

Virussen in water

Deel 1

Voordracht uit de 34e vakantiecursus in drinkwatervoorziening 'Microbiologie bij de waterbereiding', gehouden aan de TH Delft op 7 en 8 januari 1982.

Algemene kenmerken van virussen

Virussen zijn colloïdale infectieuze partikels met afmetingen tussen 20 en 350 nm. Zij zijn opgebouwd uit een nucleïnezuur, het infectieuze gedeelte, en een beschermende eiwitmantel, die de antigene eigenschappen bepaalt; in sommige gevallen wordt deze nucleocapside omgeven door een envelop bestaande uit lipiden of lipoproteïnen. De opbouw is symmetrisch, waarbij drie vormen worden onderscheiden, namelijk kubisch (icosaëder als basisstructuur), helixvormig (nucleïnezuur schroefvormig opge-

het maagdarmkanaal de virusvermeerdering plaatsvindt. Er zijn meer dan 100 typen 'enteric' virussen bekend, die alle ziekteverwekkend zijn voor de mens (tabel I, foto 1). Enterovirussen worden massaal in de nazomer en herfst uitgescheiden; het grootste aantal infecties met rotavirussen wordt daarentegen in de maanden januari tot en met maart geconstateerd.

Hoewel virussen zich in de natuur niet buiten een levende gastheer kunnen vermeerderen, kunnen ze zich lange tijd handhaven zonder hun infectieusiteit te verliezen. Afhankelijk van het virustype en de waterkwaliteit zijn overlevingstijden van vele maanden in water geen uitzondering [lit. 2]. Virussen hebben geen metabolisme, zodat de overlevingstijd in het milieu niet wordt bepaald door het beschikbaar zijn van voedingsstoffen of andere energiebronnen, maar door een groot aantal fysische, chemische en biologische factoren. De temperatuur is van deze factoren waarschijnlijk het belangrijkste. Naarmate deze lager is, is de overlevingstijd langer. Een reductie van een aantal enterovirussen met 3-logeenheden vraagt 3 tot 16 dagen bij een temperatuur van 18–27 °C, maar daarentegen meer dan 60 dagen bij 3–6 °C [lit. 4].

Virussen komen in water in het algemeen niet vrij voor, maar zijn voor het merendeel geadsorbeerd aan bijvoorbeeld kleimineralen, organisch materiaal en eventueel zouten. Deze associatie beïnvloedt het infectievermogen in het algemeen niet, maar de overlevingstijd wordt erdoor verlengd. In sedimenten kan de virusconcentratie hierdoor sterk oplopen.

De bepaling van virussen in water

Omdat virussen meestal in kleine aantallen in water voorkomen, moeten concentratietechnieken worden toegepast om deze te kunnen isoleren. Virussen gedragen zich als amphoterische, hydrofiele colloïden in een waterige oplossing en de lading is een

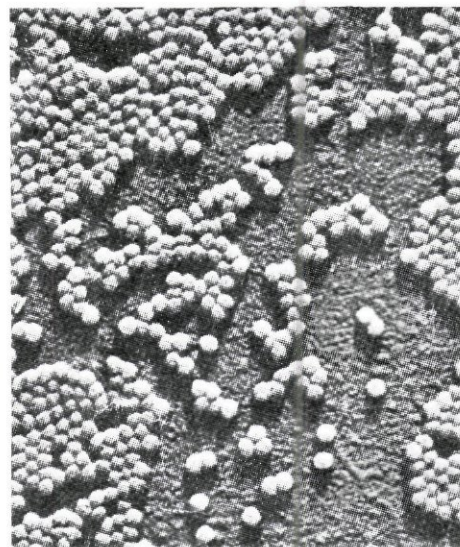


Foto 1 - Poliovirusdeeltjes 65.000 x vergroot.

