de zuivering

De verwijdering of inactivatie van micro-organismen door een proces of zuivering wordt uitgedrukt in ^{10}logeenheden (1 ^{10}log is een verwijdering van 90 procent, 2 van 99 procent) en wordt berekend uit het verschil van de logaritmisch getransformeerde concentraties voor en na het proces of de zuivering ($^{10}\text{Log } C_{in} - {}^{10}\text{Log } C_{uit}$). Op basis van de concentraties enterovirussen en pathogene protozoa (*Giardia* en *Cryptosporidium*) in ruw water en de MTGC-waarden kan de vereiste verwijderingscapaciteit voor deze pathogene micro-organismen worden bepaald. Uit de gemiddelde concentraties in de grondstof (tabel 1) blijkt dat de enterovirussen met 4 ^{10}logeenheden verwijderd moeten worden. Voor *Giardia* en *Cryptosporidium* is de vereiste verwijderingscapaciteit respectievelijk 3,4 en 2,7 ^{10}logeenheden.

Afb. 1 Schematisch overzicht van de zuivering in Zevenbergen en de proefinstallatie.



Aantonen verwijderingscapaciteit met surrogaatparameters

Voor het bepalen van het verwijderingsrendement van processen en een zuivering zijn de concentraties van pathogene micro-organismen in het ruwe water te laag. Bovendien zijn de bepalingsmethoden te duur. Daarom wordt gebruik gemaakt van zogenaamde surrogaatparameters. Voor de verwijdering van de virussen kunnen bacteriofagen (bacterievirussen) worden gebruikt. Zowel de F-specifieke RNA fagen[8], als de somatische colifagen[9] komen hiervoor in aanmerking. Voor de verwijdering van de (oö)cysten van *Giardia* en *Cryptosporidium* zijn de sporen van *Clostridium perfringens*[9] en de sporen van sulfiet-reducerende clostridia (SSRC)[7],[10] als surrogaatparameters voorgesteld.

Verwijdering van virussen

Als surrogaatparameters voor de enterovirussen zijn de aantallen F-RNA fagen en somatische colifagen in het aangevoerde water en het water na het dubbellaagsfilter van de proefinstallatie bepaald. Monsters van circa 1000 liter werden in maart 1993 onderzocht met eerder beschreven methoden[8].

De gemiddelde concentraties F-RNA fagen en somatische colifagen in het water van de Brabantse Biesbosch waren resp. 0,24 (±0,06) en 18,6 (±2,8) plaque vormende eenheden per liter (pve/l) en duidelijk hoger dan de concentratie enterovirussen die eerder is bepaald (tabel 1). Na flotatie en dubbellaagsfiltratie werden alleen de somatische colifagen aangetroffen in een concentratie van gemiddeld 0,27 (±0,04) pve/l. Deze bacteriofagen werden door beide processen met 1,9 (±0,07) ^{10}logeenheden verwijderd (tabel 1), eenzelfde verwijdering als beschreven voor de F-RNA fagen bij een ander coagulatie/filtratie-proces[16].

De verwijdering van de somatische colifagen door de actieve koolfiltratie is niet bepaald; deze wordt op grond van in de literatuur vermelde gegevens verwaarloosbaar geacht[17].

Verwijdering van (oö)cysten *Giardia* en *Cryptosporidium*

Om de verwijderingscapaciteit van de processen voor de pathogene protozoa te kunnen vaststellen is gedurende een periode van 1,5 jaar de verwijdering van de sporen van sulfiet-reducerende clostridia (SSRC) als surrogaatparameter bepaald. In het aangevoerde water was de concentratie SSRC hoog genoeg om monsters van 100 ml te onderzoeken (afbeelding 2, NEN 6567). Verder in de zuivering na flotatie, dubbellaagsfiltratie, actieve koolfiltratie en ozonisatie zijn monsters met een groter volume (1 en 10 liter) onderzocht.

Flotatie/dubbellaagsfiltratie (FLOT/DLF) verlaagde de concentratie SSRC in het aangevoerde water met gemiddeld 1,9 (±0,5) ^{10}logeenheden (tabel 1). LeChevallier *et al.*[18] bepaalde voor de verwijdering van (oö)cysten van pathogene protozoa door dergelijke processen in de Verenigde Staten een vergelijkbare verwijderingscapaciteit. Uit afbeelding 2 blijkt dat de grootste verwijdering van SSRC plaatsvond tijdens het flotatieproces.

