



Gezondheidsrisico's van fecale verontreiniging in waterwingebieden door begrazing en recreatie

Ontwikkeling van een stochastisch model

BTO2012.015
Juni 2012

Gezondheidsrisico's van fecale verontreiniging in waterwingebieden door begrazing en recreatie

Literatuuronderzoek en ontwikkeling van een stochastisch model

BTO2012.015
Juni 2012

© 2012 KWR

Alle rechten voorbehouden.

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Colofon

Titel

Gezondheidsrisico's van fecale verontreiniging in waterwingebieden door begrazing en recreatie
Ontwikkeling van een stochastisch model

Projectnummer

B111704

Onderzoeksprogramma

Microbiologie

Projectmanager

Niels Dammers

Opdrachtgever

BTO

Kwaliteitsborger

Gertjan Medema

Auteurs

Wim Hijnen, Myriam Blokker, Leo Heijnen, Kees Vink

Verzonden aan

Dit rapport is verspreid onder BTO-participanten en is openbaar

Voorwoord

Dit BTO project had een sterk interdisciplinair en praktijkgericht karakter. In het project was informatie nodig over recreanten en dieren als bron van ziekteverwekkers, verspreiding van fecaliën in het waterwingebied, de overleving en uitspoeling van ziekteverwekkers in fecaliën, en over de hydrologie van het transport van ziekteverwekkers in onverzadigde en verzadigde zone om in het grondwater terecht te komen en uiteindelijk via een put naar maaiveld opgepompt te worden. Om deze gegevens samen te voegen was een conceptueel model nodig en omdat de gegevens variatie vertonen is een stochastische benadering gekozen en model gebouwd.

De resultaten beschreven in dit rapport zijn door de microbiologen Leo Heijnen (Hoofdstuk 3) en Wim Hijnen (Hoofdstukken 2, 4, 5), door de hydroloog Kees Vink (Hoofdstuk 6) en door een modeldeskundige Miriam Blokker (Hoofdstuk 7) tot stand gekomen. Het totale rapport is redactioneel afgerond door Wim Hijnen en Gertjan Medema heeft de kwaliteitsborging van het verloop van het proces en het rapport voor zijn rekening genomen.

Het werk is tijdens vooraf en aan het einde getoetst aan een forum van mensen van belanghebbende Waterbedrijven en het RIVM. De gebiedsgegevens die beschreven zijn in hoofdstuk 2 zijn door de bedrijven aangeleverd. De volgende mensen uit de bedrijfstak hadden zitting in het forum:

	Bedrijf	7 april 2010	29 juni 2011
Geo Bakker	Vitens	x	x
Leo van Breukelen	Waternet	x	
Sander de Haas	PWN		x
Maria Juhasz	WML		x
Wim Hoogenboezem	HWL	x	x
Hans Lucas	Dunea	x	x
Aleksandra Magic	HWL	x	x
Wim Oorthuizen	Dunea	x	x
Rienk Slings	PWN	x	
Trudy Suylen	Evides	x	x
Jack Schijven	RIVM	x	
Cristijn de Vin	Vitens	x	x

Samenvatting

Probleemstelling

Sinds 2001 is op grond van het Waterleidingbesluit het opstellen van een kwantitatieve microbiologische risicoanalyse voor de productie van drinkwater verplicht wanneer de bron voor het drinkwater oppervlaktewater is of grondwater is uit kwetsbare waterwingebieden. In deze risicoanalyse wordt het jaarlijkse infectierisico van het geproduceerde drinkwater berekend en dat moet per persoon kleiner zijn dan 10^{-4} . Bij het uitvoeren van deze zogenaamde Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater, kortweg AMVD is naar voren gekomen dat bij bedrijven met kwetsbare waterwingebieden informatie ontbreekt om de microbiologische risico's van dergelijke wingebieden te kunnen kwantificeren. Op grond van kennis over het gebied is duidelijk dat in dergelijke gebieden fecale pathogene micro-organismen worden verspreid door grazers, wilde fauna en recreanten en er zijn aanwijzingen voor fecale besmettingen van het grondwater gevonden. Maar het ontbreekt aan een instrument om een dergelijke besmetting in de AMVD van het bedrijf mee te nemen.

Doel van het onderzoek

Het doel van het onderzoek beschreven in dit rapport is om een algemene methodiek te ontwikkelen waarmee op basis van voorhanden zijnde algemene en locatiespecifieke informatie een totale risicoanalyse van de transmissieroute van fecale pathogenen, van fecale depositie tot drinkwater, kan worden uitgevoerd.

Aanpak

De AMVD is een kwantitatief risicomodel dat algemeen wordt toegepast. Daarom is in dit onderzoek ook gekozen voor een kwantitatieve benadering van het probleem. Er is een conceptueel model opgesteld met de verschillende stappen en dat is gekwantificeerd met een stochastisch model. De algemeen beschikbare informatie komt uit de (inter)nationale literatuur. Dit was een belangrijk onderdeel van het onderzoek. Daar waar deze kennis niet beschikbaar was, zijn aannames gedaan. Door een risicoanalyse op te stellen wordt duidelijk welke onderdelen we voldoende goed en onvoldoende goed kennen en hoe gevoelig het uiteindelijke risico is van de verschillende onderdelen en de onzekerheid daarin. Hiervoor zijn twee scenario's opgesteld en doorerekend,

- één waarbij het infectierisico van *Campylobacter* aanwezig in grazers is gekwantificeerd
- en één waarbij het infectierisico van norovirussen afkomstig van recreanten is berekend.

Bij beide scenario's is als basis uitgegaan van reële gegevens van een waterwingebied en de aan deze locatie gekoppelde gegevens over regenval. En ook over begrazingsdruk in het *Campylobacter* scenario zijn de gegevens van het gebied meegenomen. Gegevens over aanwezigheid van recreanten en de verspreiding van fecaliën in het waterwingebied in beide scenario's zijn onbekend en zijn daarom gesimuleerd op basis van algemene karakteristieken over de fecaliënproductie van grazers en recreanten. De ruimtelijke verspreiding is gesimuleerd door een random verdeling van de grazers en recreanten in het gebied aan te houden.

De hoofdonderdelen van het model zijn,

- de verspreiding van fecaliën in het waterwingebied (kwantitatieve gegevens en GIS simulatie);
- het vóórkomen van pathogene micro-organismen in de fecaliën en overleving (kwantitatieve gegevens);

- regenval en uitspoeling van pathogenen micro-organismen uit de mest (locale klimaatgegevens en uitspoelmodel);
- transport van de pathogenen door regen in de onverzadigde zone (kwantitatieve informatie, Solleveld en andere studies);
- transport van de pathogenen in de verzadigde zone (grondwater transportmodel Schijven, van der Wielen);
- grondwaterwinning en verdunning (locatiespecifieke kwantitatieve en GIS informatie);
- berekening van het infectierisico van het gewonnen grondwater (consumptie en dosis/effect gegevens).

Het stochastisch model

Het ontwikkelde en toegepaste stochastische model is gebaseerd op beschikbare kwantitatieve kennis over de verschillende stappen in het conceptuele model. Het is ontwikkeld in Matlab en gebaseerd op verspreiding van pathogenen uit fecaliën in ruimte en tijd. In het stochastisch model is gebruik gemaakt van verdelingen van kwantitatieve gegevens die beschikbaar waren of vooraf waren aangenomen over de volgende model onderdelen.

Verspreiding van fecaliën

Uit de inventarisatie van bestaande kennis over het probleem is gebleken dat er nog weinig gegevens over de verspreiding van fecaliën van grazers en recreanten in de waterwingebieden. De aanwezige informatie is anekdotisch van aard met weinig kwantitatieve gegevens. In de modelberekeningen is uitgegaan van een random verdeling, terwijl aannemelijk is dat de verspreiding heterogeen is en afhangt van specifieke gebiedseigenschappen. Omdat uit de gevoeligheidsanalyse is gebleken dat de uitkomst van het model in sterke mate wordt bepaald door de locatie van de fecale deposities, is geconcludeerd dat over dit aspect meer kwantitatieve kennis verzameld zou moeten worden.

Voorkomen van pathogenen in fecaliën en overleving

Er is een uitgebreide literatuurstudie gedaan naar het vóórkomen van pathogenen in fecaliën, zowel kwalitatief (aan- of afwezigheid) als kwantitatief (percentage besmet; concentraties in aantal per gram). De informatie was fragmentarisch en variabel maar bruikbaar wat betreft vóórkomen en concentraties. Deze variabiliteit wordt veroorzaakt door verschillen in fecale bronnen maar ook in onderzoeksmethodieken. Een deel van de gegevens over het vóórkomen van *Campylobacter* in fecaliën van grazers was afkomstig van een inventariserende studie in het duingebied van Waternet. De variabiliteit van deze informatie is meegenomen in de stochastische berekeningen uitgevoerd met het ontworpen rekenmodel.

Er is een database gemaakt over de mate waarin de aanwezige pathogene micro-organismen in de fecaliën en water overleven. Afstervingsconstanten voor de verschillende micro-organismen in fecaliën zijn beperkt beschikbaar. Uit de beperkte database voor de fecaliën blijkt dat virussen sneller afsterven in fecaliën dan in water en voor bacteriën is de afsterving in water sterker. Voor de protozoën kon geen duidelijk verschil worden waargenomen.

Uitspoeling van pathogenen uit de fecaliën

Uit hoofdstuk 4 blijkt dat specifiek over de uitspoeling van micro-organismen uit fecaliën maar weinig kwantitatieve gegevens beschikbaar zijn. De gevonden uitspoelstudies beschrijven vaak de uitspoeling in combinatie met afstroming naar het oppervlaktewater en/of inspoeling in de onverzadigde zone. Uit een beoordeling van een aantal uitspoelmodellen bleek het empirische model van Bradford en Schijven gebaseerd op uitspoelproeven met rundermest, goed te voldoen waarbij de uitspoeling afhankelijk is van de geleidbaarheid en de regenintensiteit. Dit model is opgenomen in het stochastische model. In dit model is echter geen rekening gehouden met de initiële consistentie van de fecaliën. Conclusie is dat gegevens nodig zijn om

dit model te valideren voor de risico situaties van specifieke risico fecaliën in waterwingebieden.

Verwijdering in de onverzadigde en verzadigde zone

De volgende stap in de modelbenadering is het transport van de pathogenen in de onverzadigde en verzadigde zone. Er is een kwalitatieve analyse beschreven van de transportroute in de onverzadigde zone. Het optreden van preferente stroombanen in de onverzadigde zone wordt beschreven als factor voor de besmetting van het grondwater met pathogenen. Deze kunnen de reistijden aanzienlijk beïnvloeden. Het kwantitatief maken van dit aspect is echter lastig. Er is in dit rapport gekozen voor een stochastische benadering door verschillende kwantitatieve transportstudies in de onverzadigde zone in een database op te nemen met een vaste kwantitatieve dimensie van de verwijdering (log verwijdering per m). Er bleek hiervoor een goede literatuur review beschikbaar van Pang (2010). Deze studie concludeerde op basis van een beperkt aantal doorbraakcurven dat het proces in de onverzadigde zone een eerste orde proces is (log/m is lineair gecorreleerd met de dikte van de onverzadigde zone). In het BTO onderzoek is een project geformuleerd waarin dit aspect nader wordt bepaald.

Voor de verwijdering van pathogenen in de verzadigde zone is gebruik gemaakt van het grondwatermodel beschreven voor virustransport in de bodem (Schijven, 2001; van der Wielen et al., 2006). De verschillende procesparameters als hechting- en afstervingconstanten zijn genomen uit diverse literatuurstudies.

Aspect van de reistijd in de analyse

In het huidige model is uitgegaan van een instantane menging van de verschillende grondwaterstroombanen bij de winputten. Dit veronderstelt dat de condities van fecaliënverspreiding en regenval ieder jaar gelijk zijn. Dit lijkt echter niet aannemelijk en uitbreiding van het model met reële grondwaterreistijden is mogelijk. Dit is echter alleen zinvol wanneer er ook meer reële gegevens zijn over de fecaliënverspreiding in het gebied.

Modelresultaat: infectie risicoberekening.

De modelberekening genereert een waarschijnlijkheidsgrafiek van de concentraties pathogenen (*Campylobacter* en norovirussen) in het gemengde grondwater van het gebied. De eerste berekeningen toonden een grote spreiding van de geschatte concentraties. De 95%-waarden waren voor *Campylobacter* $<10^{-15}$ per liter en voor norovirussen $<10^{-10}$ per liter. Dit toont het verschil in het risico van grazers en recreanten. In analogie met de AMVD berekeningen zijn de schattingen van de concentraties in het verzamelde grondwater getoetst aan de in het AMVD protocol opgenomen maximale jaarlijkse gemiddelde van $1,2E-6$ per liter. Voor *Campylobacter* is de maximale geschatte concentratie kleiner dan deze waarde waardoor de kans dat het geschatte jaargemiddelde hoger is dan de drinkwaternorm 0%. Voor de virussen is die kans 2%, d.w.z. in 2 van de 100 jaar komt een hogere concentratie voor dan de concentratie die hoort bij het toegestane infectie risiconiveau van 10^{-4} .

Gevoeligheidsanalyse en invloed van maatregelen

Een eerste gevoeligheidsanalyse van een aantal inputvariabelen laat zien dat het model vooral gevoelig is voor de hoeveelheid fecaliën deposities in een gebied (begrazingsdichtheid en aantal mest deposities) die de kans vergroten dat deze in de nabijheid van de winmiddelen plaatsvinden. Een ander aspect dat expliciet volgt uit de vergelijking tussen de twee scenario's van *Campylobacter* en norovirussen is de gevoeligheid van het model voor de transporteigenschappen van de pathogenen. Bij een veel lagere fecale belasting door recreanten is de geschatte concentratie norovirussen in het grondwater duidelijk hoger.

Eindconclusie en vervolg

Eindconclusie van het onderzoek beschreven in dit rapport is dat er een methodiek beschikbaar is voor het inschatten van microbiologische risico's in kwetsbare waterwingebieden waarmee de uitvoering van een AMVD kan worden uitgebreid en effecten van beheersmaatregelen kunnen worden doorgerekend. De eerste risico berekeningen tonen dat deze duidelijk lager zijn dan berekend voor de worst case situaties uit het eerdere onderzoek van 2005 (Nobel, et al, 2005).

Het ontwikkelde model kan worden toegepast op waterwingebieden. Bij de toepassing zijn de volgende facetten van belang:

- Validatie van het model bij een reëel waterwingebied met procesindicatoren (fecale indicatorbacteriën en bacteriofagen).
- Gezien het ontbreken van reële gegevens over verspreiding van fecaliën en de grote gevoeligheid van het model voor de locatie van de fecaliën ten opzichte van de winmiddelen, is het aan te bevelen bij de toepassing van dit model dit locatiespecifiek te bepalen.
- Er zou gestreefd moeten worden om locatiespecifieke reistijdgegevens in de onverzadigde en de verzadigde zone, alsmede actuele gegevens over de wateronttrekking, in het model op te nemen.

Aanbevelingen voor verbetering van de (gegevens gebruikt voor de) modelberekening

- De aanname dat de logverwijdering in de onverzadigde zone lineair kan worden geëxtrapoleerd naar de dikte van deze zone zal met concrete onderzoeksgegevens onderbouwd moeten worden.
- De invloed van preferente stroming is impliciet meegenomen in de kwantitatieve gegevens over de logverwijdering in de onverzadigde zone. Met experimenteel onderzoek en/of veldmetingen kan nagegaan worden of en in welke mate preferente stroombanen deze logverwijdering beïnvloedt. Een dergelijk onderzoek zou met het voorgaande aspect over de dikte van de onverzadigde zone kunnen worden gecombineerd.
- Betere en specifiekere gegevens over de pathogenen uitspoeling uit de mest, de verwijdering in de onverzadigde zone en de verwijdering in de verzadigde zone versterken de voorspellende waarde van het model. Ook zal gekeken moeten worden naar een optimalisatie van het model om maatregelen in het gebied zoals afrastering van kwetsbare zones te kunnen doorrekenen.

Inhoud

Voorwoord	1
Samenvatting	3
Inhoud	7
1 Inleiding	11
2 Waterwingebieden en een conceptueel model	13
2.1 De waterwingebieden	13
2.2 Overzicht van de begrazing	19
2.3 Een conceptueel model voor de risico's van begrazing en recreatie	19
2.4 Orientatie beschikbare Nederlandse kennis	21
2.5 Microbiologische risicoanalyse Solleveld	22
2.6 Ontwikkeling van het stochastische model	23
3 Pathogenen in mest	25
3.1 Defecatiegedrag	25
3.2 Aanwezigheid en concentraties pathogenen in de mest	25
3.3 Pathogenen in de feces van vee	26
3.3.1 Rundvee	26
3.3.2 Schapen en geiten	30
3.3.3 Paarden	31
3.4 Pathogenen in de feces van wild	32
3.4.1 Hertachtigen	32
3.4.2 Klein wild	34
3.5 Pathogenen in de feces van vogels	36
3.6 Pathogenen in de feces van recreanten	38
3.7 Pathogenen in de feces van honden	40
4 Pathogenen uit de mest	43
4.1 Uitspoeling en het 'eerste' transport bij regenval	43
4.1.1 Virussen en bacteriën	43
4.1.2 Protozoën	48
4.2 Transport van micro-organismen in de onverzadigde zone	54
4.2.1 Vergelijking met uitspoelproeven met mest	54
4.2.2 Vergelijking met studies van transport in de onverzadigde zone	54
4.3 Conclusies	56
5 Overleving van micro-organismen	59
5.1 Overleving van virussen	59
5.2 Overleving bacteriën	60

5.3	Overleving van protozoën	62
6	Het transport in de bodem	65
6.1	Bodemtransport en preferente stroming	65
6.2	Macroporiën, Microporiën, Bioporiën	65
6.3	Fingering	66
6.4	Waterafstotendheid als oorzaak van preferente stroming	67
6.5	Micro-poriën	69
6.6	Effecten op transport in de bodem	69
6.6.1	Bestrijdingsmiddelen	69
6.6.2	Micro-organismen	70
6.6.3	Technieken	71
6.7	Transport in de verzadigde zone	71
6.8	Conclusies transport in de bodem	74
7	Een stochastisch rekenmodel	77
7.1	Opbouw van het model en leeswijzer	78
7.2	Mestdepositie	80
7.3	Concentratie pathogenen in de mest	83
7.4	Concentratie pathogenen uit de mest	85
7.5	Concentratie pathogenen na transport door de onverzadigde zone	88
7.6	Concentratie pathogenen na transport door de verzadigde zone	90
7.7	Concentratie pathogenen in het grondwater en het jaarlijkse infectierisico	92
7.8	Gevoeligheidsanalyse: mestverspreiding	94
7.9	Interventie: afrastering	95
7.10	De uitspoeling van indicatorbacteriën: <i>E. coli</i>	95
8	Discussie en conclusies	97
8.1	Mestverspreiding in waterwingebieden	97
8.2	Pathogenen in de mest	98
8.3	Pathogenen uitspoeling uit de mest	98
8.4	Bodem transport	98
8.4.1	In de onverzadigde zone	98
8.4.2	In de verzadigde zone	99
8.4.3	Aspect van de reistijd	99
8.5	Aanvullende gevoeligheidsanalyse	100
8.6	Validatie van het model	100
8.7	Infrastructuur van de grondwaterwinning	100
8.8	Schatting van de concentratie pathogenen in gewonnen grondwater	101
8.9	Eindconclusie en vervolg	101

9	Referenties	103
	Bijlage 1: gegevens van begrazing in waterwingebieden	113
	Bijlage 2: Vee, runderen	115
	Bijlage 3: Vee: schapen en geiten	117
	Bijlage 4: Vee: paarden	119
	Bijlage 5: Wild: hertartigen	121
	Bijlage 6: Wild: klein wild	123
	Bijlage 7: vogels	125
	Bijlage 8: uitspoeling uit mest zonder bodemtransport	127
	Bijlage 9: transport in de onverzadigde zone	129
	Bijlage 10: meenemen van de reistijd	131

1 Inleiding

Bij het opstellen van de wettelijke risicoanalyse (Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater, kortweg AMVD) hebben waterbedrijven een aantal mogelijke “kortsluit” besmettingsroutes waargenomen bij de waterwinning die mogelijk van invloed kunnen zijn op de microbiologische veiligheid van het drinkwater. Deze besmettingsroutes zijn van invloed op de concentraties aan indicator organismen en pathogene micro-organismen in het grondwater dat wordt gebruikt als bron voor de drinkwaterbereiding.

Uit de voorlopige AMVD van de productielocaties Ouddorp en Haamstede van Evides (Suylen, 2006a,b) waar open infiltratie en terugwinning wordt toegepast, blijkt dat begrazing, wilde fauna en ook recreatie van invloed kunnen zijn op de microbiologische kwaliteit van het teruggewonnen water. Bij beide locaties bevat het ruwe grondwater na terugwinning nog fecale indicatorbacteriën.

Uit een intern onderzoek van PWN Waterleidingbedrijf Noord-Holland (de Haas en Rolf, 2006) blijkt dat bij hoge grondwaterstanden er een aanzienlijk besmettingsrisico van het grondwater bestaat. Ook de freatische kalksteenwinningen in Limburg met onvoldoende lössdek blijken te kunnen worden gekarakteriseerd als kwetsbaar. Vooral bij hevige regenval bestaat er risico van microbiologische verontreinigingen van het grondwater (Juhász-Holterman en Meuleners, 2006). Uit de voorlopige risico analyse van Dunea kwam naar voren dat na duininfiltratie het teruggewonnen water niet volledig vrij is van fecale indicatorbacteriën (Magic-Knezev en Oorthuizen, 2006).

Bij al deze AMVD's is informatie verzameld die aangeeft dat een fecale besmetting van het grondwater in deze gebieden een aanvullend risico zou kunnen zijn, maar er ontbreekt een methodiek om deze kortsluitroutes in de AMVD's mee te kunnen wegen. Reden hiervoor is dat de concentratie pathogene micro-organismen in deze grondstof moeilijk te meten is doordat deze meestal laag en sterk variabel is. Deze concentraties hangen af van een complex van factoren als het voorkomen en de concentraties van fecale pathogenen aan maaiveld (fecale deposities, hoeveelheid, plaats en tijd), de verspreiding en mobilisatie door regenval en uitspoeling en het transport naar de winmiddelen. Het risico van besmetting van het grondwater wordt waarschijnlijk vooral bepaald door piekbelastingen veroorzaakt door een combinatie van (i) een hoge besmettingsgraad van het waterwingebied met pathogenen en (ii) de aanwezigheid van “snelwegen” en/of kortsluitstromen onder normale en uitzonderlijke situaties zoals hevige regenval.

Verspreiding van pathogene micro-organismen uit fecaal materiaal in het milieu door watertransport komt algemeen voor en vormt daarmee een potentieel risico voor de volksgezondheid als dat water wordt gebruikt voor de bereiding van drinkwater. Daarom is er veel onderzoek gedaan naar dit onderwerp. Meestal op deelgebieden van de transmissieroute (bodemtransport, run off naar het oppervlaktewater, overleving; Medema et al., 1999, 2000; Nobel et al., 2005; Davies et al., 2005; Guber et al., 2006; Pachepsky et al., 2006; Ferguson et al., 2007). Hieruit zijn empirische modellen over de verspreiding van fecale micro-organismen uit mest gedestilleerd. Er zijn echter nog maar weinig studies die de gehele transmissieroute van fecale depositie tot de kwaliteit van het grondwater hebben trachten te modelleren om daarmee het infectierisico van het grondwater te kunnen uitrekenen. Ook een recente risicoanalyse van Close et al. (2008) van een irrigatiegebied met melkvee in Nieuw Zeeland ging uit van veldmetingen aan het grondwater zonder de daaraan verbonden aspecten als fecale belasting van het gebied, regenval en bodemtransport er bij te betrekken.

Daarom is in dit project een methodiek ontwikkeld waarmee op basis van voorhanden zijnde algemene en locatiespecifieke informatie een totale risicoanalyse van de transmissieroute kan worden uitgevoerd. De algemeen beschikbare informatie komt uit de (inter)nationale literatuur en daar waar deze kennis niet beschikbaar is, worden aannames gedaan. Door een risicoanalyse op te stellen wordt duidelijk in welke grootte orde het risico ligt en welke onderdelen we voldoende goed en onvoldoende goed kennen en hoe gevoelig het uiteindelijke risico is voor de (onzekerheid in de) verschillende onderdelen.

Doelstelling

Opstellen van een methodiek en verzamelen van informatie om een kwantitatieve microbiologische risicoanalyse uit te kunnen voeren bij freatische grondwaterwinningen en infiltratiewinningen en spoelwaterinfiltratie die mogelijk worden beïnvloed door mest van grazers, wilde fauna, recreanten en ander bronnen als lekkende riolen en fecaal besmet oppervlaktewater via “speciale” besmettingsroutes.

Uitwerking in dit rapport

In dit project:

- is een conceptueel model ontwikkeld om de gezondheidsrisico's van begrazing en recreatie in waterwingebieden te analyseren;
- zijn voor elk van de stappen in het risicomodel gegevens verzameld uit de literatuur en bij waterbedrijven;
- is een methodiek ontwikkeld om de gegevens van de modelstappen op een stochastische manier in het risicomodel te analyseren, inclusief een analyse van de gevoeligheid van het risicomodel voor de onzekerheid in de gegevens;
- zijn voorbeeldscenario's uitgewerkt om te illustreren hoe de methodiek en gegevens in een specifieke situatie van begrazing en/of recreatie in een waterwingebied kunnen worden toegepast.

In hoofdstuk 2 worden een aantal gebieden beschreven waarvoor het project bedoeld is. Tevens wordt het conceptuele model geschetst en wordt de stand van de kennis toegelicht, waaronder het eerder uitgevoerde project naar transport van micro-organismen in de onverzadigde zone (Nobel et al., 2005). Hoofdstuk 3 beschrijft de kennis over het voorkomen van pathogene micro-organismen in fecaliën van verschillende dieren die in het gebied aanwezig kunnen zijn (van grazers tot wilde fauna en vogels). De uitspoeling en inspoeling vanuit de mest in de bodem wordt belicht en daar waar mogelijk kwantitatief gemaakt in hoofdstuk 4. Hoofdstuk 5 beschrijft de overleving van micro-organismen in het milieu. In hoofdstuk 6 wordt het watertransport beschreven in de onverzadigde en verzadigde zone. In hoofdstuk 7 wordt het stochastische risicomodel beschreven en zijn twee voorbeeldscenario's uitgewerkt.

2 Waterwingebieden en een conceptueel model

De waterwingebieden van de waterbedrijven waar sprake is van een mogelijke fecale besmetting door begrazing, natuurlijke fauna en recreatie worden in dit hoofdstuk gepresenteerd. Voor de gebieden van Dunea, Waternet en PWN met begrazing is door Nobel et al (1999) een gedetailleerde beschrijving gepresenteerd. De in dit rapport gepresenteerde gebiedsbeschrijvingen zijn geactualiseerd en aangevuld met gegevens van Evides en WML. Ze geven een globaal beeld over ligging en grootte (incl. grootte kwetsbare delen), aanwezigheid van fecale bronnen en op waterwinning. Bij toepassing van het in dit rapport beschreven model zullen uitgebreidere gegevens nodig zijn.

Vervolgens wordt in dit hoofdstuk een conceptueel model gepresenteerd aan de hand waarvan een systematiek is ontwikkeld om het microbiologische risico van fecale besmetting door begrazing, wilde fauna en recreanten te kunnen inschatten.

2.1 De waterwingebieden

PWN

In het open infiltratiegebied ICAS van PWN in de duinen (Noord-Hollands Duinreservaat) bij Castricum, groot ca 140,5 ha, werd tot voor 2 jaar een winterbegrazing toegepast over een oppervlak van ca 7 ha (Figuur 2.1).



Figuur 2.1 Overzicht van het begrazingsgebied van PWN (Bron: PWN)

De begrazing bestond uit 5 stuks jongvee (gewoon boerenvee), gedurende de periode 1 oktober – 1 maart. Twee jaar geleden is er een programma van groot onderhoud gestart in ICAS, waardoor het vee er om praktische redenen niet kon grazen. Momenteel wordt nagedacht of deze begrazingseenheid weer in ere zal worden hersteld als het onderhoudsprogramma is afgesloten (over ca 1,5 jaar) of dat het gebied zal worden gemaaid (dit is de afgelopen 2 jaar gedaan).

Er loopt in het midden van het begraasde gebied, plaatselijk bekend als "het Grote Eiland", een strang ondiepe (9 meter) putten. Om besmetting van deze strang door het vee te voorkomen, is destijds besloten om de strang uit te rasteren op een afstand van ca 7 meter van de putten aan

weerszijden. Meeuwen en ganzen maken veelvuldig gebruik van de putten als verhoogde, relatief warme zitplek. Dit resulteert in overvloedige uitwerpselen op en rond de putten (Figuur 2.2). Het Grote Eiland is geheel afgesloten voor het publiek en deze afsluiting is bijzonder effectief. De rest van het gebied is open.

Waternet

In het waterwingebied van Leiduin vindt begrazing plaats op 267 ha met runderen en 133 ha met schapen (situatie 1998; Nobel et al., 1999). De volgende aantallen dieren zijn gerapporteerd (persoonlijke informatie Leo van Breukelen)

- Vogels op winkanalen: varieert sterk van enkele tientallen tot vele honderden (1500). Met name in de winter kunnen hoge aantallen aanwezig zijn.
- Reeën: 50-150 stuks
- Damherten ca 1200 stuks (mogelijk oplopend tot het dubbele)
- Runderen: ca 90 stuks
- Schapen: 350 (exclusief lammeren: ongeveer 100).

Opmerkingen:

Runderen en schapen worden d.m.v. hekken op tenminste 100 meter afstand gehouden van winkanalen om 60 dagen verblijftijd in de bodem te kunnen garanderen.



Figuur 2.2 Bevuiling van putdeksel door meeuwenpoep (Bron: PWN)

Dunea

Meijendel

Voor Meijendel zijn de lokaties Kijfhoek en Bierlap sprang en Sprang F weergegeven in Figuur 2.3. Daar lopen paarden en runderen met een vee dichtheid van 1 dier op 19 hectare.

Berkheide en recreanten

In het duingebied Berkheide wordt als enige locatie intensief gerecreëerd door mensen met honden (Figuur 2.4). Bij mooi weer kunnen er indicatief 400 - 600 personen per dag verblijven in een gebied vrij dicht en evenwijdig aan de winputten tussen de infiltratieplas en de winning.

Aantallen dieren

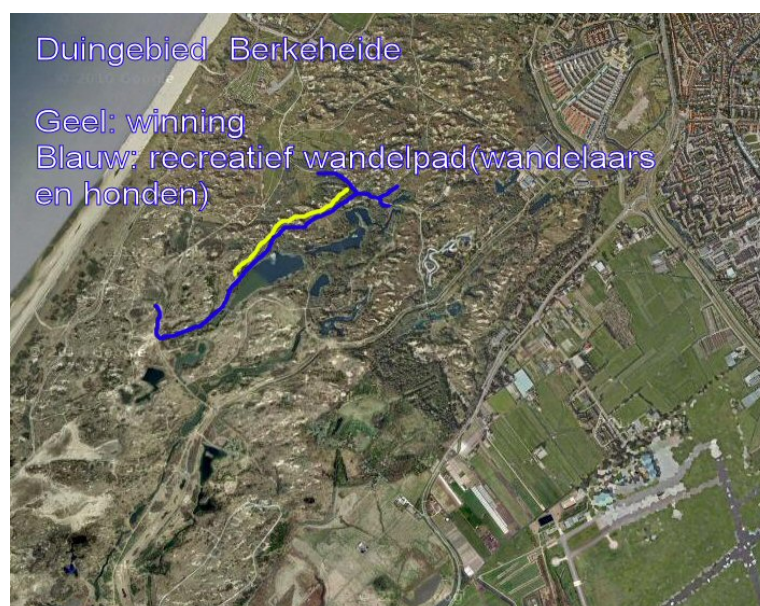
Het aantal reeën in Meijendel en Berkheide wordt aan de hand van tellingen geschat op 300 -

400 stuks. Het aantal konijnen is laag te noemen. De hoge aantallen konijnen (voor 1990) zullen in het duin nooit meer te zien zijn. Na 1990 (Viraal Hemorrhagisch Syndroom uitbraak) is het aantal laag, behalve in de Buitenduin direct achter de zeereep; daar is het aantal in de afgelopen jaren weer toegenomen.

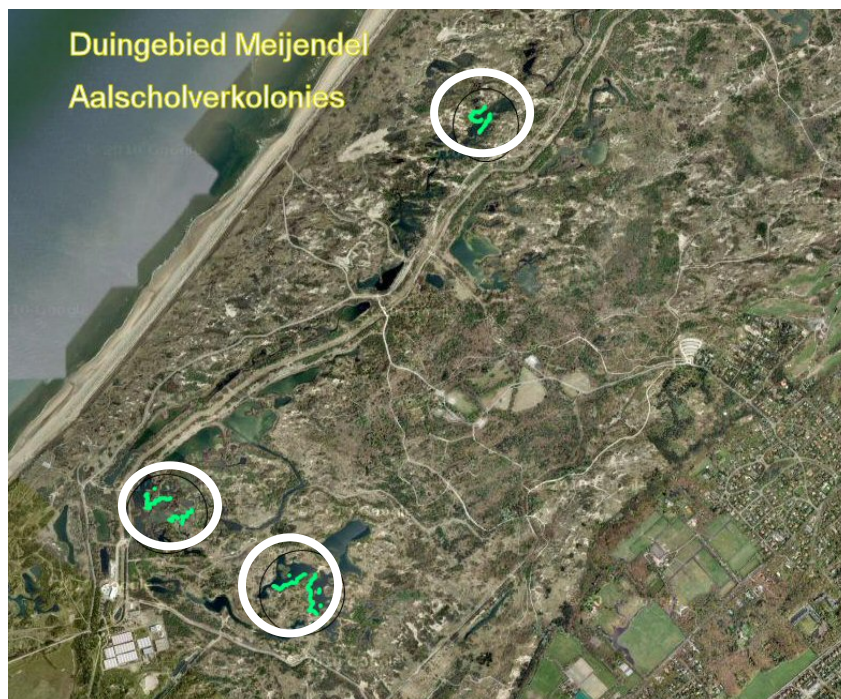
Daarnaast kent het duingebied een drietal aalscholverkolonies (zie Figuur 5.5, allen in Meijndel en Solleveld). Daarnaast zijn er verschillende infiltratieplassen waar, en dan vooral in de ruitijd, eenden, ganzen en koeten voorkomen (Figuur 5.6). Meeuwen kolonies zijn er niet meer in het duin.



Figuur 2.3 Winningen van de locatie Meijndel waar wel en geen begrazing wordt toegelaten (Bron: Dunea)



Figuur 2.4 Recreatiegebied van Berkheide (Bron: Dunea)



Figuur 2.5 Aalscholverkolonies in Meijndel (Bron: Dunea)



Figuur 2.6 Ruiplassen voor diverse watervogels in Meijndel (Bron: Dunea)

Evides

Ouddorp

De winning in Ouddorp vindt plaats in een erg open duingebied met een gebiedsgrootte van 215,6 ha, waarvan 160 ha wordt beweide: 100 ha in de Middelduinen en 60 ha in de Oostduinen. In de Middelduinen vindt geen infiltratie meer plaats en is alleen nog sprake van waterwinning in de zomermaanden vanuit diepe bronnen. De begrazing vindt plaats van eind mei tot en met eind januari met een kudde van 50 runderen, die bestaat uit 40 volwassen beesten en 10 vaarzen. Beesten jonger dan 6 maanden worden geweerd. De van nature in het

wingebied aanwezige fauna bestaat uit reeën, hazen, konijnen, fazanten, ganzen, aalscholvers, reigers, kraaien, eenden en overige watervogels, aantallen onbekend. Het infiltratiegebied is vrij toegankelijk voor het publiek.