functie van de pH, ionensamenstelling en ionensterkte van de oplossing. Gebruikmakend van deze eigenschappen is de ontwikkeling van concentratietechnieken mogelijk geworden, waarbij adsorptie van virussen aan filtermaterialen zoals cellulosenitrat en glasvezel wordt bewerkstelligd bij een lage pH en in aanwezigheid van kationen, gevolgd door elutie bij een hoge pH in een eiwitrijke oplossing. Dit eluaat heeft meestal nog een te groot volume, zodat een tweede concentratietrap nodig is. Voor de vermeerdering van aldus geïsoleerde virussen moet men zich op praktische gronden beperken tot het gebruik van één of twee celkweken, waarbij men dient te beseffen, dat er geen cellijn bestaat, waarmee alle mogelijk in water aanwezige virussen kunnen worden gedetecteerd. Alom wordt nog een verdere verbetering van de isolatietechnieken nagestreefd. Een goede methodiek is niet alleen snel, eenvoudig en toepasbaar voor alle watertypen, maar heeft tevens een grote gevoeligheid en reproduceerbaarheid. Ook het kostenaspect mag niet uit het oog worden verloren.

De procedure, waarmee door het KIWA de afgelopen jaren allerlei watertypen op de aanwezigheid van humane 'enteric' virussen werd onderzocht, bestaat uit een concentratietechniek, waarmee in twee trappen, namelijk adsorptie-elutie en organische flocculatie, het monstervolume wordt teruggebracht tot 20 ml, uitgaande van 500 liter water van drinkwaterkwaliteit of kleinere volumina bij onderzoek van ruw water. Concentraten worden geënt op een apeniercellijn (BGM). In deel 2 van deze publicatie wordt de toegepaste techniek uitvoerig beschreven. Tot nog toe werden met behulp van deze



IR. M. VAN OLPHEN
KIWA Nieuwegein

rold) of complex, waarbij de symmetrie noch kubisch noch helixvormig is. Virussen zijn gastheer-specifiek. Men kent niet alleen diervirussen, maar ook virussen van planten, bacteriën, schimmels en algen. Virussen zijn obligate intracellulaire parasieten, die zich alleen in levende gastheren kunnen vermeerderen. De reproductie verloopt volgens de volgende zes stappen: na adsorptie aan de gastheer cel, gevolgd door penetratie, komt het nucleïnezuur vrij uit de eiwitmantel. In het cytoplasma of in de kern vindt vervolgens de replicatie van het nucleïnezuur en de synthese van viruseiwit plaats. Na de vorming van nieuwe virusdeeltjes door assemblage van nucleïnezuur en eiwit, komen de viruspartikels vrij uit de gastheer cel.

Voor de vermeerdering en kwantificering van virussen op laboratoria wordt gebruik gemaakt van celkweken. Voorheen was men aangewezen op proefdieren. Voor de diagnostiek staan diverse technieken ter beschikking.

Het voorkomen en gedrag van humane virussen in water

Hoewel het reeds lang bekend is, dat virussen met menselijke faeces worden uitgescheiden, wordt er eerst sinds de jaren '60 serieuze aandacht geschonken aan de rol, die water zou kunnen spelen bij de verspreiding van virussen. Door een hoge bevolkingsdichtheid worden de bestaande watervoorraden zeer intensief gebruikt. Hierdoor is de kans op virusoverdracht via water reëel aanwezig.

Virussen, die faecaal worden uitgescheiden, worden aangeduid als 'enteric' virussen. Deze worden oraal opgenomen, waarna voornamelijk in het weefsel van de keel en

TABEL I - Humane 'enteric' virussen die in water kunnen voorkomen [lit. 23].

Virus-groepen	Aantal typen
<i>Enterovirussen:</i>	
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.

TABEL II - Virustypen geïsoleerd uit water in Nederland met behulp van de apeniercellijn BGM.

Virusgroepen	Virustypen
Polio	1, wild en vaccin
Polio	2, vaccin en intermediair
Polio	3, wild en vaccin
Coxsackie A	9
Coxsackie B	2; 3; 4; 5 en 6
Echo	1; 1/8; 7; 9; 11; en 31
Reo	1; 2. en 3

methodiek 21 verschillende typen 'enteric' virussen uit water geïsoleerd (tabel II).

Virussen in oppervlaktewater

Het voorkomen van virussen in oppervlaktewater is van belang voor de volksgezondheid, omdat dit water wordt gebruikt voor recreatie en als grondstof dient voor de bereiding van drinkwater.