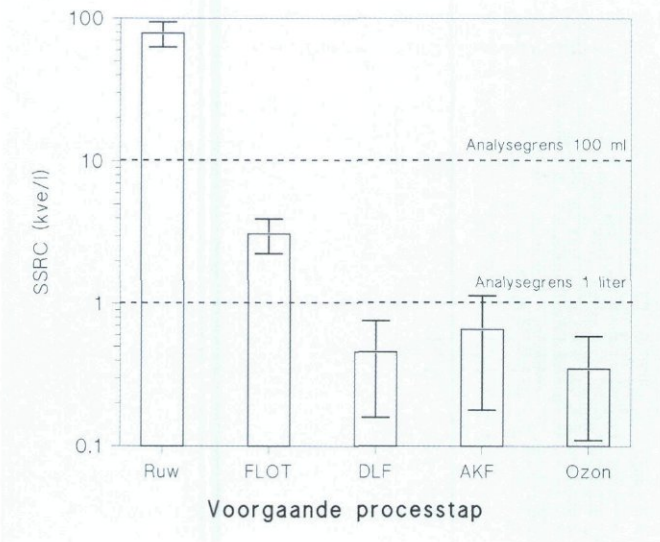
Over de verwijdering van micro-organismen door actieve koolfiltratie is weinig bekend in de literatuur. Het proces in de proefinstallatie had een contacttijd van 40 minuten, maar opmerkelijk genoeg nam de gemiddelde concentratie SSRC door het proces niet af (afbeelding 2). Het gemiddelde zuiveringsrendement was 0 (± 0,4) ^{10}logeenheid (tabel 1). In de eerste periode van de looptijd van de koolfilters was wel sprake van een verwijdering van 0,1 à 1 ^{10}logeenheid. Na verloop van tijd nam het zuiveringsrendement af en werd tenslotte negatief (toename van de concentratie). De koolfilters werden slechts incidenteel gespoeld en uit nader onderzoek bleek dat het spoelwater en de bovenlaag van het filterbed hoge aantallen van deze clostridia-sporen bevatten[10]. Deze waarnemingen wijzen op een nalevering van SSRC door ophoping en overleving. De betekenis van deze waarneming voor het gebruik van SSRC als surrogaat voor de (oö)cysten bij koolfiltratie zal verder onderzocht moeten worden.

Ook na de ozonisatie van de proefinstallatie werd de concentratie SSRC bepaald (afbeelding 2). Bij een CT-waarde (zie kader op de volgende pagina) van 2,6 mg/l^{-1}*min^{-1} werd de gemiddelde concentratie SSRC na flotatie verlaagd met 0,9 ^{10}logeenheid. Dit verwijderingsrendement voor SSRC is gelijk aan de inactivatie van *Cryptosporidium parvum* bij eenzelfde CT en 10°C, bepaald tijdens laboratoriumproeven[19]. Nader onderzoek onder gelijke condities zal moeten uitwijzen of SSRC even resistent zijn voor ozon als *Cryptosporidium* en de parameter dus een geschikte surrogaatparameter is.

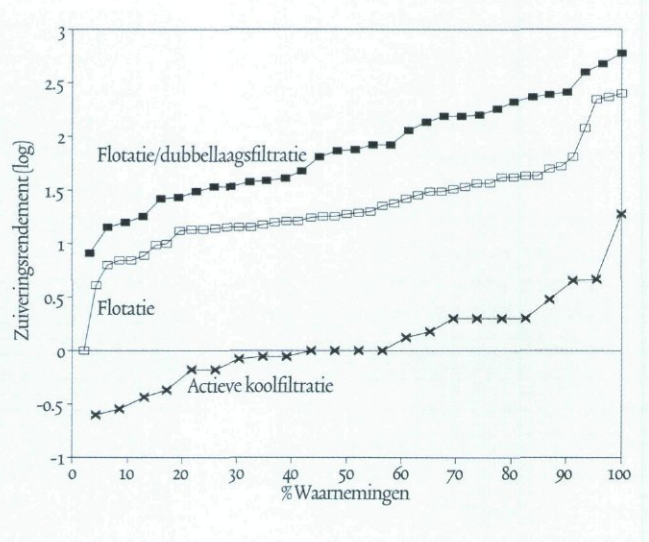
Variatie in de verwijdering

De verwijderingscapaciteit van de individuele processen vertoonde een duidelijke variatie (afbeelding 3). Bovendien bleek uit de gegevens dat een laag rendement van een proces (bijvoorbeeld flotatie) werd gecompenseerd door een hogere verwijdering door een ander proces (het dubbellaagsfilter). Dit betekent dat de invloed van de variatie in verwijdering op de eindconcentratie micro-organis-

