

Processen ter verwijdering en inactivering van virussen in water*

1. Inleiding

Het aantal soorten virus dat in afvalwater voorkomt kan vrij groot zijn. Zo'n 100 typen enterovirussen, die afkomstig zijn van excretieproducten van de mens, zijn aangetoond in afval- en oppervlaktewater [1, 2]. In Nederland is reeds in 1964/1965 door Wilterding en Weiland [3] een kwalitatief onderzoek verricht naar de aanwezigheid van deze virussen [4] in het rioolwater. Zij toonden daarbij zowel Polio 1, 2, 3 als Adenovirus en Reovirus aan. De Amerikaanse onderzoekers Clarke en



DRS. H. J. KOOL
Rijksinstituut voor
Drinkwatervoorziening
's-Gravenhage

Kabler [5] berekenden op theoretische gronden dat zo'n 500 infectueuze eenheden (PFU) ¹ per 100 ml rioolwater kunnen voorkomen. Shuval en Berg [6] komen

* Voordracht gehouden voor de Contactgroep Wateronderzoek en Waterzuivering op 13 juni 1974 te Utrecht.

¹ PFU = plaque forming unit [4].

TABEL I - Hoeveelheid virus (PFU) in Amerikaanse rioolwater (1971) [5].

datum	9/2	9/9	30/9	11/11	18/11
virus in PFU/gallon	$1,3 \times 10^2$	$4,3 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$
fecale Coli/gallon	$1,8 \times 10^8$	$1,3 \times 10^6$	$6,4 \times 10^6$	4×10^6	$4,8 \times 10^6$

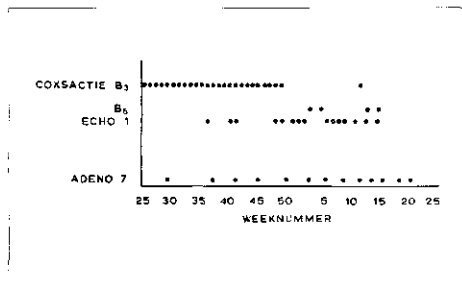
TABEL III - Aantal dagen nodig voor 99,9 % inactivering van enterovirussen.

watertype	virus	benodigd aantal dagen bij	
		4 - 6 °C	20 - 25 °C
rivierwater; afvalwater rivierwater	Polio en Echo 7	26; 120	—
	Echo 12	33; 60	—
	Coxsackie A9	10; 12	—
	Echo 7, 12	15; 19	—
rivierwater; leidingwater	Polio 1	19; 140	13; 95
	Coxsackie A9	10; 98	< 8; 15

TABEL IV - Virusverwijdering door coagulatie.

referentie	watertype	dosering van aluminium-sulfaat mg/l	virusverwijdering
Wallis e.a. 1966	riooeffluent		80
Engeland e.a. 1970	riooeffluent		80 - 100
Berg 1971	rivierwater	25 mg	98,6
Sproul e.a. 1972	rivierwater	10 mg + 50 mg klei	86
		25 mg + 120 mg klei	99,8
Shelton e.a. 1973	oppervlaktewater	76 mg	99,6
doserings van ferrichloride mg/l			
Schäfer e.a. 1970	oppervlaktewater		45 - 100
Berg 1971	rivierwater	25 mg	94
Shelton 1971	rivierwater	109 mg	94,6
		176 mg *	

* Fe₂(SO₄)₃ als coagulant gebruikt.



Afb. 1 - Voorkomen van enterovirussen in ongezuiverd rioolwater.

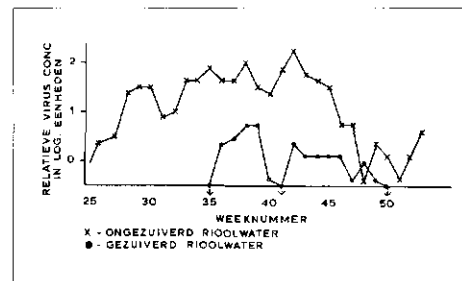
eveneens tot 100 - 500 PFU in 100 ml rioolwater.

Berg [6] vond in 1971 de volgende hoeveelheid virus in Amerikaans rioolwater (zie tabel I).