Door lozing van al dan niet gezuiverd huishoudelijk afvalwater wordt oppervlaktewater met humane 'enteric' virussen belast. Per gram faeces kunnen meer dan een miljoen viruspartikels worden uitgescheiden. In ruw rioolwater kan het aantal virussen waarden bereiken van 500.000 per liter [lit. 12]. Bij lozing hiervan op oppervlaktewater treedt een sterke verdunning op, zodat voor virologisch onderzoek van dergelijk water grote volumina moeten worden verwerkt.

De beperkingen van de concentratietechnieken voor dit type water in het bijzonder, maken het vaststellen van exacte virusgehalten in oppervlaktewater nog niet goed mogelijk. De gemeten virusconcentraties variëren van 0,1 tot meer dan 280 eenheden per liter [lit. 12]. De gevonden aantallen moeten als minima worden beschouwd, mede vanwege de beperkingen van celkweken.

In afb. 1 zijn de resultaten weergegeven van het onderzoek, dat in de afgelopen

TABEL III - Virusisolaties uit drinkwater.

Plaats	Periode	Zuivering	Bacteriologische kwaliteit, E. coli-test	Literatuurverwijzing
Frankrijk – Parijs – Nancy e.o.	1960-62 1961-63	coagulatie, snelfiltratie, desinfectie (1) idem	niet vermeld negatief	6 8
Roemenië	1962-71 1974-77	coagulatie, snelfiltratie, desinfectie idem	niet vermeld 3-10 coli-formen/l	15 14
USSR	1968-71	coagulatie, snelfiltratie, desinfectie (2)	negatief	16, 18
USA – Massachusetts – Florida – Virginia	1969-73 1975 1975-76	coagulatie, snelfiltratie, desinfectie desinfectie (0,3-0,4 mg/l vrij chloor) coagulatie, snelfiltratie, desinfectie (ten minste 1,3 mg/l vrij chloor)	niet vermeld negatief negatief	9, 5 21, 22 10, 11, 1, 20
Canada	1977 1977-78 1978-79	breekp.chloring, coagulatie, snelfiltratie, desinfectie (ten minste 0,1 mg/l vrij chloor) rest vrij chloor 0,1-0,6 mg/l (pH en rest vrij chloorgehalten niet optimaal) chloring, coagulatie, zandfiltratie, ozon, chloring (rest vrij chloor 0,2-0,3 mg/l)	negatief negatief negatief	13 19 17

- (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. 7].
- (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].

jaren door het KIWA werd uitgevoerd naar de aanwezigheid van humane 'enteric' virussen in Nederlands oppervlaktewater, dat door waterleidingbedrijven als grondstof wordt gebruikt bij de bereiding van drinkwater. Hoewel men om eerder genoemde redenen uit de gegevens geen absolute virusgehalten per volume-eenheid mag berekenen, blijkt uit de resultaten, dat de virusconcentratie in Lekwater, na coagulatie, sedimentatie en snelfiltratie, beduidend lager is dan die in het oppervlaktewater zelf. Het afwezig zijn van poliovirussen in water van de Drentse Aa hangt samen met het feit, dat in Nederland wordt gevaccineerd met geïnactiveerd poliovirusvaccin (Salk) en niet met de levende verzwakte poliovirusstammen (Sabin) zoals in de ons omringende landen, waardoor het isoleren van deze vaccinstammen uit de Rijn en de Maas te verklaren is.