Afb. 2 *De gemiddelde concentratie met het 95 procent-betrouwbaarheidsinterval van de sporen van sulfiet-reducerende clostridia in het water na de verschillende processtappen van de proefinstallatie.*



Afb. 3 *De variatie van het zuiveringsrendement van flotatie/dubbellaagsfiltratie, van flotatie afzonderlijk en van actieve koolfiltratie.*



men in het drinkwater het best kan worden bepaald door de variatie in verwijdering door de totale zuivering vast te stellen. Hiervoor is het noodzakelijk dat de concentratie SSRC na de totale zuivering in volumes van meer dan 10 liter bepaald kunnen worden. Voor dit doel is door Kiwa nu een gevoelige methode (MF-sampler) ontwikkeld[21].

Dimensionering van de ozonisatie

Op basis van de concentratie enterovirussen en *Giardia* en *Cryptosporidium* in het ruwe water en van de verkregen gegevens over de verwijderingscapaciteit van de onderzochte fysische processen is de vereiste desinfectiecapaciteit bepaald (zie tabel 1). Met gegevens over de gevoeligheid van de micro-organismen voor ozon[17),19)] kan de procesvoering ofwel de CT-waarde (zie onderstaand kader) van het ozonproces worden vastgesteld.

Cryptosporidium is het minst gevoelig voor ozon en bepaalt voor de zuivering te Zevenbergen de benodigde CT-waarde. In de winter bij een temperatuur van 5°C is een CT van 2,8 mg.min.l^{-1} vereist, terwijl in de zomer (15°C) een CT van 1,8 mg.min.l^{-1} voldoende is.

Onzekerheden

Aan de beschreven werkwijze voor de bepaling van de benodigde en werkelijke eliminatiecapaciteit van een zuivering voor pathogene micro-organismen kleven nog een aantal onzekerheden:

- De schatting van de concentratie pathogenen in het oppervlaktewater die moet worden verlaagd is nog onzeker door de lage en wisselende opbrengst van de bepalingsmethode. Bovendien zijn niet alle waargenomen pathogenen infectieus voor de mens en is het percentage levensvatbare (oö)cysten niet met zekerheid vast te stellen. Dat betekent dat de benodigde verwijdering niet heel precies bepaald kan worden. De gegevens laten wel een grootte-orde schatting toe; dat wil zeggen zijn er 3, 4, 5 of 6 ^{10}logeenheden verwijdering nodig.
- Een enterovirus is slechts één van de virussoorten die via water ziekte bij de mens kunnen veroorzaken. Andere virussoorten (Small Round Structured Viruses, Hepatitis A) worden vaker via drinkwater overgedragen. Methoden voor de detectie van deze virussen in water zijn in ontwikkeling.
- De bruikbaarheid van de surrogaatparameters om de verwijdering van pathogenen door processen te bepalen moet nog worden aangetoond. Bacteriofagen lijken vanwege hun grootte en samenstelling geschikte surrogaatparameters voor virussen. Het gebruik van de sporen van sulfiet-reducerende clostridia als surrogaat voor de (oö)cysten van de pathogene protozoa lijkt gezien het verschil in grootte (afbeelding 4) een veilige benadering.
- De geschetste werkwijze gaat uit van puntschattingen van de grondstofkwaliteit en het rendement van de zuiveringsprocessen. Statistische methoden zijn in ontwikkeling waarmee de waargenomen variatie in concentratie in de grondstof en in verwijdering door de processen in deze werkwijze betrokken kunnen worden.