De putten zijn zo uitgerasterd, dat de runderen, natuurlijke fauna en de mens tot op ca. 2,5 m afstand van de winputten kunnen komen. Bij vervanging van de afrastering wordt dit ca. 13m.

Haamstede

Het waterwingebied van Haamstede is ca. 175 ha groot. In de duinen vindt geen begrazing plaats, zodat alleen de van nature in het wingebied aanwezige fauna een bijdrage kan leveren aan de belasting van het infiltratiewater met pathogenen. Deze fauna is grofweg vergelijkbaar met die in Ouddorp, aantallen onbekend. Op de vijvers worden vaak meeuwen aangetroffen. Het infiltratiegebied is vrij toegankelijk voor het publiek.

De winmiddelen zijn niet uitgerasterd, zodat de natuurlijke fauna en de mens vlak bij de winputten kunnen komen. Aangezien de onverzadigde zone bij de ondiepe winputten in de winter gemiddeld 10,5 meter bedraagt met een minimum van 0,5 meter en in de zomer gemiddeld 11,5 meter met een minimum van 1,5 meter is het onwaarschijnlijk dat de natuurlijke fauna een risico vormt voor de microbiologische kwaliteit van het teruggewonnen ruwe water. De aanwezigheid van de mens kon oorspronkelijk wel een risico vormen. Veel ondiepe winmiddelen liggen in het directe zicht van een wandelpad rondom de vijvers, waardoor het minder waarschijnlijk is dat iemand daar zijn behoefte doet, maar juist een paar relatief ondiep gelegen winmiddelen waren wat verscholen in het bos gelegen, zodat besmetting van het ruwe water via deze route niet uit te sluiten was. Inmiddels is de bebossing rond deze winmiddelen tot op een afstand van 13 m verwijderd. Verder is ook het maaiveld rond een paar kwetsbare bronnen, met relatief kleine onverzadigde zone, verhoogd en is er UV in de nazuivering.

Vitens

Beleid ten aanzien van de aanwezigheid van (grote) grazers in de Vitens waterwingebieden is: Neen, tenzij er een vergunning is verleend. Beleid ten aanzien van honden in waterwingebieden: Aangelijnd toegelaten en geweerd bij aantoonbaar risico voor de waterwinning. Gestreefd wordt naar een extensief natuurlijk beheer in de waterwingebieden (lagere kosten), maar ook naar verhoging van de belevingswaarde voor bezoekers.

Waterwingebied Boele

Dit is een gebied met de grootte van 260 ha waar jaarlijks 3,8 Mm³ freatisch wordt gewonnen. Het totale gebied wordt begraaasd met Schotse Hooglanders gedurende het gehele jaar. Het gebied is toegankelijk voor recreanten.

Waterwingebied Vechterweerd

Dit is een (oever)grondwater winning (60/40%) met een onttrekking van 8,0 Mm³/jaar. Daar zijn Galloways runderen aanwezig die grazen op het totale gebied. Het gebied is toegankelijk voor recreanten.

WML

Roosteren

In het waterwingebied van Roosteren vindt begrazing door Konigspaarden plaats. Het totale gebied incl. productiegebouw is 140 ha. Rond de putten op afstanden van 30 tot 150 m (afhankelijk van de stromingsrichting) wordt het wingebied met een totale oppervlakte van ca. 65 ha gemaaid. Op 65 ha grazen ongeveer 80 konikspaarden. Op de overige 10 ha zijn de productiegebouwen gelegen en bestaat deels uit bos.

Het gebied is voor wandelaars vrij toegankelijk. Wandelaars worden vaak vergezeld door honden. De druk van wandelaars is niet erg groot.

Het gebied overstroomt eens per 4 à 6 jaar met Maaswater. In het Maaswater worden in het begin van de overstroming het aantal *E. coli*'s in het inundatiewater en aan het eind van de geulen gemeten. Hiermee wordt getracht het effect van de paardenfeces op de kwaliteit van het inundatiewater te bepalen. De putten zijn tijdens overstroming van het terrein uit bedrijf. Vóór de putten weer in bedrijf gaan wordt het opgepompte water in grote volumes op *E. coli* en bacteriofagen bemonsterd. De onverzadigde zone bestaat uit 1,5 tot 2,5 m klei en zandige klei. Onder deze laag bevindt zich Maasgrind en stenen. De grondwaterstand bevindt zich op 5 tot 7 m beneden maaiveld.



Figuur 2.6. Het waterwingebied van de locatie Roosteren (bron: WML)

Mookerheide

Dit waterwingebied en puttenveld is niet van WML. WML heeft hier recht van opstal. Op de Mookerheide lopen momenteel 15 à 20 Schotse Hooglanders. Het terrein rond de putten is niet afgerasterd. Mookerheide heeft een zeer diepe grondwaterstand van 35 – 50 m -mv en wordt derhalve als niet kwetsbaar beschouwd.

Roodborn

Roodborn is een freatische kalksteenwinning met een dunne afdekkende laag. Door het waterwingebied stroomt een beek, waardoor rioleffluent wordt afgevoerd. Het aandeel secundaire poriën in het kalksteenpakket, waar het te winnen grondwater door heen stroomt, is slechts klein, waardoor de reistijden in de verzadigde zone kort zijn en het waterwingebied derhalve groot. Behalve het puttenveld is slechts een deel van het waterwingebied in eigendom en beheer van WML. Buiten het puttenveld, maar binnen het waterwingebied wordt het relatief laaggelegen beekdal beweid door mestvee met jongvee. De onverzadigde zone in het beekdal is 1,5 tot 5 m dik. Deze zone bestaat uit beekleem, grind en een leem of veenlaag. Op de hellende delen van het waterwingebied ontbreekt de deklaag.

Craubeek

Craubeek is evenals Roodborn een freatische kalksteenwinning, waar de afdekkende lösslaag grotendeels ontbreekt. Binnen het waterwingebied op korte afstand van de putten ligt een vloedgraaf, die bij hevige regenval water afvoert. Sinds de bodem van de vloedgraaf

natuurlijke is gemaakt, treedt bij hevige regenbuien besmetting van het ruwwater op. Binnen het waterwingebied vindt beweiding plaats met paarden en schapen en enkele damherten. Op het puttenveld zelf vindt geen begrazing plaats. De dikte van de onverzadigde zone op het puttenveld en in het dal van de Vloedgraaf bedraagt 5 à 10m in natte jaren en 10 à 15 m in droge jaren. Er vindt momenteel onderzoek plaats om de relatie tussen de vloedgraaf en het puttenveld vast te stellen.

2.2 Overzicht van de begrazing

Er is een totale inventarisatie gedaan naar de begrazing in waterwingebieden van de waterbedrijven (Bijlage 1). In Tabel 2.1 wordt een overzicht van de aanwezigheid van grote grazers in waterwingebieden. De aanwezigheid is uitgedrukt in een gemiddeld aantal runderen of paarden per hectare per jaar (gecorrigeerd voor de begrazingsperiode). In dit overzicht kunnen gebieden zijn meegenomen waar geen waterwinning plaatsvindt. Voor recreatie zijn niet voldoende gegevens beschikbaar om een dergelijk overzicht te maken.

Tabel 2.1 Overzicht van de begrazing per jaar in een aantal waterwingebieden (gegevens van verschillende gebieden gedestilleerd uit bijlage 9)

	<i>Runderen</i>	<i>Paarden</i>
Aantal gebieden	39	16
Oppervlak (ha)	5613	3758
Gem. begrazingsdichtheid (N/ha/jaar)	0,14 ±0,09	0,13 ±0,17
Mediaan	0,12	0,05
Minimale dichtheid	0,03	0,02
Maximale dichtheid	0,42	0,69

2.3 Een conceptueel model voor de risico's van begrazing en recreatie

In een brainstorm bijeenkomst zijn de verschillende onderdelen die bij het proces van fecale besmettingen in waterwingebieden van belang zijn geïnventariseerd. In Figuur 2.7 zijn de hieronder beschreven onderdelen schematisch weergegeven. Het gaat in eerste instantie om de verspreiding van pathogenen in het waterwingebied:

- A. Pathogenen belasting en verspreiding in intrekgebied: C_{in}
1. Wat zijn de soorten pathogenen die kunnen voorkomen en wat zijn de mogelijke fecale bronnen (Tabel 2.2);
 2. Wat is de besmettingsgraad van het fecale materiaal? Het gaat hierbij om het percentage van de fecale deposities dat positief is voor een pathogeen en welke concentraties daarbij worden waargenomen;
 3. Hoeveel fecaal materiaal komt er voor in een gebied en wat is de ruimtelijke verspreiding? Het gaat om de mestdeposities (aantal en gewicht) en de locaties waar ze worden gevonden ten opzichte van de winmiddelen;
 4. Als er pathogenen worden verspreid in de waterwingebieden via fecale deposities is de vraag wat de overlevingskans is van deze pathogenen voordat ze in het grondwater worden opgepompt. Hiervoor zijn afstervingsconstanten nodig die zijn bepaald in de mest;
 5. Voor de verspreiding is essentieel dat er regen valt waarmee de organismen kunnen uitspoelen en verder worden getransporteerd. De frequentie en intensiteit van de regenval, evenals de uitspoelingsefficiëntie die onder andere afhankelijk is van de mestsoort, zijn hierbij van belang.

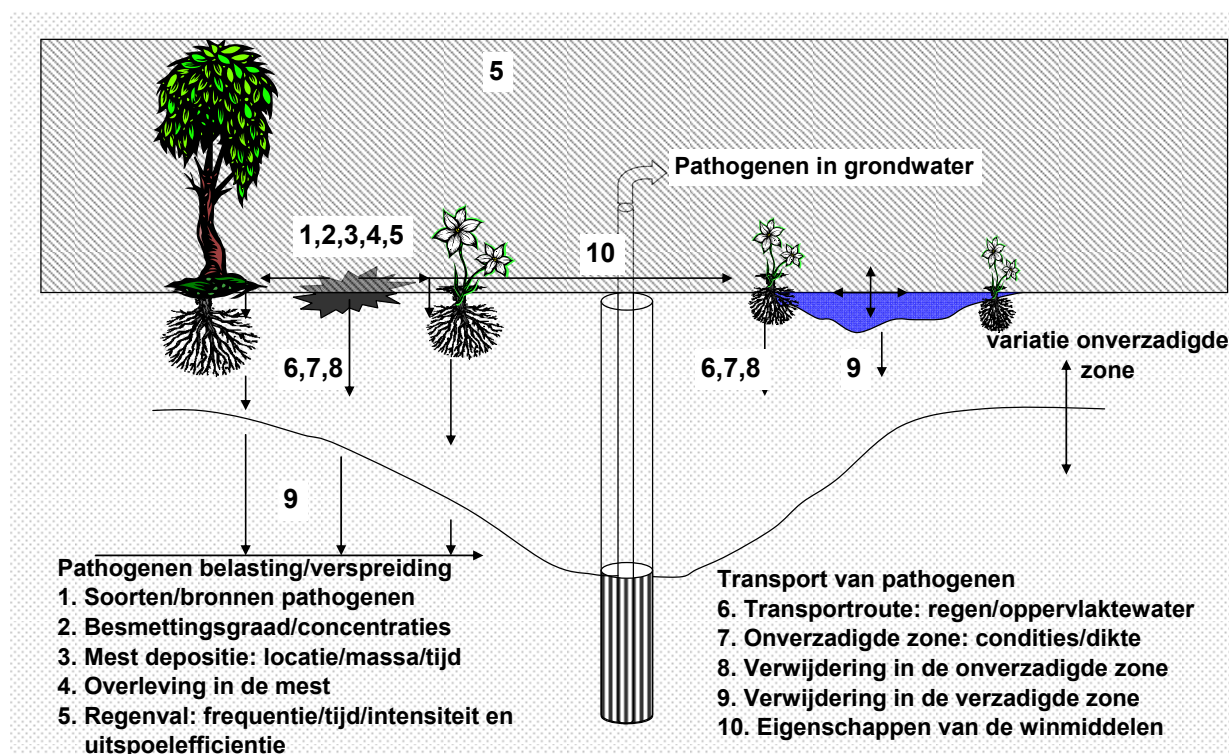
Tabel 2.2 De verschillende index pathogenen hun bronnen

	Virussen	Bacteriën	Protozoën
Soorten	Humane virussen	<i>Campylobacter</i>	<i>Cryptosporidium</i> , <i>Giardia</i>
Mestsoort	Mensen	Zoogdieren en vogels	Zoogdieren (vogels)
Bronnen	Recreanten (huishoudelijk afvalwater)	Recreanten, Grazers, landbouwhuisdieren, natuurlijke fauna incl. vogels (huishoudelijk afvalwater)	Recreanten, Grazers, landbouwhuisdieren, natuurlijke fauna (huishoudelijk afvalwater)

In de volgende stap gaat het om het transport van de pathogenen aanwezig aan maaiveld naar het grondwater:

B. Transport naar grondwater:

6. Wat zijn de routes waarmee het grondwater wordt besmet? Bij hevige regenval gaat het om infiltratie van regenwater maar bij hoog water kan er ook infiltratie van oppervlaktewater¹ optreden;
7. De veronderstelling is dat voorkeurstromen in de onverzadigde zone sterk bepalend zijn voor de besmettingen. De lokale condities die dit beïnvloeden zijn de aanwezigheid van hollen, leidingen, vegetatie, vergravingen (putten en kanalen), hoogteverschillen. Het transport in de onverzadigde zone wordt voornamelijk bepaald door de dikte van deze zone en de opbouw inclusief die hierboven genoemde condities voor voorkeurstromen;
8. In de onverzadigde zone vindt een bepaalde mate van verwijdering plaats. Hechting en remobilisatie zijn hierbij de belangrijke mechanismen;



Figuur 2.7. Schematische weergave van het conceptueel model

¹ Afstromend water naar de infiltratiemiddelen wordt buiten het huidige model gehouden omdat de afstand tussen de infiltratiemiddelen en de winmiddelen in waterwingebieden op grond van de studie van Schijven (2001) als voldoende veilig wordt beschouwd.

9. Wanneer de besmetting de grondwaterspiegel heeft bereikt is de volgende stap het transport naar de winput. De factoren die hierbij van belang zijn, zijn de dikte van deze zone en de samenstelling van het pakket. De verwijdering van micro-organismen in de verzadigde zone wordt beschreven met grondwatermodellen die zijn ontwikkeld. De parameters die hierbij van belang zijn, zijn de korreldiameter, porositeit, botsingsefficiëntie, temperatuur, de pH en de afstervingsconstanten van de micro-organismen;
10. De eigenschappen van de winmiddelen moeten ook worden meegenomen bij de berekening. Het gaat hierbij om de diepte, debieten, putconstructie en diepte/lengte filter, type (vacuüm of onderwaterpomp), en de mate van verdunning.

Tot slot is er voor een volledige risicoanalyse kennis nodig over:

- C. Mogelijk besmetting van het grondwater tijdens transport naar de nazuivering;
- D. De eliminatiecapaciteit van de bovengrondse nazuivering.

2.4 Orientatie beschikbare Nederlandse kennis

Op het gebied van de bodempassage als barrière voor veilig drinkwater zijn in Nederland de laatste jaren diverse onderzoeken gedaan die als input voor het model kunnen worden gebruikt. Het gaat hierbij om kolomstudies en veldstudies met doseringen van micro-organismen of metingen in grote volumes (Tabel 2.3).

Het onderzoek te Solleveld (Nobel et al., 2005) had tot doel om in een veldstudie de verwijdering van micro-organismen in de onverzadigde zone vast te stellen. In een doseerproef uitgevoerd onder een goed hydrologische gekarakteriseerde praktijkconditie is bepaald welk deel van de hoeveelheid pathogene micro-organismen mogelijk afkomstig uit mest bij een gegeven hoogte van een zandlaag boven een grondwaterpeil het water in een winput kan bereiken. Het ging bij dit onderzoek dus voornamelijk om transport in de oververzadigde zone (B8).

Tabel 2.3 Een overzicht van de diverse onderzoeken die input vormen voor de aanleiding van het onderzoek alsmede de invulling van het model als hierboven opgesteld

<i>Auteur/jaartal</i>	<i>Onderwerp</i>
Nobel et al., (1999)	Effecten begrazing: kolomonderzoek
Schijven, 2001; Schijven et al.2003	Virustransport verzadigde zone
Medema, 1999	Protozoën in watervogels
Medema et al., 2001	Protozoën in opp.water/afvalw.
Medema et al., 2002	Virus/bacteriën in grondwater
Nobel et al., 2005	Effecten begrazing: veldonderzoek
Davies et al., 2004 ^a	Lot en transport micro-organismen
Hijnen et al., 2005	Virus, bacteriën, protozoën transport
Van der Wielen et al., 2006	Model virus transport
Van der Wielen et al., 2008	Virus verwijdering verzadigde zone
Evides, Dunea, Waternet, PWN, WML,	Voorlopige AMVD's
Vitens, Schijven	
Wuijts et al., 2008	Virussen in grondwater
Heijnen en Medema, 2009	Pathogenen in mest Waternet gebied
Hijnen et al., 2007	Verwijdering waterbehandeling
Schijven et al., 2010	Model voor verblijftijd berekeningen

^a AWWARF rapport

De condities die waren gekozen in het Solleveld onderzoek zijn een grondwaterstand van 50 cm en een hoeveelheid regenval van 50 mm/d die in 4 uur plaatsvond. De temperatuur van

het beregeningswater varieerde tussen 6 en 12°C. Voor de berekening werd drinkwater gebruikt dat was besmet met de verschillende micro-organismen (MS2, PhiX174, *E. coli*, *Campylobacter*, *Clostridium bifermentans*, *Cryptosporidium*). Het water (250 liter drinkwater) werd in een cirkel van 2,6 m rondom de put in 4 uur tijd ingeregend met een opstelling.

Uit de verschillende doorbraakcurven van tracer (zout) en micro-organismen (niet gelijktijdig gedaan) bleek dat de *E. coli* bacteriën en *C. bifermentans* sporen eerder doorbraken dan het zout. Dit wijst op de aanwezigheid van macroporiën. Door de lage concentraties oöcysten in het opgepompte water is moeilijker te zeggen of dit ook het transport van *Cryptosporidium* heeft beïnvloed. De verwijdering in de onverzadigde zone van 50 cm zoals bepaald in de proef is vermeld in onderstaande Tabel.

Tabel 2.4 De waargenomen verwijdering (logeenheden) in een onverzadigde zone van 0,5 m gemeten in een winput (gecorrigeerd voor de verdunning in de put)

	Minimale verwijdering	Gemiddelde verwijdering
MS2	0,7	1,1
ΦX174	2,2	2,7
<i>E. coli</i>	2,8	3,5
<i>Campylobacter lari</i>	3,5	4,0
<i>Clostridium bifermentans</i> sporen	2,4	2,8
<i>Cryptosporidium parvum</i> oöcysten	6,4	7,4

2.5 Microbiologische risicoanalyse Solleveld

In het Solleveld onderzoek is ook een eenvoudige kwantitatieve microbiologische risicoanalyse uitgevoerd (puntschatting) waarbij drie scenario's zijn genomen van de belasting van het duingebied met mest van grazers waarin zich *Campylobacter* bacteriën én oöcysten van *Cryptosporidium* bevinden en met fecaliën van recreanten geïnfecteerd met humane enterovirussen.

De aannamen in de scenario's die voor de risicoberekening te Solleveld zijn gedaan zijn als volgt:

- Mestdepositie: 1 kg in de directe nabijheid van een willekeurige winput met een capaciteit van 1,5 m³/uur (elke dag van het jaar)
- Regenval: 50 mm/dag (elke dag van het jaar)
- Mest spoelt volledig in gedurende 4 dagen
- Alle kwetsbare putten worden op dezelfde wijze belast

Pathogenen in de mest:

- Humane virussen in feces van recreanten: 10⁸ per gram mest, inspoeling van 0,1 kg
- *Campylobacter*: 3,0E+3 per gram en 1 kg inspoeling
- *Cryptosporidium*: 5,0E+4 per gram en 1 kg inspoeling
- *Giardia*: niet meegenomen

In de risicoberekening zitten de volgende aannamen die verder gaan dan een worst-case situatie:

Elke dag een mesthoeveelheid van 0,1 kg van een geïnfecteerde recreant en 1 kg mest van wildlife en/of grazers met een hoog aantal *Campylobacters* en *Cryptosporium* oöcysten bij iedere put die elke dag met een regenbui van 50 mm volledig inspoelt.

De volgende uitgangspunten zijn doorgerekend voor de verschillende scenario's om vast te stellen of voldaan kan worden aan het jaarlijks infectierisico van $10E-4$:

- Uitgangspunt 1: het water uit elke individuele put is voldoende veilig. Dit kan worden bereikt wanneer de onverzadigde zone overal een dikte heeft van 4.89 m voor de virussen, 0,9 m voor *Campylobacter* en 0,57 m voor *Cryptosporidium*. Een onverzadigde zone van 0,5 m is dus niet veilig genoeg en levert een overschrijding op van het infectierisico.
- Uitgangspunt 2: het water uit het totale puttenveld met variabele dikte van de onverzadigde zone is voldoende veilig. Water uit ondiepe putten met relatief hoge concentraties aan micro-organismen wordt verdund in water uit diepere putten met relatief lage concentraties micro-organismen. Maar dit blijkt onvoldoende in Solleveld en voor virussen en *Campylobacter* wordt de infectierisiconorm overschreden.
- Uitgangspunt 3: het geproduceerde drinkwater na zuivering is voldoende veilig. Voor het totale pompstation inclusief nazuivering met snelfiltratie en langzame zandfiltratie is de veiligheid geborgd voor *Campylobacter* en *Cryptosporidium*, maar niet voor de virussen. Daarvoor is een aanvullende beschermingszone rondom de putten nodig.

In het huidige project wordt getracht het model voor Solleveld te verfijnen en meer realistisch te maken en te voorzien van de best beschikbare kwantitatieve gegevens. De informatie bestaat uit een veelheid van stappen die allemaal min of meer variatie en onzekerheid vertonen. Om deze variatie en onzekerheid mee te kunnen nemen is een stochastische benadering gekozen. Daarmee kan ook de invloed van (de variatie in) elk van stappen op het berekende infectierisico worden bepaald

2.6 Ontwikkeling van het stochastische model

Het model is ontwikkeld op basis van de volgende elementen:

- een literatuurverkenning van de hierboven genoemde elementen;
- een inventarisatie bij de bedrijven van gebiedsgegevens die bij de verschillende onderdelen van belang zijn;
- keuze van een gebiedsscenario voor het toepassen van de verzamelde kennis in een rekenvoorbeeld;
- het samenvoegen van deze gegevens in een stochastisch model.

Pathogenenbelasting en verspreiding

Dit zijn de eerste 5 stappen van Figuur 2.1. De pathogenenbelasting wordt berekend uit de volgende parameters:

- aanwezigheid van fecale bronnen (aantal grazers, wilde fauna, recreanten per oppervlak en tijdseenheid);
- verspreiding van fecaliën (defecaties, aantal, hoeveelheid, plaats)
- pathogenen in de fecaliën (soorten per bron, percentages positief, concentraties, overleving in de tijd);
- regenval (locale frequentie, duur en intensiteit);
- uitspoel efficiëntie (percentage pathogenen per hoeveelheid fecaal materiaal en tijdseenheid).

Pathogenen transport

De volgende stappen zijn van belang om de concentratie in het grondwater te kunnen inschatten:

- gebiedskenmerken (grootte, aantal, locaties, debieten winmiddelen);
- afstand fecaliën tot de winmiddelen, lengte verzadigde zone;

- lokale dikteverdeling van de onverzadigde zone;
- empirische gegevens transport in onverzadigde zone (incl. Solleveld gegevens);
- pathogenen overleving in water;
- verwijdering parameters van het colloid filtratie model in verzadigde zone;
- locale verdunningsfactor t.o.v. de besmette stroomlijnen naar de put.

In de literatuur is gezocht naar modellen en kwantitatieve gegevens van parameters die de verschillende onderdelen van het totale procesmodel beschrijven. Bij de bedrijven is navraag gedaan naar kwantitatieve gegevens over fecale deposities in hun waterwingebieden en naar gebiedskenmerken. Uit de verzamelde gegevens is een gerichte keuze gemaakt van een scenario om hiermee in Matlab een rekenvoorbeeld te kunnen uitwerken. In de voorbeeldscenario's zijn de concentraties pathogenen in het grondwater zijn geschat en is met dosis/effect- en consumptie gegevens de verdeling van het infectierisico van het gewonnen grondwater berekend.

Gevoeligheidsanalyse en invloed van maatregelen

Om na te gaan welk van de modelonderdelen het grootste effect hebben op het eindresultaat is een gevoeligheidsanalyse uitgevoerd. Tevens is in de scenariostudie gekeken naar het effect van een eenvoudige maatregel als afrastering van de winmiddelen, een maatregel die in de bedrijfstak wordt toegepast.

3 Pathogenen in mest

Voor het ontwikkelen van een model dat gebruikt kan worden voor het inschatten van de risico's van microbiologische besmetting van grondwater bij speciale situaties is zeer diverse kennis noodzakelijk. Kennis over de belasting met pathogenen van het gebied waar grondwater wordt gewonnen is één van de parameters die van groot belang is. Hiervoor is kwantitatieve kennis nodig over het defecatiegedrag van dieren en mensen (hoeveelheid en de frequentie van defecatie per tijdseenheid). Niet alle dierlijke en menselijke fecaliën bevatten alle pathogenen. Daarom is vervolgens kennis nodig over de frequentie van het voorkomen en de concentraties van pathogenen in deze fecaliën.

3.1 Defecatiegedrag

Kwantitatieve gegevens over de mestproductie van de verschillende fecale bronnen in de waterwingebieden zijn beperkt (Tabel 3.1). Runderen en paarden produceren de grootste hoeveelheid mest. De populatiedichtheid zoals in het vorige hoofdstuk genoemd bepaald uiteindelijk de belasting van het gebied.

Tabel 3.1 Kwantitatieve defecatie gegevens van bronnen van pathogenen (Bron: Leo van Breukelen Waternet en aanvullende literatuur)

	Referentie	Defecaties/dag def./dag	Gew/defecatie g/def. g/dier/dag
Mensen	anonymus	1,5	500-900
Runderen	Olley 2003	10	6300
			melkvee 55.000/ dag
			vleesvee 21.000/ dag
Paarden	Olley 2003		23.000/ dag
Schapen	Olley 2003		1.100/ dag
Herten/Reeen	Smith, 2004	11 - 20	7
Konijnen	Redondo, 2009	373	0,14
Aalscholvers	Denneman 1985		50/ dag
Meeuwen ^a	Hahn, 2007	47-46	0,22-0,53
Eend (wild) ^a	Poot 1998	31	0,38
Fuut ^a	Poot 1998		10.8/ dag

^a buiten open water foeragerend

3.2 Aanwezigheid en concentraties pathogenen in de mest

Naast de aanwezigheid en het defecatiegedrag van deze dieren en mensen, is de kennis over de frequentie van het voorkomen van pathogenen in de feces van deze dieren en de concentraties van deze pathogenen van belang voor een kwantitatieve inschatting van het infectierisico wanneer deze pathogenen het grondwater in de winmiddelen kunnen bereiken.

Daarom is in dit onderzoek samengevat welke kennis er beschikbaar is over het voorkomen en de concentraties van pathogenen in de uitwerpselen van diersoorten die in een waterwingebied verblijven.

Het onderzoek is, voor bacteriën en protozoa, gericht op het verzamelen van informatie over het voorkomen van de bacteriële en parasitaire indexpathogenen zoals genoemd in de uitwerking van het Waterleidingbesluit 2001 (Wetsteyn, 2005), voor virussen is informatie

verzameld over de meest relevante humane virussen die verspreid worden via de fecaal-orale route en gastro-enteritis veroorzaken.

De pathogenen zijn:

- Humane enterale virussen
- *Campylobacter* bacteriën;
- Pathogene, toxine producerende, *E. coli* bacteriën (o.a. O157)
- Pathogene protozoa *Cryptosporidium* en *Giardia*

Het onderzoek richtte zich op recreanten en de volgende groepen dieren die in en om de waterwinmiddelen kunnen worden aangetroffen:

- Vee
 - Rundvee
 - Schapen en geiten
- Paarden
- Wild
 - Groot wild: reeën, herten
 - Klein wild: konijnen, muizen, ratten
- Vogels

Een overzicht van de verzamelde informatie wordt weergegeven in de navolgende paragrafen. Het overzicht van de belangrijkste gegevens is te vinden in de bijlagen 2 t/m 7.

3.3 Pathogenen in de feces van vee

De aanwezigheid van pathogenen bij vee vormt een belangrijk gevaar voor besmetting van producten in onze voedselketen (vlees, melk, melkproducten) en, door toepassing van mest voor de bemesting landbouwgrond, ook van landbouwgewassen. Door het toelaten van vee in de nabijheid van waterwingebieden zorgt dit vee, door uitscheiding van de pathogenen via de mest van deze dieren, ook voor belasting van het gebied met pathogenen. Over de aanwezigheid van pathogenen bij vee is relatief veel bekend. Echter, veel van deze kennis is vooral afkomstig van studies waarbij de aanwezigheid van pathogenen bij landbouwhuisdieren die leven op boerderijen is bestudeerd. Er is slechts weinig kennis over de aanwezigheid van pathogenen bij vee dat in relatieve vrijheid leeft. Doordat landbouwhuisdieren over het algemeen onder hoge dichtheden worden gehouden waardoor er intensief contact is tussen de dieren onderling en tussen de dieren en hun uitwerpselen is te verwachten dat pathogenen zich makkelijker in deze populaties verspreiden. Hierdoor is te verwachten dat van de dieren op boerderijen een groter deel besmet zal zijn.

3.3.1 Rundvee

Het voorkomen van *Campylobacter* in de feces van rundvee

Campylobacter bacteriën zijn normale darmbewoners bij rundvee en komen daardoor algemeen voor in runderfeces. Veel van de kennis over het voorkomen van *Campylobacter* bij rundvee is gebaseerd op studies waarbij het voorkomen van deze pathogene bacterie bij landbouwhuisdieren is onderzocht. Er is slechts beperkte kennis over besmetting van runderen die in het wild leven. Bij een studie in Engeland (Milnes et al., 2008), waar rundvee bij slachthuizen werd onderzocht op het bevatten van *Campylobacter*, bleek 55% van de runderen besmet met *Campylobacter*.

Onderzoek naar het voorkomen van *Campylobacter* in de feces van Engels melkvee (Atabay and Corry, 1998) toonde aan dat in ca. 40% van de onderzochte monsters zich *Campylobacter* bevonden. Bij onderzoek van vee in Schotland bleek dat 22% van de onderzochte runderen (n=474) besmet was met *Campylobacter* (Ogden et al., 2009).

Bij een ander onderzoek in Engeland (Stanley et al., 1998b) bleek dat 89% (n=360) van de vleeskoeien bij het slachthuis, en 70% van het melkkoeien besmet was met *Campylobacter*.

Ook bij onderzoek naar de besmetting van melkkoeien en vleeskalveren in Nederland (Bouwknegt et al., 2003) bleek een groot deel van de kuddes (melkvee-kuddes: 31,5% in 1998 en 6,5% in 1999; slachtveekuddes: 83,9% in 1998 en 58,3% in 1999) besmet met *Campylobacter* waarbij bovendien de pathogene soort *jejuni* zeer dominant was. Bij onderzoek naar het voorkomen van *Campylobacter* bij runderen die gehouden worden op kinderboerderijen in Nederland (Heuvelink et al., 2003) bleek dat 11% (n=151) van de runderen besmet was met *Campylobacter*.

Bij onderzoek dat is gedaan door KWR in opdracht van Waternet naar pathogenen in de mest van grazers die leven in het gebied van de Amsterdamse waterleidingduinen werd *Campylobacter* aangetoond in 80% van de rundermestmonsters.

Samenvattend:

Er zijn grote verschillen in de besmettingspercentages van rundvee met *Campylobacter* tussen de verschillende studies. *Campylobacter* wordt in percentages variërend van 6,5 tot 89% van de bemonsterde dieren aangetroffen. De Waternet studie is het meest relevant voor runderen die extensief in een natuur/waterwingebied worden gehouden. Een samenvatting van het voorkomen van de *Campylobacter* bij runderen, gevonden bij diverse studies staat weergegeven in Figuur 3.1.

De concentratie *Campylobacter* in de feces van rundvee

Er is weinig onderzoek uitgevoerd naar de *Campylobacter* concentraties in de feces van besmet rundvee. Bij een studie die is uitgevoerd in Nieuw Zeeland (Moriarty et al., 2008) werd de concentratie *Campylobacter* in de feces bij verschillende boerderijen gevolgd gedurende een jaar. Dit werd gedaan door, per boerderij, analyses uit te voeren op pools van meerdere fecesmonsters. Hieruit bleek dat er vrij grote verschillen bestonden tussen de verschillende boerderijen en dat er verschillen werden waargenomen gedurende de seizoenen (met hogere *Campylobacter* concentraties in het voorjaar). De mediaan van de *Campylobacter* concentraties was $3,9\text{E}+05$ KVE per gram feces (range: $15\text{--}1,8\text{E}+07$ KVE/gram).

Onderzoek in Engeland (Stanley et al., 1998b) toonde gemiddelde *Campylobacter*-concentraties aan van $6,1\text{E}+2$ MPN/gram feces bij vleeskoeien en $3,3\text{E}+04$ MPN/gram feces bij melkkoeien. Bij het onderzoek dat is uitgevoerd op de feces van het rundvee dat graast in de Amsterdamse waterleidingduinen (Heijnen, 2009) werden, bij positieve monsters, *Campylobacter* concentraties waargenomen van gemiddeld $9,0\text{E}+07$ DNA kopieën/gram met een range van $9,2\text{E}+01$ tot $4,1\text{E}+08$ DNA kopieën/gram.

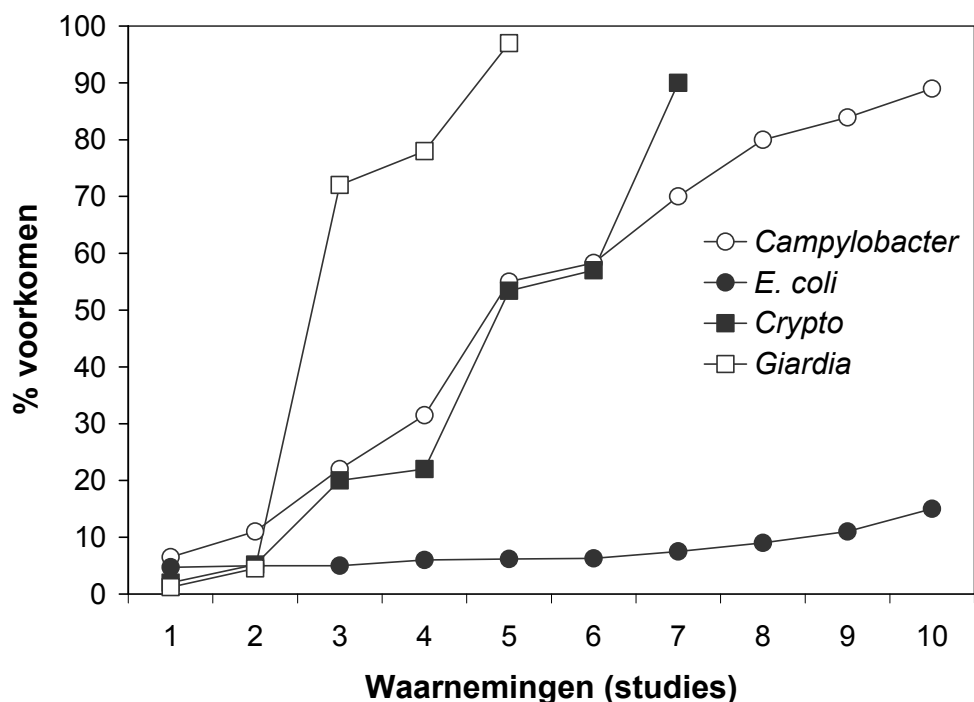
Samenvattend:

Er zijn grote verschillen tussen de verschillende studies verschillen in de concentraties *Campylobacter* die worden aangetoond in besmette runderen. De gemiddelde concentratie in besmette runderen varieert van $6,1\text{E}+02$ tot $9,0\text{E}+07$ *Campylobacter* per gram feces tussen de verschillende studies. Een samenvatting van de *Campylobacter* concentraties in de mest van besmette runderen is weergegeven in Figuur 3.2.