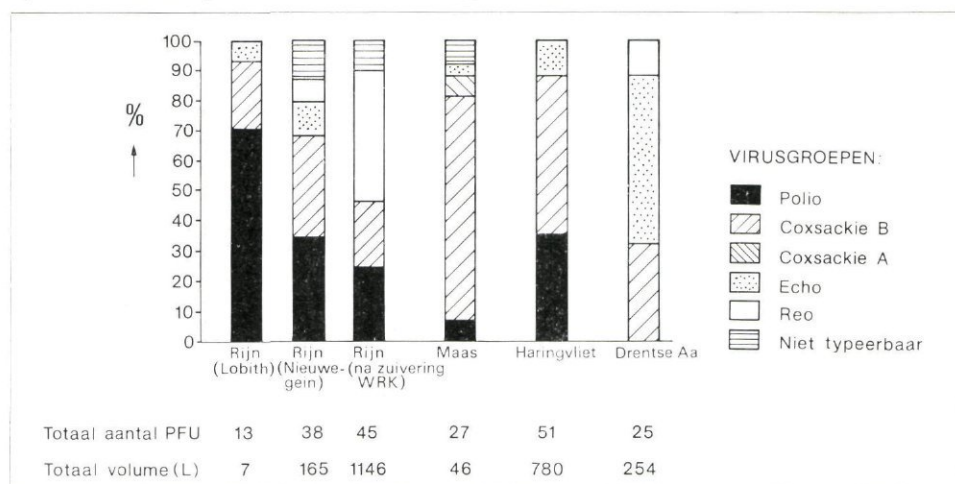
Virologisch onderzoek van drinkwater

De eerste virusisolaties uit drinkwater dateren uit de jaren '60, toen in Frankrijk in 19 % van de onderzochte monsters uit het distributiesysteem virussen werden aangetoond [lit. 6]. Dit feit tezamen met de inmiddels verworven kennis, dat virussen aanwezig kunnen zijn in water, dat aan de eisen met betrekking tot de bacteriologische gesteldheid voldoet, leidde in vele landen tot onderzoek van drinkwater op de aanwezigheid van virussen. Op meerdere plaatsen werden virussen geïsoleerd uit drinkwater, dat volgens conventionele methoden, inclusief desinfectie, was bereid en dat aan de bacteriologische norm voldeed (tabel III).

In Nederland werden evenwel geen virussen aangetroffen in meer dan 100 monsters drinkwater van elk 500 liter, die afkomstig waren van waterleidingbedrijven, die op verschillende wijzen drinkwater bereiden uit oppervlaktewater. Het betrof hier zowel monsters van water 'af pompstation' als monsters van water uit het distributiesysteem. In deze gevallen heeft de zuivering de in de grondstof aanwezige virussen (afb. 1) dus effectief verwijderd en is bij distributie geen herbesmetting opgetreden. Thermotolerante bacteriën van de coligroep waren afwezig in 500 ml.

Omdat door de beperkingen van de toegepaste concentratietechnieken en detectiesystemen slechts een klein gedeelte van het aanwezige virusbestand kan worden aangetoond, betekent dit onderzoekresultaat niet, dat virussen in 500 liter Nederlands drinkwater steeds afwezig zullen zijn, te meer daar het aantal monsters gering was. In deel 2 van deze publicatie wordt boven-

Afb. 1 - Samenstelling van het virusbestand in oppervlaktewater in Nederland.



genoemd onderzoek uitvoerig beschreven. Er werd in Nederland (nog) geen onderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid van virussen in grondwater. Het voorkomen van virussen in grondwater kan het gevolg zijn van directe besmetting met rioolwater of van het verspreiden van rioolwater-zuiveringsslib en effluënten over land. In laatst genoemde situatie bepaalt een veelheid van factoren of de virussen uit het slib en de effluënten in het grondwater kunnen doordringen. Het grootste deel van deze virussen zal in de bovenste cm's adsorberen, maar door bijvoorbeeld regenval is diepere penetratie in de bodem mogelijk gebleken. Eenmaal in het grondwater terechtgekomen, blijken daarin door virussen grote afstanden te kunnen worden afgelegd [lit. 12].

Indicator-organismen

In rioolwater varieert de verhouding tussen de aantallen thermotolerante bacteriën van de coligroep en de humane 'enteric' virussen van $7,5 \times 10^3$ à $2,9 \times 10^6$ staat tot 1 [lit. 4]. Genoemde bacteriën en waarschijnlijk ook de virussen van deze organismen (colifagen) worden door alle lagen van de bevolking in constante, grote en steeds even grote aantallen in de faeces uitgescheiden, terwijl de virusbelasting wisselend van omvang is, afhankelijk van de infectiegraad van de bevolking, het sociaal-economische niveau en de tijd van het jaar. Het is dan ook niet vreemd, dat in oppervlaktewater, waarop rioolwater wordt geloosd, evenmin een vaste relatie tussen beide organismen kan worden vastgesteld.