Conclusies

Nieuwe informatie uit de Verenigde Staten en Engeland over *Cryptosporidium*, *Giardia* en virussen in drinkwater is ook in Nederland aanleiding voor aanvullend onderzoek naar de microbiologische betrouwbaarheid van drinkwater. Doel is de (on)waarschijnlijkheid van de verspreiding van pathogenen via drinkwater in Nederland te bepalen. De methode die hiervoor ontwikkeld is, bestaat uit de volgende stappen:

- Bepaling van de concentratie pathogene micro-organismen in het ruwe water en het benodigde zuiveringsrendement om de concentraties te verlagen tot de MTGC-waarden bij een geaccepteerd infectierisico van <1/10.000 per jaar.
- Vaststellen van het zuiveringsrendement van de totale zuivering en de afzonderlijke processen met betrekking tot surrogaatparameters als F-RNA fagen, somatische colifagen en sporen van sulfiet-reducerende clostridia.
- Kwantificering van het verschil tussen het werkelijke zuiveringsrendement en het benodigde rendement. Hiermee kan worden vastgesteld of een bestaande zuivering veilig drinkwater produceert. Deze werkwijze kan ook worden gebruikt om een nieuwe zuivering te dimensioneren of een bestaande zuivering te optimaliseren.

De beschreven methode bevat nog een aantal onzekerheden. Met een nadere analyse van de aard en het percentage levensvatbare pathogene protozoa en andere virussoorten in het oppervlaktewater kan het benodigde zuiveringsrendement in de toekomst nauwkeuriger worden bepaald. Bovendien zal moeten worden vastgesteld bij welke processen de beschreven surrogaatparameters (bacteriofagen en SSRC) kunnen worden toegepast en op welke wijze de waargenomen variatie in de verwijdering betrokken moet worden bij het vaststellen van het werkelijke zuiveringsrendement.

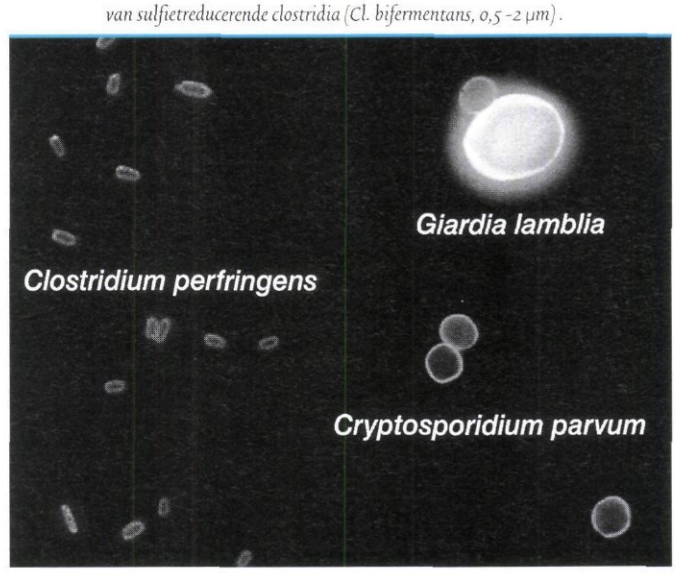
Dimensionering van de ozonisatie

Chemische desinfectie met ozon vindt plaats door het water gedurende een bepaalde tijd in contact te brengen met ozon dat in gasvorm wordt gedoseerd. De inactivatie van micro-organismen door ozon is qua kinetiek vergelijkbaar met een chemische reactie. Het meest toegepaste model[20] gaat uit van een eerste orde proces met betrekking tot de afname van het aantal micro-organismen (N) bij een vaste concentratie desinfectiemiddel (C):

Desinfectiecapaciteit ozon =
$^{10}\text{Log } N_T/N_o = - k C^n T$

waarin T de contacttijd is, k de reactie constante en n een empirische constante. De CT-waarde (mg.min.l^{-1}) geeft de dimensies van het ozonisatieproces aan.

Afb. 4 *Microscopische opnamen. Rechts (oö)cysten van Giardia (8-15 µm) en Cryptosporidium (4-8 µm). Links sporen van een vertegenwoordiger van de groep van sulfietreducerende clostridia (Cl. bifermentans, 0,5 -2 µm).*



LITERATUUR

1) VROM (1995). Infectierisico van virussen en parasitaire protozoa via drinkwater. Notitie ter voorbereiding van beleidsstandpunt. Concept maart 1995. Ministerie van VROM (DGM/DWL).

2) Mackenzie, W., N. Hoxie, M. Proctor, M. Gradus, K. Blair, D. Peterson, J. Kazmierczak, D. Addiss,

K. Fox, J. Rose en J. Davis (1994). A massive outbreak in Milwaukee of Cryptosporidium infection transmitted through public water supply. N.Eng.J.Med., 331 pag. 161-167.