Het voorkomen van pathogene, toxine producerende, *E. coli* in de feces van rundvee

Na het ontdekken van *E. coli* O157 als pathogeen (begin jaren '80) werd rundvee herkend als belangrijkste (en toen enige) bron van besmetting. In een groot aantal studies is aangetoond dat pathogene, toxine producerende, *Escherichia coli* soorten (waaronder type O157) algemeen voorkomen bij rundvee in verschillende percentages (Fig. 3.1). Een groot onderzoek bij slachthuizen in Engeland toonde aan dat 4,7% (n=6429) van de koeien besmet was met *E. coli* O157 (Milnes et al., 2008). In een ander overzichtsartikel (Rhoades et al., 2009), waarin

onderzoekresultaten van een groot aantal studies zijn geëvalueerd, wordt de claim gemaakt dat in gemiddeld 6,2% (range 0,0-57%) van de fecesmonsters van runderen *E. coli* O157 kan worden aangetoond.



Figuur 3.1 Prevalentie van de diverse indexpathogenen in mest van runderen waargenomen in een aantal studies (*E. coli* is *E. coli* O157)

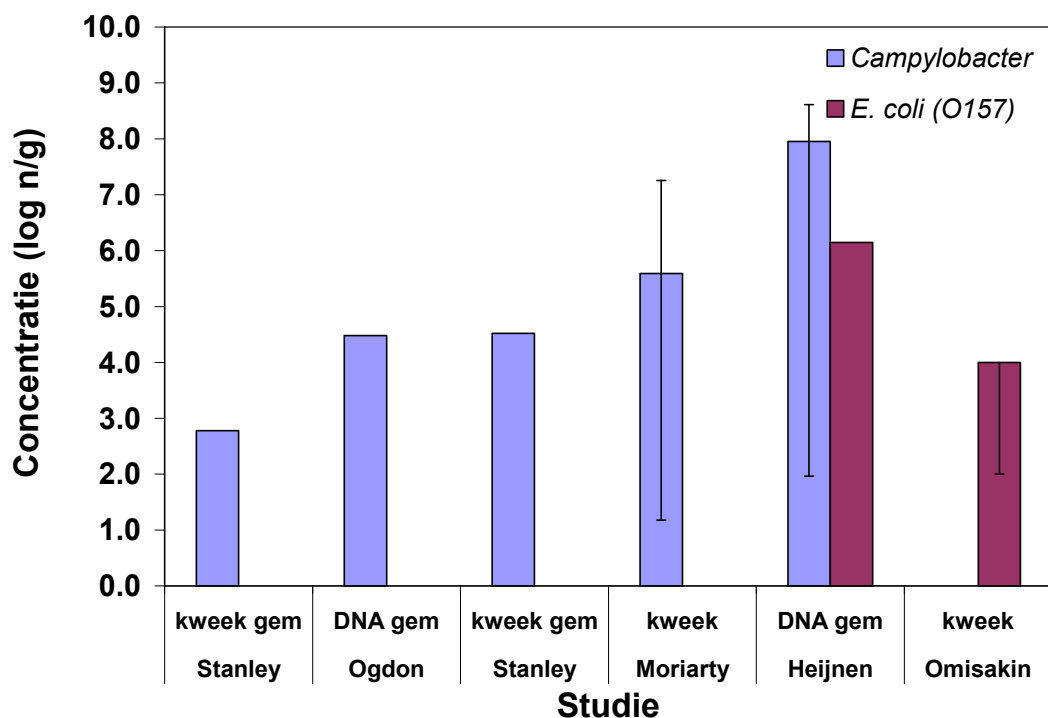
Een overzicht van studies die zijn uitgevoerd in Amerika (Armstrong et al., 1996) laat zien dat *E. coli* O157 in vrijwel alle onderzochte rundvee populaties wordt gevonden en dat de mate van besmetting van de populaties zeer varieert (besmetting van 0 tot 9,5%). Met onderzoek in Nederland (Heuvelink et al., 1998a) werd aangetoond dat 6,3% (n=937) van de runderen bij slachthuizen was besmet met *E. coli* O157. Bij onderzoek naar de besmettingsgraad van melkkoeien en vleeskoeien in Nederland (Bouwknegt et al., 2003) bleek dat de besmettingsgraad van vleeskoeien (5% in 1998, 6% in 1999 en 8% in 2000) lager was dan die van melkkoeien (5% in 1998, 9% in 1999 en 11% in 2000).

Uit onderzoek naar het voorkomen van *E. coli* O157 in de feces van runderen in de Amsterdamse waterleidingduinen (Heijnen, 2009) bleek dat 15% van de onderzochte fecesmonster (n=61) besmet was met *E. coli* O157. Mogelijk de toegepaste methode voor het bepalen van de besmetting van de feces (PCR) heeft geresulteerd in dit relatief hoge aantal besmette dieren.

De concentratie pathogene, toxine producerende, *E. coli* in de feces van rundvee

Hoewel er redelijk wat kennis is over het voorkomen van *E. coli* O157 bij rundvee zijn er slechts zeer weinig gegevens beschikbaar over de concentraties *E. coli* O157 die kunnen voorkomen in de feces van besmette koeien (Rhoades et al., 2009).

Bij een onderzoek in slachthuizen in Engeland (Omisakin et al., 2003) bleek dat 7,5% van de onderzochte dieren (n=589) besmet was met *E. coli* O157. Van de 44 besmette dieren waren er 4 (9%) die met de feces concentraties variërend van 1,0E+04 tot 1,0E+06 KVE/gram feces uitscheiden, 13 (30%) met concentraties in de feces van 1,0E+02 tot 1,0E+03 KVE/gram en 27 (61%) met concentraties lager dan 1E+02 KVE/gram feces. Vergelijkbare concentraties werden ook gevonden in een andere studie bij slachthuizen in Schotland (Ogden et al., 2004).



Figuur 3.2 De concentraties *Campylobacter* en pathogene *E. coli* (O157) bacteriën in mest van runderen zoals die wordt aangetoond bij verschillende studies

Onderzoek van fecesmonsters die afkomstig zijn van runderen in de Amsterdamse waterleidingduinen (Heijnen, 2009) bleek de gemiddelde concentratie *E. coli* O157 die in positieve monsters werd aangetroffen $1,4E+06$ DNA kopieën per gram feces.

Het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* in de feces van rundvee

Bij een studie naar het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* in feces van melkvee in Nieuw Zeeland is aangetoond dat 5,2% van de monsters besmet was met *Cryptosporidium* en 4,5% met *Giardia* (Moriarty et al., 2008).

Bij onderzoek, uitgevoerd in RIWA verband, naar het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* in rioolwater, mest en oppervlaktewater (Hoogenboezem et al., 2001), is het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* op verschillende boerderijen onderzocht door gepoolde mestmonsters van vleeskalveren van verschillende leeftijden te onderzoeken. Hieruit bleek *Cryptosporidium* en *Giardia* in populaties met zeer jonge kalveren (1-6 weken) vrijwel altijd aanwezig te zijn (resp. 90 en 97% besmette populaties) terwijl deze parasieten minder voorkomen (resp. 20 en 72% besmette populaties) bij oudere kalveren (25-35 weken). Overigens werden in dit onderzoek kuddes (n=55) melkkoeien onderzocht, bij deze koeien geen *Cryptosporidium* en bij slechts één kudde werd *Giardia* (1,2%) aangetoond.

Bij onderzoek naar het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* in de feces van rundvee dat in het wild leeft in een waterwingebied (Cox et al., 2005) in de omgeving van Sydney (Australië) bleek dat 57% van de kalveren (n=7) en 22% van de volwassen koeien besmet was met *Cryptosporidium* en 78% van de kalveren en de volwassen koeien met *Giardia*.

Zeer recent is onderzoek gedaan naar het voorkomen van *Cryptosporidium* bij verschillende landbouwhuisdieren in Engeland en Wales (Smith et al., 2010), hieruit bleek dat *Cryptosporidium* aantoonbaar was in feces monsters van 53,4% van de onderzochte runderen (n=116).

Uit het onderzoek van fecesmonsters van runderen die verblijven in de Amsterdamse waterleidingduinen bleek dat 2% van fecesmonsters van runderen (n=61) besmet was

Cryptosporidium waarbij het bij de runderen in 50% van de gevallen ging om het *Cryptosporidium parvum* type en bij schapen geen pathogene typen werden aangetoond.

De concentraties *Cryptosporidium* en *Giardia* in de feces van rundvee

In de studie waarin de mest van melkkoeien in Nieuw Zeeland is onderzocht op het bevatten van *Cryptosporidium* en *Giardia* (zie hierboven) werden concentraties gemeten van resp. 1-25 en 1-17 (oo)cysten/gram feces (Moriarty et al., 2008). De concentraties *Cryptosporidium* die werden aangetoond in gepoolde mest van kuddes vleeskalveren in de RIWA studie (van jonger dan 0,5 jaar) varieerde van $5,3\text{E}+02$ tot $5,2\text{E}+04$ oocysten/gram feces, voor *Giardia* varieerde de concentratie van $2,5\text{E}+03$ tot $3,2\text{E}+04$ cysten/gram feces (Hoogenboezem et al., 2001). De concentraties *Cryptosporidium* die werden aangetroffen bij “in de vrije natuur levende” runderen in Sydney varieerden van 0-183 oocysten/gram feces bij kalveren en 0-10 oocysten/gram feces bij volwassen koeien, *Giardia* concentraties varieerden van 0-533 cysten/gram feces (kalveren) en 0-293 cysten/gram feces (volwassen koeien).

3.3.2 Schapen en geiten

Het voorkomen van *Campylobacter* in de feces van schapen

Bij onderzoek naar het voorkomen van *Campylobacter* in lammeren in slachthuizen in Engeland (Stanley et al., 1998a) bleek dat deze bacterie aanwezig was in 92% (n=360) van de onderzochte lammeren en bij 29% (n=420) van de, vrij op het land, grazende schapen. Bij een andere Engelse studie bij slachthuizen in Engeland (Milnes et al., 2008) was eveneens een groot deel van de onderzochte schapen besmet met *Campylobacter* (43,8%, n=713). Uit onderzoek bij vee in Schotland bleek dat 25% van de onderzochte schapen (n=292) besmet was met *Campylobacter* (Ogden et al., 2009). Bij onderzoek van fecesmonsters van schapen en moeflons die grazen in de Amsterdamse waterleidingduinen (Heijnen, 2009) werd in 19% van de onderzochte fecesmonsters (n=79) *Campylobacter* aangetoond.

De concentratie *Campylobacter* in de feces van schapen

Bij onderzoek naar het voorkomen van *Campylobacter* in dunne darm van lammeren (zie hierboven) in slachthuizen (Stanley et al., 1998a) zijn ook de concentraties *Campylobacter* bepaald. Deze concentraties varieerden van 40 tot $1,0\text{E}+07$ KVE/gram feces.

De gemiddelde concentratie *Campylobacter* bij schapen in Schotland (Ogden et al., 2009) was $2\text{E}+05$ KVE/gram feces

In de positieve fecesmonsters van schapen en moeflons uit de Amsterdamse waterleidingduinen werden *Campylobacter* concentraties van gemiddeld $2,6\text{E}+08$ DNA kopieën per gram feces aangetoond (range: $9,2\text{E}+01$ tot $4,1\text{E}+08$ DNA kopieën/gram).

Het voorkomen van pathogene, toxine producerende, *E. coli* in de feces van schapen en geiten

Waar rundvee in de jaren '80 werd gezien als belangrijkste reservoir voor de verspreiding van *E. coli* O157 is door verder onderzoek steeds meer duidelijk geworden dat ook andere dieren (Doyle and Schoeni, 1987), en vooral herkauwers zoals schapen en geiten, *E. coli* O157 bij zich kunnen dragen en kunnen zorgen voor verspreiding van deze pathogeen. In een overzichtsartikel (La Ragione et al., 2009) wordt een groot aantal studies “naast elkaar gezet” waarin wordt aangetoond dat schapen en geiten een belangrijke *E. coli* O157 reservoir vormen. Er is echter veel variatie tussen het percentage besmette dieren dat wordt aangetoond in de verschillende studies. Bij onderzoek in Nederland zijn schapen bij slachthuizen onderzocht (Heuvelink et al., 1998a) en bleek dat 4,0% (n=101) besmet was met *E. coli* O157. Bij onderzoek van schapen in slachthuizen in Italië (Franco et al., 2009) werd gevonden dat 7,1% (n=533) van de volwassen schapen besmet was met *E. coli* O157.

Bij onderzoek naar de besmetting van schapen bij slachthuizen in Engeland bleek dat 1,3% (n=6996) van de schapen besmet was met *E. coli* O157 (Milnes et al., 2008). Met onderzoek, in Engeland en Wales, naar voorkomen van *E. coli* O157 bij dieren die aanwezig zijn op kinderboerderijen, stadsboerderijen en wildparken (Pritchard et al., 2009) werd *E. coli* O157 aangetoond in de feces van 24,4% van de schapen en 9,9% van de geiten.

In de fecesmonsters van schapen en moeflons die grazen in het gebied van de Amsterdamse waterleidingduinen (Heijnen, 2009) werd geen *E. coli* O157 aangetroffen.

De concentratie pathogene, toxine producerende, *E. coli* in de feces van schapen

Ook voor pathogene *E. coli* in de feces van schapen geldt dat hierover slechts weinig bekend is. Bij het onderzoek van schapen bij slachthuizen in Italië (Franco et al., 2009) werden lage concentraties (<1,0E+02 KVE/gram feces) *E. coli* O157 gevonden in de feces van 4,5% van de onderzochte schapen. Hogere concentraties, variërend van 1,0E+02 tot 1,0E+06 KVE/gram feces werden aangetoond in 2,6% van de schapen.

Het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* in de feces van schapen

Bij onderzoek naar het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* bij dieren die leven in de nabijheid van een waterwingebied in Australië (Sydney) bleek dat schapen een belangrijk reservoir vormen voor *Cryptosporidium* (Cox et al., 2005). In 67% van onderzochte feces monsters (n=9) werd *Cryptosporidium* aangetoond en in 67% van de monsters (n=9) werd *Giardia* gevonden. Bij onderzoek van schapen en geiten op boerderijen in Engeland en Wales (Smith et al., 2010) bleek dat *Cryptosporidium* aantoonbaar was in 39,6% van de schapen (n=260) en 20% (n=15) van de geiten.

De concentraties *Cryptosporidium* in de feces van schapen

Bij besmette schapen die zijn onderzocht bij een waterwingebied in Sydney (Cox et al., 2005) zijn ook de *Cryptosporidium* en *Giardia* concentraties bepaald. De mediaan van de *Cryptosporidium* en *Giardia* was in deze studie respectievelijk 17 en 26 oocysten per gram feces. De hoogste concentraties *Cryptosporidium* die werd aangetoond was 7000 oocysten per gram feces, de hoogste concentratie *Giardia* was 504 cysten per gram feces.

3.3.3 Paarden

Het voorkomen van *Campylobacter* in de feces van paarden

Er is slechts op beperkte schaal onderzoek uitgevoerd naar het voorkomen van *Campylobacter* bij paarden. Onderzoek van verschillende zoogdieren, waaronder paarden, in Noorwegen toonde geen *Campylobacter* aan in 45 onderzochte paarden (Rosef et al., 1983). *Campylobacter* werd ook niet aangetoond in een studie waarbij gezonde paarden en paarden met diarree zijn onderzocht (Prescott and Bruin-Mosch, 1981). Bij onderzoek van dieren die verblijven op boerderijen waar vooral pluimvee wordt gehouden bleek dat, naast een groot deel van het pluimvee, ook het paard *Campylobacter* bij zich te dragen (Zweifel et al., 2008).

De beperkte hoeveelheid onderzoeksdata die beschikbaar is geeft aan dat paarden waarschijnlijk geen belangrijk reservoir vormen voor de verspreiding van *Campylobacter*.

Het voorkomen van pathogene *E. coli* (o.a. O157) in feces van paarden

Er zijn in de wetenschappelijke literatuur slechts zeer weinig meldingen te vinden over het voorkomen van pathogene *E. coli* typen bij paarden. In een studie in Engeland is aangetoond dat een handelaar in paarden een infectie heeft doorgemaakt werd met *E. coli* O157 die werd overgebracht door contact met feces van geïnfecteerde paarden (Chalmers et al., 1997). Ook in een Nederlandse studie naar het voorkomen van *E. coli* O157 bij dieren op boerderijen bleek *E. coli* O157 aanwezig te zijn bij paarden die leven in de nabijheid van geïnfecteerd rundvee

(Heuvelink et al., 1998b). Bij onderzoek van paarden die leven in natuurparken in Amerika werden geen *E. coli* O157 geïnfecteerde paarden gevonden (Derlet and Carlson, 2002).

De, hierboven beschreven, studies tonen aan dat *E. coli* O157 kan voorkomen bij paarden. De studies zijn echter te kleinschalig om een goede indruk te krijgen over het voorkomen van *E. coli* O157 bij paarden en geven geen informatie over de concentratie *E. coli* O157 in de feces van geïnfecteerde paarden.

Het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* in feces van paarden

Het is niet geheel duidelijk of *Cryptosporidium* en *Giardia* ziekte veroorzaken bij paarden en of deze dieren belangrijk zijn als reservoir voor de verspreiding van *Cryptosporidium* en *Giardia* (Weese, 2002). In een beperkt aantal studies zijn *Cryptosporidium* en *Giardia* aangetoond in de feces van paarden, er zijn geen gegevens bekend over de concentraties van deze parasieten in de feces van geïnfecteerde paarden.

Bij dieren op boerderijen in Canada bleek dat bij 3 van de 4 onderzochte boerderijen met *Cryptosporidium* gesmette paarden voorkwamen, gemiddeld was 23% van de paarden (n=35) besmet (Olson et al., 1997). Bij alle onderzochte Canadese boerderijen waren paarden aanwezig die besmet waren met *Giardia*, gemiddeld was 20% van de paarden besmet met *Giardia*.

Ook bij onderzoek van dieren die worden gehouden op boerderijen in Engeland en Wales werd aangetoond dat *Cryptosporidium* voorkwam in de feces van 25% (n=12) van de onderzochte paarden (Smith et al., 2010).

In tegenstelling tot de hierboven genoemde studies werd er geen *Cryptosporidium* of *Giardia* aangetoond bij onderzoek van 91 volwassen (4-24 jaar oud) paarden die worden gebruikt voor recreatie in California (USA) (Johnson et al., 1997).

3.4 Pathogenen in de feces van wild

3.4.1 Hertachtigen

Het is bekend dat hertachtigen (o.a. damherten, edelherten, reeën, rendieren) dragers kunnen zijn van micro-organismen die ziekte kunnen veroorzaken bij mensen. Vandaar dat hertachtigen een potentieel gevaar vormen voor het overdragen van deze ziekten naar de mens en zal de aanwezigheid van hertachtigen in een waterwingebied zorgen voor belasting van het gebied en een potentieel gevaar vormen voor de productie van veilig drinkwater. Een uitgebreid overzicht van de pathogene micro-organismen die bij hertachtigen kunnen voorkomen is weergegeven in het overzichtsartikel van Böhm (Bohm et al., 2007).

Het voorkomen van *Campylobacter* in de feces van hertachtigen

Over de aanwezigheid van *Campylobacter* bij herten en reeën, of dieren die behoren tot de hertachtigen (*Cervidae*), is in de wetenschappelijke literatuur niet veel beschreven.

Onderzoek in Nederland naar het voorkomen van pathogene bacteriën en parasieten in de feces van in het wild levende dieren (Heuvelink et al., 2008) liet zien dat *Campylobacter* kon worden aangetoond in 5 van de 406 (1,2%) onderzochte fecesmonsters van reeën. Bij onderzoek van reeën die aanwezig zijn op kinderboerderijen in Nederland (Heuvelink et al., 2003) bleek *Campylobacter* aantoonbaar in 2,6% van de herten (n=117). Bij onderzoek naar pathogenen in de mest van grazers in de Amsterdamse waterleidingduinen (Heijnen, 2009) werd *Campylobacter* aangetoond in 6% van de onderzochte monsters van reeën (n=34) en 10% van de monsters van damherten (n=84).

Bij een studie in Finland en Noorwegen waarbij de feces van rendieren is onderzocht op de aanwezigheid van o.a. *Campylobacter* (Kemper et al., 2006) werd slechts in één van de 2243 onderzochte fecesmonsters *Campylobacter* (0,04%). Ook bij een andere studie bij hertachtigen in Noorwegen (Lillehaug et al., 2005) werd *Campylobacter* slechts sporadisch aangetroffen, van de

324 onderzochte monsters (waarvan er 38 afkomstig waren van reeën) werd in slechts één reemonster (0,3% van de hertachtigen, 2,6% van de reeën), *Campylobacter* aangetoond.

De resultaten van alle bovenstaande studies laten zien dat *Campylobacter* voorkomt in de feces van hertachtigen. Hierbij is het opvallend dat het percentage besmette fecesmonsters het grootst is in de studie die is uitgevoerd bij de reeën en damherten in de Amsterdamse waterleidingduinen. Het kan zijn dat de besmettingsgraad van deze dieren hoger is, het is ook mogelijk dat dit het gevolg is van de toegepaste analysemethode (PCR in plaats van kweekmethoden bij de andere studies).

De concentratie *Campylobacter* in de feces van hertachtigen

In de wetenschappelijke literatuur is geen informatie gevonden over studies waarbij de *Campylobacter*-concentratie in de feces van hertachtigen is onderzocht. Alleen bij het onderzoek bij de reeën en damherten in de Amsterdamse waterleidingduinen (Heijnen, 2009) is door toepassing van kwantitatieve real-time PCR (Q-PCR) een indruk verkregen over de *Campylobacter* concentraties in de feces van deze dieren. De gemiddelde *Campylobacter* concentratie in positieve monsters bleek in deze studie 3.4×10^6 DNA kopieën per gram feces (range: 2.7×10^3 tot 1.6×10^7 DNA kopieën per gram feces).

Het voorkomen van pathogene, toxine producerende, *E. coli* in de feces van hertachtigen

Na het experimenteel toedienen van *E. coli* O157 aan witstaartherten is dit *E. coli* type in staat om zich te vermeerderen en kunnen hoge concentraties *E. coli* O157 worden aangetoond in de feces van deze geïnfecteerde herten (Fischer et al., 2001). In hetzelfde onderzoek kon ook worden aangetoond dat verspreiding van *E. coli* O157 infecties van hert op hert kan plaats vinden. Deze onderzoeksresultaten geven aan dat hertachtigen geïnfecteerd kunnen raken met het pathogene *E. coli* type O157 en dat de infectie zich kan verspreiden binnen een hertenpopulatie.

Bij onderzoek naar het voorkomen van *E. coli* O157 in wild in Spanje (Garcia-Sanchez et al., 2007) werd deze bacterie aangetoond in 1,5 % (n=206) van de edelherten maar niet in beperkt aantal geteste (n=20) reeën en (n= 6) damherten. Bij een studie die is uitgevoerd bij verschillende hertachtigen in Noorwegen (Lillehaug et al., 2005) werd *E. coli* O157 niet aangetoond, in dit onderzoek werden wel diverse andere toxine producerende *E. coli* serotypen (O26, O103, O145) aangetoond in een groot deel van de fecesmonsters. Ook bij onderzoek in de Verenigde Staten (Louisiana) waar witstaartherten, die ten prooi zijn gevallen aan de jacht, zijn onderzocht op het bevatten van *E. coli* O157 (Dunn et al., 2004) bleek dat deze ziekteverwekkende bacterie aanwezig was bij 0,4% van de onderzochte dieren (n=338).

In Nederlands onderzoek naar het voorkomen van pathogene bacteriën en parasieten in faeces van wilde dieren (Heuvelink et al., 2008) bleek dat toxine producerende *E. coli* O157 aantoonbaar waren in 2 van de 412 (0,5%) onderzochte fecesmonsters van reeën. Bij herten op kinderboerderijen (Heuvelink et al., 2003) bleek *E. coli* O157 niet aantoonbaar (n=112). Bij het onderzoek van fecesmonsters van reeën en damherten in de Amsterdamse waterleidingduinen (Heijnen, 2009) bleek *E. coli* O157 in 3,3% van de onderzochte monsters (n=118) aantoonbaar.

De concentratie pathogene, toxine producerende, *E. coli* in de feces van hertachtigen

Er is slechts zeer weinig data beschikbaar over de concentraties *E. coli* O157 die door hertachtigen via de feces worden uitgescheiden. Bij experimenteel besmette witstaartherten werden *E. coli* O157 concentraties in de feces gevonden die varieerden van 3.2×10^3 tot 1.3×10^5 KVE per gram feces gedurende een periode van ca. 10 dagen na de infectie, langer na de infectie werden lagere concentraties aangetroffen (Fischer et al., 2001). De *E. coli* O157 concentraties die (met Q-PCR) zijn aangetoond in de feces van reeën en damherten in de Amsterdamse waterleidingduinen (Heijnen, 2009) lagen in een vergelijkbare range: 8.2×10^2 tot 1.1×10^5 DNA kopieën per gram feces.

Het voorkomen van *Cryptosporidium* in feces van hertachtigen

In diverse wetenschappelijke publicaties is aangetoond dat hertachtigen drager kunnen zijn van *Cryptosporidium* en dat deze protozoa via de feces van deze dieren wordt uitscheiden. In een studie die is uitgevoerd in Noorwegen (Hamnes et al., 2006) zijn *Cryptosporidium* oocysten aangetoond in fecesmonsters van 3,3% (n=455) van de elanden, 0,3% (n=289) van de edelherten en 6,2% (n=291) van de reeën maar niet bij rendieren. In deze studie is verder niet onderzocht of de gevonden oocysten behoren tot de soorten die pathogeen zijn voor de mens (*Cryptosporidium parvum* en *Cryptosporidium hominis*). Ook bij onderzoek van hertachtigen in de nabijheid van bekkens die gebruikt worden voor de productie van drinkwater voor Melbourne (Australië) werden *Cryptosporidium* oocysten aangetoond in 10,2% (n=700) van de fecesmonsters (Cinque et al., 2008), er waren echter geen aanwijzingen voor de aanwezigheid van mens-pathogene *Cryptosporidium* soorten. Onderzoek in Engeland (Sturdee et al., 1999) liet zien dat *Cryptosporidium parvum* aanwezig was bij 6% (n=16) van de damherten en 10% van de Chinese muntjaks (n=42). Ook bij onderzoek in de Verenigde Staten in de regio New York (Perz and Le Blancq, 2001) bleek *Cryptosporium* aantoonbaar in 11% van de in het wild levende witstaartherten (n=91) waartussen ook mens-pathogene soorten werden onderscheiden (*Cryptosporidium parvum*). Bij het onderzoek dat is uitgevoerd in de Amsterdamse waterleidingduinen naar het voorkomen van pathogenen in de mest van grazers bleek dat *Cryptosporidium* aantoonbaar was in 3% van de fecesmonsters van reeën (n=34) en 8% van de damherten (n=84) waarbij het in 3% van de besmette hertachtigen ging om de mens-pathogene *Cryptosporidium parvum* soort.

Het voorkomen van *Giardia* in feces van hertachtigen

In de studie die is uitgevoerd in Noorwegen (Hamnes et al., 2006), waar ook de aanwezigheid van *Cryptosporidium* is onderzocht (zie boven), zijn *Giardia* cysten aangetoond in fecesmonsters van 12,3% van de elanden, 1,7% van de edelherten, 15,5% (n=291) van de reeën en 7,1% van de rendieren. In een studie die is uitgevoerd in de Amerikaanse staten Virginia en Mississippi bleken *Giardia* cysten aanwezig in 2,9% van de witstaart herten in Virginia en 1,1% van de witstaart herten en Mississippi (Rickard et al., 1999). Een inventarisatie naar het voorkomen van pathogenen bij in Nederland in het wild levende dieren was *Giardia* aantoonbaar in 4,1% (n=73) van de reeën, het ging daarbij in 33% van de positieve gevallen om de typen die pathogeen zijn voor de mens (assemblage A en B).

De concentraties *Cryptosporidium* en *Giardia* in de feces van hertachtigen

Er zijn in de wetenschappelijke literatuur nauwelijks kwantitatieve gegevens beschikbaar over de concentraties *Cryptosporium* en *Giardia* in de feces van hertachtigen. In een studie naar het voorkomen van pathogenen in de feces van dieren die leven in de omgeving van een waterwingebied bij Sydney (Cox et al., 2005) werd één fecesmonster van een hert getest, hierin werd een concentratie van 6 *Cryptosporidium* oocysten per gram feces gevonden in dit monster werd geen *Giardia* aangetroffen.

3.4.2 Klein wild

De kennis over het voorkomen van verschillende pathogene micro-organismen bij klein wild (konijnen, hazen, muizen en ratten) is zeer beperkt.

Het voorkomen van *Campylobacter* in feces van konijnen

Bij onderzoek naar het voorkomen van *Campylobacter* in de feces van konijnen die bestemd zijn voor consumptie (in Zwitserland) werd *Campylobacter* in 0,4% (n=500) van de onderzochte feces monsters aangetoond (Kohler et al., 2008). In Nederland werd geen *Campylobacter* bij onderzoek van 43 wilde hazen en 38 konijnen (Heuvelink et al., 2008).

Het voorkomen van *Campylobacter* in feces van muizen en ratten

In verschillende studies is aangetoond dat muizen en ratten drager kunnen zijn van *Campylobacter* (en *Salmonella*) die verblijven in de nabijheid van boerderijen. Een overzicht van de beschikbare relevante literatuur hierover is weergegeven in een overzichtsartikel (Meerburg and Kijlstra, 2007). Onderzoek in Portugal naar het voorkomen van *Campylobacter* bij in het wild levende dieren (Cabrita et al., 1992) liet zien dat 57,5% van de onderzochte ratten besmet was met *Campylobacter*. Ook uit onderzoek dat is uitgevoerd bij muizen en ratten die leven op boerderijen in Nederland blijkt dat zowel huis-muizen als bruine ratten drager kunnen zijn van *Campylobacter* (Meerburg et al., 2006), ook bij onderzoek van muskusratten bleek *Campylobacter* aantoonbaar in 8% (n=25) van de ratten (Heuvelink et al., 2008).

Het voorkomen van pathogene *E. coli* (o.a. O157) in feces van konijnen

Recent is aangetoond dat konijnen die gehouden worden op kinderboerderijen en als huisdier een reservoir kunnen vormen voor pathogene *E. coli* typen (Garcia and Fox, 2003). Ook is aangetoond dat bezoekers van een wildpark in Engeland besmet zijn geraakt met pathogene *E. coli* typen door contact met de uitwerpselen van wilde konijnen uit dit wildpark (Scaife et al., 2006). Contact tussen de konijnen met besmette runderen zorgde in dit geval waarschijnlijk voor besmetting van de konijnen. Ook bij konijnen die gebruikt worden voor consumptie in Spanje (Rodriguez-Calleja et al., 2006) en Zwitserland (Kohler et al., 2008) blijkt een groot deel van deze konijnen drager te zijn van *E. coli* typen die pathogeen zijn voor de mens er werden echter geen O157 typen gedetecteerd. In één onderzoek in Nederland zijn “tamme konijnen” (afkomstig van kinderboerderijen, asiels en consumptie-konijnen) onderzocht (n=741) op het bevatten van *E. coli* O157, bij dit onderzoek werden geen O157-besmette konijnen gevonden (Assies et al., 2007). Bij onderzoek van konijnen en hazen die in Nederland het wild leven (Heuvelink et al., 2008) was *E. coli* O157 aantoonbaar in 2,3% (n=43) van de hazen maar niet bij konijnen.

Het voorkomen van pathogene *E. coli* (o.a. O 157) in feces van muizen en ratten

Het is aangetoond dat ratten experimenteel kunnen worden geïnfecteerd met *E. coli* O157 (Cizek et al., 2000). Er zijn in deze literatuurstudie geen publicaties gevonden van studies waarin het voorkomen van pathogene *E. coli* soorten in ratten- of muizenpopulaties is bestudeerd.

Het voorkomen van pathogene *Cryptosporidium*/*Giardia* in feces van konijnen

Bij Australisch onderzoek naar het voorkomen van pathogenen in de feces van dieren die leven in de nabijheid van een waterwingebied (Cox et al., 2005) werd *Cryptosporidium* aangetoond in één van de twee onderzochte monsters van konijnen (concentratie: 77 oocysten/gram feces), in deze monsters werd geen *Giardia* aangetoond. Met onderzoek naar het voorkomen van *Cryptosporidium parvum* bij wild in Engeland (Sturdee et al., 1999) werd deze pathogeen aangetoond in 7% van de konijnen (n=28). Bij onderzoek van konijnen die in Nederland in het wild leven was *Giardia* aantoonbaar in 1 van de 6 (17%) de onderzochte konijnen (Heuvelink et al., 2008), het ging daarbij niet om de menspathogene typen (assemblagegroep A en B).

Het voorkomen van pathogene *Cryptosporidium*/*Giardia* in feces van muizen, ratten en ander klein wild

Met onderzoek dat is uitgevoerd in Amerika naar het voorkomen van *Campylobacter* en *Giardia* in de feces van, in het wild levende, kleine knaagdieren (verschillende muizensoorten) is aangetoond dat *Giardia* voorkomt in 65% (n=722) van de fecesmonsters van deze muizen (Pacha et al., 1987). Met onderzoek naar het voorkomen van *Cryptosporidium parvum* bij wild in Engeland (Sturdee et al., 1999) werd deze pathogeen aangetoond in egels (25%, n=4),

bosspitsmuizen (35%, n=20), dwergspitsmuizen (10%, n=10), dassen (15%, n=26) en vossen (9%, n=23) maar niet bij eekhoorns (n=8), hazen (n=2), wezels, hermelijnen (n=2) en bunzings (n=2). Uit onderzoek van verschillende populaties bruine ratten in Engeland (Quy et al., 1999) blijkt dat ook deze knaagdieren een reservoir voor *Cryptosporidium parvum* kunnen vormen, 24% van de onderzochte dieren (n=438) bleek besmet met deze parasiet.

Bij een screening van in Nederland in het wild levende dieren (Heuvelink et al., 2008) was *Giardia* aantoonbaar in 91% (n=23) van de Muskusratten, het ging daarbij niet om de typen die pathogeen zijn voor de mens (assemblagegroep A en B).

3.5 Pathogenen in de feces van vogels

Het voorkomen van *Campylobacter* in de feces van vogels

Door het optreden van *Campylobacter* infecties t.g.v. de consumptie van besmette pluimvee-producten werd pluimvee lange tijd als belangrijkste reservoir voor de verspreiding van ziekte door de *Campylobacter* bacterie gezien (Skirrow, 1977). Zeer veel onderzoek is dan ook gedaan naar het voorkomen van *Campylobacter* bij pluimvee, na het bundelen van een collectie van literatuurgegevens uit 74 verschillende studies (Suzuki and Yamamoto, 2009) kon de conclusie getrokken worden dat gemiddeld 58% van de pluimvee producten besmet is met *Campylobacter*. Ook uit Nederlands onderzoek naar het voorkomen van *Campylobacter* bij pluimvee bleek dat een groot deel van de vleeskuikens besmet is met deze pathogeen (Havelaar, 2001).