Gezien de gebruikte concentratiemethode die een efficiëncy van globaal 50 % heeft en de gebruikte cellen waarmee ongeveer 50 % van de virussen kunnen worden aangetoond, lijkt de conclusie gerechtvaardigd dat de waarde tussen 100 - 500 infectueuze virus eenheden per 100 ml rioolwater zal liggen.

Uit een van de laatste publicaties van Burras [7] blijkt echter dat aanzienlijk meer virussen in het rioolwater kunnen voorkomen (zie tabel II).

Uit tabel II wordt nog eens duidelijk hoe



Afb. 2 - Voorkomen van enterovirussen in rioolwater.

TABEL II - Hoeveelheid virus (PFU) in Israëlijsch rioolwater (1974) [7].

gebruikte concentratiemethodieken	PFU/l
polymeer twee-fasensysteem	1.677
alginaat filter	234
membraanfilter	10.000
polyelectrolyt	1.584
direct inoculeren	48.110

belangrijk de concentratiemethodiek is die bij het isoleren van virus wordt toegepast [4].

2. Het verwijderen en inactiveren van enterovirussen door zelfreiniging

2.1. Biologische verwijdering bij een rioolwaterzuivering

Een belangrijk middel bij het verwijderen van virussen uit rioolwater is een behandeling met geactiveerd slib.

Uit laboratoriumexperimenten blijkt, dat zo'n 90 - 99 % van de virussen verwijderd kan worden [6]. De resultaten verkregen in de praktijk geven echter aan dat dit percentage onder deze omstandigheden een stuk lager ligt en slechts 25 % bedraagt [6]. Vergelijkbare resultaten werden in Dene-marken verkregen door Lund [8]. Zij vond gedurende een groot deel van het jaar enterovirussen in het water zowel vóór als na behandeling in een rioolwaterzuiveringsinstallatie waarbij in 40 % van de gevallen het effluent hetzelfde virus bevatte als het influent [9] (afb. 1 en 2).

2.2. Inactivering door natuurlijke omstandigheden

Nadat het rioolwater een afvalzuiveringsinstallatie is gepasseerd, komt het vervolgens in het oppervlaktewater terecht. Ook hier zijn diverse factoren die de overlevingskansen van virussen beïnvloeden [1] zoals in tabel III is vermeld. Uit tabel III blijkt dat verblijfstijd, temperatuur en waterkwaliteit van groot belang zijn voor de overlevingskans van het enterovirus.

3. Virusverwijdering door coagulatie processen

3.1. Coagulatie

Verwijdering van virussen kan eveneens plaatsvinden d.m.v. coagulatie met ijzer en

aluminium zouten. Een aantal resultaten van verschillende onderzoekers zijn in tabel IV weergegeven [1, 5, 10, 11, 12].

Een coagulatie met aluminiumsulfaat en ferri-zouten is goed in staat virus te verwijderen, waarbij aluminiumsulfaat het beste resultaat geeft, nl. 94 resp. 98,6 %. Shelton [11] en zijn groep konden uit de experimenten een empirische formule opstellen die een relatie geeft tussen een dosering van het coagulans voor een maximale virusverwijdering en de COD-waarde van het te behandelen water. Deze formule luidt als volgt:

$$D = a C^b$$

D = dosering coagulans in mg/l

C = COD van water in mg/l

a en b zijn constanten die bij een bepaalde coagulans behoren, resp. a = 16,97 en

b = 0,50 voor ferrichloride en a = 5,44 en b = 0,60 voor aluminiumsulfaat.

3.2. Inactivering van virus m.b.v. calciumhydroxyde

Inactivering en verwijdering van virussen kan optreden door het rioolwater effluent te behandelen met calciumhydroxyde. Berg [6] vond dat meer dan 90 % Polio-virus kon worden verwijderd als 400 mg/l werd toegevoegd. Bij toevoeging van 500 mg/l wordt de pH van het effluent hoger dan 11, waarbij het virus dan echt geïnactiveerd kon worden [1, 12] (zie tabel V). Brunner e.a. [14] combineerden het verwijderen van virus met het neerslaan van fosfaat als derde trap in een rioolwaterzuiveringsinstallatie. Zij doseerden daarbij $Al(SO_4)_3$ en $Ca(OH)_2$ en een overmaat Ca^{2+} (als $CaCl_2$), waarbij calciumhydroxyapatiet neerslaat (afb. 3a, 3b). Uit afb. 3 blijkt, dat verwijdering van poliovirus toeneemt met afnemende pH zowel bij een molaire verhouding $Al : PO_4 = 1$ als 1,5.