Bacteriën die indicatief zijn voor faecale besmetting blijken in het milieu minder resistent te zijn dan een aantal 'enteric' virussen. Bij diverse zuiveringsprocessen, die bij de behandeling van afvalwater en de bereiding van drinkwater worden toegepast, worden deze bacteriën makkelijker verwijderd dan virussen. Als gevolg hiervan kunnen virussen aanwezig zijn in water, dat aan de bacteriologische kwaliteitseisen voldoet. Thermotolerante bacteriën van de coligroep, die van oudsher worden gebruikt bij de beoordeling van de hygiënische kwaliteit van water, kunnen dan ook niet als indicator voor de betrouwbaarheid van water in virologisch opzicht dienst doen.

Kwaliteitseisen

Er bestaan op dit moment geen kwaliteits-eisen, waaraan de virologische kwaliteit van drinkwater moet voldoen. Hiervoor zijn twee redenen aan te geven. Ten eerste ontbreekt een efficiënte, gestandaardiseerde detectietechniek voor het aantonen van



Foto 2 - Concentreren van grote volumina water in het veld.

virussen in water, zodat niet kan worden vastgesteld of water aan een bepaalde norm voldoet. Ten tweede zou een norm gebaseerd moeten zijn op een relatie tussen een bepaalde besmettingsgraad van water en daardoor veroorzaakte ziekten. Een dergelijk verband is epidemiologisch moeilijk vast te stellen. Ziekten, die ontstaan door overdracht via water, verlopen voor meer dan 99 % symptomeloos. Deze geïnfecteerde personen zijn echter wel virusdragers, waardoor verdere overdracht van persoon op persoon mogelijk is. Omdat bovendien de meeste 'enteric' virussen een breed spectrum van ziektesyndromen hebben, kunnen incidentele ziektegevallen moeilijk aan één bepaald agens worden toegeschreven. Onder dergelijke omstandigheden kunnen conventionele epidemiologische technieken een 'low level' overdracht via water niet aantonen. Een uitzondering hierop is hepatitis, dat een explosief verloop van de ziekte kent met karakteristieke symptomen [lit. 12].

Omdat één infectieuze viruseenheid voor celcultures in staat is onder bepaalde omstandigheden infecties bij de mens te veroorzaken, wordt deze als minimale infectieuze dosis (MID) beschouwd [lit. 12]. In de praktijk zal de MID voor de meeste mensen evenwel groter zijn.

De aanwezigheid van zelfs kleine aantallen virussen in drinkwater wordt toch als potentiële bedreiging van de gezondheid gezien, omdat door het voortdurend blootstellen van grote delen van de bevolking aan niet virusvrij drinkwater een ongewenste endemische virusverspreiding in stand wordt gehouden [lit. 23].

Afgestemd op de technische mogelijkheden van zowel de waterzuiveringssystemen betreffende de virusverwijdering als de virusdetectiemethodieken werd door de WHO in 1979 de volgende aanbeveling opgesteld voor de virologische kwaliteit van drinkwater: geen virussen aantoonbaar bij onderzoek van 100 tot 1000 liter. In de EG-richtlijn voor water bestemd voor menselijke consumptie wordt gesteld, dat dit geen pathogene organismen mag bevatten en dat, wanneer dat noodzakelijk wordt geacht, virologisch onderzoek moet worden uitgevoerd als aanvulling op de microbiologische analyse van water. Gezien de reeds genoemde onderzoeksresultaten verkregen met Nederlands drinkwater is er vooraansnog geen aanleiding om virologisch onderzoek op te nemen in de routinematige kwaliteitscontrole van drinkwater. Bovendien kan door de beperkingen van de huidige bepalingstechnieken niet worden gegarandeerd, dat drinkwater waarin geen virussen worden aangetoond inderdaad virusvrij is.

Virusverwijdering bij de zuivering

Omdat virussen niet in drinkwater aanwezig mogen zijn, is het van groot belang dat de diverse waterzuiveringsprocessen in staat zijn de in de grondstof aanwezige virussen te elimineren.

Alleen met voldoende kennis over het virusverwijderend vermogen van de verschillende zuiveringsprocessen kan virusvrij drinkwater worden bereid. Deze kennis kan onder meer door het toepassen van de huidige isolatietechnieken worden verkregen. Men gaat er dan van uit, dat wanneer een bepaalde waterbehandeling een grote verscheidenheid aan virussen elimineert, ook virustypen, die met de toegepaste techniek niet kunnen worden aangetoond, worden verwijderd.