Uit later onderzoek is gebleken dat *Campylobacter* bacteriën ook bij andere diersoorten kunnen voorkomen en dat ook verschillende andere soorten vogels *Campylobacter* bij zich kunnen dragen en kunnen zorgen voor de verspreiding van deze bacterie, vooral watervogels lijken in dit opzicht een risico te vormen. Een overzicht van veel van de beschikbare kennis over de verspreiding van *Campylobacter* via watervogels wordt gegeven in Abulreesh et al., 2006.

Onderzoek van verschillende soorten wilde eenden in Colorado toonde aan dat 35% van deze dieren *Campylobacter* via de feces uitscheiden (Luechtefeld et al., 1980).

Bij onderzoek naar het voorkomen van *Campylobacter* bij verschillende vogelsoorten in Noorwegen (Kapperud and Rosef, 1983) werd eveneens gevonden dat een groot deel van de wilde vogels besmet was met deze bacterie. In deze studie werd gevonden dat 90% van de onderzochte bonte kraaien (n=71), 50% van de meeuwen (n=54) en 4,2% van de duiven (n=71) in de stad Oslo besmet zijn met *Campylobacter*.

Onderzoek in Portugal liet eveneens zien dat verschillende vogelsoorten drager kunnen zijn van *Campylobacter* (Cabrita et al., 1992), in dit onderzoek werd *Campylobacter* aangetoond bij 60% van de kippen, 46% van de mussen en 41% van de eenden.

Ook bij onderzoek in de Verenigde staten (Washington) bleek dat een groot deel van de eenden (73%) en ganzen (5%) besmet is met *Campylobacter* (Pacha et al., 1988).

Ook meeuwen zijn potentiële dragers van *Campylobacter* bacteriën, bij onderzoek van 205 feces monsters van meeuwen (*Larus spp.*) bleek 13,7% besmet met *Campylobacter* (Moore et al., 2002).

Bij onderzoek naar het voorkomen van pathogenen bij dieren in het wild in Nederland werd *Campylobacter* aangetoond bij 59,5% van de kraaiachtigen en 22,4% van de weide- en watervogels (Heuvelink et al., 2008).

De concentratie *Campylobacter* in de feces van vogels

Er zijn zeer weinig gegevens gevonden over studies waarbij onderzoek is gedaan naar de concentratie *Campylobacter* in de feces van vogels.

Bij onderzoek naar *Campylobacter* bij slachtkippen bij verschillende productiebedrijven in Noorwegen zijn PCR technieken gebruikt voor kwantificatie van *Campylobacter* in de feces (Rudi et al., 2004). De *Campylobacter* concentraties in deze studie varieerden tussen de bedrijven van 1,0E+04 tot 1,0E+08 DNA kopieën per gram feces.

Uit onderzoek, uitgevoerd in Schotland, zijn ook kwantitatieve gegevens gekomen over de concentratie *Campylobacter* in de feces van verschillende vogelsoorten (Ogden et al., 2009). Uit dit onderzoek bleek dat de concentraties *Campylobacter* vrij laag was in kippen (gem.: 2,0E+02 KVE/gram feces) maar veel hoger bij ganzen, eenden en duiven (allen gem.: 2,0E+05 KVE/gram feces) en meeuwen (gem.: 2,0E+04 KVE/gram feces).

Het voorkomen van pathogene, toxine producerende, *E. coli* in de feces van vogels

In de wetenschappelijke literatuur zijn maar zeer weinig studies gevonden waarin de aanwezigheid van toxine producerende *E. coli* bij vogels wordt beschreven. Bij een onderzoek waarbij de aanwezigheid van *E. coli* O157 is onderzocht bij kippen bleek dat deze bacterie aantoonbaar was bij 3,6% (n=720) van de onderzochte kippen (Dipineto et al., 2006). Ook bij onderzoek in Japan is aangetoond dat pathogene *E. coli* stammen aanwezig kunnen zijn bij vogels (Kobayashi et al., 2009). Echter, bij onderzoek van feces van pluimvee in slachthuizen in Nederland (Heuvelink et al., 1999) werd in feces monsters van kippen (n=501) geen *E. coli* O157 aangetoond, bij onderzoek van monsters van kalkoenen werd in 1,3% van de monsters *E. coli* O157 aangetoond. Bij onderzoek naar het voorkomen van pathogenen bij in het wild levende dieren in Nederland werd geen *E. coli* O157 aangetroffen in 212 fecesmonsters van weide- en watervogels (Heuvelink et al., 2008).

De concentratie pathogene, toxine producerende, *E. coli* in de feces van vogels

Er zijn geen in deze literatuurstudie geen gegevens gevonden van studies waarin data is verkregen over de concentraties *E. coli* O157 die in de feces van vogels kunnen worden aangetroffen.

Het voorkomen en concentratie van *Cryptosporidium* in de feces van vogels

Het is bekend dat verschillende vogelsoorten als gastheer kunnen dienen voor *Cryptosporidium* protozoa, in een overzichtsartikel (Sreter and Varga, 2000) wordt aangegeven dat uit onderzoek is gebleken dat, in Europa, 22-88% van de kippen, 50-59% van de eenden en ganzen, 20-60% van de fazanten en 22-100% van de meeuwen besmet zijn met *Cryptosporidium*. In de meeste gevallen gaat het daarbij om de *Cryptosporidium meleagridis* soort, een soort die wel in staat is om ziekte te veroorzaken (Pedraza-Diaz et al., 2001) maar die niet verantwoordelijk is voor de meeste ziektegevallen bij de mens. De, naast *Cryptosporidium hominis*, meest belangrijke mens-pathogene soort (*Cryptosporidium parvum*) blijkt ook in staat tot het veroorzaken van een infectie bij vogels (Sreter and Varga, 2000).

Ganzen, meeuwen en eenden lijken een potentieel risico te vormen (Graczyk et al., 2008).

Uit onderzoek naar het voorkomen van *Cryptosporidium* bij meeuwen in Schotland blijkt dat in een in 22% van de onderzochte monsters *Cryptosporidium* aantoonbaar is (Smith et al., 1993). Onderzoek naar het voorkomen van *Cryptosporidium* bij ganzen (Canadese ganzen, *Branta canadensis*) in feces monsters in de USA toonde op 7 van de 9 locaties *Cryptosporidium* aan met een gemiddelde *Cryptosporidium* concentratie van 3,7E+03 oocysten/gram feces (Graczyk et al., 2008, Graczyk et al., 1998).

Ook bij onderzoek van feces van Canadese ganzen van verschillende locaties in Ohio en Illinois werd *Cryptosporidium* aangetoond in een groot deel 23% van de ganzen, slechts in een klein deel van de besmettingen (10,2%) ginghet daarbij om de menspathogene soorten, *C. parvum* of *C. hominis* (Zhou et al., 2004).

In feces monsters die afkomstig zijn van verschillende soorten eenden die leven langs de Rio Grande rivier werd in 49% van de monsters (n=69) *Cryptosporidium* aangetoond met een gemiddelde concentratie van 48 oocysten/gram feces (range: 0-2,0E+03 oocysten/g) (Graczyk et al., 2008, Kuhn et al., 2002).

Een andere studie toont aan dat tot wel 91% van de feces monsters van ganzen besmet zijn met *Cryptosporidium* (Kassa et al., 2004).

Het voorkomen en concentratie van *Giardia* in de feces van vogels

In verschillende studies wordt beschreven dat *Giardia (duodenalis)* aanwezig kan zijn in de feces van vrij levende vogels.

Ganzen lijken een belangrijk reservoir te vormen voor de verspreiding van *Giardia*. Onderzoek bij Canadese ganzen toonde, in gepoolde feces monsters, aan op alle 9 onderzochte locaties dat *Giardia* in deze monsters aanwezig was met een concentratie van gemiddeld $4,1E+03$ cysten/gram feces (Graczyk et al., 2008).

Ook andere vogelsoorten vormen een potentieel risico. Van 499 fecesmonsters die afkomstig waren van verschillende vogelsoorten in Polen bleek 5,2% besmet met *Giardia* (Majewska et al., 2009). Feces monsters van verschillende soorten eenden langs de Rio Grande rivier waren in 28% van de monsters (n=69) besmet met *Giardia* aangetoond met een gemiddelde concentratie van 436 oocysten/gram feces (range: $0-2,9E+04$ oocysten/g)(Kuhn et al., 2002). In Nederland bleek *Giardia* ook aantoonbaar in de feces van ooievaars (Franssen et al., 2000).

3.6 Pathogenen in de feces van recreanten

Naast verschillende diersoorten kunnen ook mensen, die zich als recreant in de nabijheid van winputten begeven, een potentieel risico opleveren voor de verspreiding van pathogene micro-organismen in het waterwingebied. Bij de verspreiding van pathogenen via dieren vormt slechts een beperkt aantal pathogene micro-organismen een risico, namelijk de micro-organismen die zich kunnen vermeerderen in een bepaalde diersoort en ziekteverwekkend zijn voor mensen (zoönosen). Bij verspreiding van pathogenen via de feces van mensen is het gezondheidsrisico niet beperkt tot het aantal pathogenen zoals die zijn behandeld in de voorgaande hoofdstukken maar kunnen pathogenen die gastro-enteritis kunnen veroorzaken een gezondheidsrisico vormen. Ook virussen vormen in dit verband een potentieel risico.

Er is, op basis van artsbezoek en diagnostiek, voor veel pathogenen vrij veel bekend over het aantal jaarlijkse gastro-enteritis gevallen t.g.v. infectie met verschillende pathogene micro-organismen in de menselijke populatie (de Wit et al., 2001a, de Wit et al., 2001b; Tabel 3.2). Echter, de gegevens uit studies die zijn verkregen door onderzoek van patiënten na bezoek van een arts geven geen volledig beeld van de aanwezigheid van pathogene micro-organismen in de menselijke populatie. Veel mensen met gastro-enteritis zullen namelijk geen bezoek brengen aan een arts. Populatieonderzoek, waarbij het voorkomen van pathogene micro-organismen in (willekeurig gekozen) populaties mensen met- en zonder gastro-enteritis onderzocht is (de Wit et al., 2001c) geeft een beter beeld van het voorkomen van verschillende pathogenen in de menselijke populatie. Voor Nederland wordt geschat dat 4,5 miljoen diarree gevallen per jaar optreden (de Wit et al., 2001c). Maar deze getallen zijn niet direct maatgevend voor het voorkomen van verschillende pathogenen bij recreanten. Aan de ene kant is te verwachten dat slechts een (maar onbekend) deel van de geïnfecteerden, vanwege de ziekte, zal gaan recreëren in een waterwingebied. Aan de andere kant is te verwachten dat de kans dat geïnfecteerde recreanten hun fecaliën in de beschutte natuur achterlaten groter is dan de kans dat niet-geïnfecteerde recreanten dit doen. Dat geldt zeker voor acuut opkomende darminfecties, zoals een Norovirus-infectie. Door deze onzekerheden is voorspellen welke kans er is dat feces van een recreant in een waterwingebied pathogene micro-organismen bevat onzeker.

Het voorkomen van pathogene micro-organismen in de feces van mensen

Ook voor het vaststellen van het voorkomen van de verschillende pathogenen bij de mens is er een groot verschil tussen studies van mensen die zich met klachten bij de huisarts melden of mensen met klachten in de algemene populatie. In de periode tussen 1998 en 1999 (de Wit et al., 2001c) is daarom uitgebreid onderzocht welke pathogene micro-organismen konden

worden aangetoond in de algemene populatie bij mensen die zelf gastro-enteritis klachten melden (cases) en een groep mensen die geen gastro-enteritis verschijnselen melden (controles).

Tabel 3.2 Het voorkomen van pathogene micro-organismen bij mensen met gastro-enteritis klachten (Cases) en zonder gastro-enteritis klachten (Controles). Overgenomen van: (de Wit et al., 2001c)

Pathogeen	Cases		Controles	
	Aantal positief (aantal getest)	%	Aantal positief (aantal getest)	%
Bacteriën				
<i>Salmonella</i>	3 (700)	0,4	2 (665)	0,3
<i>Campylobacter</i>	9 (700)	1,3	4 (665)	0,6
<i>Yersinia</i>	3 (700)	0,4	5 (665)	0,8
<i>Shigella</i>	0 (700)	0,0	0 (665)	0,0
Pathogene <i>E. coli</i>	2 (699)	0,3	1 (665)	0,2
Bacteriële pathogenen	17 (699)	2,4	12 (665)	1,8
Virussen				
Rotavirus	52 (709)	7,3	5 (672)	0,7
Adenovirus	27 (709)	3,8	4 (672)	0,6
Astrovirus	14 (709)	2,0	4 (668)	0,6
Norwalk-like virus (Norovirus, NLV)	114 (709)	16,1	35 (669)	5,2
Sapporro-like virus (Sapovirus, SLV)	43 (687)	6,3	11 (625)	1,8
Virale pathogenen	232 (693)	33,5	57 (624)	9,1
Parasieten				
<i>Giardia</i>	35 (706)	5,0	33 (673)	4,9
<i>Entamoeba histolytica</i>	1 (706)	0,1	0 (673)	0,0
<i>Cryptosporidium</i>	14 (706)	2,0	1 (673)	0,1
<i>Cyclospora</i>	0 (706)	0,0	0 (673)	0,0
Parasitaire pathogenen	48 (706)	6,8	34 (673)	5,1
Bacteriële toxinen	24 (306)	7,8	20 (307)	6,5

Overall konden pathogene micro-organismen worden aangetoond bij 46,1% van de cases en 16,0% van de controles. Voor sommige pathogenen is er een duidelijk verschil tussen cases en controles (zoals bij Norovirus en *Cryptosporidium*), voor andere is er weinig verschil (zoals *Campylobacter* en *Giardia*) die ook relatief vaak voorkomen bij controles die dus drager zijn van deze pathogeen zonder klachten. In veruit de meeste gevallen (33,5% van de 46,1%) gingen de gastro-enteritis verschijnselen gepaard met de aanwezigheid van virale pathogenen, bij slechts 2,4% van de cases was sprake van aanwezigheid van bacteriële pathogenen en in 6,8% van parasitaire pathogenen. Norovirus (16,1%) werd het meest aangetoond als virale pathogeen, *Campylobacter* (1,3%) was de bacteriële pathogeen die het meest werd aangetroffen bij mensen met gastro-enteritis, en *Giardia* als parasitaire pathogeen. De belangrijkste resultaten van dit onderzoek zijn samengevat in Tabel 3.2.

Op basis van dit onderzoek (de Wit et al., 2001c) was het ook mogelijk om een schatting te maken van de gastro-enteritis incidentie (het aantal gevallen per 1000 personen per jaar) in Nederland. Deze incidentie was (na standaardisatie van de studiepopulatie naar de totale bevolking) 283 per 1000 personen per jaar.

De concentratie pathogene micro-organismen in de feces van mensen

Cryptosporidium

De concentratie *Cryptosporidium* oocysten die kunnen worden uitgescheiden via de feces van geïnfecteerde personen is bepaald in een studie waarbij gezonde vrijwilligers zijn geïnfecteerd met verschillende hoeveelheden *Cryptosporidium parvum* (Chappell et al., 1996). Bij deze studie

werden in een periode tussen 36 uur en 14 dagen na infectie dagelijks feces monsters verzameld en werd het gehalte *Cryptosporidium* in deze monsters microscopisch bepaald. In deze periode van 12,5 dagen werden door de proefpersonen in totaal tussen $5,5 \times 10^4$ en $8,1 \times 10^8$ *Cryptosporidium* oocysten uitgescheiden.

Norovirus

Verschillende onderzoeken zijn uitgevoerd naar de Norovirus concentraties die in de feces van patiënten met een norovirus gastro-enteritis kunnen worden aangetoond. Uit een studie waarbij de Norovirus concentraties van verschillende genogroepen (genogroep I en II) in de feces van geïnfecteerde personen zijn vergeleken (Chan et al., 2006) bleek dat de concentraties van Norovirus genogroep I (mediaan: $8,4 \times 10^5$, range $2,2 \times 10^5$ - $2,9 \times 10^{10}$ RNA kopieën/gram feces) lager waren dan de concentraties van genogroep II (mediaan: $3,0 \times 10^8$, range $2,5 \times 10^4$ - $7,7 \times 10^{10}$ RNA kopieën/gram feces). Bij de analyse van Norovirus uitbraken via voedingsmiddelen in Japan (Ozawa et al., 2007) bleken de norovirus concentraties vergelijkbaar, genogroep I gemiddeld $2,8 \times 10^7$ en genogroep II gemiddeld $3,8 \times 10^8$ RNA kopieën/gram feces. Bij deze studie was het opvallend dat er bij deze uitbraken aangetoond kon worden dat een groot aantal geïnfecteerden geen gastro-enteritis symptomen had en dat de Norovirus concentraties in de feces van deze a-symptomatische geïnfecteerden vergelijkbaar was met de Norovirus concentraties in de geïnfecteerden met gastro-enteritis. Hoehne & Schreier (2006) onderzochten Norovirus in 97 feces van cases in Duitsland met een multiplex qPCR voor genogroep I en II en vonden Norovirus (I/II) concentraties RNA kopieën per gram feces met een mediaan van $1,1 \times 10^8$ (range 1×10^2 - 1×10^{12}).

Sapovirus

Bij een onderzoek waarbij twee Sapovirus uitbraken in Japan zijn bestudeerd zijn gegevens verzameld over de concentratie Sapovirus in de feces van geïnfecteerde personen (Yoshida et al., 2009). Bij de ene uitbraak varieerde de Sapovirus concentratie in de feces van $1,4 \times 10^7$ tot $1,1 \times 10^{11}$ RNA kopieën/gram feces (n=7), bij de andere uitbraak van $5,1 \times 10^6$ tot $1,3 \times 10^{10}$ RNA kopieën/gram feces (n=6). Net als bij Norovirus uitbraken (Ozawa et al., 2007) werden bij deze Sapovirus uitbraken a-symptomatische infecties aangetoond waarbij de Sapovirus-concentratie in feces vergelijkbaar was met de concentratie in de feces van symptomatische Sapovirus-infecties.

3.7 Pathogenen in de feces van honden

Het voorkomen van *Campylobacter* in de feces van honden

Campylobacter bacteriën komen regelmatig voor in de feces van honden. Bij een onderzoek naar het voorkomen van *Campylobacter* bij honden werd er uit 4,6% (van 260 feces monsters) van de, in een park bemonsterde feces monsters, *Campylobacter* gekweekt (Wright 1982). In een studie in Canada (Chaban et al. 2010) waarbij PCR is gebruikt als detectietechniek werd *Campylobacter* aangetoond in 58% van de gezonde honden en in 97% van de honden met diarree. In Australisch onderzoek (Baker et al. 1999) werd bovendien aangetoond dat de mens-pathogene *Campylobacter* soorten *C. upsaliensis* (34%), *C. jejuni* (7%) en *C. coli* (2%) voorkomen in honden. Ook in een studie in Zweden (Engvall et al. 2003) is aangetoond dat een groot deel van de honden drager is van *Campylobacter*, bij 76% van de (gezonde) honden jonger dan 1 jaar en 39% van de honden ouder dan 1 jaar wordt *Campylobacter* aangetoond met *C. upsaliensis* als meest dominante soort (38%) en *C. jejuni* (10%) en *C. coli* (2%) minder dominant.

Het voorkomen van pathogene, toxine producerende, *E. coli* in de feces van honden

Gegevens over het voorkomen van pathogene *E. coli* soorten in de feces van honden zijn schaars. In een Duits onderzoek naar het voorkomen van Verotoxine producerende *E. coli*

(VTEC) soorten werden deze pathogene bacteriën aangetoond in 4,8% van de feces monsters van honden (Beutin et al. 1994) en bij een Japans onderzoek (Kataoka et al. 2010) van 614 feces monsters werd in slechts één monster (0,16%) *E. coli* O157 aangetoond.

Concentraties *Campylobacter* en pathogene *E. coli* in feces van honden

Er is zeer weinig onderzoek uitgevoerd naar de *Campylobacter* concentraties in de feces van honden. In het hierboven genoemde Canadese onderzoek (Chaban et al. 2010) waren verschillende *Campylobacter* soorten aantoonbaar en de concentraties varieerden van 10^3 tot 10^8 DNA kopieën per gram feces. Er is geen informatie beschikbaar over de concentratie pathogene *E. coli* in de feces van besmette honden.

Het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* in de feces van honden

Bij onderzoek naar het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* bij gezonde honden in Nederland (Overgaauw et al. 2009) werd *Cryptosporidium* aangetoond in 8,7% en *Giardia* in 15,2% van de feces monsters. In een Japanse studie werd *Cryptosporidium* aangetoond in 3,9% en *Giardia* in 2,6% van de feces monsters van honden (Yoshiuchi et al. 2010). Ook bij onderzoek van fecaal materiaal van honden in een Amerikaans park (Wang et al. 2011) bleek dat de protozoa *Cryptosporidium* en *Giardia* aantoonbaar waren in een klein deel van de monsters (7%). In deze onderzoeken bleken vrijwel alle aangetoonde protozoa niet te behoren tot typen welke pathogeen zijn voor de mens (*Cryptosporidium hominis* of *parvum* en *Giardia intestinalis* assemblagegroep A of B). De gevonden *Cryptosporidium* soorten werden getypeerd als soorten die slechts sporadisch voorkomen bij de mens (*C. canis* en *C. felis*) en de aangetoonde *Giardia* typen behoorden tot de assemblagegroepen C, D en F. Alleen in de Nederlandse studie (Overgaauw et al. 2009) werd een klein deel (2 van de 13) van de aangetoonde *Giardia*-positieve monsters getypeerd als het mens-pathogene assemblagegroep-A type. Hoewel *Cryptosporidium* en *Giardia* regelmatig worden aangetoond in de feces van honden lijkt de relevantie voor de volksgezondheid van deze aanwezigheid, vanwege de sporadische aanwezigheid van mens-pathogene typen, beperkt (Palmer et al. 2008).

4 Pathogenen uit de mest

4.1 Uitspoeling en het 'eerste' transport bij regenval

In de literatuur zijn maar weinig uitspoelproeven van micro-organismen uit mest beschreven zonder dat daarbij ook werd gekeken naar afstroming over en instroming in een bodemsoort. Dat wil zeggen dat de meeste experimenten zijn uitgevoerd met mest op een onverzadigde bodem, een conditie waar we in het geval van de fecale besmetting in kwetsbare waterwingebieden ook mee te maken hebben. Het proces van "verspreiding van pathogenen uit mest" bestaat uit de volgende fasen

- de uitspoeling, het proces van extractie of 'uitloging' uit de mest;
- de afspoeling, het proces van oppervlakte verspreiding door 'afstroming' of 'runoff';
- en de inspoeling, het proces van infiltratie in de directe omgeving van de mest.

In het overzicht gepresenteerd in dit hoofdstuk wordt aandacht besteed aan de verschillende pathogene micro-organismen en de belangrijkste condities waaronder de uitspoelproeven zijn gedaan:

- de matrix waaruit de organismen worden gespoeld;
- de regencondities;
- de ondergrond, wel of geen bodem, bodemsoort en intacte of gestapelde condities (kolomstudies);
- het gemeten effect, uitspoeling of uitloging gevolgd door afspoeling en/of inspoeling.

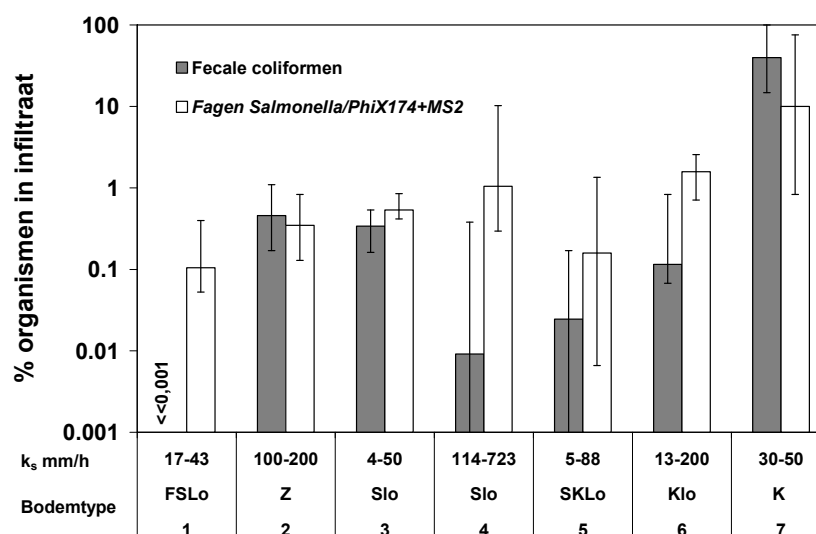
Om de gegevens van de studies bruikbaar te maken voor het project en onderling te kunnen vergelijken, wordt het percentage van het aantal organismen dat onder de gekozen proefcondities uit-, af- of inspoelt gegeven. Deze percentages zijn soms direct vermeld in de publicatie of berekend aan de hand van de gegevens in de publicatie. De kwantitatieve gegevens van de studies met afspoeling en inspoeling kunnen worden beschouwd als een uitbreiding van de studie naar het transport van micro-organismen in de onverzadigde zone zoals die te Solleveld is uitgevoerd. In een aparte paragraaf van dit hoofdstuk zal ingegaan worden op studies die het transport van micro-organismen in de onverzadigde zone hebben beschreven, de transportfase direct na inspoeling.

4.1.1 Virussen en bacteriën

In Tabel 4.1 is een overzicht gegeven van de verschillende studies naar uitspoeling van bacteriën en virussen. Er zijn geen studies gevonden waarin de uitspoeling van virussen of bacteriofagen direct uit feces bij regenval is gemeten. In de enige studie die uitspoeling van PRD1 bacteriofaag uit rundermest heeft beschreven (Ferguson et al., 2007), is de uitspoeling gemeten in de vorm van regenwater afspoeling uit kunstmatig besmette mestmonsters. Deze waren geplaatst op bodemplots (met en zonder vegetatie) die onder een hoek van 18° afstroomde en de concentraties micro-organismen in de run off is bepaald. De regenintensiteit was 55 mm gedurende 30 minuten en gedurende deze tijd werd de concentratie micro-organismen bepaald in een goot die op 10 m was geplaatst. De fecale monsters (1 kg mest) werden na 1 week opnieuw berekend. Uit de verse fecaliën werd een uitspoelpercentage van 0,03 en 0,6% (herhaald experiment) gemeten en uit dezelfde fecaliën na 1 week was dat percentage door afsterving gedaald tot 0,0006 en 0,06%. Hetzelfde werd bepaald voor *E. coli* bacteriën en hierbij was het uitspoelpercentage hoger: 1,3 en 1,4% uit de verse fecaliën en 0,04 en 15,3% uit de fecaliën van een week oud. De afname van PRD1 en *E. coli* in het regenwater bij de proeven met 1 week oude rundermest is veroorzaakt door afsterving; PRD1 aantallen waren 2-3 log gedaald in een week en *E. coli* aantallen met 1-2 log, maar in 1 monster werd een

toename van 1 log waargenomen. Dit laatste is waarschijnlijk de oorzaak van het hoge uitspoelpercentage van 15,3%.

Een aantal studies zijn opgenomen in een recent verschenen review van Pang (2009) naar transport van virussen, bacteriofagen en bacteriën in de bodem. Daarin wordt een kolomstudie aangehaald van Bitton et al. (1978) waar het transport van poliovirus uit slib (kunstmatig besmet) verspreid op een bodemsoort (fijn zandige leem) wordt beschreven. Bij een regen van 7,64 mm/h en een diepte van 54 cm werd 0,1-0,2% van de poliovirussen in het infiltraat teruggevonden. In het overzicht van Pang komen een aantal studies voor met lysimeters gevuld met verschillende bodemsoorten (intacte kolommen) en vegetatie (Figuur 4.1). Het oppervlak werd belast met effluent van een rundermest behandeling (dairy shed effluent; DSE) en beregend. Anders dan bij proeven met slib of mest kunnen de proeven met DSE worden beschouwd als inspoelproeven of piekdoseerproeven (persoonlijke communicatie Pang 2010). De inspoeling van natuurlijke thermotolerante bacteriën van de coligroep (fecale coliformen; FC) en kunstmatig gedoseerde *Salmonella* fagen uit het DSE werd bepaald onder veldcondities (McLeod et al., 2001, 2003, 2004; Pang et al., 2008; Jiang et al., 2008). Pang heeft de afname van het aantal micro-organismen in de lysimeters van 70 cm diepte uitgedrukt in log/m. Op grond van deze gegevens blijkt dat de verwijdering van de bacteriofagen in de verschillende bodemtypen varieert tussen <1 - 3 log/m. Dit komt overeen met een doorslag van 0.1 - >10% (Figuur 4.1). Een duidelijk verband met de doorlaatbaarheid van de bodemsoorten, de hydraulische conductiviteit of k_s -waarde (mm/h), werd niet geconstateerd. De auteur concludeert verder dat verwijdering van bacteriën van de coligroep in z'n algemeenheid groter is dan van de bacteriofagen, maar dat de verwijdering van beide organismen in dezelfde orde van grootte lag. Voor virussen zijn er verder geen andere studies gevonden die de uitspoeling uit mest beschrijven.



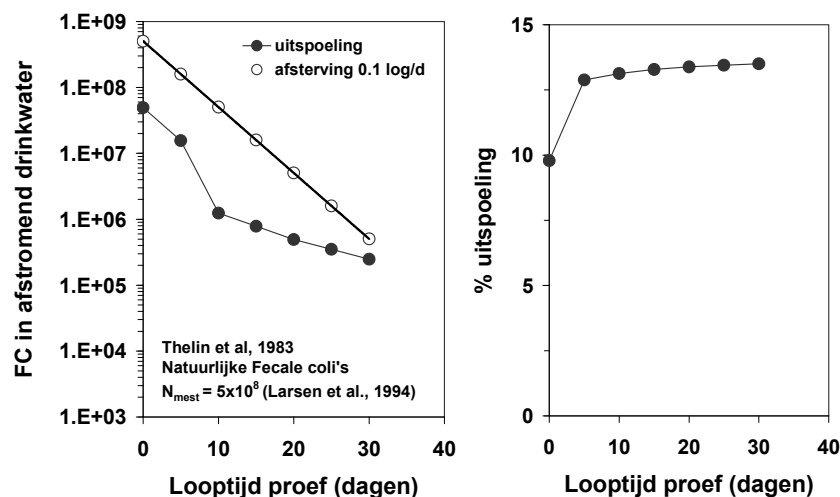
Figuur 4.1 Het transport (% doorslag; error bars = standaard afwijking (SA)) van fecale coliformen (FC) en fagen van *Salmonella* in lysimeters (0,7 m) met verschillende bodemtypen belast met rundermest effluent (DSE) tijdens beregening of irrigatie (5-100 mm/h); op de x-ax zijn de titels van de bodemtypen en de k_s -waarden (mm/h) gegeven (bron: Pang (2009): FSLo = fijn siltig leem, Z = zand, SLo = siltig leem, SKLo = siltig kleiig leem, KLo = kleiig leem en K = klei)

Voor bacteriën zijn een aantal uitspoelstudies gevonden. Thelin en Gifford (1983) beschrijven een experiment met fecale coliformen (FC) uit mest van runderen. Standaard mest monsters (0,9 kg) werden geplaatst op een schuin (10%) aflopend ondoorlatend oppervlak en beregend met drinkwater na verschillende bewaartijden van de mest (0 - 30 dagen). De regenbelasting

Tabel 4.1. Uitspoeling van bacteriën en bacteriofagen uit mest onder invloed van beregening

Referentie	Bodem/Opp./diepte (m ² /m)	Fecaliën, organismen Org. n/g	Regen (mm/h – uur – mm)	Conditie		Percentage van het totale aantal organismen	
				hoek (°)	Vegetatie	Afstroming	Instroming
Bitton 1978	Fijn zandige leem 0,008 m ² 0,54 m diep	Slib, poliovirus besmet	7,6	Nee	Nee	Nee	0,1-0,2%
Thelin 1983	Geen	FC 5,6E+5 [27]	61 - 0,25 30 dagen 9x - 4900	10	Geen	13,5% Figuur 4.2	nd
Larsen 1994	Zand (goed/slecht doorlatend); 1,1/0,11	Rundermest FC 5,6E+5	(50-100) - 0,5 - (25-50)	5	Gras	Nee	Figuur 4.3 0,0 m: 5,8-18,4% 0,61 m: 1,6-8,6% 1,37 m: 0,1-4,6% 2,13 m: 0,3-2,4%
McMurry 1998	Silt loam 32,5 cm ² /32,5 cm diep, undisturbed, onverzadigd	Kippenmest FC	10 – 36 – 360	Nee	Gras	Nee	Sampling grid: hoogste flow = hoogste FC >20% = 1% <1% = 89% Figuur 4.4
Roodsari 2005 ^a	Lysimeter 0,6 m diep	Dairy shed effluent ^a (DSE) FC	61 - 1	20	Wel/niet	Kaal: 23-68% Vegetatie: 0-1%	nd
Ferguson 2007	Fijn zandig klei leem k=15 mm/h	Vers: PRD1: 1,0 E+6 <i>E. coli</i> : 1,0E+7 1 week oud: PRD1 = 2-3 log <i>E. coli</i> = 1-2 log	110 - 0,5	18	Ja/nee	10 m afstand/kaal PRD1 vers: 0.03-0.6% oud; 0.0006-0.06% <i>E. coli</i> vers: 1,3-1,4% oud; 0,04-15,3%	nee
Jiang2008 ^a	diverse bodemtypen lysimeters div. k-waarden 0,79 m ² en 0,7 m diep	DSE ^a	Veldcondities met overstroming/regen	Nee	Gras/klaver	Nd	Figuur 4.5
Pang 2009 ^a	Div. bodems/k-waarden 0,66 m ² 0,7 m intact lysimeter	Dairy shed effluent ^a <i>Salmonella</i> faag en FC	Veldcondities 25-40 mm/h	Nee	Ja	Nee	Figuur 4.1
Bech 2010	Kolommen 1,1 m ² en 1 m diep; zand en leem	Varkensmest <i>Salmonella</i> 8E+7	(8,8-8,8-5,3) - 1 - 22,3	Nee	Geen	Nd	zand << 0,04% leem 0,04 – 0,2%

^a irrigatie met DSE, een hoogbelast effluent (*dus geen uitspoeling uit mest*)



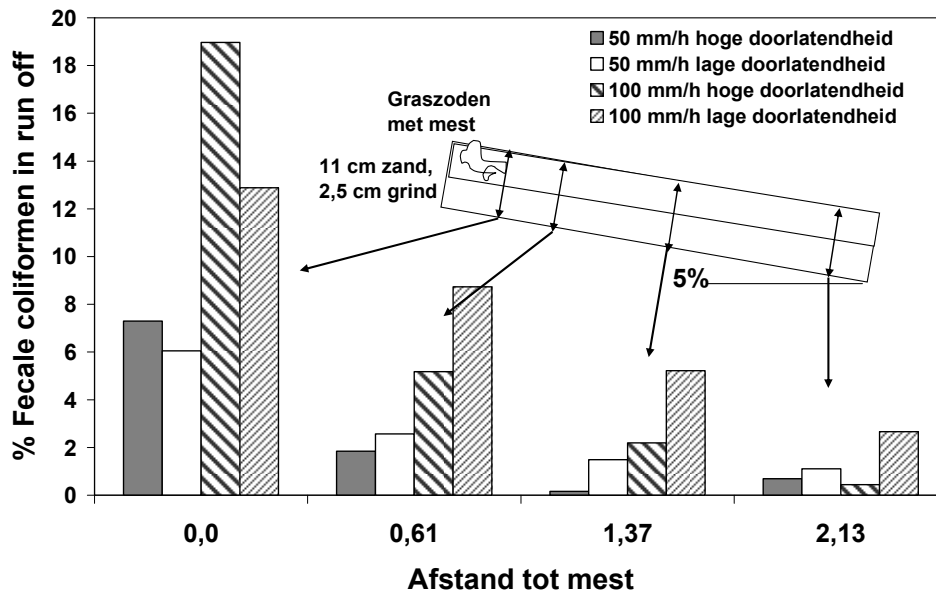
Figuur 4.2 De uitspoeling van fecale coliformen (FC) uit rundermest berekend met drinkwater na verschillende tijden van bewaren (Thelin and Gifford, 1983)

was 6,1 cm/h gedurende 15 minuten. Het water werd bemonsterd op verschillende momenten gedurende 15 minuten en geanalyseerd op FC (Figuur 4.2). Op basis van een geschat aantal FC in de mest van 5,6E+5 FC per gram (Larsen et al., 1994) was de totale FC uitspoeling in de periode van 30 dagen 13,5% waarvan het merendeel in de eerste paar dagen. Ter vergelijking is een *E. coli* afstervingscurve gepresenteerd in Figuur 4.2 uitgaande van een exponentiële afstervingsnelheid (0,1 log/d; Hijnen et al. 2007b). Hieruit valt af te leiden dat de afname van de hoeveelheid FC die na verloop van de tijd uitspoelt zeer waarschijnlijk werd veroorzaakt door de afsterving van FC in de mest (geen gegevens bepaald).