Bij een $Al : PO_4$ verhouding van 1,5 en bij een pH = 6 wordt meer dan 96 % virus verwijderd en 95 % van het fosfaat, bij een begin fosfaatconcentratie van 40 mg PO_4/l .

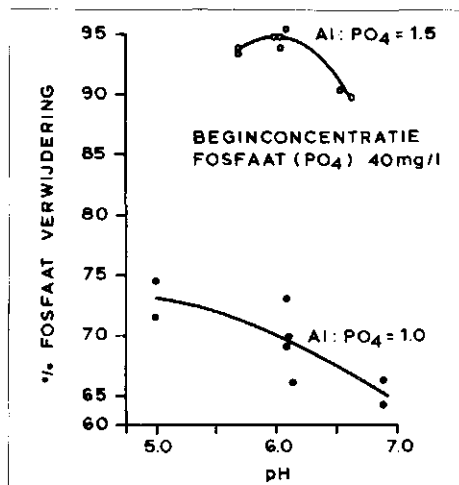
Eveneens onderzochten zij virusverwijdering met fosfaatprecipitatie m.b.v. $Ca(OH)_2$. Daarbij werden de resultaten volgens afb. 4 verkregen.

Uit afb. 4 kan worden geconcludeerd dat naarmate meer fosfaat wordt neergeslagen meer virusverwijdering plaatsvindt, en dat een derde trap rioolwater zuivering bij het aanwezig zijn van voldoende hoeveelheden fosfaat uit het oogpunt van virus verwijdering een wenselijke zaak is.

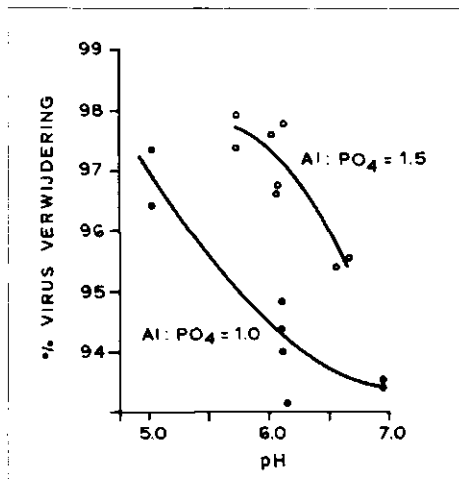
Chang [15] en Manwarring e.a. [16] toonden aan dat meegeprecipiteerde virus niet

TABEL V - Inactivering van virus door pH-verhoging.

	Contacttijd	pH	% inactivering	Medium
T ₂ bacteriofaag	90 min.	10,5	90	Ca (OH) ₂ + gedest. H ₂ O
Polio 1 (Sabin)	90 min.	11,2	0	Ca (OH) ₂ + gedest. H ₂ O
Polio 1 (Sabin)	90 min.	11,9	90	Ca (OH) ₂ + NaOH + gedest. H ₂ O

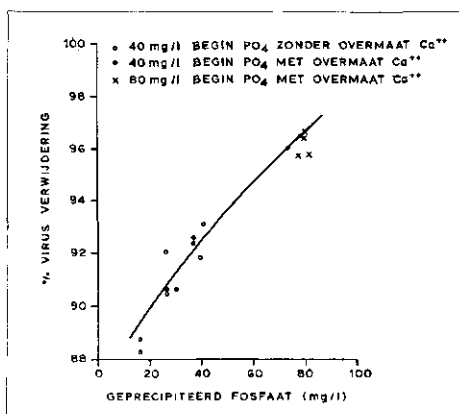


Afb. 3a - Fosfaatverwijdering door precipitatie m.b.v. $Al_2(SO_4)_3$ in rioolwater.



Afb. 3b - Virusverwijdering door fosfaatprecipitatie m.b.v. $Al_2(SO_4)_3$ in riooleffluent.

Afb. 4 - Virusverwijdering gekoppeld aan fosfaatprecipitatie door toevoeging van calcium.



volledig geïnactiveerd is (tabel VI), zodat voorzichtigheid geboden is met de behandeling van het precipitaat.