3) Moore, A., B. Herwaldt, G. Craun, R. Calderon, A. Highsmith en D. Juranek (1994). Waterborne disease in United States, 1991 and 1992. J. AWWA 86, 2 pag. 87-99.

4) Medema, G., H. Ketelaars en W. Hoogenboezem (1996). Cryptosporidium en Giardia in Rijn en Maas. RIWA- en RIVM-rapport 289202015.

5) Theunissen, J., P. Nobel, R. van de Heide, H. de Bruin, D. van Veenendaal, W. Lodder, J. Schijven, G. Medema en D. van der Kooij (1998). Enterovirussen bij innamepunten van oppervlaktewater voor de bereiding van drinkwater. RIVM-rapport 289202-013.

6) Van der Kooij, D. (1996). De microbiologische kwaliteit van het drinkwater in Nederland: goed, beter of best? H_2O (1996) pag. 219-226.

7) Medema, G., W. Hijnen, P. Nobel en D. van der Kooij (1997). Cryptospordium and Giardia - the Dutch perspective. Proceedings symposium CIWEM, 4 december 1997, Glasgow.

8) Havelaar, A., M. van Olphen en Y. Drost (1993). F-specific RNA Bacteriophages are adequate modelorganisms for enteric viruses in fresh water. Appl. Environ. Microbiol. 9 pag. 2956-2962.

9) Payment, P. en E. Franco (1993). Clostridium perfringens and somatic coliphages as indicators of the efficieny of drinking water treatment for viruses and protozoan cysts. Appl. Environ. Microbiol. 8 pag. 2418-2424.

10) Hijnen, W., W.van der Speld, F. Houtepen en D. van der Kooij (1997). Spores of sulphite-reducing clostridia: a surrogate parameter for assessing the effects of water treatment on protozoan oocysts? In Proc. 1997 International symposium on waterborne Cryptosporidium, ed. C. Fricker, J. Clancy en P. Rochelle, AWWA Denver 1997.

11) Nuhn, P. (1979). Het zuiveringsproces van het drinkwaterproductiebedrijf Zevenbergen en de eerste resultaten. H_2O (1979) pag. 469-474.

12) Van Olphen, M., E. van der Baan, J. Kapsenberg en L. van Breemen (1992). Virusverwijdering bij opslag van Maaswater in spaarbekkens. H_2O (1992) pag. 550-555.

13) Van Breemen, L., H. Ketelaars, W. Hoogenboezem en G. Medema (1998). Storage reservoirs - a first barrier for pathogenic micro-organisms in the Netherlands. Wat.Sci.Tech. 37 pag. 253-260.

14) LeChevallier, M., W. Norton en R. Lee (1991). Giardia and Cryptosporidium in filtered drinking water supplies. Appl. Environ. Microbiol., 57 pag. 2617-2621.

15) Medema, G., F. Schets, H. Ketelaars en G. Boschman (1998). Improved detection and vital staining of Cryptosporidium and Giardia with flow cytometry. Accepted for publication in Wat. Sci. Tech.

16) Havelaar, A., M. van Olphen en J. Schijven (1995). Removal and inactivation of viruses by drinking water treatment processes under full scale conditions. Wat. Sci. Techn. 31 pag. 55-62.

17) Medema, G. en J. Theunissen (1996). Eliminatie van virussen, Cryptosporidium en Giardia door drinwaterzuiveringsprocessen. RIVM-rapport 289202016.

18) LeChevallier, M., W. Norton en R. Lee (1991). Giardia and Cryptosporidium spp. in filtered drinking water supplies. Appl. Environ. Microbiol. 57 pag. 2617-2621.

19) Finch, G., E. Black, L. Gyürek en M. Belosevic (1993). Ozone inactivation of Cryptosporidium parvum in demand-free phosphate buffer determined by in vitro excystation and animal infectivity. Appl. Environ. Microbiol. 59 pag. 3674-3680.

20) Watson, H. (1908). A note on the variation of the rate of disinfection with change in the concentration of the disinfectant. J. Hyg. 8 pag. 536-592.

21) Hijnen, W., D. Veenendaal, W. van der Speld, A. Visser en D. van der Kooij (1998). In situ isolation of faecal indicator bacteria from large volumes of treated water for assessing the decimal elimination capacity of treatment processes. Submitted to Water Research.