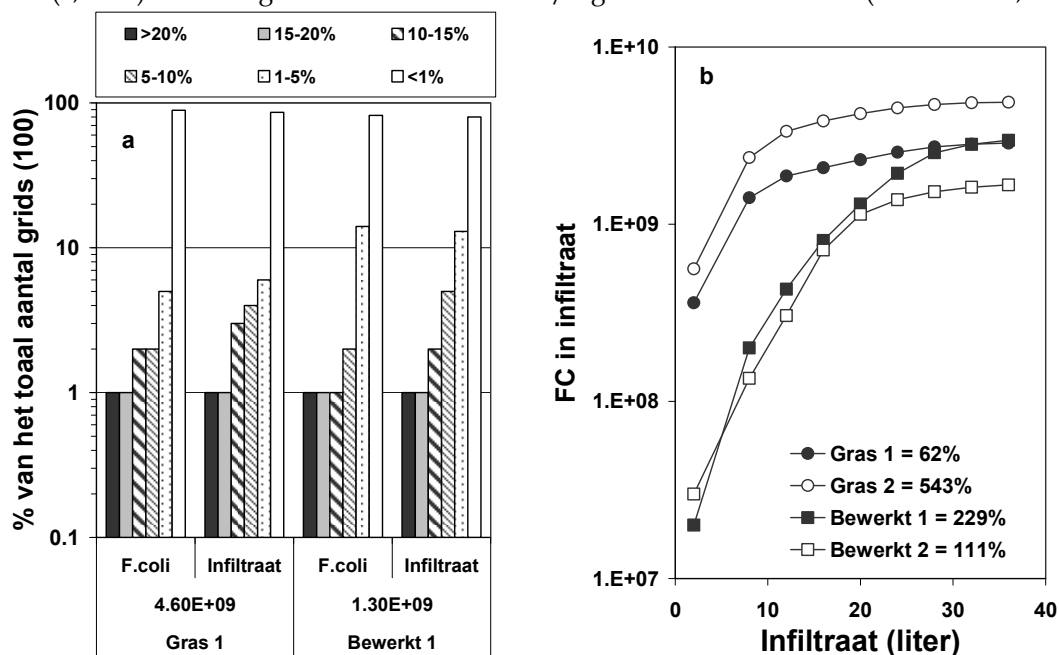
Larsen et al. (1994) beschrijft regenexperimenten met mest van runderen op graszoden die waren geplaatst op een goed en slecht doorlatende bodemsoort met een dikte van 11 cm. De totale hoeveelheid mest was 1 kg met een FC concentratie van 5,6E+05 per gram (totaal aantal in de matrix van 6,7E+08 FC). De opstelling stond onder een hoek van 5% (Figuur 4.3). De plots werden vooraf volledig verzadigd met water. Berekening gebeurde dagelijks gedurende 30 minuten met een intensiteit van 50 en 100 mm/h. Het afstromende water werd gedurende de berekeningstijd verzameld op verschillende afstanden van de fecaliën en onderzocht op FC aantallen. Het percentage FC van de hoeveelheid opgebrachte FC dat op verschillende afstanden na de berekening is teruggevonden, varieerde van >18% onder de 'bron' met een hoog doorlatende bodem bij een regenval van 10 cm/h tot <1% na 1,37 - 2,13 m bij hoog doorlatende bodem bij een regenintensiteit van 50 mm/h (Figuur 4.3). Uit de Figuur blijkt duidelijk het effect van de afstand en de regenintensiteit. De invloed van de doorlaatbaarheid van de bodem was minder duidelijk.

McMurry et al. (1998) beschrijft een studie met kippenmest op intacte bodem blokken (32,5 cm² en 32,5 cm diep) met blauwgras die gedurende 20 jaar ongeroerd is gebleven. Andere bodemblokken (diepte van 42,5 cm) waren van dezelfde bodemsoort (silt leem) maar waren vooraf geploegd en begroeid. De blokken werden in een opstelling gebracht met daaronder een draineeropvang systeem met 12 bij 12 verzamel bakjes (3 cm²) en besmet met kippenmest door deze gelijkmatig te verdelen over het oppervlak. Kunstmatig regenwater (0.001 M CaCl₂) werd met een snelheid van 10 mm/h verspreid over de blokken gedurende 36 uur. In deze tijd werd het infiltraat opgevangen in de bakjes en geanalyseerd op fecale coliformen (FC). Uit de resultaten bleek dat er sprake was van voorkeurstromen in de bodemblokken. In alle bodemblokken (wel of niet bewerkt) waren 3 locaties (2,1% van de bakjes) verantwoordelijk voor >50% in het infiltraat en FC doorslag (Figuur 4.4a). Een snellere doorslag werd waargenomen bij de ongeteelde bodemblokken wat blijkt uit het verloop van het cumulatief

aantal FC in het infiltraat van de verschillende blokken (Figuur 4.4b). Er bleek een hoog percentage doorslag te zijn waargenomen (3 van de 4 blokken >100%; Figuur 4.4b). Hieruit blijkt dat er sprake was van een onderschatting van de hoeveelheid FC in de mest. *Als nagroei wordt uitgesloten zoals de auteurs dat suggereerden dan blijkt dat de micro-organismen uit deze mestsoort van pluimvee met een hoge efficiëntie worden verspreid.*



Figuur 4.3. Uitspoeling van FC uit mest van runderen verspreid op goed en slecht doorlatende intacte graszoden (0,11 m) en een regenval van 50 of 100 mm/h gedurende 30 minuten (Larsen et al., 1994)



Figuur 4.4. Verdeling (%) van de uitspoeling van FC uit kippenmest (uitgedrukt in % van het totaal; zie legenda) dat was verspreid op intacte bodemblokken gemeten op 100 afzonderlijke locaties onder de blokken (McMurry et al., 1998) en (b) het cumulatief aantal FC in het infiltraat van de verschillende blokken

Shelton et al. (2003) vulden lysimeters met steenachtig leem, karakteristiek voor een bodem met macroporiën stroming. Het oppervlak werd belast met mest van runderen en vervolgens berekend met een intensiteit van 70 mm/h. De proef startte met regenval totdat infiltraat werd

waargenomen, regenval werd gestopt en de mest werd aangebracht en de regenval werd hervat waarna infiltraatmonsters werden genomen om de 10 minuten gedurende 5 uur. De maximale FC doorbraak werd waargenomen na 60-80 minuten waarna de concentratie geleidelijk afnam. De doorbraak van FC was gelijk aan de doorbraak van de troebelheid, een aanwijzing dat de uitspoeling van FC gerelateerd is aan de uitspoeling van de vaste deeltjes in de mest. Ditzelfde werd waargenomen door Bradford en Schijven (Bradford and Schijven, 2003; Schijven et al. (2004), onderzoeken naar de uitspoeling van oöcysten die later worden beschreven.

Een studie naar het transport van FC uit rundermest effluent met lysimeters gevuld met plots van zandige leem en kleiige leem met en zonder vegetatie (gras) kwantificeerde het percentage FC in het afstromend water (runoff) en in de bodem bij regenval (Roodsari et al. (2005). De concentraties FC in de mest waren 3,7, 5,5, 27,9 en $16,1 \times 10^5$ per gram en de bodemplots waren onder een hoek van 20% geplaatst. Regenval van 61 mm/h gedurende 1 uur werd toegepast en het aantal FC werd in de runoff en de bodem gemeten. Uit massabalans berekeningen bleek dat bij de kale plots met kleiige en zandige leem respectievelijk 68 en 23% van de in de mest aangebrachte FC werden teruggevonden. In dezelfde plots maar dan met vegetatie was dat slechts 0,1 en 0,0% wat duidelijk het vertragende effect van vegetatie (gras) op de afstroming van micro-organismen aantoont. In de kale kleiige en zandige bodems werd respectievelijk 5 en 33% van de FC aantallen teruggevonden, terwijl dat percentage in de blokken met vegetatie hoger was (90 en 11%).

Recentelijk is de uitspoeling van *Salmonella* bacteriën uit varkensmest gemeten (Bech et al., 2010). De mest was verdeeld over 2 leem en 2 zand bodems ($1,1 \text{ m}^2/1 \text{ m}$ diep) die werden beregend in 3 regenbuien gedurende de eerste 3 dagen (regenval 5,3 – 8,8 mm/h; drinkwater). Na deze periode was de gemeten doorslag in de leembodems 0,04 – 0,2% terwijl in de zandbodems de doorslag veel minder was.

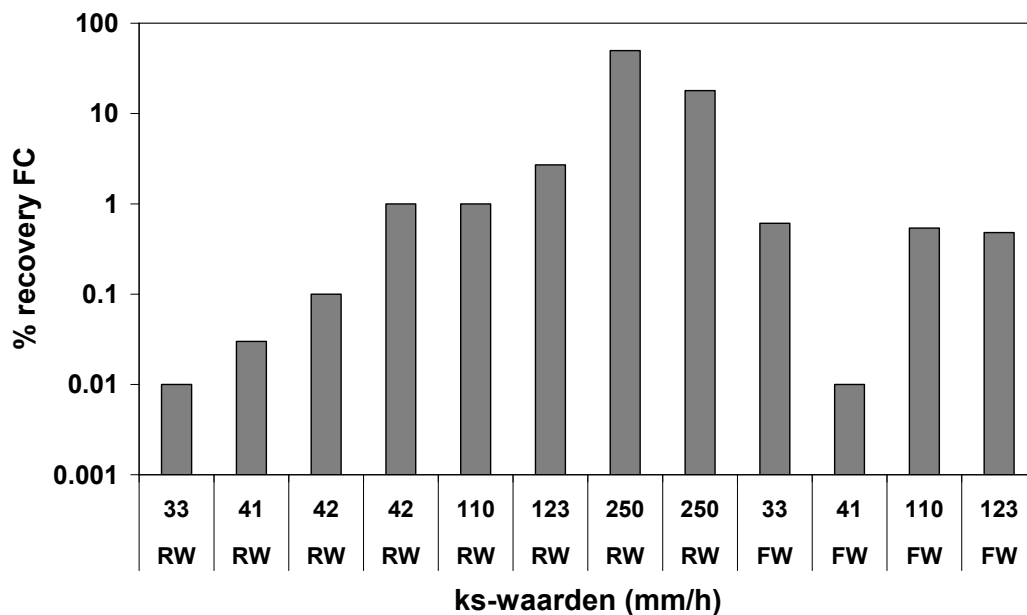
In de eerder genoemde literatuurverkenning van Pang (2009) wordt een overzicht gegeven van de invloed van verschillende bodemsoorten op de doorslag van bacteriën en bacteriofagen afkomstig uit een fecale matrix. De grootste capaciteit om instromende micro-organismen tegen te houden hebben kristallijne aluminium-silicaten en puimsteen zandsoorten vanwege respectievelijk de positieve lading en het hoge specifieke oppervlak aldus Pang. De verwijderingpotentie van zandige bodems is groter dan de verwijderingpotentie van kleiige bodems, kleiige leem of kleiige silt leem waar de verwijdering kan dalen tot $<1 \text{ log/m}$ ($>10\%$ doorslag). Een andere belangrijke opmerking is dat het effect van macro-poriën op de doorslag groter kan zijn dan van de bodemtextuur zelf. Dit is gebaseerd op een transportstudie met lysimeteres beregend met een *Salmonella* faag suspensie in drinkwater van Carlander et al. (2000) en ook op veldstudie met lysimeters en de doorslag van FC afkomstig uit DSE ($1,7 \times 10^4 \text{ FC/ml}$) van Jiang et al. (2008). De lysimeters van de laatstgenoemde studie waren begroeid met gras en klaver en werden na belasting met DSE geïrrigeerd met regenwater en grondwater gedurende een periode van 120 dagen. Het percentage doorslag was duidelijk afhankelijk van de k-waarde van de bodem (Figuur 4.5). Het grote effect van preferente stroombanen in een bodem met macro-poriën is een aannemelijk verklaring voor het relatieve geringe verschil in doorslag tussen bacteriofagen en bacteriën afkomstig uit een fecale matrix getoond in Figuur 4.1.

4.1.2 Protozoën

Er zijn in de periode vanaf het midden van de 90-tiger jaren van de vorige eeuw tot nu

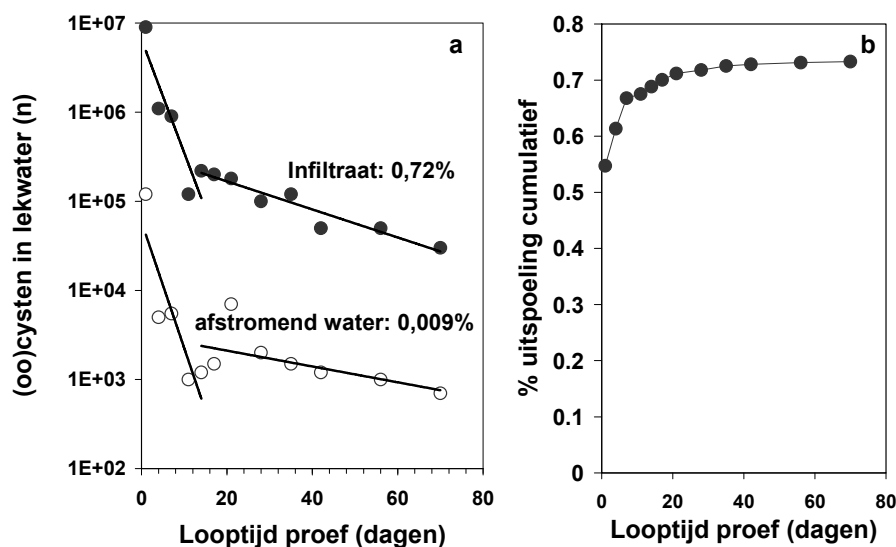
Tabel 4.2. Uitspoeling van oöysten van *Cryptosporidium* en *Giardia* uit mest onder invloed van berekening

Referentie	Bodem/Opp./diepte (m ² /m)	Fecalien org. n/g	Regen (mm/h – uur – mm)	Conditie slope (%)	vegetation	Percentage van het totale aantal organismen	
						Uitspoeling/ Afstro ming	Instroming
Mawdsley (1996)	Leem slecht doorlatend verzadigd 0,45/0,25	Rund 3,3E+7 oöcysten	7,6 – 12x1 – 91	7,5	Gras	<0,01%	0,23(±0,04)% oöcysten
Tate (2000)	soil 0,5/ni	Rund 1,0E+5 oöcysten	76,2 – 1,5 – 114	10	ni	Crypto: 1,5 uur: 5,2%	-
Bradford (2002)	No soil; RVS gaas met maaswijdte van 105 µm	Rund 9,6E+4 Ciardia 7,1E+4 Crypto	79,5 – 4,1 – 326	0	no	Giardia: 10-13,6% Crypto: 2,1-9,6%	-
Schijven (2004)	No soil; RVS gaas met maaswijdte van 105 µm	Rund 9,6E+4 Ciardia 7,1E+4 Crypto	79,5 – (4,1-83,6) – (326-6646)	0	no	Giardia: 4 uur: 11,6(±4,8)% 84 uur: 29,8(15,9)% Crypto: 4 uur: 9,4(±10,4)% 84: 42,4(±24,3)%	-
Davies (2004)	Leem (k=15 mm/h) 1,35/0,3	Rund 1000 gram 7.200 oöcysten	(55-25) – (0,5-3) – (27.5-75)	5/10	+/- (B/V)	B: 0,76(±1,04)% V: 0,001(±0,003)%	B: 0,003(±0,003)% V: 0,015(±0,02)%
Ferguson (2007)	Fijn zandig klei leem k=15 mm/h	Vers en oud : 2.500	110 – 0,5 – 55	18	ja/nee	10 m afstand/kaal vers: 0.5-0.9% oud; 0.01-0.06%	nee
Boyer 2009	Silt leem, intact en gepakt Referenties: zand/control Draineer bodem met Whatman 42 filterpapier (2,5 µm poriën) (0,018/0,5)	Rund 200 gram 1,0E+7 oöcysten	28 – 2 (2x/week gedurende 10 weken) – 1120	0	vegetatie	Controle (geen bodem) 0,12-0,27% ≤0,004%/dag	ongestoord > verstoord Range: 0,025-0,084%



Figuur 4.5 De FC doorslag gemeten in lysimeters belast met DSE en geïrrigeerd met regen- en grondwater gedurende 120 dagen (Jiang et al, 2008) met aanpassing gedocumenteerd in Pang (2009) Irrigatie: RW = regen, FW = overstroming

een aantal studies geweest die hebben gekeken naar de uitspoeling en transport van deze protozoa vanuit mest (Tabel 4.2). Mawdsley publiceerde in 1996 een studie naar de uitspoeling van oöcysten van *C. parvum* uit waterige rundermest verspreid op intacte bodemblokken in een opstelling met een regenwatersysteem (Figuur 4.6).



Figuur 4.6 Uitspoeling van oöcysten van *C. parvum* uit mest van runderen uitgespreid op bodemblok van 25 cm onder hoek van 7,5% en in 70 dagen 12x beregend (7,6 mm per keer; Mawdsley et al. (1996)); a = totaal aantal en b het cumulatieve percentage uitspoeling

De mest werd beënt met $5E+09$ oöcysten per 420 cm^3 mest en op een bodemblok gebracht met grasbegroeiing (0.8/0.56 m en 0.25 m diep). Deze was geplaatst in een opstelling onder een hoek van 7,5%. Hierover werd 3,4 liter water gespreoid en het afstromende water en infiltraat werden bemonsterd. In totaal werden er 12 regenmomenten over een periode van 70 dagen

bekeken. De uitspoeling bleek exponentieel en in twee fasen te verlopen: een snelle uitspoeling in de eerste 15 dagen, gevolgd door een trage uitspoeling in de periode daarna. De grootste uitspoeling van het totaal aangebrachte aantal oöcysten werd gevonden in het infiltraat en was 0,72%. De verhouding tussen het aantal in infiltraat en afstromend water was constant wat verklaard kan worden uit de verhouding tussen het volume van afstromend water en infiltraat. Op basis van de gegevens is de uitspoelsnelheid berekend in oöcysten/uur. Op dag 1 lag deze op 0,023%/uur en in de periode tussen 1 en 4 dagen is de snelheid gedaald tot <0.001%/uur.

Een andere studie beschrijft een proef met kalverenmest besmet met oöcysten (Mawdsley et al., 1996) waar de uitspoeling van deze organismen bij een sterke eenmalige regenbui van 76,2 mm/h gedurende 90 minuten op een afstand van 1 m is bepaald. Uit de gegevens blijkt dat in de eerste 40 minuten de uitspoelsnelheid 7,5%/uur was en daarna daalde tot ca. 1%/uur (Figuur 4.7). Dit is een factor 43 hoger dan waargenomen bij de proef van Mawdsley (Figuur 4.6).

Bradford en Schijven (2002) hebben onder laboratoriumcondities met mest van runderen besmet met (oö)cysten van *Cryptosporidium* en *Giardia* de uitspoeling bepaald bij hevige regenval (79,5 mm/h gedurende 4,1 uur of 250 minuten). Het water had een variabele geleidbaarheid waarbij de laagste waarde van 0,3 dS/m overeenkomt met drinkwater. De hogere geleidbaarheid simuleerde waterige mest of urine. Uitgaande van het water met de laagste geleidbaarheid is het uitgespoelde percentage voor *Cryptosporidium* 9,6 - 2,1% en voor *Giardia* 13,6 - 10,0%, percentages die overeenkwamen met het mest massa (gram) uitspoelpercentage van 10,8 - 13,0%. Bij toenemende geleidbaarheid neemt het uitspoelpercentage af door een betere hechting. In dit onderzoek zijn geen (oö)cysten aantallen direct bepaald maar afgeleid uit de mestuitspoeling C_m dat was gebaseerd op de toename en afname van de optische dichtheid bepaald bij 660 nm (ijklijn van mestconcentratie in water met OD_{660}). De omrekening naar (oö)cysten vond plaats op basis van een lineair verband tussen de mestconcentratie C_m en de parasieten concentratie C_p . Uit de gegevens is een empirische formule afgeleid die door Pachepsky et al. (2006) omgeschreven is naar de volgende massabalans:

$$M_r = M_m \left[1 - \frac{1}{(1 + \alpha\beta)^{1/\beta}} \right]$$

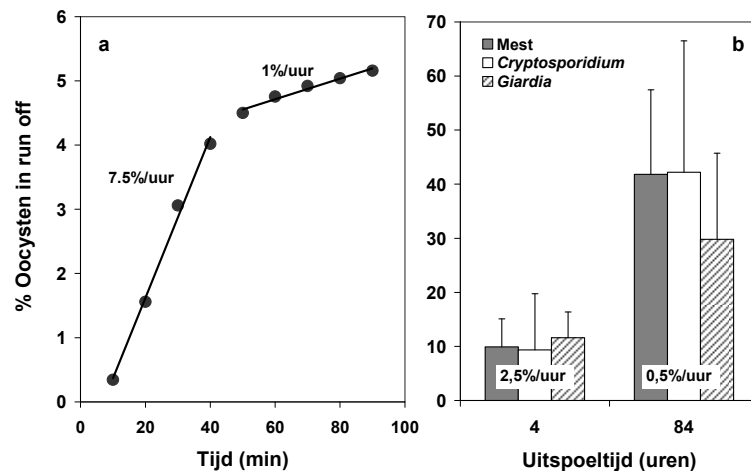
Waarin M_r en M_m de massa in respectievelijk de runoff en in de mest zijn en α en β dimensieloze fittings parameters die afhankelijk zijn van de geleidbaarheid toegepast bij het onderzoek:

$$\alpha = 5 \times 10^{-4} EC^{-0,127} \text{ en } \beta = 4.95 \exp(0,097 EC)$$

Schijven et al. (2004) beschrijven dezelfde proeven waarbij de uitspoeling ook over een periode van 84 uur is bepaald. Op basis van de in dit artikel gepresenteerde gegevens is de uitspoelsnelheid bepaald. In de eerste uren is dat 2,5% per uur en over de langere periode van 84 uur is dat 0,5% per uur. Deze gegevens zijn in orde van grootte vergelijkbaar met de gegevens van Tate et al., (2000) (Figuur 4.7).

Door Guber et al. (2006) is een modelvergelijking gedaan toegepast op de beschrijving van de uitspoeling van mestcomponenten inclusief fecale coliformen (FC). Hierbij werd gebruik gemaakt van een lysimeter geplaatst onder een hoek van 20° en rundmest slurry die werd berekend met verschillende intensiteit gedurende 1 uur. De uitspoeling van de verschillende componenten (P, Cl-, opgelost koolstof OC en FC) kon goed worden beschreven met het Bradford/Schijven model en de beide fit parameters zijn berekend. De α bleek sterk gecorreleerd met de irrigatie intensiteit beschreven met: $\alpha = 0,0361 + 0,803q$ waarin q de

irrigatie intensiteit in cm/h is. De variatie in de parameter β bleek afhankelijk te zijn van de aanwezigheid van vegetatie.

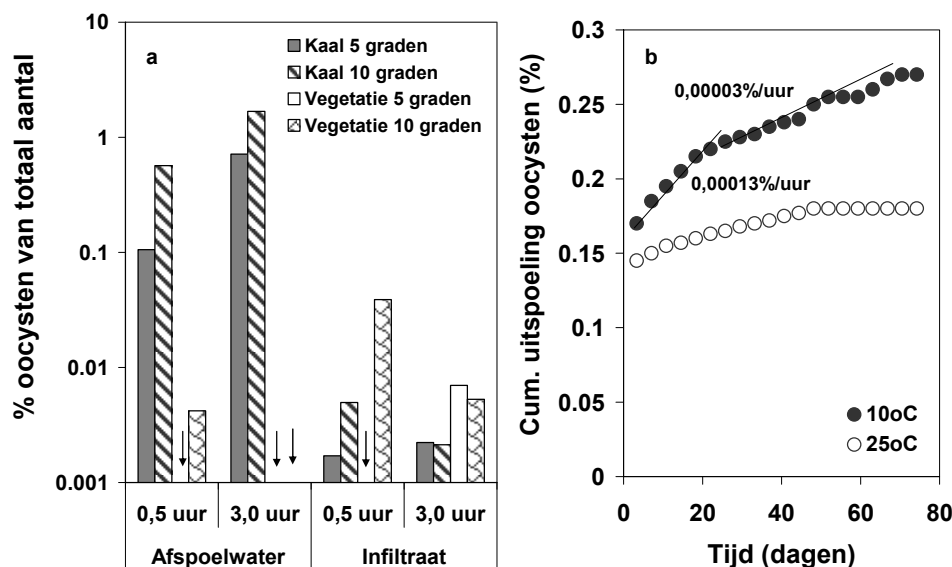


Figuur 4.7 Uitspoelproeven met (oö)cysten uit mest van runderen door (a) Tate et al. (2000) en (b) Schijven et al. (2004)

Davies et al. (2004) beschrijft een onderzoek dat qua opzet vergelijkbaar is met andere uitspoelproeven van *Cryptosporidium* (oö)cysten uit mest van runderen onder gesimuleerde regencondities met intacte bodemblokken. Bodemblokken (0,9/1,5 m en 0,3 m diep) van leem (49% zand, 27% silt en 24% klei) met een k-waarde van 15 mm/h werden in een opstelling geplaatst onder verschillende hoeken belast met standaard mestmonsters (1 kg) kunstmatig besmet met *Cryptosporidium* ($7,2 \times 10^6$). De parameters die werden getest waren de hoek (5 of 10°), vegetatie (met of zonder gras) en de regenval intensiteit. De gesimuleerde regenval (kunstmatig regenwater) was 55 mm/h gedurende 0,5 uur en 25 mm/h gedurende 3 uur. Het aantal oöcysten werd gemeten in het afstromende water 1 m van de mest en het infiltraat van de blokken. Het totale percentage dat tijdens de proeven werd waargenomen in het infiltraat en het afstromende water van de blokken was over het algemeen <1% (Figuur 4.8). De verschillende parameters hadden allen een significant effect op het aantal oöcysten in het afstromende water. Het percentage oöcysten dat in het infiltraat werd waargenomen was duidelijk lager (<0,04%) en hier werd een licht effect gezien van de aanwezigheid van vegetatie, een hoger percentage in het infiltraat van de blokken met vegetatie. Een vergelijkbare studie werd beschreven door Ferguson [18] waar na 10 m transport over een kaal bodemoppervlak bij een regenbui van 55 mm/0,5 uur 0,5 en 0,9% afspoelde en uit dezelfde fecaliën na 1 week was dat percentage gedaald tot 0,01-0,06%, vermoedelijk door uitdroging. De aantallen in de fecaliën waren in die week niet afgenomen. Bij de proeven werd een significant effect waargenomen van de vegetatie op het transport en ook nam het aantal in het water af als functie van de transportlengte.

Boyer et al. (2009) deed proeven met oöcysten in mest van runderen met een regenval van 28 mm/h gedurende 2 uur per dag over een periode van 80 dagen. De uitspoelproeven zijn gedaan op kolommen (Ø15 cm, 50 cm diep) waarin geen bodemmateriaal zat (controle, mest opgebracht op RVS zeef 150 µm) en met intacte en gestapelde bodem kolommen van een siltige leemsoort. Als referentie werd een zandkolom meegenomen (0,6-0,85 mm). De draineerbodem van de kolommen was bedekt met een Whatman filter papier no. 42 met een nominale poriegrootte van 2,5 µm. Dit maakt de studie minder goed interpreteerbaar. Bij de controle was er geen bodem en filterpapier waardoor de condities hiervan vergelijkbaar zijn met de proeven van Bradford en Schijven. Uit de gegevens van deze controle proeven blijkt dat er maar een gering percentage van 0,15-0,17% van de oöcysten direct uitspoelde uit de mest. Bovendien

nam de uitspoeling af met de tijd en nam de cumulatieve uitspoeling toe tot maximaal 0,27% (Figuur 4.8).



Figuur 4.8. Het percentage oöcysten dat uitspoelt uit rundermest opgebracht op intacte bodemblokken onder verschillende condities (hoek en vegetatie) via afstroming of infiltratie bij een regenbui van verschillende intensiteit (a; Davies, 2004 en b Boyer et al., 2009) uit rundermest opgebracht op een RVS zeef (150 µm) boven een 50 cm kolom bij twee temperaturen gedurende een duurproef met een regelmatige belasting met kunstmatig regenwater

Deze uitspoeling was duidelijk lager dan gevonden door Bradford en Schijven (2002, 2004) (2,1-9,4% in de eerste 4 uur). De auteurs (Boyer et al., 2009) beargumenteerden dat de lagere geleidbaarheid van het kunstmatige regenwater in hun studie (0.0001 dS/cm) ten opzichte van de laagste geleidbaarheid van het kunstmatige regenwater van 0,12 dS/cm bij de studies van Bradford en Schijven, een rol kan hebben gespeeld bij het verschil. Maar ook de regenintensiteit van 28 mm die lager was dan de regenintensiteit bij de studies van Bradford en Schijven (90 - 310 mm/h) kan een bijdrage hebben geleverd aan het lagere uitspoelpercentage in de studie van Boyer. In de studie is niet gekeken naar de uitspoeling van de mest (troebelheid of deeltjes) zoals bij de Bradford en Schijven studies.

Zoals hiervoor is aangegeven, zijn de uitspoelgegevens van de kolommen waarschijnlijk beïnvloed door de aanwezigheid van het filterpapier onder de kolommen. De auteurs claimen echter dat het percentage van de oöcysten tegengehouden door dit papier gering was t.o.v. de aantallen in het infiltraat. Uit de gegevens van de aantallen oöcysten in het infiltraat na de bodemkolommen blijkt dat opnieuw dat de doorslag in een ongestoorde kolom hoger was dan in een gestapelde kolom (Tabel 4.3).

Tabel 4.3. De uitspoeling van oöcysten vanuit mest van runderen zonder (controle) en met bodemkolommen (leemachtige bodem) ongestoord of gestapeld over een periode van ca. 12 weken (Boyer et al., 2009)

Conditie		% oocysten uit mest in infiltraat van 0,5 m bodemkolommen (leem met slib met vegetatie) bij (regenval 2,8 mm/h; 112 mm/week in 12 weken)
Exp. 1	Controle (geen bodem)	0,11
	ongestoord	0,025
	gestapeld	0,005
Exp. 2	Controle 10oC	0,27
	Ongestoord 10oC	0,084
	Controle 25oC	0,18
	Ongestoord 25oC	0,058

Opmerkelijk was dat de retentie in de kolom gevuld met een ongestoorde bodem slechts een factor 3-4 hoger was dan in kolom zonder bodemmateriaal (controle).

4.2 Transport van micro-organismen in de onverzadigde zone

Bij de begrazingsproef te Solleveld is een berekening met micro-organismen in drinkwater uitgevoerd rond een winput om het transport van micro-organismen in de onverzadigde zone boven de grondwaterspiegel te bepalen. Hierbij is de stap van uitspoeling uit de mest overgeslagen. De ondergrond was fijn duinzand en de dikte van de laag was 0,5 m. Deze werd met een regenintensiteit van 12,5 mm/h beregend. De gemiddelde verwijdering die werd gemeten bij deze proef is omgerekend naar het uitspoelpercentage (Tabel 4.4). Deze gegevens worden in deze paragraaf vergeleken met de in dit rapport beschreven uitspoelproeven met mest en andere transportproeven in de onverzadigde zone.

4.2.1 Vergelijking met uitspoelproeven met mest

Wanneer de uitspoelpercentages van de Solleveld proef worden gebruikt als kwantitatieve gegevens dan blijkt dat op grond van de MS2 gegevens er een vrij hoog percentage van virussen (7,64%) dat uitspoelt uit fecaliën door de onverzadigde zone heen te komen in zandbodems (Tabel 4.4).

Tabel 4.4 De gemiddelde log-verwijdering in de 50 cm onverzadigde zone en het daaruit berekende uitspoelpercentage waar van de beregeningsproef te Solleveld (Nobel en Cirkel, 2005)

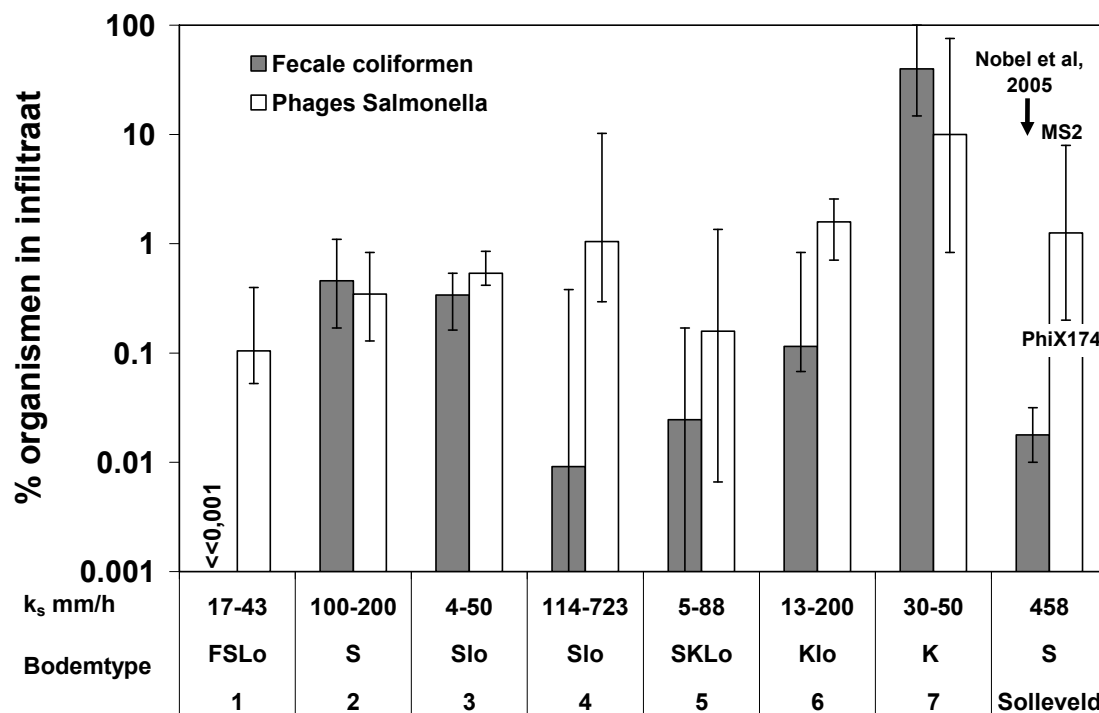
	Gemiddelde verwijdering (log)	% uitspoeling
MS2	1,1	7.94
PhiX174	2,7	0.20
<i>E. coli</i>	3,5	0.03
<i>Campylobacter lari</i>	4,0	0.01
<i>C. bifermentans</i>	2,8	0.16
<i>Cryptosporidium</i>	7,4	0.000004

Uit het beperkte aantal gevonden gegevens blijkt dat het percentage inspoeling uit een effluent van rundermest bij een vergelijkbare dikte van de onverzadigde zone bij 6 van de 7 bodemtypen lager is dan bepaald voor MS2 in drinkwater te Solleveld (Figuur 4.9). De doorbraak van PhiX174 gemeten te Solleveld komt beter overeen met de doorslag van de *Salmonella* fagen waargenomen bij deze 6 bodemtypen.