TABEL VI - Terugwinning van virussen geadsorbeerd aan het precipitaat.

elutie vloeistof	pH	virus	% virus recovery
gedestilleerd water		MS ₂	7,8
0,1 m trisbuffer	7,6	MS ₂	21
water	8,5	T ₂	20
bicarbonaat buffer	8,5	Coxsackie	60

4. Inactivering van virussen door chloor en ozon

Bij de bereiding van drinkwater is het van het grootste belang dat het eindproduct geen ziekteverwekkende (pathogene) micro-organismen bevat. Bij het gebruik van oppervlaktewater als grondstof voor de bereiding van drinkwater is duidelijk dat hertoe toepassing van desinfectie processen nodig is omdat er zich wel degelijk pathogene micro-organismen in het ruwe water bevinden. Van belang hierbij is, dat criteria die bij desinfectieprocessen gelden voor bacteriële organismen, niet behoeven op te gaan voor virussen, m.a.w. een negatieve coliformtest hoeft niet in te houden dat virussen afwezig zijn.

Daar bij de meeste bedrijven waar het water gedesinfecteerd wordt, chloor en ozon als desinfectiemiddel worden toegepast is het nuttig de invloed en het effect van deze twee oxydatiemiddelen op micro-organismen nader te beschouwen.

4.1. Chloor

De invloed van een chloorbehandeling op micro-organismen in water is reeds door vele onderzoekers nagegaan [17, 18, 19, 20, 21, 23] (zie tabelVII).

Uit tabel VII B en VII C blijkt duidelijk dat een aantal enterovirussen resistent zijn tegen chloorbehandeling dan de E-coli bacterie. Eveneens is te zien uit tabel VII B dat de resultaten van sommige virussen nog onderling kunnen verschillen, zoals bij Polio 2 t.o.v. Polio 1 en 3.

Uit tabel VII A zou kunnen worden afgeleid dat een verhoogde pH een negatieve invloed zou hebben op het reductie-percentage van de micro-organismen, want om de micro-organismen met eenzelfde percentage te reduceren bij een hogere pH lijkt een verlenging van de contacttijd vereist. Dit wordt echter gelogenstraft door de experimenten die door Scarpino [22] en zijn medewerkers

werden uitgevoerd. Zij vonden dat Polio 1 zo'n 130 keer resistenter is dan E-coli tegen HOCl bij een pH = 5.

Bij een pH = 10, waarbij vrij chloor voornamelijk uit OCl⁻ bestaat blijkt dat E-coli zo'n 3 keer resistenter is tegen OCl⁻ dan Polio 1 (zie afb. 5).

Uit het experiment blijkt dat HOCl zo'n 50 keer effectiever is dan OCl⁻ voor de inactivering van E-coli, terwijl OCl⁻ zo'n factor 7 keer effectiever is voor inactivering van Polio 1 dan HOCl, m.a.w. een hogere pH is dus veel effectiever voor de inactivering van virussen bij het toepassen van een desinfectiebehandeling met chloor.

Eveneens manifesteert zich bij dit experiment duidelijk dat de criteria van het bacteriologisch onderzoek niet gelden voor enterovirussen.

TABEL VII - Invloed van chloor op de overlevingstijd van bacteriën en virussen.

micro-organisme	contacttijd (minuten)	pH	temp. °C	desinfectie omstandigheden	% reductie micro-org.
A					
toegevoegd chloor in mg/l					
Coxsackie A ₂	10 ; 3	7 ; 7	3—6 ; 28	0,6 ; 0,5	99,6
Polio 1	3 ; 8	7 ; 9	25—28	0,25 ± 0,4	99,9
Coxsackie B ₃	16 ; 30	7 ; 8	1—5	0,25 ± 0,4	99,9
B					
rest chloorgehalte mg/l					
E-coli	5	7	25	0,03	99,9
Coxsackie A ₅	5	7	2—5	1,4	99,6
Coxsackie A ₂	4	7	25—28	0,20	100
Polio 2					
Polio 1, 3	15—30	7	25—28	0,20	100
C					
gecombineerd rest chloorgehalte mg/l					
E-coli	20	8,3		0,5 ± 0,1 ; 0,6 ± 0,1	95 : >99 < 100
Colifaag	30	8,3		0,5 ± 0,1 ; 0,6 ± 0,1	83 : >99 < 100
Poliovirus	30	8,3		0,5 ± 0,1 ; 0,6 ± 0,1	70 : 90

4.2. Ozon

Ozon wordt reeds vele jaren gebruikt bij de bereiding van drinkwater in Europa en met name Frankrijk waar het voor het eerst in 1907 in Nice werd toegepast.