Ook voor de huidige chloorproblematiek is kennis omtrent de virusverwijdering bij de zuivering nuttig. Er werd niet alleen vastgesteld, dat bij chloring ongewenste nevenproducten worden gevormd, maar ook dat een aantal virussen niet wordt geïnactiveerd door chloordoses, die bij de watertechnologie worden toegepast voor het vernietigen van schadelijke organismen, waarbij *E. coli* als indicator wordt gebruikt. De volgende getallen illustreren het verschil in gevoeligheid van 20 onderzochte 'enteric' virussen voor een HOCl-gehalte van 0,5 mg/l. Voor 99,99 % inactivering varieerde de tijd van 2,7 minuten voor Reovirus 1 tot meer dan 60 minuten voor Echovirus 12 [lit. 4].

Er zijn nog weinig praktijkgegevens beschikbaar over virusverwijdering bij de

bereiding van drinkwater. Het merendeel van de beschikbare informatie werd verkregen met behulp van laboratorium-experimenten. In de Verenigde Staten heeft men op grond hiervan berekend, dat met een zuiveringssysteem, bestaande uit coagulatie, snelfiltratie, gevolgd door desinfectie bij een goede bedrijfsvoering een virusreductie van 3 tot meer dan 6 log-eenheden tot de mogelijkheden behoort [lit. 4].

Omdat de virusverwijdering bij de zuivering van oppervlaktewater tot drinkwater voor een groot deel op een adsorptieproces berust, kunnen door gewijzigde omstandigheden, bijvoorbeeld verhoging van de pH, de geadsorbeerde virussen weer vrij komen zonder hun infectieusiteit te hebben verloren. Alleen bij desinfectie worden virussen geïnactiveerd.

Hoewel het virologisch onderzoek naar het virusverwijderend vermogen van diverse zuiveringsstappen in Nederland nog maar korte tijd aan de gang is, wijzen de eerste resultaten erop, dat bij duininfiltratie de aangevoerde virussen effectief worden verwijderd. Hetzelfde geldt voor oeverfiltratie. De processen, die bij een aantal bedrijven worden toegepast bij de voorzuivering van rivierwater, bestemd voor duininfiltratie, zijn met name in de wintermaanden niet in staat de virussen tot onaantoonbare aantallen te reduceren. De komende jaren zal het onderzoek naar virusverwijdering door een aantal waterbehandelingen, die worden toegepast bij de bereiding van drinkwater uit oppervlaktewater, worden voortgezet. Hierbij zal tevens onderzoek naar het voorkomen van bacterievirussen, met name colifagen, worden uitgevoerd. Door het vaststellen van overeenkomsten en verschillen betreffende het effect van diverse zuiveringsprocessen op zowel humane 'enteric' virussen als op de indicatorbacteriën van faecale verontreiniging en de virussen van deze organismen kan met dergelijk onderzoek een goed inzicht worden verkregen in de hygiënische betrouwbaarheid van water, dat een bepaalde zuivering heeft ondergaan.

Virologisch onderzoek ten behoeve van de bedrijfstak

Het overzicht van de verschillende aspecten, die bij virologisch onderzoek van drinkwater van belang zijn, kan worden besloten met een opsomming van de werkzaamheden, die tot de taken van een virologisch laboratorium ten behoeve van de bedrijfstak kunnen worden gerekend:

1. Bemonstering van ruw water, dat als grondstof wordt gebruikt bij de bereiding van drinkwater, om de fluctuaties in de

besmettingsgraad te kunnen vaststellen en epidemiologisch inzicht te krijgen in de verspreiding en het voorkomen van bepaalde virussen.

2. Vaststellen van het virusverwijderend vermogen van waterzuiveringsprocessen in de praktijk.

3. Virologisch onderzoek van drinkwater, in het bijzonder wanneer er door calamiteiten in het distributiesysteem of storingen in zuiveringsprocessen twijfels bestaan over de hygiënische betrouwbaarheid van het water.