Het geschatte uitspoelpercentage van *E. coli* en *Campylobacter* van 0,03 en 0,01% gevonden in de proef te Solleveld ligt in de range van de lage waarden waargenomen bij de irrigatie proeven met rundermest effluent (Figuur 4.9). Het inspoelpercentage bepaald voor *Cryptosporidium* te Solleveld was laag vergeleken met de percentages bepaald in studies waarin de uitspoeling uit mest is meegenomen (Tabel 4.2 en Figuur 4.8).

4.2.2 Vergelijking met studies van transport in de onverzadigde zone

Zoals hierboven al aangegeven moet de doseerproef te Solleveld (Nobel en Cirkel, 2005) worden beschouwd als een kwantificering van de verwijdering van micro-organismen in een onverzadigde duinzandbodem. Omdat de bodem rondom de put ongestoord was, kan worden gesproken over 'praktijk' condities waar sprake is van een bepaalde mate van voorkeurstromen in de onverzadigde zone. Een conditie die echter een afwijking vormt met de praktijkcondities is de afgraving van de toplaag met vegetatie (graszoden). Het effect van deze toplaag is onduidelijk: het kan tot een grotere verwijdering hebben geleid vanwege een hoger organisch stofgehalte en biologisch activiteit en ook lagere permeabiliteit.



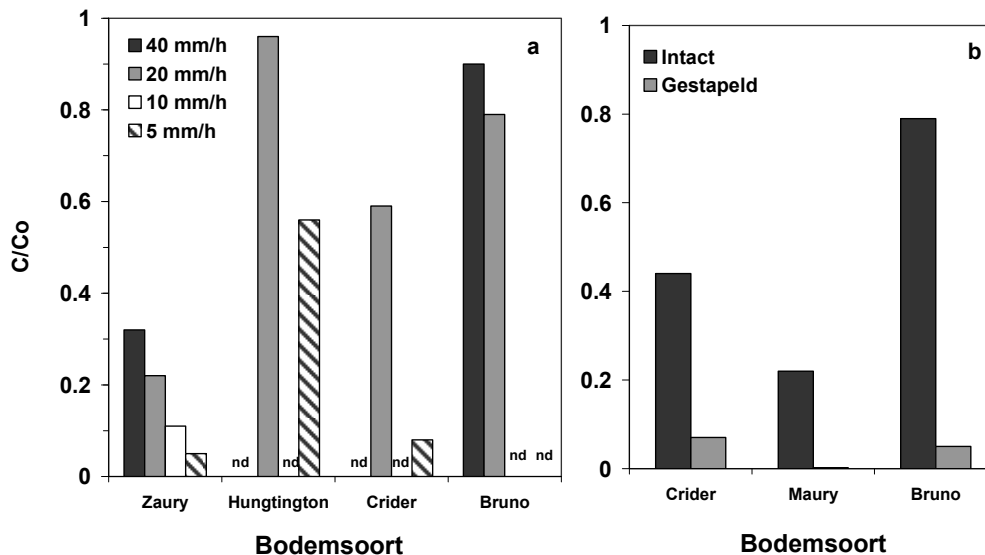
Figuur 4.9 Vergelijking van het transport van bacteriofagen in de onverzadigde zone bepaald onder regencondities met inspoeling uit SDE (1 t/m 7; Pang, 2009) en met inspoeling direct in water (Solleveld; Nobel en Cirkel, 2005)

Uit het verloop van de doorbraakcurven van de bacteriofagen, bacteriën en *Clostridium* sporen bleek er sprake te zijn van een snellere doorbraak van micro-organismen dan van de zoutpuls. Dit komt door het verschil in transport van deeltjes en opgeloste stoffen en de aanwezigheid van voorkeurstromen. Dat de aanwezigheid van voorkeurstromen leidt tot een sterkere doorslag en dat dat in diverse bodemtypen verschillend is werd door Smith et al. (1985) duidelijk gemaakt voor het transport van *E. coli* met een vergelijkbare studie. Suspensies (10^7 /ml) in 0,005 M CaCl_2 werden berekend op diverse kolommen met bodem materiaal (0,03 m² en 0,28 m diep) met snelheden van 5 – 40 mm/h gedurende 8-12 uur. De doorbraak van *E. coli* in de intacte bodemkolommen was direct en eerder dan de chloride doorbraak (exclusie in de macroporiën) en varieerde sterk per bodemsoort (<1-96%; Figuur 5.9a). Er was geen effect van de dichtheid van *E. coli* in het regenwater op de doorbraak ($1,0\text{E}+5$ – $1,0\text{E}+8$ /ml), maar wel een duidelijk effect van de regenintensiteit die varieerde tussen 0,5 en 4 cm/h (Figuur 4.10a) en de verstoring van de macroporiën (intact versus gestapeld; Figuur 4.10b).

In de eerdere genoemde literatuurstudie van Pang is een overzicht gegeven van studies naar transport van virussen, bacteriofagen en bacteriën in onverzadigde zones. Het gaat bij de proeven om veldproeven waar het transport van natuurlijke of gecultiveerde organismen uit mest (Manure of Man), uit afvalwater (WW) of uit effluent van een afvalwaterbehandeling (Sewage effluent of SE) is bepaald in een natuurlijke onverzadigde zone. Van de verschillende studies is de verwijdering bepaald uitgedrukt in log/m en weergegeven in Figuur 4.11. Naast de typen matrices en de organismen, is in de Figuur ook aangegeven wat de bodemsoort was in de onverzadigde zones van de verschillende studies.

Wanneer de twee hoge uitschieters gemeten in pumice zand en fijn zand van > 3 log/m niet worden meegenomen is de gemiddelde verwijdering van virussen en fagen $0,67 \pm 0,55$ log/m met een mediaanwaarde van 0,53 log/m en een range van 0,1 – 2,2 log/m (Figuur 4.11a). Dit

komt neer op een gemiddeld doorslag percentage van $21,5 \pm 28,2$ % per meter. Er is geen duidelijk verschil in verwijdering te zien tussen de virussen en fagen, maar de resultaten tonen wel een effect van de bodemsoort (Figuur 4.11a). De laagste verwijdering van 0,1 log/m werd gemeten voor grof zand met kleilenzen (GZK) en de meeste waarden van $<0,5$ log/m zijn waargenomen in wat meer grovere bodemtypen, terwijl waarden $>0,5$ log/m in de fijnere zandbodems werden bepaald.



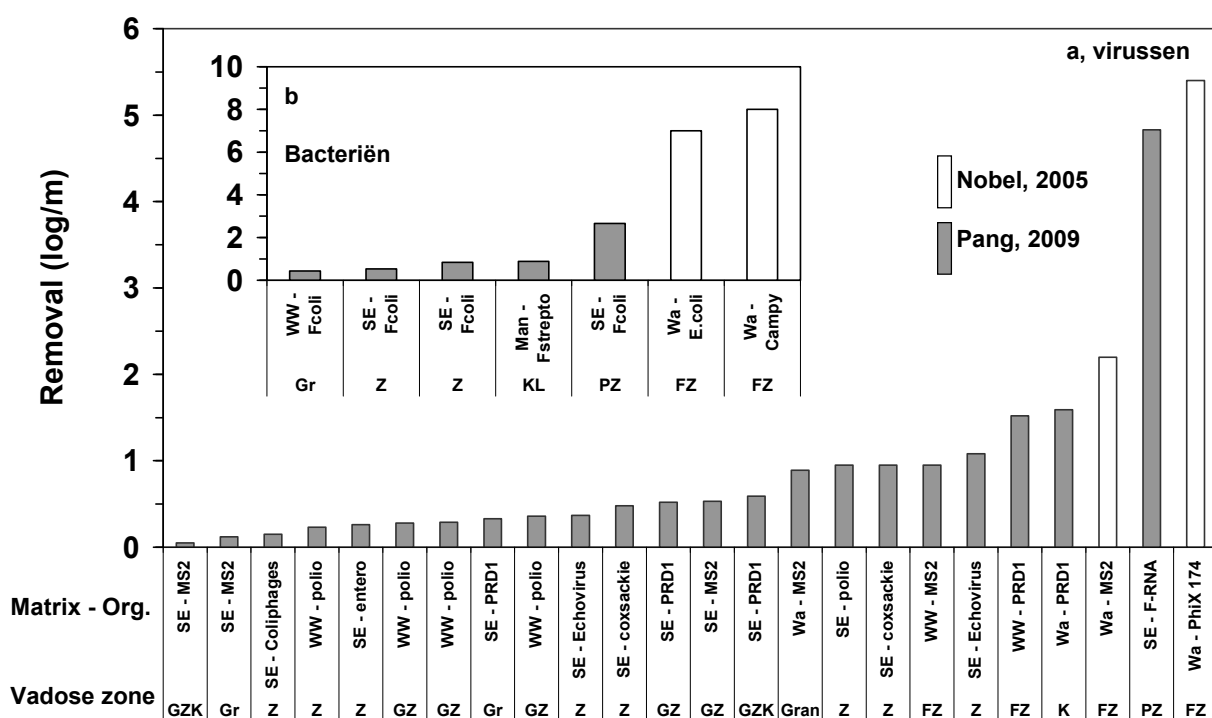
Figuur 4.10. De doorbraak van *E. coli* bij verschillende bodemsoorten berekend met verschillende intensiteit op (a) intacte bodemkolommen en (b) berekend met een vaste snelheid van 20 mm/h op intacte en gestapelde bodemkolommen van drie verschillende bodemtypen (Smith et al., 1985) (nd = niet bepaald; C/C_0 geeft de verhouding weer tussen het aantal in het water na en voor de bodemkolom)

De gegevens over het transport van bacteriën in de onverzadigde zone was beperkt met een vergelijkbare spreiding als waargenomen bij de virussen en bacteriofagen (Figuur 4.11b). Evenals voor de gegevens van de bacteriofagen, was de verwijdering van de bacteriën waargenomen in de proef te Solleveld hoog vergeleken met de andere studies die het transport in de onverzadigde zone beschrijven.

Het zandpakket te Solleveld bestond uit fijn zand (60%) met een hoge homogeniteit waardoor zeefwerking een belangrijke bijdrage kan hebben gespeeld. Daar staat tegenover dat zeefwerking bij transport grotendeels bepaald door preferente stroombanen geen rol speelt. Een andere factor die mogelijk heeft bijgedragen aan de grote verwijdering te Solleveld is het gebruik van drinkwater als kunstmatig regenwater met een hoge geleidbaarheid. Dit bevordert de hechting. Daar staat tegenover dat de hoge pH van 8,2 van dit kunstmatige regenwater de verwijdering door hechting negatief zal hebben beïnvloed.

4.3 Conclusies

Op basis van de gepresenteerde gegevens in dit hoofdstuk kan worden geconcludeerd dat er beperkt kwantitatieve gegevens te vinden zijn over de uitspoeling van pathogene micro-organismen uit mest. Er zijn twee studies gevonden met rundermest. Voor de uitspoeling van natuurlijke indicatorbacteriën uit rundermest wordt het uitspoelpercentage bepaald door overleving in de mest. Voor (oö)cysten in rundermest is de mate van uitspoeling direct gerelateerd aan de verspreiding van de mest en dus de consistentie van de mest (waterig dun of droog en hard).



Figuur 4.11. De verwijdering van virussen, bacteriofagen en bacteriën in diverse onverzadigde bodemtypen zoals samengevat door Pang (2009); Matrix - org.: SE = sewage effluent, WW = waste water, Wa = water; Vadose of onverzadigde zone: GZK = grof zand/klei, GZ = grof zand, Gr = grind, Z = zand, FZ = fijn zand, PZ = pumice zand, K = klei, Gran = graniet

De meeste uitspoelstudies gevonden in de literatuur beschrijven de uitspoeling gecombineerd met inspoeling in de eerste circa 50 cm van de onverzadigde bodemlaag. De conclusies die uit deze proeven kunnen worden getrokken zijn de volgende:

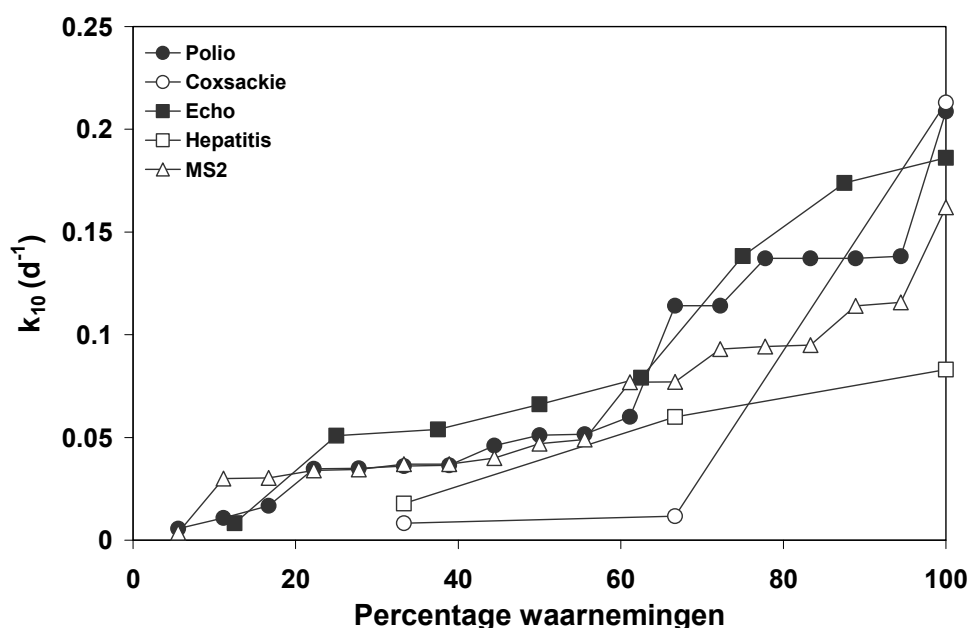
- Voorkeurstroming speelt een belangrijke rol bij het transport van micro-organismen in deze laag;
- Hierdoor is het effect van de hechtingkarakteristieken van bodem (korrelgrootte, samenstelling) en micro-organisme (grootte, oppervlakte eigenschappen) van minder belang;
- Vegetatie bevordert de retentie van regenwater en vermindert afstroming van micro-organismen;
- Regenintensiteit is een belangrijke factor met betrekking tot de mogelijkheden van uitspoeling en transport;
- De consistentie van de mest is ook van belang: de uit- en inspoeling van bacteriën in kippenmest was hoog.

Er zijn kwantitatieve gegevens beschikbaar voor uitspoeling en doorslag van virussen, bacteriën en protozoa in mest. Omdat de condities waaronder deze zijn bepaald sterk kunnen verschillen en dit van grote invloed is op de waarden, zal bij toepassing van deze gegevens bij het modelleren van een praktijksituatie nadrukkelijk gekeken moeten worden naar de overeenkomsten en verschillen tussen de gebruikte gegevens en deze praktijksituatie.

5 Overleving van micro-organismen

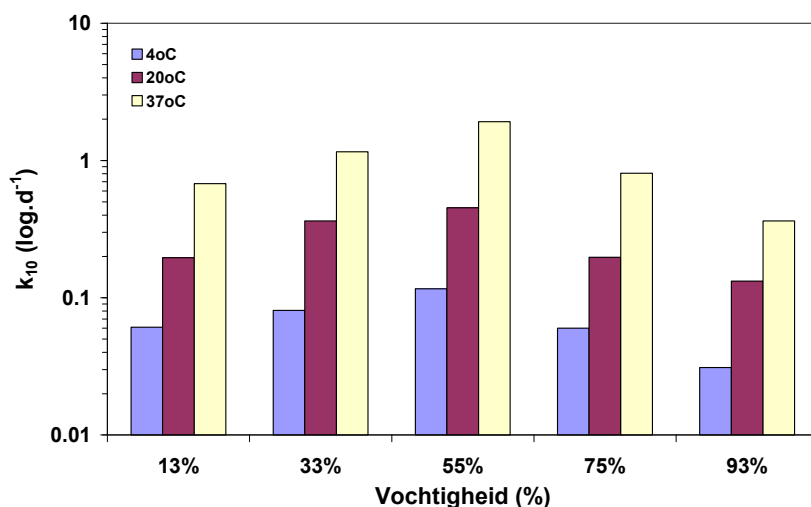
5.1 Overleving van virussen

In een eerder rapport (Van der Wielen, 2005) is een literatuuroverzicht gegeven van de inactivatieconstanten (k_{10} = log10 afname per dag) van humaanpathogene virussen in water. De verdeling van de gevonden waarden voor een aantal soorten is in Figuur 5.1 weergegeven.



Figuur 5.1 Inactivatieconstanten van virussen en fagen in water bij verschillende temperaturen (3-15 °C; bron: Van der Wielen et al., 2005)

Er is één studie gevonden van de afsterving van humaanpathogene virussen in fecaliën (Tabel 5.1). De afstervingsconstante van rotavirus in een dunne laag fecaliën bleek bij een temperatuur van 4°C en diverse waarden van de luchtvochtigheid (Figuur 5.2) vergelijkbaar met de constanten van diverse virussen in water. Bij de hogere temperaturen ging de afsterving duidelijk sneller.



Figuur 5.2. De afstervingsconstanten bepaald van rotavirus in een dunne laag feces bij verschillende temperatuur en luchtvochtigheid (Moe and Shirley, 1982)

Voor het Avian influenza virus zijn afstervingsconstanten bepaald onder verschillende omstandigheden (Tabel 5.1). Deze virussen bleken in vergelijking tot de andere genoemde virussen bij hogere temperaturen meer persistent.

Tabel 5.1. Afsterving van virussen in fecalien en water

Referentie	Organism	Matrix, gewijzigde luchtoochtigheid (%) pH en geleidbaarheid mS	Temp (°C)	k-value (log10/d)
Moe 1982	Rotavirus	Human faecal supern. 13%	4	0,061*
	Rotavirus	Human faecal supern. 13%	20	0,196*
	Rotavirus	Human faecal supern. 13%	37	0,678
	Rotavirus	Human faecal supern. 33%	4	0,081*
	Rotavirus	Human faecal supern. 33%	20	0,363*
	Rotavirus	Human faecal supern. 33%	37	1,156
	Rotavirus	Human faecal supern. 55%	4	0,116*
	Rotavirus	Human faecal supern. 55%	20	0,452*
	Rotavirus	Human faecal supern. 55%	37	1,917
	Rotavirus	Human faecal supern. 75%	4	0,06*
	Rotavirus	Human faecal supern. 75%	20	0,197*
	Rotavirus	Human faecal supern. 75%	37	0,806
	Rotavirus	Human faecal supern. 93%	4	0,031*
	Rotavirus	Human faecal supern. 93%	20	0,132*
	Rotavirus	Human faecal supern. 93%	37	0,363
Graiver 2009	Avian Inf. Virus	landfill leachate	4	0,02*
	Avian Inf. Virus	landfill leachate	20	0,14*
	Avian Inf. Virus	landfill leachate	37	0,19
	Avian Inf. Virus	landfill leachate pH6	21	0,04*
	Avian Inf. Virus	landfill leachate pH9	21	0,12*
	Avian Inf. Virus	landfill leachate 4mS	21	0,07
	Avian Inf. Virus	landfill leachate 9 mS	21	0,14
	Avian Inf. Virus	landfill leachate 30 mS	21	0,07
	Avian Inf. Virus	water	4	0,02
	Avian Inf. Virus	water	21	0,05
	Avian Inf. Virus	water	37	0,1
	Avian Inf. Virus	water pH 6	21	0,02
	Avian Inf. Virus	water pH 9	21	0,05
	Avian Inf. Virus	water 4 mS	21	0,05
	Avian Inf. Virus	water 9 mS	21	0,05
	Avian Inf. Virus	water 30 mS	21	0,06

* geselecteerd voor model

5.2 Overleving bacteriën

In 2007 is een studie gepubliceerd naar de afsterving van *E. coli* en enterococcen in zoet oppervlaktewater. De gemiddelde afstervingsconstanten zijn in Tabel 5.2 gepresenteerd. Anders dan over het algemeen wordt aangenomen bleken de natuurlijke intestinale enterococcen sneller af te sterven dan *E. coli*.

In Tabel 5.3 zijn een aantal afstervingsconstanten van pathogene bacteriën in diverse mestsoorten genoemd. Voor de afsterving van *E. coli* O157 in koeienmest is door Pachepsky et al. (2006) een empirische formule afgeleid op basis van de afstervingsgegevens van Himathongkham et al. (1999) waarin de afhankelijkheid met de temperatuur is uitgedrukt. Deze luidt als volgt:

$$\log k_d = (-0,063 \pm 0,005) + (0,028 \pm 0,004)(T-20)$$

met k_d de afstervingsconstante ($\log.d^{-1}$) en T de temperatuur ($^{\circ}C$).

Tabel 5.2 Afstervingsconstanten (k_{10} ($\log/dag$)) voor *E. coli* en enterococci in zoet oppervlaktewater gebaseerd op de resultaten van het onderzoek in 2004 en 2007 [Hijnen et al., 2007a,b]

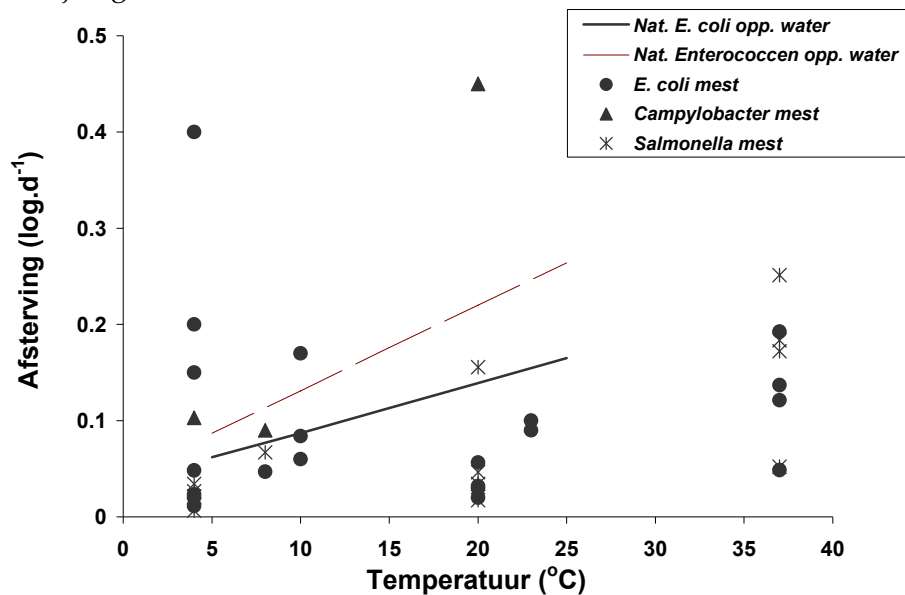
Temp. ($^{\circ}C$)	<i>E. coli</i>		<i>Enterococci</i>	
	K_{10} (n) ^a	95%-int. ^b	K_{10} (n) ^a	95%-int. ^b
5	0,062 (22)	0,073 – 0,050	0,087 (22)	0,109 – 0,066
10	0,087 (6)	0,103 – 0,072	0,131 (6)	0,157 – 0,104
15	0,113 (10)	0,133 – 0,094	0,176 (10)	0,206 – 0,143
20	0,139 (22)	0,163 – 0,115	0,220 (22)	0,254 – 0,181
25	0,165 (6)	0,193 – 0,137	0,264 (6)	0,303 – 0,219

^a n = aantal waarden; ^b 95% betrouwbaarheidsinterval

Tabel 5.3. Afsterving van *E. coli* O157, *Campylobacter* en *Salmonella* in mest (* geselecteerd voor model)

Referentie	Organisme	Matrix	Temp ($^{\circ}C$)	k_{10} ($\log_{10}/d$)
Kudva 1998	<i>E.coli</i> O157:H7 natuurlijk	Bovine	4	0,4*
	<i>E.coli</i> O157:H7 natuurlijk	Slurry	4	0,2*
	<i>E.coli</i> O157:H7 natuurlijk	Bovine	23	0,1
	<i>E.coli</i> O157:H7 natuurlijk	Slurry	23	>1,6
	Gecultiveerde <i>E. coli</i>	Bovine	4	0,15*
	Gecultiveerde <i>E. coli</i>	Bovine	10	0,17*
	Gecultiveerde <i>E. coli</i>	Bovine	23	0,09*
	Gecultiveerde <i>E. coli</i>	Ovine	10	0,09
Himathongkham, 1999	<i>E. coli</i> O157 cultured	Cow manure	4	0,048 – 0,023
		top – middle/bottom	20	0,020 – 0,032
			37	0,049 – 0,121
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Cow manure	4	0,034 – 0,021
		top – middle/bottom	20	0,017 – 0,047
			37	0,052 – 0,251
	<i>E. coli</i> O157 cultured	slurry cow manure	4	0,020 – 0,011
		vers-oud	20	0,030 – 0,057
			37	0,137 – 0,193
	<i>Salmonella typhimurium</i>	slurry cow manure	4	0,027 – 0,007
		vers-oud	20	0,034 – 0,156
			37	0,183 – 0,172
Avery 2005	<i>E. coli</i> O157 cultured	Ruw afvalw.	10	>0,06
	<i>E. coli</i> O157 cultured	Behandeld afvalw.	10	0,06
	<i>E. coli</i> O157 cultured	Afvalw. Slib	10	0,07
	<i>E. coli</i> O157 cultured	Bovine slurry	10	0,084
	<i>E. coli</i> O157 cultured	Ovine slurry	10	0,06
	<i>E. coli</i> O157 cultured	Zuivel afvalw.	10	<0,03
Hutchison 2005a	<i>Salmonella</i>	Boerderij mesthoop	40-60	0,55
	<i>E. coli</i> O157	Boerderij mesthoop	40-60	0,69
	<i>Campylobacter</i>	Boerderij mesthoop	40-60	0,46
Hutchison 2005b	<i>Salmonella</i>	Manure wastes vloeibaar	4.3 – 12.4	0,067
	<i>E. coli</i> O157	Manure wastes vloeibaar	4.3 – 12.4	0,047
	<i>Campylobacter</i>	Manure wastes vloeibaar	4.3 – 12.4	0,09*
Valdes-Dapena, 1983	<i>Campylobacter</i>	Human faecal samples	40C	0,103*
Gilpin 2008	<i>Campylobacter</i>	runder mest	20oC ?	0,45*
Close 2010	<i>Campylobacter</i>	Onverz. bodem 10% vocht	15oC	0,28*
	<i>Campylobacter</i>	5% vocht		0,48*
	<i>E. coli</i>	10%		0,0079

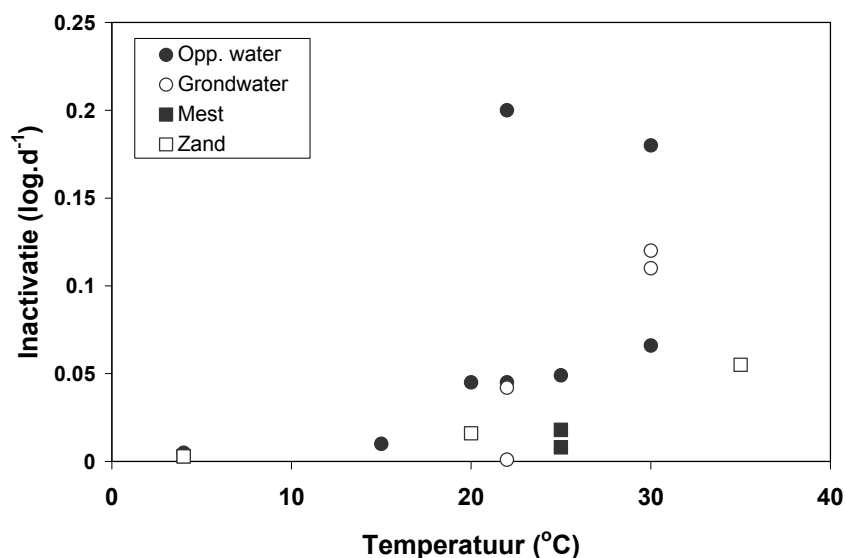
Uit de vergelijking gemaakt tussen de afstervingsconstanten in mest matrix en water (Figuur 5.3) komen aanwijzingen dat bacteriën beter overleven in de mest matrix dan in water.



Figuur 5.3 De afstervingsconstanten van bacteriën in mest vergeleken met die bepaald in water (gegevens uit Tabel 5.3)

5.3 Overleving van protozoën

Cryptosporidium en *Giardia* hebben in hun levenscyclus een fase waarin ze vergelijkbaar met sporevormende bacteriën als oöcysten en cysten worden verspreid in het milieu. In deze levensfase zijn de organismen persistent wat betekent dat ze lang kunnen overleven en persistent zijn tegen bepaalde desinfectie middelen. Over de mate waarin deze (oö)cysten in het milieu infectieus blijven voor de mens is een beperkte hoeveelheid literatuur gevonden die samengevat is in Tabel 5.4.



Figuur 5.4. De inactivatieconstanten voor *Cryptosporidium* bepaald in verschillende matrices, bij verschillende temperaturen; gegevens in opp. water en grondwater zijn bepaald met infectiviteitstesten

Tabel 5.4. Overlevingsgegevens van *Cryptosporidium* in diverse matrices en bij verschillende temperaturen

Referentie	Analysemethode	Matrix	Temp (°C)	k-value (log10/d)
Medema 1997	in vitro dye excl.	opp. water	5	0,01
		opp. water	15	0,011
Davies 2004	in vitro FISH	soil	4	0,0028
		soil	20	0,016
		soil	35	0,055
Robertson 1992	in vitro dye excl.	Feces	4	0,0007
		Feces	4	0,0065
		Rundermest	4	0,0026
		opp. water	4	0,0049
		Drinkwater	4	0,01
Jenkins 1999	in vitro dye excl.	Rundermest	4-30	0,0246
		Rundermest		0,01
		Rundermest	25-30	0,0077
		Rundermest		0,0088
King 2005	Infect. cell cult. Taqman	opp. water	4	<0,01
		opp. water	15	0,01
		opp. water	20	0,045
		opp. water	25	0,049
Ives 2007	Infectivity	Grondwater	22	0,001
		Grondwater	22	0,042
		Grondwater	30	0,11
		Grondwater	30	0,12
		Opp. water	22	0,045
		Opp. water	22	0,2
		Opp. water	30	0,066
		Opp. water	30	0,18

Er zijn relatief weinig gegevens over de inactivatieconstante voor *Cryptosporidium* bij temperaturen lager dan 20°C. Bij de temperaturen is de afstervingsnelheid zeer laag (ca. <0.01 log.d⁻¹). Bij hogere temperaturen neemt de afstervingsnelheid toe en in water varieert de snelheid van < 0.05 log.d⁻¹ tot 0.2 log.d⁻¹. Uit de gegevens kan indicatief worden geconcludeerd dat de constanten bepaald op grond van infectiviteit hoger zijn dan de constanten bepaald met *in vitro* metingen (microscopisch). Tevens zijn er aanwijzingen dat in fecaliën en zand de afsterving trager verloopt.

6 Het transport in de bodem

6.1 Bodemtransport en preferente stroming

Risico's op microbiologische contaminatie van grondwater met pathogene micro-organismen uit het milieu worden bepaald door de mogelijkheden tot transport en de kans op overleving in de bron (meestal mest) en tijdens de bodempassage. De kans voor de pathogenen om in het opgepompte grondwater te komen, wordt in belangrijke mate bepaald door de kans op uitspoeling, de interactie met de bodem en de transportsnelheid. Het eerste deel van het reistraject vindt plaats in de onverzadigde zone, het tweede deel in de verzadigde zone, beneden de grondwaterspiegel. De heterogeniteit van vegetatie, maaiveldhoogte, fysische en chemische eigenschappen van de ondergrond zorgt ervoor dat de reistijd van infiltrerend water een sterke spreiding vertoont. In dit hoofdstuk wordt beschreven welke processen en concepten aan de orde zijn bij infiltratie van water in bodems, met speciale aandacht voor preferente stroming. Preferente stroming (preferential flow) is stroming langs snelle routes in de ondergrond.

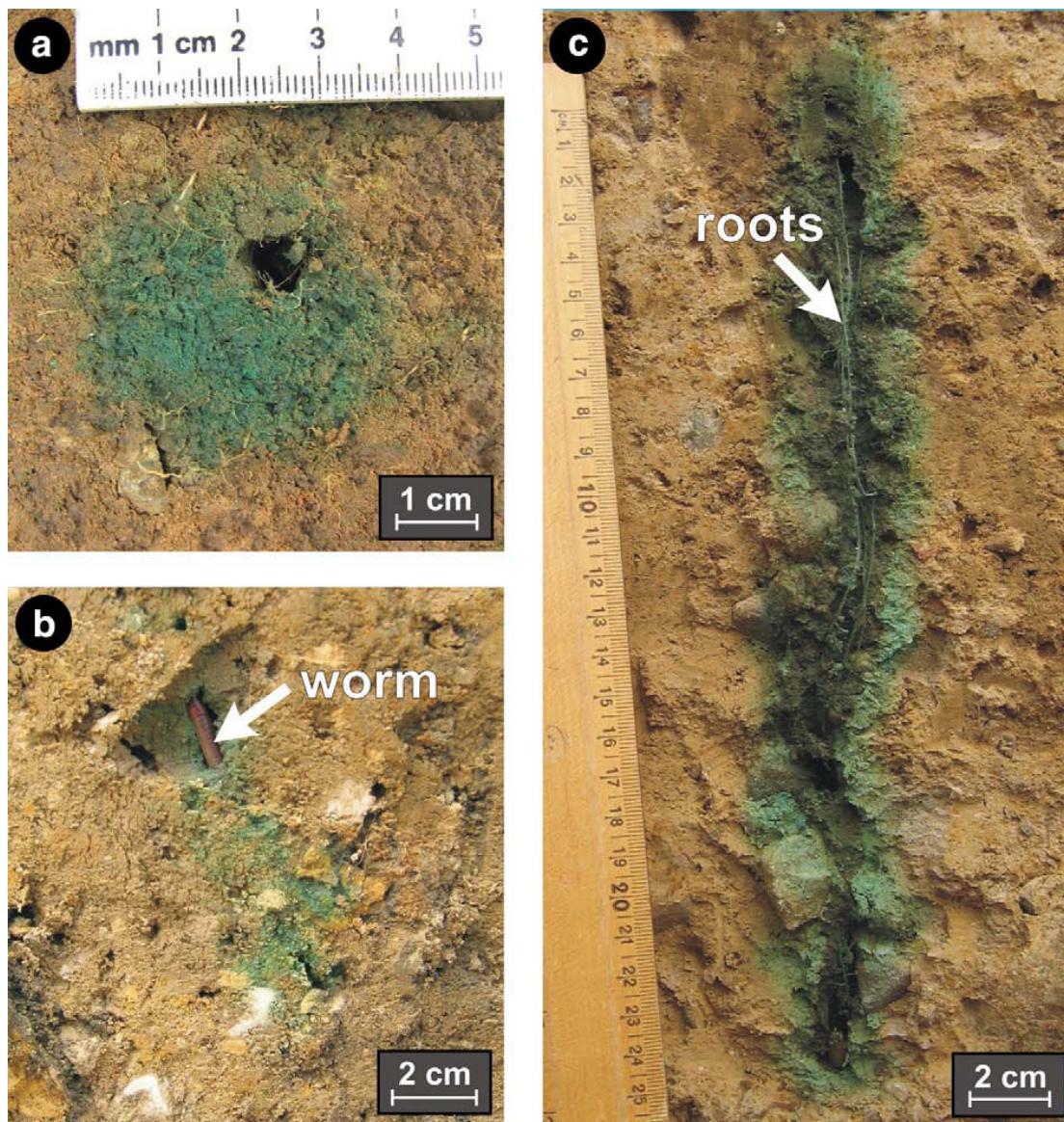
6.2 Macroporiën, Microporiën, Bioporiën

Deze concepten worden gehanteerd om onderscheid te maken tussen snellere en tragere routes van water dat in de bodem infiltreert. Macroporiën vormen onderdeel van snelle routes en kunnen ontstaan door zwellen en krimpen van de bodem als gevolg van afwisselend natte en droge omstandigheden of door erosie van kalksteenbodems. Ook vriezen en ontdooien van de bodem kan een oorzaak zijn. Vooral in veen-, klei- en leembodems kunnen macroporiën ontstaan door variaties van het vochtgehalte. Het kleimineraal montmorilloniet komt algemeen voor in Nederland en vertoont een sterk zwel- en krimpgedrag onder invloed van variaties van het vochtgehalte. Macroporiën met een diameter van 0.1 – 0.2 mm kunnen al een versnelde stroming tot gevolg hebben (Scotter, 1978).