Veel gegevens over de desinfectie-eigenschappen van ozon m.b.t. bacteriën zijn in de literatuur niet voorhanden. Nog minder is er bekend over de desinfectie-eigenschappen van ozon m.b.t. virussen. Verscheidene factoren beïnvloeden de desinfecterende werking van ozon. De temperatuur heeft o.a. een belangrijke invloed. Volgens Cerkinsky [20] moet men om eenzelfde desinfecterend effect te krijgen een 1,6 keer zo grote dosis ozon bij 18 - 20 °C en 3,2 keer zo grote dosis ozon bij 36 - 38 °C toevoegen dan bij 4 - 6 °C. Een pH-waarde tussen 6 - 8 heeft maar weinig invloed op de eigenschappen van ozon [25].

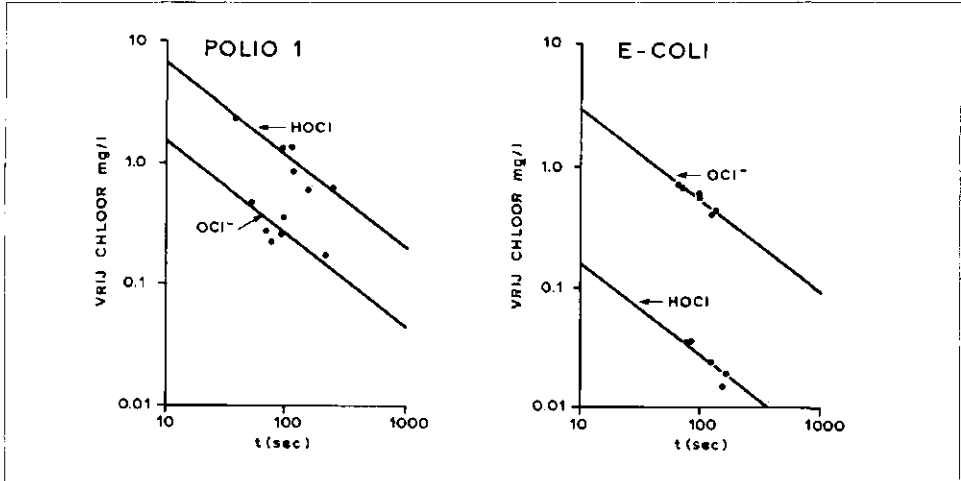
Reeds in 1943 vond Kessel [24] dat 0,05 - 0,45 ppm ozon evenveel Poliovirus vernietigt in twee minuten als 0,5 - 1,0 mg/l chloor doet in 2 à 3 uur.

Pas in 1964 komen Coin [26] en zijn medewerkers voor het eerst met meer gegevens over de inactivering van Poliovirus m.b.v. ozon.

Zij concludeerden, dat in gedestilleerd water en gefiltreerd rivierwater bij een restgehalte van ozon van meer dan 0,3 mg/l een inactivering optreedt van 99,99 %, mits de contacttijd minimaal 4 minuten is [26]. Coin en Gomella vinden eveneens bij hun experiment met stromend water dat bij een restgehalte van ozon van 0,4 mg/l of hoger de inactivering snel gaat mits de contacttijd groter is dan drie minuten [26].