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. and 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. Bitton, G. (ed.). *Introduction to environmental virology*. New York, J. Wiley & Sons, Inc., 1980, p. 81, 305.
5. Clarke, N. A., Akin, E. W., Liu, O. C. e.a. *Virus study for drinking water supplies*. JAWWA 67 (1975) p. 192-197.
6. 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.
7. Coulon, G. et Netter, R. *La recherche des virus dans l'eau potable. Etude critique des méthodes et résultats*. Bull. INSERM 22 (1967) p. 941-956.
8. Foliguet, J. M., Schwartzbrod, L. et Gaudin, O. G. *La pollution virale des eaux usées, de surface et d'alimentation*. Bull. WHO 35 (1966) p. 737-749.
9. Fri, R. W. and McDermott, J. H. *Hearings before the Com. on Commerce, US Senate 92nd Congr. Serial 92-57 March 20 1972*, USGPO.
10. Hoehn, R. C., Randall, C. W. and Bell, F. A. *Trihalomethanes and viruses in a water supply*. J. Env. Eng. Div. 103 (1977) EE5, p. 803-814.
11. Hoehn, R. C., Randall, C. W. and Bell, F. A. *Trihalomethanes and viruses in a water supply*. J. Env. Eng. Div. 105 (1979) EE1, p. 176-177.
12. Melnick, J. L. and Gerba, C. P. *The ecology of enteroviruses in natural waters*. Critical Review in Env. Control 10 (1980), p. 65-93.
13. Metcalf, T. G., Shaffer, P. T. B. and Mooney, R. *Incidence of virus in water; case histories*. In: AWWA; Proc. 1978 annual conference, paper 35-2.
14. Nestor, I. *Enteroviruses in drinking water correlated with the physical-chemical and bacteriological indicators of water quality*. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Org. B. 171 (1980) p. 218-223.
15. Nestor, I. and 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.
16. Oserovic, A. *Experience of sanitary virological investigations of environmental factors*.

Transactions of the Institute of Poliomyelitis and virus encephalitis (Moscow), 14 (1970) p. 119-125.

17. Payment, P. *Isolation of viruses from drinking water at the Pont-Viau water treatment plant*. Can. J. Microbiol. 27 (1981) p. 417-420.

18. Rabyso, E. V. *Some aspects of the circulation of enteroviruses in the environment*. Gigiena i sanitaria 39 (1974) p. 105-106.

19. Sekla, L., Stackiw, W., Kay, C. and Van Buckenhout, L. *Enteric viruses in renovated water in Manitoba*. Can. J. Microbiol. 26 (1980) p. 518-523.

20. Shaffer, P. T. B., Metcalf, T. G. and Sproul, O. J. *Chlorine resistance of poliovirus isolants recovered from drinking water*. Appl. Env. Microbiol. 40 (1980) 6, p. 1115-1121.

21. Wellings, F. M., Mountain, C. W. and Lewis, A. L. *Virus in groundwater*. Proc. 2nd. Natl. Conf. Individual on site wastewater systems. Ann Arbor (Michigan). Natl. Sanit. Fdn., 1975.

22. 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.

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



● Slot van pagina 619

(dr. Appelo's slotwoord)

Literatuur

- Drablos, D. and Tollan, A. (eds.) (1980). *Ecological impact of acid precipitation*. Proc. Int. Conf. Sandefjord, Norway, march 1980.
- Hutchinson, T. C. and Havas, M. (eds.) (1980). *Effects of acid precipitation on terrestrial ecosystems*. NATO conf. Ser. 1,4. Plenum Press, New York.
- Hem, J. D. (1970). *Study and interpretation of the chemical characteristics of natural water*. US Geol. Survey Water-Supply Paper 1473, 363 p.
- Overrein, L. N., Seip, H. M. and Tollan, A. (1981). *Acid precipitation — effects on forest and fish*, 2nd ed. Research Rep. SNSF-project, As - Norway.
- Scheffer, F. and Schachtschabel, P. (1970). *Lehrbuch der Bodenkunde*, 7te Aufl., Enke - Verlag, Stuttgart, 448 p.
- Smith, R. W. (1971). *Relations among equilibrium and nonequilibrium species of aluminium hydroxy complexes*. In: R. F. Gould (ed.), *Adv. Chem. Ser.* 106, p. 250-279.
- Van Breemen, N. (1976). *Genesis and solution chemistry of acid sulfate soils in Thailand*. Proefschrift Wageningen, 263 p.
- Venhuizen, K. D. (1982). *Waarover spraken zij... in Stockholm*. H₂O 15, 585-586.