Een andere vorm van macroporiën zijn bioporiën. Dit zijn gangen van mieren, wormen, kevers, muizen, mollen, ratten, konijnen, vossen, dassen, die bij zware regenval als snelwegen voor infiltrerend water kunnen fungeren. Weiler (PhD. Thesis, Institute of Technology, Zürich, 2001) rapporteert gemeten stroomsnelheden van infiltrerend regenwater in wormgangen van meer dan 10 cm/s. Wortels van bomen en planten, locaties waar ooit wortels aanwezig waren maar zijn afgestorven en verweerd, ondergrondse leidingen, heipalen, zandpalen², zandbanen³ en vergravingen kunnen ook preferente stroming tot gevolg hebben. Er is door tientallen wetenschappers onderzoek gedaan naar preferente stroming en er zijn veel aanwijzingen dat het fenomeen veelvuldig voorkomt (bijv. Cey et al. 2009, 2009b, Flury et al., 1994; Perillo et al., 1999; Kulli et al., 2003). Deze onderzoeken naar de uitspoeling van bestrijdingsmiddelen en andere tracers geven aan dat in veel bodems een deel van het infiltrerend water via 'snelwegen' de diepere ondergrond bereikt (Figuur 6.1).

² Verticale zanddrainage door het boren van een gat en dit opvullen met grof, goed water doorlatend zand of grind.

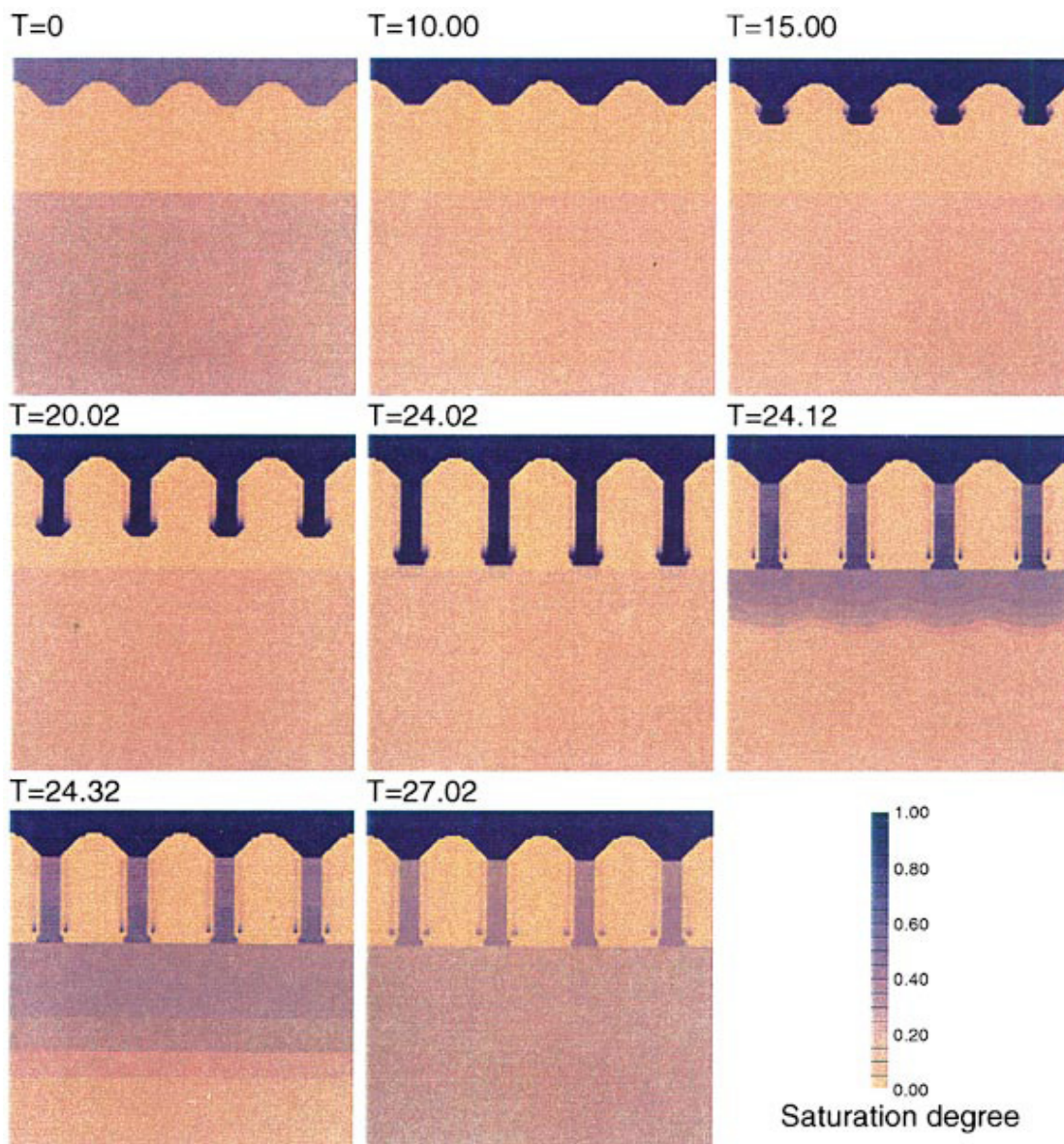
³ Samenhangende zandstructuren in heterogene bodems, ontstaan tijdens sedimentatie of door de aanleg van leidingen waarbij de leidingstrook met aanvulzand is gevuld; komen op verschillende schalen voor.



Figuur 6.1 Gebruik van kleurstof om preferente stroming aan te tonen (Cey et al. 2009)

6.3 Fingering

Preferente stroming kan ook in een nagenoeg homogene ondergrond (zowel in zandige als kleiige bodems) optreden in de vorm van “fingering”, het optreden van infiltratietongen of vingers als gevolg van een deels chaotisch en zelfversterkend proces door verhoogde hydraulische conductiviteit (waterdoorlatend vermogen) bij verhoogd vochtgehalte (Ritsema et al. 1999, De Rooij 1995). Dit proces wordt nog niet tot in de details begrepen, maar naar het zich laat aanzien speelt hierbij zowel oppervlaktewaterspanning als de relatie tussen doorlatendheid en vochtgehalte een rol. Wanneer het vochtgehalte van de bodem lokaal een klein beetje toeneemt, dan neemt de hydraulische doorlatendheid sterk toe, de watersafstotendheid af en stroomt water op de betreffende locatie veel gemakkelijker dan op naburige locaties, waar het vochtgehalte een weinig lager is. Ook bij het onderzoek in Solleveld werd dit fenomeen gezien.

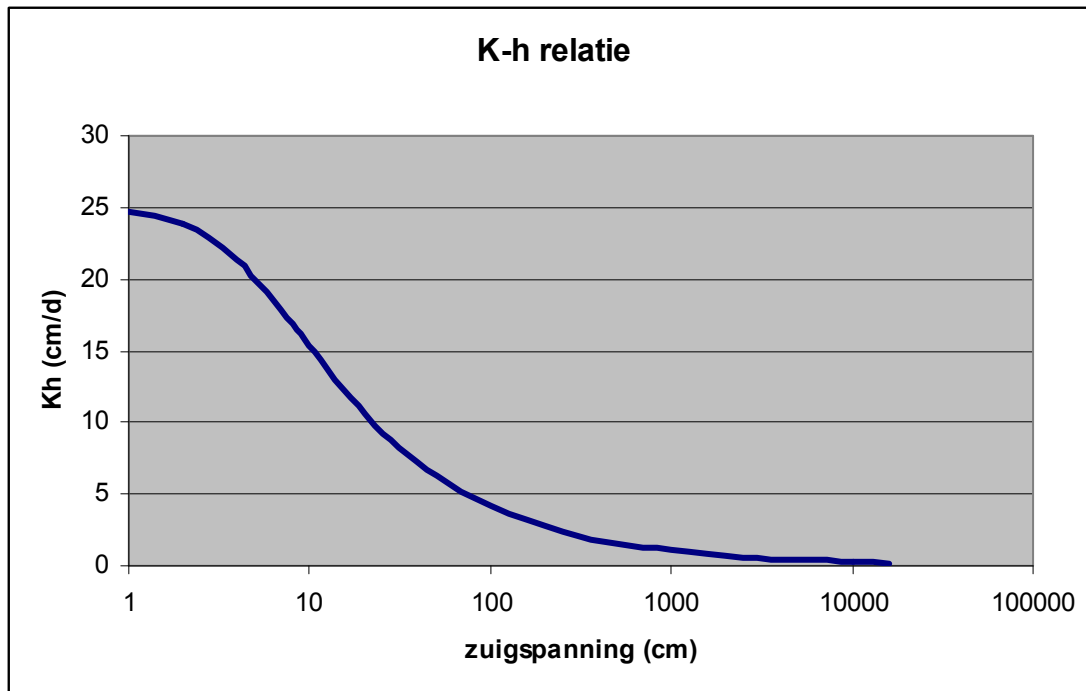


Figuur 6.2 Voorbeeld van infiltratietongen ("fingering"); simulatie van infiltratie in een hydrofobe bodem nabij Ouddorp door Ritsema en Dekker (1999). De eenheid van tijd is dagen.

6.4 Waterafstotendheid als oorzaak van preferente stroming

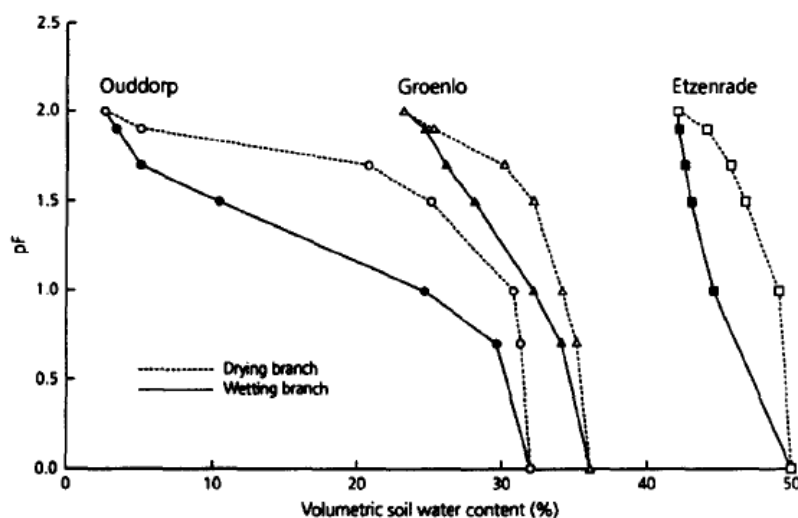
'Fingering' kan versterkt worden door waterafstotendheid bodems (hydrofobie, water repellency). In Figuur 6.2 is een simulatie van infiltratietongen ('fingering') weergegeven, in Figuur 6.3 is het verband tussen de hydraulische doorlaatfactor (K) en de zuigspanning (h) aangegeven. Naarmate het vochtgehalte in een bodem hoger is neemt de zuigspanning af. In de verzadigde zone is de zuigspanning 0, in een zeer droge bodem wel 16000 cm waterkolom. Hydrofobie wordt toegeschreven aan organische coatings om bodemdeeltjes, organisch materiaal en bepaalde microflora. Onderzoek van Ritsema et al. (1999) en Dekker en Ritsema (1994) aan een hydrofobe bodem bij Ouddorp heeft uitgewezen dat preferente stroombanen alleen optreden als de bodem droger is dan een bepaalde kritische waarde bij aanvang van de neerslag (Figuur 6.4). Waterafstotendheid heeft grote gevolgen voor het transport van water en opgeloste stoffen in de grond. Als het bodemoppervlak waterafstotend is zal regenwater niet onmiddellijk in de grond infiltreren maar afstromen naar lagere plekken. De invloed hiervan wordt in het veld getoond in Figuur 6.5. Wanneer de bodem de tijd heeft gekregen om

gelijkmatig vochtiger te worden dan de drempelwaarde, dan treedt de hydrofobie en preferente stroming niet op. Wanneer bij een volgende neerslaggebeurtenis de aanvangstoestand van de bodem droger is dan de drempelwaarde, dan treedt de preferente stroming weer op, en wel langs dezelfde routes als bij eerdere gebeurtenissen. De hydrofobe bodem bij Ouddorp bestaat uit een humeuze toplaag van 10 cm, met daaronder een laag kalkarm fijn duinzand van 75 cm en vervolgens kalkhoudend fijn zeezand. Potentiële hydrofobie in de bovenste 50 cm is zeer hoog, behalve in de humeuze toplaag. Dieper dan 50 cm is hydrofobie afwezig.



Figuur 6.3 K-h relatie van een zandbodem

'Fingering' treedt vooral op in zandgronden. Ritsema et al (1996) heeft een relatie gelegd tussen de mate waarin het fenomeen optreedt en het verband tussen zuigspanning en vochtgehalte van bodems. In een lössbodem treedt het verschijnsel niet op.



Figuur 6.4 pF curves met hysteresis van een extreem hydrofobe zandbodem in Ouddorp, een matig hydrofobe zandbodem in Groenlo en een nite-hydrofobe lössbodem in Etzenrade (Ritsema et al. 1996). pF is Log van de zuigspanning



Figuur 6.5 Foto van een golfbaanfairway waarvan delen zijn behandeld met een surfactant om de waterafstotendheid te verminderen. (Oostindie et al., 2008). Door toepassing van surfactant is de vochtverdeling ruimtelijk veel egaler geworden en daardoor zijn er geen lokale verdroogde plekken meer. Vóór toepassing van surfactant zijn op korte afstanden vochtgehalten gemeten die varieerden van 5 tot 35%

6.5 Micro-poriën

Naast macroporiën bestaan ook microporiën. Microporiën zijn de openingen die binnen de bodemmatrix aanwezig zijn en waar ook water door getransporteerd kan worden, zij het met een veel geringere snelheid dan door macroporiën.

Diverse modellen, bijv. het MACRO model (Jarvis 1994; Larsson and Jarvis 1999) en Gerke and Van Genuchten (1993) bieden de mogelijkheid om transport van grondwater te simuleren met een dual porosity (dual continuüm) benadering, bestaande uit stroming in twee afzonderlijke domeinen, één door macroporiën, en één met microporiën.

6.6 Effecten op transport in de bodem

6.6.1 Bestrijdingsmiddelen

Er zijn veel studies uitgevoerd naar de uitspoeling van pesticiden in relatie tot preferente stroming en duale porositeit. In een studie van Penna Scorza et al. (2004) is beschreven dat op een rivierkleigrond weliswaar geen bimodale uitspoelingkarakteristiek met twee onafhankelijke pieken is waargenomen, maar de hoogste gemeten concentraties bestrijdingsmiddel (w.o. Bentazon) in drainwater werden steeds gemeten na de eerste neerslagbui na dosering van het bestrijdingsmiddel. Het feit dat steeds de eerste neerslaggebeurtenis tot de hoogste concentraties leidde wijst op aanwezigheid van snelle preferente routes, omdat transport via microporiën een veel langere tijd zou vergen om de drains te bereiken. Het uitblijven van een tweede concentratiepiek wordt toegeschreven aan het grote reistijdverschil, dat een sterke afvlakking van de piek veroorzaakt. Nobel en Cirkel

(BTO 2005) hebben wel een duidelijke bimodale uitspoelingkarakteristiek gevonden bij de experimenten in Sollefeld.

Lewan et al (2009) hebben simulaties uitgevoerd met het model MACRO, één van de meest bekende modellen om preferente stroming in de onverzadigde zone mee te simuleren. Op grond van de resultaten concluderen de auteurs dat de initiële vochttoestand van de bodem en de aard van de neerslaggebeurtenis de twee belangrijkste factoren zijn in relatie tot de uitspoeling van contaminaties.

6.6.2 Micro-organismen

Cey et al. (2009) hebben onderzocht in welke mate de uitspoeling van kleurstof (Brilliant Blue FCF) correspondeert met die van colloïden (3.7 µm and 0.53 µm microspheres) die in dezelfde oplossing waren opgelost. Zij vonden dat weliswaar in de bovenste centimeters van de bodem er meer colloïden achterblijven dan kleurstof, maar dat in de overige delen van het profiel er een zeer sterke correspondentie was. Zij concluderen daarom dat de kleurstof een uitstekend surrogaat is voor de microsphere deeltjes, in elk geval voor het type bodems dat door hen onderzocht is (silthoudende leembodems).

De Amerikaanse staat Kentucky heeft in een groot deel van haar gebied dunne bodems van siltige klei, gelegen op een karstgesteente (ws. Kalksteen). De agrarische productie van kippen en ander gevogelte is in Kentucky een belangrijke sector en is sinds begin jaren negentig sterk gegroeid. Een deel van de rurale bevolking betreft haar drinkwater uit eigen putten. Bovengenoemde omstandigheden hebben aanleiding gegeven tot uitvoerig onderzoek door de universiteit van Kentucky naar de risico's van verontreiniging van grondwater door uitspoeling van mest met microbiologische pathogenen. In onderstaande tekst zijn de betreffende publicaties samengevat.

Smith et al. (1985) hebben experimenteel vastgesteld dat intacte gestoken kolommen een veel minder sterke belemmering vormen voor *Escherichia coli* dan kunstmatig samengestelde kolommen van los bodemmateriaal. Blijkbaar is er sprake van aanzienlijk sterkere preferente stroming in de natuurlijke, gestoken kolommen dan in de kunstmatige kolommen. Zij constateren dat veel onderzoek uitgevoerd is op kunstmatig samengestelde kolommen en dat die resultaten niet representatief zijn voor bodems. Het onderzoek is uitgevoerd in de VS, met siltige leem, siltige klei-leem. Gestoken kolommen hadden een diameter van 0.2 m en een lengte van ca. 0.3 m. De betreffende *Escherichia coli* zijn resistent gemaakt tegen het antibioticum Streptomycine, zodat na bodempassage de originele bacteriën van andere gescheiden kunnen worden met behulp van het antibioticum. De in het onderzoek toegepaste *Escherichia coli* zijn langwerpig van vorm met een lengte van 2 µm en een breedte van 1 µm.

De resultaten van het onderzoek tonen de zeer grote invloed van macroporiën in ongestoorde steekmonsters op het transport van bacteriën door de bodem. Tevens blijkt het transport van bacteriën in veel kolommen wezenlijk anders te verlopen dan chloride, dat als conservatieve tracer werd gebruikt. Size exclusion effect: de bacteriën zijn te groot om door kleine poriën te kunnen en gaan daarom allemaal door macroporiën.

Quisenberry et al. (1994) hebben kolomexperimenten uitgevoerd met siltige leemgrond. Ze hebben kubusvormige bodemmonsters gestoken van 32.5 cm per zijde en een chloride oplossing door het monster geleid met 100 injectienaalden, in een regelmatig netwerk opgesteld. Aan de onderzijde van het blok werd de oplossing opgevangen in 100 aparte cellen. Resultaat van de experimenten is dat een groot deel van de totale flux plaatsvindt door een klein aantal macroporiën. Herhaalde experimenten leverden steeds dezelfde ruimtelijke verdeling van fluxen op. Meer dan 50% van de flux vond plaats in minder dan 20% van de kolom.

Philips et al (1995) hebben transport van water met chloride als tracer door ongestoorde kolommen onderzocht. De bodem bestond uit siltige leem. Aan de onderzijde werd onderdruk

toegepast om de snelheid van het transport te reguleren. De onderzoekers concluderen dat de mate van onderdruk aan de onderzijde bepalend is voor het aantal droge cellen en ook voor de flux door macroporiën. DE onderdruk aan de onderzijde had meer effect op preferente stroming dan de dosering van de flux aan de bovenzijde.

McMurry et al. (1998) hebben fecale coliform transport door met kippenmest behandelde ongestoorde kolommen onderzocht. M.n. de invloed van grondbewerking op preferente stroming is onderzocht. Kolommen met een graszode bedekking lieten fecale coliformen meer en sneller door dan kolommen met een geploegde top.

White (1985) heeft de invloed van macroporiën op transport van water met daarin opgeloste en gesuspendeerde stoffen onderzocht. Beven and Germann (1981) hebben equivalente diameters van macroporiën berekend en rapporteren een bereik van 30 – 3000 µm. Het volume macroporiën in Oxford klei bedraagt 1 – 5%, bepaald uit het verband tussen volumetrisch vochtgehalte en zuigspanning (pf curve) bij lage zuigspanningen.

Bovengenoemde onderzoeken zijn hoofdzakelijk uitgevoerd op siltige en lemige kleibodems. In los gepakte zandbodems is minder structuur aanwezig en treedt minder scheurvorming op. Het percentage silt en leem is bepalend voor deze eigenschappen.

6.6.3 Technieken

Metten van preferente stroming is in de hierboven beschreven onderzoeken met diverse technieken uitgevoerd:

- Veld- en laboratoriumexperimenten met diverse kleurstoffen als tracer (w.o. brilliant blue)
- Kolomexperimenten met bacteriestammen die resistent gemaakt zijn tegen antibiotica
- vochtgehalten in de bodem door analyses van monsters in het lab
- vochtgehalten in het veld met diverse apparatuur, w.o. rapid response tensiometers of TDR probes
- meten van concentraties van chemische tracers in drains
- fotografie en beeldanalyse van gegraven profielen
- microsfeer tracers (colloïden) als surrogaat voor microbiële pathogenen

6.7 Transport in de verzadigde zone

Schijven et al. (Schijven and Hassanizadeh 2002; Schijven et al. 2005; Schijven et al. 2006) hebben een model ontwikkeld waarmee de afstand en reistijd van de microbiologische beschermingszone rond grondwaterwinningen kan worden berekend. Het virustransportmodel geeft de relatie weer van de hoeveelheid virussen die na bodempassage overblijft als functie van de afstand.

In het model van Schijven et al. (Schijven and Hassanizadeh 2002) wordt aangenomen dat op een afstand R van de pompput, water uit een lekkend riool direct in het grondwater terecht komt. Het transport van virussen in het watervoerende pakket wordt onder steady state condities beschreven door (Schijven and Hassanizadeh 2002) zoals hierna beschreven.

$$\frac{dC}{dr} - \alpha_L \frac{d^2C}{dr^2} + \frac{\lambda}{v} C = 0 \quad (1)$$

C	virusconcentratie	$[m^{-3}]$
r	afstand tot de pompput	$[m]$
α_L	longitudinale dispersiviteit	$[m]$
v	poriewatersnelheid	$[m \text{ dag}^{-1}]$

λ	verwijderingscoëfficiënt	[dag ⁻¹]	(2)
	$\lambda = k_{att} + \mu_l$		
k_{att}	hechtingssnelheidscoëfficiënt	[dag ⁻¹]	
μ_l	inactivatiesnelheidscoëfficiënt	[dag ⁻¹]	

Onder homogene condities wordt de poriewatersnelheid v richting de pompput beschreven door:

$$v = -\frac{Q}{2\pi\epsilon D r} \quad (3)$$

Q	onttrekkingsdebiet van de pompput	[m ³ dag ⁻¹]
ϵ	de effectieve porositeit	[-]
D	de dikte van het watervoerende pakket	[m]

Volgens de colloïd-filtratietheorie van Yao (Yao et al. 1971) kan de hechtingssnelheidcoëfficiënt (k_{att}) worden beschreven door:

$$k_{att} = \frac{3}{2} \frac{(1-\epsilon)}{d_c} \alpha 4 A_S^{1/3} \left(\frac{D_{BM}}{d_c \epsilon v} \right)^{2/3} \quad (4)$$

d_c	de korreldiameter	[m]
α	botsingsefficiëntie	[-]
A_S	Happel's porosity dependent parameter	[-]

$$A_S = 2 \frac{(1-\gamma)^5}{(2-3\gamma+3\gamma^5-2\gamma^6)} \quad (5)$$

waarbij

	$\gamma = (1-\epsilon)^{1/3}$	
D_{BM}	diffusieconstante	
	$D_{BM} = \frac{K_B (T + 273)}{3\pi d_p \mu}$	[m ² s ⁻¹]
K_B	Boltzmann constante	[1,38 × 10 ⁻²³ J K ⁻¹]
T	watertemperatuur	[°C]
d_p	virusgrootte	[m]
μ	dynamische viscositeit	[kg m ⁻¹ s ⁻¹]

$$\eta = \frac{\rho \times 497 \cdot 10^{-6}}{(T + 42,5)^{3/2}}$$

ρ	dichtheid van water	[999,703 kg m ⁻³]
--------	---------------------	-------------------------------

Vervanging van vergelijkingen (3) en (4) in (1) resulteert in de volgende vergelijking:

$$\frac{dC}{dr} - \alpha_L \frac{d^2 C}{dr^2} - (k_1 r^{2/3} + k_2 r) C = 0 \quad (7)$$

waarbij

$$k_1 = \frac{3}{2} \frac{(1-\epsilon)}{d_c} \alpha 4 A_S^{1/3} \left(\frac{D_{BM} 2\pi D}{d_c Q} \right)^{2/3} \quad (8)$$

$$\text{en} \quad k_2 = \frac{2\pi\epsilon D}{Q} \mu_l \quad (9)$$

Een andere aanname die Schijven et al. (Schijven and Hassanizadeh 2002) maken is dat dispersie verwaarloosbaar is en daardoor niet wordt meegenomen in het model. Vergelijking (7) krijgt dan de volgende oplossing (Schijven and Hassanizadeh 2002):

$$\ln(C) = \frac{3}{5} k_1 r^{5/3} + \frac{1}{2} k_2 r^2 + C^* \quad (10)$$

waarbij

C^* Integratieconstante, met grenscondities

$$C_R = C_0 \frac{q}{Q_R} \text{ bij } r = R$$

C_0	initiële virusconcentratie in de rioolbuis	$[\text{m}^{-3}]$
C_R	virusconcentratie in het watervoerende pakket op R	$[\text{m}^{-3}]$
q	leksnelheid van het rioolwater	$[\text{m}^3 \text{ s}^{-1}]$
Q_R	stroomsnelheid in het watervoerende pakket op R	$[\text{m}^3 \text{ s}^{-1}]$

Er wordt aangenomen dat hechting van virussen niet afhankelijk is van de grootte van het lek in de rioolbuis. Daardoor kan de virusconcentratie op locatie R beschreven worden met:

$$\ln(C) = \frac{3}{5} k_1 R^{5/3} + \frac{1}{2} k_2 R^2 + C^* \quad (11)$$

met grenscondities

$$C_A = C_W \frac{Q_R}{Q_A} \text{ bij } r = W$$

C_A	virusconcentratie in het onttrokken water	$[\text{m}^{-3}]$
C_W	virusconcentratie op W	$[\text{m}^{-3}]$
W	radius van de pompput	$[\text{m}]$
Q_A	onttrekkingdebit	$[\text{m}^3 \text{ s}^{-1}]$

De virusconcentratie op W wordt beschreven door:

$$\ln(C_W) = \frac{3}{5} k_1 W^{5/3} + \frac{1}{2} k_2 W^2 + C^* \quad (12)$$

Door vervanging van de grenscondities, formule (11) aftrekken van formule (12) en verwaarlozen van W omdat $W \ll R$ wordt de formule verkregen die de virusverwijdering berekent.

$$\log_{10} \left(\frac{C_A}{C_0} \right) = -\frac{1}{2,3} \left(\frac{3}{5} k_1 R^{5/3} + \frac{1}{2} k_2 R^2 \right) + \log_{10} \left(\frac{q}{Q_A} \right) \quad (13)$$

waarbij verwijdering van virussen wordt beschreven door hechting aan bodemdeeltjes (eerste term aan de rechterkant), inactivatie (tweede term aan de rechterkant) en verdunning (derde term aan de rechterkant).

Het model dat de verwijdering van virussen voorspelt door bodemtransport is gevalideerd met resultaten uit een veldstudie (van der Wielen et al. 2008). Uit deze validatie bleek dat de verwijdering van bacteriofagen MS2 en Φ X174 te hoog werd geschat wanneer de verwijdering door hechting en inactivatie werd berekend met afstand. In de modelstudies werden echter andere parameterwaarden voor de inactivatieconstante ($0,0104 \text{ log dag}^{-1}$), botsingsefficiëntie ($1,5 \times 10^{-5}$ bij pH 6,8) en korreldiameter (0,5 mm) gebruikt, dan gevonden in de veldstudie. Het model verbeterde door de specifieke parameters toe te passen.

Voor de verwijdering door hechting werd door het model lager geschat wanneer de parameterwaarden zoals gebruikt door Schijven et al. en van der Wielen et al. werden toegepast. Omdat de botsingsefficiëntie afhankelijk is van de pH, hebben Schijven en Hassanizadeh (2002) aan de hand van kolomexperimenten een empirische relatie tussen de botsingsefficiëntie en de pH afgeleid:

$$\alpha = \alpha_0 0,9^{\left(\frac{pH - pH_0}{0,1} \right)} \quad (14)$$

Het bleek echter beter om de botsingsefficiëntiewaarde die gevonden is in de veldstudie ($3,0 \times 10^{-5}$ bij een pH van 7,5) te gebruiken. Die waarde is één van de meest conservatieve botsingsefficiëntiewaarden die gepubliceerd zijn en daarmee het meest realistisch voor een

virus dat zich conservatief gedraagt tijdens virustransport in een kwetsbaar watervoerend pakket.

Uit de modelvalidatie met de locatiespecifieke waarden gevonden in de veldstudie, bleek dat de modelvoorspelling beter wordt wanneer de verwijdering door hechting met afstand en verwijdering door inactivatie met reistijd werd berekend. Wanneer de virusverwijdering werd berekend met afstand en reistijd én de conservatieve parameterwaarden voor hechting ($a=6,9 \times 10^{-6}$) en inactivatie ($0,0104 \log \text{ dag}^{-1}$), dan schat het model een veel lagere verwijdering. Het verschil wordt gedeeltelijk verklaard doordat de hechting lager werd geschat, maar daarnaast werd ook de inactivatie door het model lager geschat omdat de inactivatieconstante die in de modelstudies werden gebruikt een stuk lager lag dan de inactivatieconstante gemeten voor MS2 in de veldstudie.

Uit de eerdere modelvalidatie (van der Wielen et al. 2008) is gebleken dat in een niet-homogeen watervoerend pakket het gebruik van afstand om de verwijdering door inactivatie uit te rekenen onbetrouwbare modelvoorspellingen geeft voor de totale virusverwijdering. Modelvoorspellingen worden betrouwbaarder als de reistijd wordt gebruikt om de verwijdering door inactivatie uit te rekenen. In dat geval wordt formule (13):

$$\log_{10}\left(\frac{C_A}{C_0}\right) = -\frac{1}{2,3}\left(\frac{3}{5}k_1R^{5/3} + \mu_1t\right) + \log_{10}\left(\frac{q}{Q_A}\right) \quad (15)$$

waarbij μ_1 de inactivatieconstante is en t de reistijd. Wanneer de beschermingszone uit de vereiste logverwijdering ($\log(C_A/C_0)$) wordt bepaald met formule (14) dan blijven twee onbekende parameters over (afstand R en reistijd t), waardoor het niet mogelijk is om de beschermingszone te schatten. Geconcludeerd werd daarom dat het model dat door Schijven et al. (Schijven and Hassanizadeh 2002; Schijven et al. 2005; Schijven et al. 2006) en van der Wielen et al. (van der Wielen et al. 2005; van der Wielen et al. 2006) werd gebruikt om de beschermingszone rond grondwaterwinningen uit te rekenen daarvoor niet geschikt is, tenzij het om grondwaterwinningen met een homogeen watervoerend pakket gaat of om grondwaterwinningen waarin de relatie tussen afstand en reistijd bekend is.

6.8 Conclusies transport in de bodem

Preferente stroming in de onverzadigde zone is een wijd verbreid fenomeen dat op zowel zand, klei als veenbodems voorkomt. Oorzaken van preferente stroming zijn (combinaties van) aanwezigheid van macroporiën, bioporiën, waterafstotendheid en verschillen in maaiveldhoogte. Een belangrijk gevolg van preferente stroming is dat een deel van het infiltrerende water, al dan niet met daarin opgeloste contaminanten via een “snelwegroute” de onverzadigde zone kan passeren. De grote heterogeniteit van bodems en vegetaties maakt het moeilijk om effecten van preferente stroming te kwantificeren.

De mate waarin preferente stroming optreedt hangt af van:

- de structuur van de bodem
- de mate waarin grondbewerking is toegepast
- de hydraulische conductiviteit (doorlatendheid)
- de flux van de neerslag
- het vochtgehalte van de bodem
- de waterafstotendheid (hydrofobie) van de bodem

- vorm van het maaiveld (voorkomen van hellingen die de oppervlakkige afstroming sturen).

Voor het transport in de verzadigde zone is een transportmodel beschikbaar dat is gebaseerd op het virus model ontwikkeld voor het vaststellen van de beschermingszone in waterwingebieden.

7 Een stochastisch rekenmodel

Het conceptuele model is vertaald naar een numeriek model om de gezondheidsrisico's van fecale verontreiniging in waterwingebieden door begrazing en recreatie te kunnen kwantificeren. Dit is gedaan op basis van de literatuur die in de voorgaande hoofdstukken is beschreven. In de literatuur is gericht gezocht naar modellen en kwantitatieve gegevens van parameters die de verschillende onderdelen van het totale besmettingsmodel beschrijven. De waarden van de parameters kunnen afhankelijk zijn van het type fecaliën, het type pathogeen, gebiedsspecifieke kenmerken als bodemsoort, vegetatie en ruimtelijke spreiding van de winmiddelen en regenduur en -intensiteit. Getracht is om deze afhankelijkheden zo goed mogelijk in kaart te brengen om de best passende waarden te kunnen selecteren.

Er is veel variatie in de modelonderdelen, zoals variatie in regenintensiteit, regenduur en pathogenen concentratie in feces. In het model wordt rekening gehouden met de variatie van de verschillende onderdelen door te werken met waarschijnlijkheidsverdelingen en met behulp van een Monte-Carlo simulatie de resultaten te berekenen. Het numerieke model is daarmee een stochastisch model. Naast de variatie in de modelonderdelen is er ook sprake van onzekerheid in het model. Er is onzekerheid over waarden van parameters (bijvoorbeeld: geldt voor wilde runderen dezelfde besmettingsgraad met pathogenen als voor melkvee) en voor modelkeuzes (bijvoorbeeld: kan een lineaire verwijdering in de onverzadigde zone worden verondersteld). Door middel van een gevoeligheidsanalyse is inzicht verkregen in het effect van de onzekerheid; het laat zien welke modelonderdelen de grootste invloed hebben op het resultaat en daarmee de minste onzekerheid toelaten.