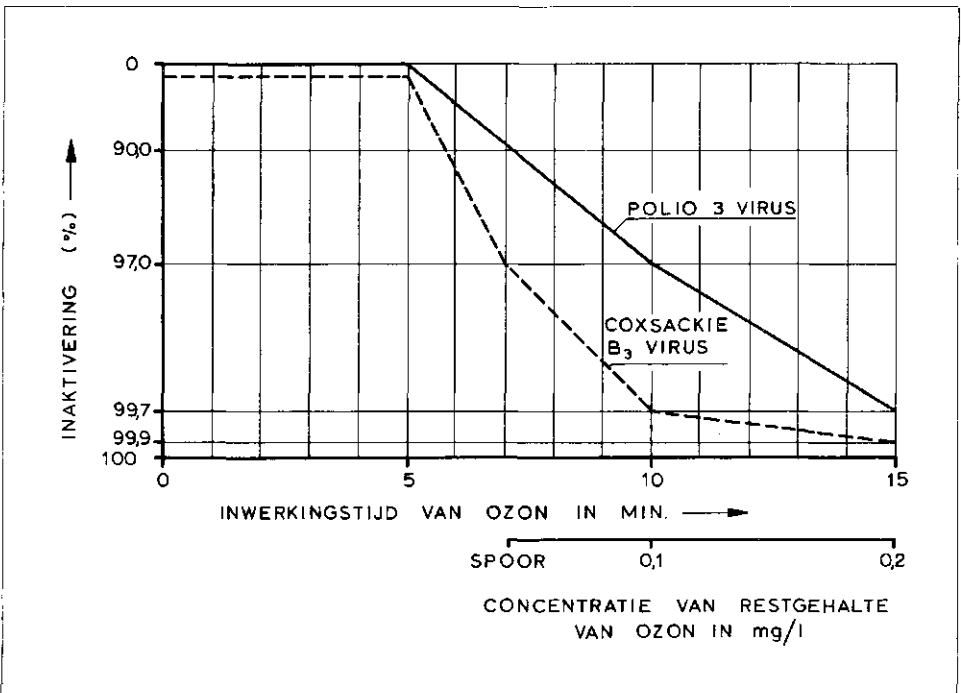
In de USSR zijn door Suchkov en Cerkinsky [20, 25] eveneens inactiveringsproeven gedaan op enterovirussen m.b.v. ozon (afb. 6).

Uit dit experiment blijkt duidelijk dat door



Afb. 5 - Relatie concentratie-tijd voor 99 % inactivering van E-coli en Poliovirus 1 bij 5 °C.

Afb. 6 - Inactivering van enterovirus in rivierwater door ozon.



het reageren van ozon met in het water aanwezige stoffen gedurende de eerste 5 minuten geen inaktivering optreedt. Pas na 7 minuten wordt 90 % van het Polio 3 virus en 97 % van het Coxsackie B₃ virus geïnactiveerd.

Na 15 minuten is de inaktivering opgelopen tot resp. 99,7 % en 99,6 %, waarbij het restgehalte aan ozon 0,2 mg/l is geworden.

Uit deze gegevens blijkt nogmaals dat verschillende enterovirussen niet even gevoelig zijn voor ozon.

Een van de laatste experimenten over de inaktivering van enterovirussen door ozon zijn door Evison [27] in Newcastle uitgevoerd. Hierbij werd de resistentie van E-coli, een bacteriofaag en een Poliovirus t.o.v. ozon met elkaar vergeleken (zie tabel VIII).

Deze gegevens illustreren duidelijk dat virussen resistenter zijn dan bacteriën bij een ozonbehandeling. Eveneens komt duidelijk naar voren dat de gebruikte bacteriofaag, die qua structuur en grootte op een enterovirus lijkt, minder resistent is dan het enterovirus zelf.

Tevens blijkt dat de inactivering van enterovirussen door ozon afhankelijk is van:

— het te oxideren materiaal dat zich in het water bevindt;

— de contacttijd en het restgehalte aan ozon.

Een goede inactivering (minimaal een reductie in virus concentratie met een factor 10⁸) wordt verkregen bij een restgehalte aan ozon van minimaal 0,4 mg/l gedurende een contacttijd van minimaal 4 minuten, zoals blijkt uit:

a. Coin e.a. [26] — 99,99 % reductie van Polio 1 met rest ozongehalte van 0,3 mg/l en contacttijd van 4 minuten.

b. Cerkinsky e.a. [20] — 99,7 % reductie van Polio 3 met oplopend rest ozongehalte van 0,1 - 0,2 mg/l gedurende 5 minuten.

c. Evison [27] — 99,995 % reductie van Poliovirus met rest ozongehalte van 0,18 mg/l bij contacttijd van 4 minuten.

5. Samenvatting en conclusie

Aan de hand van de beschikbare gegevens kan kwantitatief een globale schatting gemaakt worden van de verwijdering en inaktivering van virussen bij de bereiding van oppervlaktewater tot drinkwater. Uitgaande van 10⁴ infectueuze virus-eenheden, die aanwezig zijn in een liter rivierwater [2, 6, 7, 28], zal indien het water via een spaarbekken, waarbij een verblijftijd in de winter van één maand wordt gehandhaafd, een reductie van 99,9 % kunnen optreden.

Indien de volgende processen uit oogpunt van virusverwijdering optimaal verlopen

TABEL VIII - Overlevingspercentage van E-coli, Bacteriofaag en Poliovirus na een ozonbehandeling.

restgehalte aan ozon in mg/l	E-coli		bacteriofaag		Poliovirus	
	contacttijd: 4 min.	10 min.	4 min.	10 min.	4 min.	10 min.
	overlevingspercentage		overlevingspercentage		overlevingspercentage	
0,02	0,0018	—	24	2,8	31	9,5
0,04	—	—	5,5	0,16	10	1,8
0,06	—	—	0,3	0,0022	1,1	0,16
0,16	—	—	—	—	0,013 *	0,0029

* berekende waarde

zoals bijv. een coagulatie met ijzerchloride (FeCl₃) [5, 11], snelle en langzame zandfiltratie [29], en desinfectie met chloor of ozon [26, 27, 29], dan is resp. 95, 50, 96 en 99,99 % reductie van virussen mogelijk, zodat uiteindelijk nog 1 infectueuze virus-eenheid aanwezig kan zijn in 1000 m³ drinkwater.

In de praktijk zijn deze bovengenoemde processen veelal niet afgestemd op een optimale virusverwijdering, zodat bijv. bij een korte verblijftijd in een spaarbekken maar 99 % reductie van het virus op kan treden. Bij de volgende zuiveringsprocessen kunnen dan resp. 80, 25, 60 en 99 procent van de virussen worden verwijderd, zodat dan in 100 liter drinkwater nog een aantal virusdeeltjes aanwezig kunnen zijn. Uit het bovenstaande komt duidelijk naar voren dat zeer grote volumina water van ten minste 10 tot 100 liter onderzocht moeten worden om virussen te kunnen aantonen bij het niet adequaat functioneren van de zuivering.

Duidelijk wordt ook dat voor het isoleren van de enterovirussen een zeer betrouwbare concentratie methodiek gewenst is.

Uit hygiënisch oogpunt blijkt eveneens hoe belangrijk het desinfectieproces is bij het niet optimaal verlopen van de reeks andere genoemde processen. Indien het desinfectieproces niet juist functioneert bestaat de mogelijkheid, dat virussen met het drinkwater de konsument bereiken [30, 31, 32]. Vandaar dat in Amerika wordt aanbevolen dat de concentratie van een referentie virus met een faktor 10¹⁰ wordt gereduceerd tijdens processen die bij de bereiding van drinkwater uit ruw (oppervlakte)water worden toegepast en dat het restgehalte aan chloor en/of ozon daarboven het referentie virus met nog een faktor 10² kan reduceren. Het verdient aanbeveling dat men ook in Nederland het invoeren van een dergelijke norm overweegt voor de inaktiverings- en verwijderingscapaciteit van zuiverings-systemen die uit oppervlaktewater drinkwater bereiden.

Literatuur

1. Thirteenth Quality Conference 1971. *Viruses and water quality occurrence and control*. Department of Civil Engineering, University of Illinois at Urbana Champaign and the Illinois Environment Protection Agency.

2. Shuval, H. I. and Katzenelson, E. *The detection of entericviruses in the water environment in: Water pollution microbiology (1972)* R. Mitchel, Wiley Interscience, John Wiley and Sons Inc. New York.

3. Wilterding, J. B., Weiland, H. T. *Entericviruses in children's homes and sewage 1966*. European Symposium of poliomyelitis and allied diseases.

4. Kool, H. J. *Virussen en drinkwater*. H₂O (6) 1973 nr. 16, p. 390.

5. Clarke, N. A. and Kabler, P. W. *Human enteric viruses in sewage*. Public Health Service 1964.

6. Berg, G. *Removal of bacteria and viruses*. Genève, december 1971.

7. Burras, N. *Recovery of viruses from waste water and effluent by the direct inoculation method*. Water Research 8 174, p. 19.

8. Lund, E., Hedström, C. E., Jantzen, N. *Occurrence of enteric viruses in waste water after activated sludge treatment*. J. Water Pol. Control, part 1, 1969, p. 169.

9. Lund, E. *Observations on the virus binding capacity of sludge*. 5th International Water Pollution Research Conference July-August 1970. Proceedings published by Pergamon Press Ltd. 1971.

10. Wallis, C. and Melnick, J. L. *Concentration of viruses on aluminium phosphate and aluminium hydroxide precipitates*. In *Transmission of Viruses by the Water Route*. C. Berg, 1967

11. Shelton, P. S., Drewry, W. A. *Tests of coagulants for the reduction of viruses, turbidity and chemical oxygen demand*. JAWWA 1973, p. 627.

12. Sproul, O. J. *Virus inactivation by water treatment*. JAWWA 1972, p. 31.

13. Chaudhuri, M. and Engelbrecht, R. S. *Removal of viruses from water by chemical coagulation and flocculation*. JAWWA, 1970 62, p. 563.

14. Brunner, D. R. and Sproul, C. J. *Virus inactivation during phosphate precipitation*. J. Sanitary Eng. Division 1970, p. 365.

15. Chang, S. L., Stevenson, R. E., Bryant, A. R., Woodward, R. L., Kabler, P. W. *Removal of Coxsackie and bacterial viruses in water by flocculation*. Am. J. Public Health 1958, 48, p. 51

16. Manwaring, J. F., Chaudhuri, M. and Engelbrecht, R. S. *Removal of viruses by Coagulation and flocculation*. JAWWA 1971, 63, p. 298.

17. Kjellander, J., Lund, E. *Sensitivity of E-coli and Poliovirus to different forms of combined chlorine*. JAWWA 1965, 57, p. 893.

18. Shuval, H., Cymbalista, S., Wack, A., Zohar, Y. and Goldblum, N. *The inactivation of enteric viruses in sewage by chlorination*. 1967 Loc. 3rd. Int. Conf. Water Pol. Res.

19. Clarke, N. A. *The inactivation of purified Coxsackie virus in water by chlorine*. The Am. J. Hygiene 1954, 59, p. 119.

20. Cerkinsky, S. N., Traktman, N. *The present status of research on the disinfection of drinking*

water in de USSR. Bull. Wld. Hlth. Org. 1972, 46, p. 277.

21. Kollins, S. A., *The presence of human enteric viruses in sewage and the removal by conventional sewage treatment methods*. Appl. microbiol. 1966, p. 145.

22. Scarpino, P. V., Berg, G., Chang, S. L., Dahlings, D. and Lucas, M. *A comparative study of the inactivation of viruses in water by chlorine*. Water Research 1972, 6, p. 959.

23. Kabler, P. W., Clarke, N. A., Berg, G., Chang, S. L. *Viricidal efficiency of disinfectants in water*. Publ. Health Reports 1961, 76, p. 565.

24. Kessel, J. F., Allison, D. K., Moore, F. J. and Kaime, M. *Comparison of chlorine and ozone as viricidal agents of Poliomyelitis virus*. Proc. of the Soc. for Exp. Biol. and Med. 1943, p. 71.

25. Suchkov, B. P. *Studies of the ozonation of drinking water containing pathogenic bacteria and viruses*. Gig. i. Sanit. 29, p. 22.

26. Coin, L., Hannoun, C., Gomella, C. *Inactivation par l'ozone du virus de la Poliomyélite présent dans les eaux*. La Presse Medicale 1, 72, 1964, p. 2153.

27. Evison, L. *Inactivation of viruses in water with ozone*. British Water Supply 9, 1972, p. 14.

28. Lund, E. *Manual on analysis for water pollution control*. Chapter IX. Virological Examination, WHO, 1974.

29. Robeck, G. G., Clarke, N. A. and Dostal, K. A. *Effectiveness of water treatment processes in virus removal*. JAWWA, 1962, 54, p. 1275.

30. Mosley, J. W. *Transmission of viral diseases by drinking water*. In Transmission of viruses by the water route 1965. G. Berg. Interscience Publishers, John Wiley & Sons.

31. Mack, W. N. *Poliovirus in a watersupply*. JAWWA, 1973, p. 348.

32. Nupen, E. M., Stander, G. J. *The virus problem in the Windhoek waste water reclamation project*. Advances in Water Pollution Research, 1972.