Het numerieke model wordt gebruikt in twee scenariostudies. De scenariostudies hebben verschillende doelen:

- ze dienen als voorbeeld voor het invullen van gegevens in het numerieke model,
- ze geven een gevoel voor de grootte van de gezondheidsrisico's,
- ze zijn de basis voor de gevoeligheidsanalyse en
- ze kunnen worden gebruikt om het effect van een eenvoudige maatregel als afrastering van de winmiddelen door te rekenen.

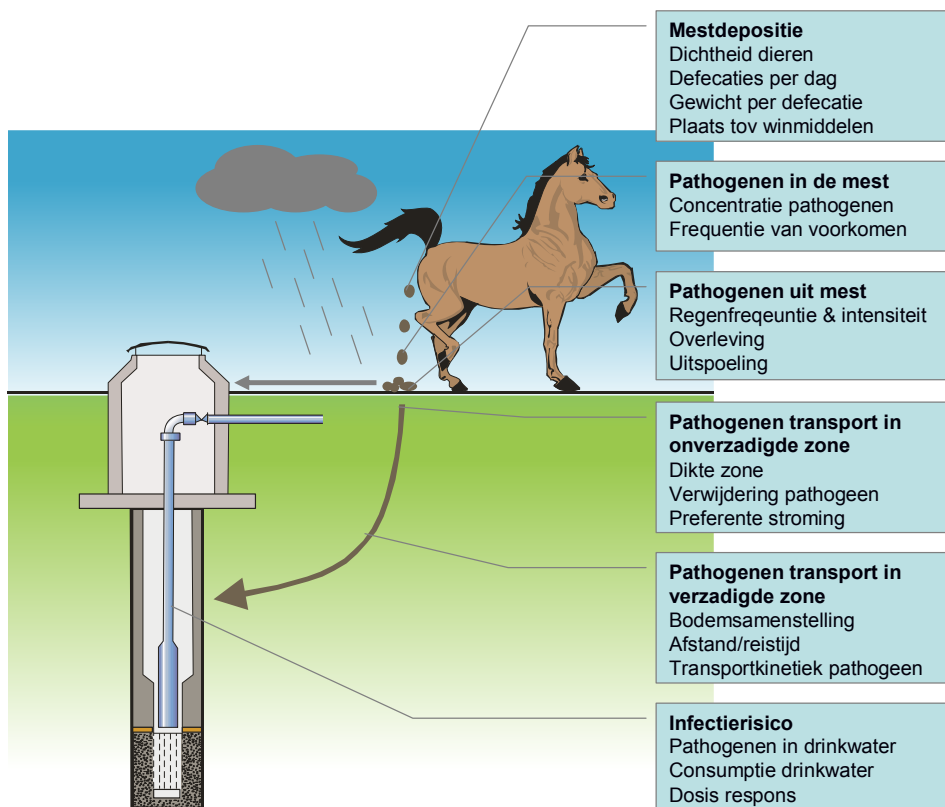
Omdat van geen van de in hoofdstuk 2 beschreven gebieden alle benodigde gegevens voor handen waren voor een nauwkeurige eerste risicoschatting, zijn als input voor het model deels actuele en deels gesimuleerde gegevens van een gebied gebruikt. De uitkomsten van de scenariostudies die in de vorm van een verdeling van een infectierisico worden gepresenteerd, moeten dan ook worden gezien als resultaten van rekenvoorbeelden uitgevoerd met het model en niet als invulling van de AMVD voor deze voorbeeldlocatie.

Bij de bedrijven is navraag gedaan naar kwantitatieve gegevens over fecale deposities in hun waterwingebieden en naar gebiedskenmerken (hoofdstuk 2). Uit de verzamelde gegevens is een gerichte keuze gemaakt van twee scenario's. De scenario's houden in het kort in:

- een geanonimiseerd wingebied in de Nederlandse duinen
- met grazende runderen die met *Campylobacter* besmet zijn
- en hetzelfde gebied met recreanten waarvan een deel ziek is door een infectie met norovirussen.

De risico's worden verondersteld onafhankelijk van elkaar te zijn en kunnen in een later stadium bij elkaar worden opgeteld.

7.1 Opbouw van het model en leeswijzer



Figuur 7.1. Schematische voorstelling van het conceptueel model (Bron: Nobel et al., 2005)

N.B. in dit hoofdstuk worden de termen “dieren” en “mest” gebruikt, waar ook “mensen” en “menselijke feces” gelezen kan worden.

Het model zoals hierboven schematisch weergegeven bestaat uit een aantal stappen, die in de hierna genoemde paragrafen worden beschreven. Ook wordt per stap aangegeven hoe de gegevens om het model te voeden zijn geselecteerd.

- **Mestdepositie**
er wordt bepaald hoeveel mest door welke dieren op welke locatie in een waterwingebied wordt gedeponeerd (§ 7.2). Daarvoor zijn de gegevens van het wingebied en begrazing/recreatie (h.2) nodig.
- **Pathogenen in de mest**
er wordt bepaald hoe frequent pathogenen voorkomen in de mest en wat de pathogenenconcentratie(range) in de mest van de grazers/recreanten is (§ 7.3). Daarvoor zijn de gegevens uit h.3 nodig.
- **Pathogenen uit mest**
er wordt bepaald hoeveel pathogenen uit de mest spoelen (§ 7.4). Daarvoor zijn de gegevens over regenval (bron: Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut KNMI) als drijvende kracht nodig (frequentie, intensiteit) en over uitspoeling uit de mest als gevolg van regen (h.4) en over de overleving van pathogenen in de mest (h.5)
- **Pathogenentransport in onverzadigde zone**
er wordt bepaald wat de pathogenenconcentratie is na transport door de onverzadigde zone (§ 7.5), op basis van gegevens over de bodemsamenstelling, dikte van de onverzadigde zone en verwijdering van pathogenen daarin (h.4).

- **Pathogenentransport in de verzadigde zone**
er wordt bepaald wat de pathogenenconcentratie is na transport door de verzadigde zone (§ 7.6). Het transport van pathogenen door de verzadigde zone naar de winmiddelen wordt berekend met een eerder opgesteld model, waarbij rekening wordt gehouden met bodemtype, dikte van het watervoerend pakket, de afstand tot de dichtstbijzijnde winput en het onttrekkingdebiet (h.6);
- **Infectierisico**
er wordt bepaald wat de pathogenenconcentratie is in het grondwater na menging in de winputten (§ 7.7). Vervolgens wordt het jaarlijks infectierisico bepaald op basis van een aantal kentallen over de consumptie van kraanwater en de dosis-respons-relatie van de pathogenen;
- **Gevoeligheidsanalyse**
er is een gevoeligheidsanalyse uitgevoerd voor de parameters, begrazingsdichtheid, aantal mestdeposities, hoeveelheid mest per depositie, besmettingsgraad, concentratie pathogenen in de mest (§ 7.8);
- **Interventie**
er is berekend wat het effect van een afrastering van de putten heeft op de uitkomst van het model (§ 7.9).

De verschillende modelonderdelen worden in de navolgende paragrafen beschreven. Deze zijn verdeeld in twee sub-paragrafen. In de eerste sub-paragraaf staat de “Modelbeschrijving” waarin besproken wordt hoe het conceptuele model vertaald is naar een numeriek model en welke variatie en onzekerheid er zijn; het gaat zowel om het model als de waardes van de parameters. Vervolgens wordt in de tweede sub-paragraaf “Gekozen waardes voor de parameters” toegelicht welke waardes van de parameters zijn geselecteerd uit de voorafgaande hoofdstukken en waarom. Deze waardes zijn gebruikt bij de berekening. Dit wordt gepresenteerd in de vorm van tabellen met daarin de verwijzing naar de gebruikte bronnen van de benodigde invoergegevens. Tevens is aangegeven of de parameters in de gevoeligheidsanalyse zijn meegenomen.

De invoerparameters worden in de tabellen aangegeven met “i”. Sommige parameters worden in het model berekend op grond van in de literatuur beschreven modellen (mechanistisch); deze worden met een “b” aangegeven. In Tabel 7.1 geeft een overzicht van de parameters en welke gegevens stochastisch (variatie) zijn meegenomen en met welke statistische verdeling en voor welke onderdelen een gevoeligheidsanalyse is uitgevoerd.

Door het opnemen van de bekende variatie van de parameters in het model wordt met het uitvoeren van trekkingen uit de aangenomen verdelingen (de voorgaande stap is 100 maal herhaald) een frequentieverdeling van concentraties verkregen. Hiermee wordt bepaald hoe groot de kans is dat de jaarlijkse gemiddelde concentratie pathogenen in het grondwater kleiner is dan $1,2 \times 10^{-6} \text{ l}^{-1}$ waardoor het jaarlijks infectierisico niveau (1/10000) voldoet aan het Drinkwaterbesluit.

Tabel 7.1 De modelonderdelen: vaste waarden of stochastisch en modelmatig

Model onderdeel	Invoer "i" berekening "b"	Stochastisch en verdeling (variatie)	Gevoeligheids analyse (onzekerheid)
Mest depositie			
gewicht mest	i	+ Normaal	+
aantal dieren (begrazingsdichtheid)	i	-	+
aantal deposities/dag per m ²	i/b	+ Poisson	+
Pathogenen in mest			
% besmet	i		+
C _{mest}	i	+ Driehoeks	+
Pathogenen uitspoeling			
overleving / afsterving	i	-	-
uitspoeling	b	-	-
regenva	i	+/- Tijdsreeks	-
Concentratie na onverz. zone			
dikte onverzadigde zone	i	-	-
verwijdering	i	lognormaal	-
Concentratie na verz. zone			
lengte (afstand tot put)	i	+/- Random verdeling	+
onttrekkingsdebiet Q	i	-	
overleving	b	+ Lognormaal	
transport	b	+ Lognormaal korrelgrootte + Normaal porositeit, botsings-efficiëntie, grootte pathogeen	
	i	- dikte van watervoerend pakket, temperatuur, pH	
Concentratie grondwater			
Infectierisico	b	-	-
consumptie ⁴	i	+ Lognormaal	-
dosis/respons	i	+ Beta Poisson	-

7.2 Mestdepositie

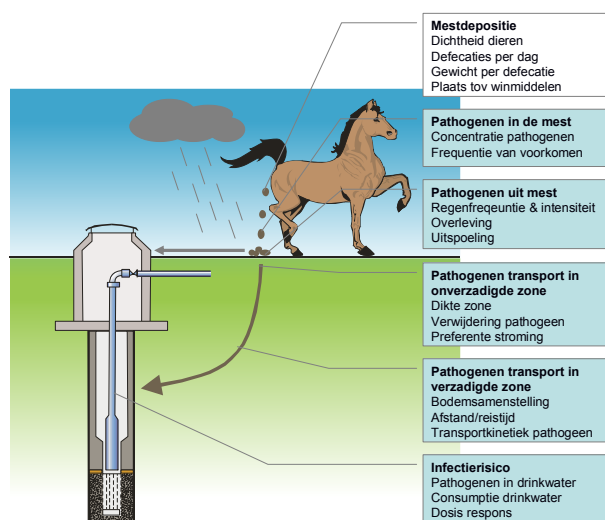
Modelbeschrijving

De eerste stap in het model is te bepalen waar in een waterwingebied fecaliën gedeponeerd worden en hoeveel fecaal materiaal dat is. In het numerieke model wordt het wingebied ingedeeld in deelvakken van een bepaalde grootte (bijvoorbeeld 1 m x 1 m); van ieder vlak wordt bepaald wat de afstand is tot de dichtstbijzijnde put (Tabel 7.2; regels 1-5). Deze afstand is van belang voor het transport (verblijftijd) in de verzadigde zone (§ 7.6). Indien een afrastering rond de putten aanwezig is, is dit ook van belang voor het bepalen waar de mest wordt gedeponeerd, een deel van het gebied wordt daarmee uitgesloten.

Dan wordt bepaald hoeveel dieren (of recreanten) zich per m² (of per ha) in het gebied bevinden en hoeveel fecaliën zij per dag produceren (aantal droppings en gewicht per dropping; Tabel 7.2; regels 6-10). Ook wordt bepaald waar in het gebied de mest gedeponeerd wordt. Middels een Poissonverdeling wordt voor ieder ruimtelijk deelvak (van 1 m²) bepaald of er geen, één of mogelijk twee of meer droppings gedaan zijn op een dag. De invoerparameter voor de Poissonverdeling is het aantal dieren per m² x het gemiddelde aantal

⁴ N.B. consumptie en dosis-respons zijn zaken die hebben geleid tot norm voor concentratie op basis van infectierisico, maar zijn niet echt onderdeel van het model

droppings per dier per dag. Voor iedere dropping wordt op basis van een normaalverdeling bepaald wat het gewicht ervan is. De invoerparameters voor de normaalverdeling zijn het gemiddelde gewicht en de standaardafwijking daarvan.



Tabel 7.2. Beschrijving van de parameters van het onderdeel van het model waarmee de pathogenen verspreiding in het gebied wordt beschreven. Invoer = "i", berekend = "b".

beschrijving	i/ b	naam parameter	afhankelijkheid	bron ^a	Waarde	eenheid
1 grootte van gebied	i	<i>oppervlak</i>	wingebied	Opgave		[m ²]
2 aantal winlocaties	i	<i>num_{put}</i>	wingebied	Opgave		[-]
3 putverdeling	i		wingebied	Opgave		
4 oppervlak per datapunt	i	<i>N</i>	model-parameter			[m ²]
5 aantal datapunten	b	<i>num_{sample}</i>	wingebied		<i>oppervlak/N</i>	[-]
6 aantal dieren per m ²	i	<i>begrazingsdichtheid</i>	wingebied, diersoort	Hfdst 2 ^a		[m ⁻²]
7 aantal deposities per dier per dag	i	<i>num_{dep_dag}</i>	diersoort	Tabel 3.1		[dag ⁻¹]
8 aantal deposities per dag per m ²	b	<i>num_{dep}</i>			Poissonverdeling ($\lambda = \text{begrazingsdruk} * \text{num}_{\text{dep_dag}}$)	[m ⁻²]
9 gewicht per depositie	i	<i>M_{dep}</i>	diersoort	Tabel 3.1		[kg]
10 gewicht mest op een m ²	b	<i>M_{mest}</i>			<i>num_{dep} * M_{dep}</i>	[kg.m ⁻²]

^a Hfdst = hoofdstuk

Gekozen waarden voor de parameters in de scenario's

Er bleek geen goed beeld over de verspreiding van fecaal materiaal van grazers in een kwetsbaar waterwingebied te bestaan. Daarom is dit gemodelleerd aan de hand van de aanwezigheid van de dieren en hun defecatiegedrag (frequentie en gewicht). Er is een random verdeling van het aantal runderen en recreanten over het gebied en de tijd verondersteld (Poissonverdeling) die met GIS gegevens is gelokaliseerd op een vast oppervlak van gekozen grootte ('spots') ten opzichte van de ruimtelijke verdeling van de winputten in het gebied. Over het aantal recreanten dat zich per jaar in het duingebied ophoudt zijn nog weinig goede gegevens bekend (Hoofdstuk 2). In het scenario voor virale besmetting via menselijke uitwerpselen is daarom een andere aanpak gevolgd. Niet het totaal aantal recreanten wordt geschat, maar het aantal recreanten met diarree.

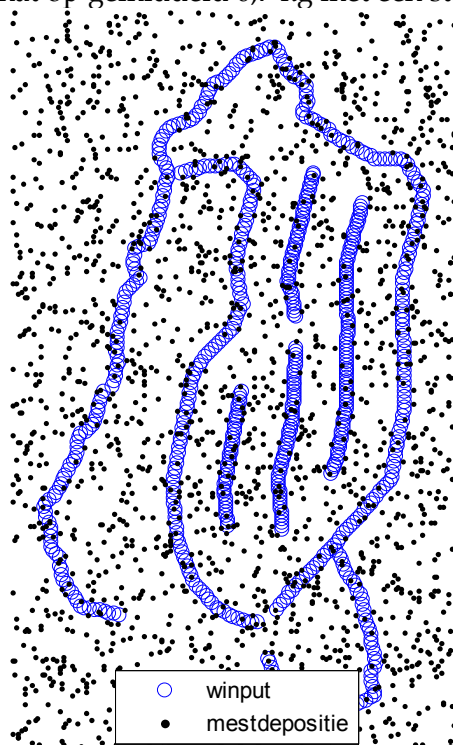
In dit rapport zijn uit de literatuur gegevens voor verschillende soorten fecaliën en verschillende pathogenen verzameld. De gegevens voor runderen zijn voor dit scenario gebruikt. In Tabel 7.2 zijn de parameters en de bron voor de gegevens samengevat. Naast

gebiedspecifieke gegevens, zijn hoofdstuk 2 en 3 gebruikt om de waarden van de parameters te schatten.

In de scenariostudie zijn de locaties van de putten bekend. Het graasgebied van de runderen (en het recreatiegebied voor mensen) is verondersteld gelijk te zijn aan een rechthoekig oppervlak in het wingebied. Het gebied bevat 682 putten en is ca. 290 ha groot. Het numerieke model kan geen 2,9 miljoen datapunten aan; er is daarom niet gewerkt met deelvlakken van 1 m², maar met deelvlakken van 4 m² ($N = 4$). Dat zijn dus in totaal 725.000 deelvlakken of 'spots'.

Het aantal runderen per ha is maximaal 0,7 over het gehele jaar. Volgens Tabel 3.1 is voor wilde runderen (en dus niet voor melk- of vleesvee) het aantal droppings per rund 10 en het gemiddelde gewicht 6,3 kg/dier per dag. De standaard deviatie van het gewicht is niet opgegeven, maar is gesteld op 0,5 kg (ca. 10%). Een Poissonverdeling over het gebied leidt bijvoorbeeld tot de verdeling zoals aangegeven in Figuur 7.2.

Over het aantal recreanten dat zich per jaar in het duingebied ophoudt zijn nog weinig goede gegevens bekend (Hoofdstuk 2). Op basis van het aantal bezoekers aan een bezoekerscentrum te Schoorl van 244.000/jaar (bron: Staatsbosbeheer) is het geschatte gemiddelde aantal bezoekers per dag 668. De recreanten zonder diarree worden verondersteld hun behoefte niet in de duinen te doen. Bij een geschatte infectiegraad in de bevolking van 283 infecties/1000/jaar (de Wit, 2001c) is op grond van deze schatting het gemiddelde aantal mensen met een diarree in het gebied 0,52/dag. De mensen met diarree zullen gemiddeld 1,5 keer gaan; het gewicht is geschat op gemiddeld 0,7 kg met een standaard deviatie van 0,15 kg.

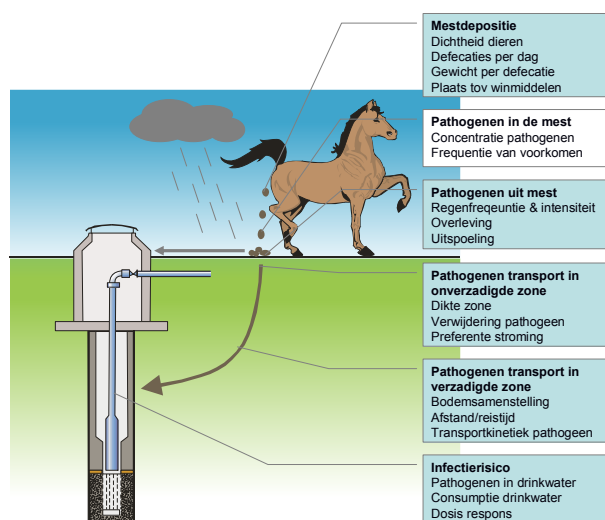


Figuur 7.2. Voorbeeld wingebied en locatie van de putten met random verspreiding van deposities van mest van grazers op een dag (0,7 dier per ha, 10 deposities per dag).

Tabel 7.3. Waarden van de invoerparameters in het bovengrondse onderdeel van de scenariostudie. Parameters met (*) zijn in de gevoeligheidsanalyse meegenomen.

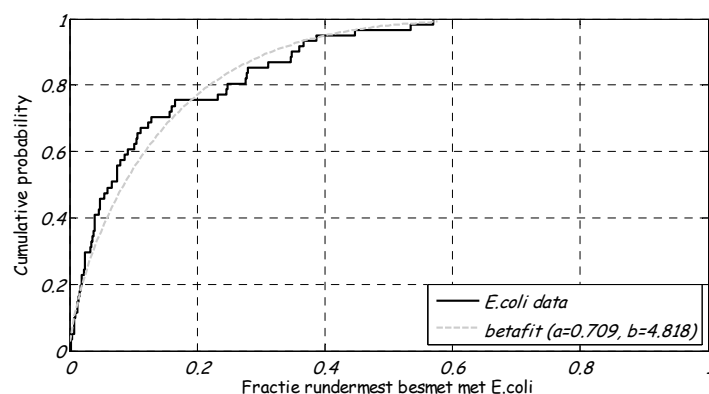
beschrijving (*)	naam parameter	bron	eenheid	scenario	
				runderen / Campylobacter	mensen / virussen
grootte van graasgebied	<i>opperolak</i>	Opgave bedrijf	[m ²]	2,9E+6	
aantal winputten	<i>num_{put}</i>	Opgave bedrijf	[-]	682	
putverdeling in gebied		Opgave bedrijf		Figuur 7.1	
oppervlak per datapunt	<i>N</i>	modelparameter	[m ²]	4	
aantal dieren per m ² (*)	<i>begrazingsdichtheid</i>	Tabel 2.1	[m ⁻²]	0,7E-4	0,034E-4 (=0,52/290 ha)
aantal deposities per dier per dag (*)	<i>num_{dep_dag}</i>	Tabel 3.1	[dag ⁻¹]	10	1,5
gewicht per depositie, gemiddelde en standaard deviatie in normale verdeling (*)	<i>M_{dep}</i>	Tabel 3.1	[kg]	$\mu = 6,3$ $\sigma = 0,5$	$\mu = 0,7$ $\sigma = 0,15$

7.3 Concentratie pathogenen in de mest



Modelbeschrijving

Bepaald wordt hoeveel pathogenen met de fecaliën het gebied zijn ingebracht (Tabel 7.4). Dit gaat in twee stappen: welk percentage van de dieren is besmet, en wat is de concentratie per kg feces? Het percentage dat besmet is kan als een statistische verdeling worden meegenomen op voorwaarde dat er iets bekend is over de juiste verdeling. Voor toxigene *Escherichia coli* O157 in rundermest bijvoorbeeld zijn voldoende studies beschikbaar (Rhoades et al. 2009) om een statistische verdeling te bepalen. In Figuur 7.3 is een Betaverdeling gefit op de data (worden in de gepresenteerde berekeningen niet meegenomen).



Figuur 7.3. Fractie van rundermest die besmet is met verocytotoxigene *E. coli* (Rhoades et al. 2009) en gefitte Betaverdeling

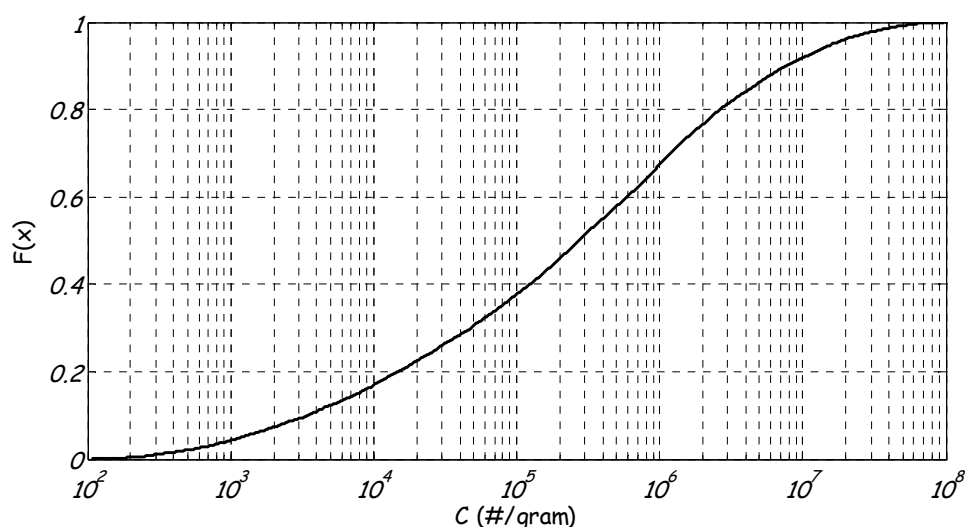
Deze verdeling is gekozen omdat deze per definitie tussen 0 en 1 in ligt (zodat het besmettingspercentage ook tussen 0 en 100% zal liggen) en deze verdeling is zeer flexibel.

Uit hoofdstuk 3 blijkt dat zowel de besmettingspercentages als de concentratie pathogenen in de mest sterk varieert. Voor een deel is dat een natuurlijk gegeven (variatie), maar ook de verschillen in onderzoeksopzet en methoden om pathogenen en concentraties daarvan aan te tonen, spelen hierbij een rol. Dit levert een bijdrage aan de onzekerheid van de resultaten van het model.

Gekozen waarden voor de parameters (Tabel 7.4)

In Hoofdstuk 3 blijkt dat de getallen die beschikbaar zijn voor besmettingspercentages van dieren sterk kunnen variëren tussen studies. In dit scenario kiezen we voor de best passende waarde voor de specifieke situatie uit de studie naar *Campylobacter* bij grazers in de Nederlandse duinen. Voor de concentratie pathogenen, die ook sterk kan variëren, is dezelfde studie gebruikt en zijn de concentratiegegevens in een Driehoeksverdeling gezet.

In de Amsterdamse waterleidingduinen is een hoog percentage *Campylobacter*-besmettingen bij runderen gevonden van 80% (hoofdstuk 3). Verondersteld wordt dat het duingebied in de scenariostudie qua besmettingsgraad een vergelijkbare populatie runderen heeft. De gemiddelde concentratie in besmette runderen varieert van $6,1 \times 10^2$ tot $9,0 \times 10^7$ *Campylobacter* per gram feces tussen de verschillende studies; in het model is een Driehoeksverdeling aangenomen tussen 100, $1,0 \times 10^6$ en $1,0 \times 10^8$ per gram (Figuur 7.3).



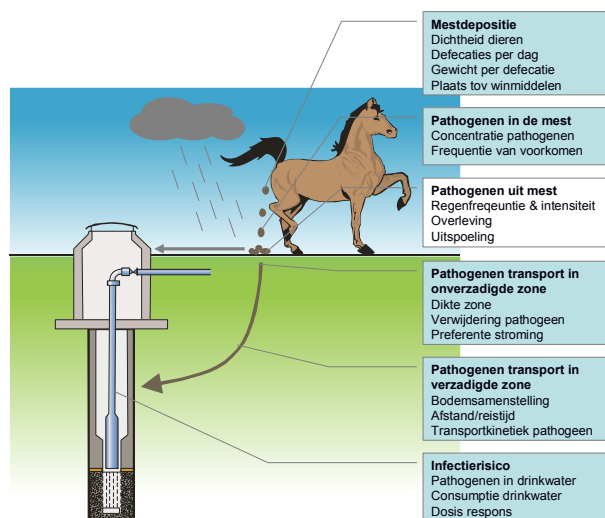
Figuur 7.3. Cumulatieve frequentieverdeling van concentratie volgens een driehoeksverdeling ($100 - 1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^8$).

De Wit et al. (2001) geven besmettingswaarden voor mensen met en zonder gastro-enteritisklachten. Voor de aanpak in dit model worden de getallen voor “met” gebruikt (Tabel 3.2), omdat van recreanten zonder diarree verondersteld wordt dat deze niet in het wingebied hun behoefte doen. Volgens De Wit et al. (2001) is 16,1% (gestandaardiseerd 11%) van de mensen met diarree besmet met norovirus. Op basis van de literatuur (§ 3.4) is voor norovirus een verdeling aangenomen tussen $1,0 \times 10^5$ en $1,0 \times 10^{11}$, met de piek op $1,0 \times 10^8$ per gram fecaliën (Hoehne and Schreier, 2006).

Tabel 7.4 Beschrijving van de parameters van het onderdeel van het model waarmee de pathogenen verspreiding in het gebied wordt beschreven. Invoer = "i", berekend = "b".

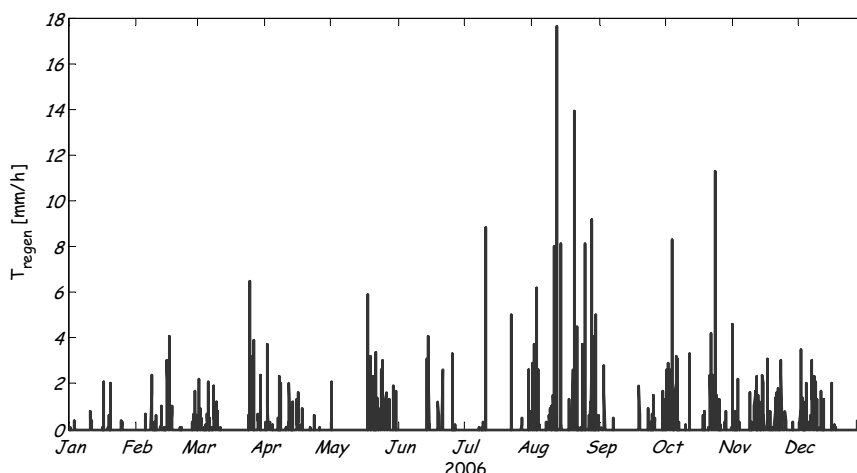
beschrijving	naam parameter	bron	eenheid	scenario	
				runderen / Campylobacter	mensen / virussen
% van de mest dat besmet is met een pathoogeen	<i>percentage_besmet</i>	bijlage 2 Tabel 3.2, norovirus bij mensen met klachten	[%]	80	16,1% (11 nastandaardisatie)
concentratie van pathoogeen in de mest	C_{mest}	Hoehne and Schreier 2006	[g ⁻¹] min-top-max	100 - 1,0E+6 - 1,0E+8	1E+5 - 1,0E+8 - 1,0E+11

7.4 Concentratie pathogenen uit de mest

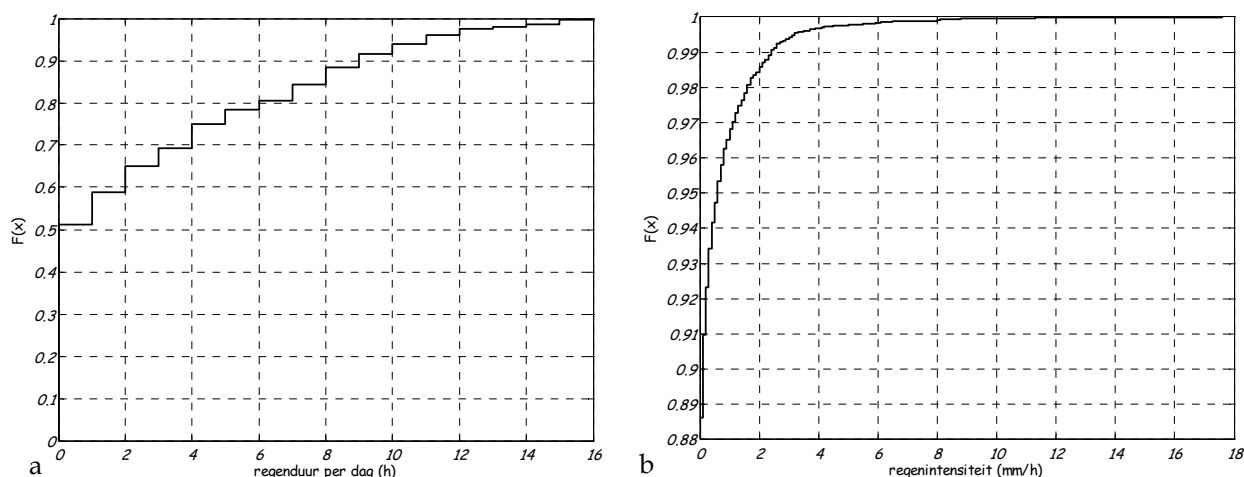


Modelbeschrijving

Er is een tijdreeksanalyse van 1 jaar uitgevoerd waarbij regenvalgegevens zijn gebruikt in de nabijheid van het gebied (bron: KNMI; Figuur 7.4). Op dag 1 ligt er nog geen mest en wordt mest gedeponeerde. Op dag 2 komt daar nieuwe mest bij en ligt de mest van dag 1 er nog en de aanwezigheid van pathogenen hierin is afhankelijk van afsterving en uitspoeling (die afhankelijk is van het voorkomen van regen) afgenomen. De resterende concentratie pathogenen in de mest na uitspoeling (hoofdstuk 4) en afsterving (hoofdstuk 5) wordt berekend. Dit deel blijft over voor de berekening van de volgende dag. En zo verder tot dag 365. Zo wordt er per dag berekend wat de concentratie aan pathogenen is die de bodem inspoelt tijdens de regenval.



Figuur 7.4 Tijdreeks van de regen op uurbasis op Schiphol in 2006.

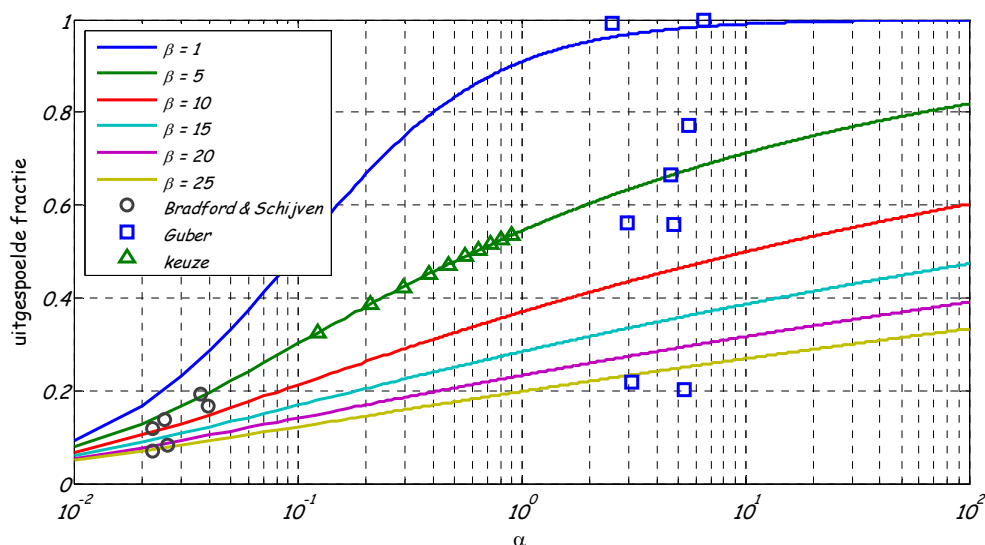


Figuur 7.5 Cumulatieve frequentieverdeling van de regenduur en regenintensiteit op Schiphol in 2006.

Over de uitspoeling uit mest bij regenval zijn enkele literatuurreferenties beschikbaar (Bradford and Schijven 2002; Guber et al. 2006; Pachepsky et al. 2006). Voor het model was de beste optie om de informatie uit de verschillende studies te combineren. Volgens Bradford en Schijven (2002) kan de uitspoeling worden beschreven door de formule in regel 3 van Tabel 7.5. De waarden van α en β variëren met het EGV van het in de onderzoeken gebruikte spoelwater (Bradford and Schijven 2002) of met de beregeningsintensiteit (Guber et al. 2006). Guber et al. (2006) geven daarvoor een formule (regel 4 in Tabel 7.5). De regenintensiteit in Nederland ligt typisch tussen de 1 en 10 mm/h (Figuur 7.5). In beide genoemde studies is echter met veel hogere intensiteiten geëxperimenteerd (30 tot 80 mm/h).

In Figuur 7.6 is de uitgespoelde fractie (na 10 uur beregenen) uitgezet voor verschillende waarden van α en β volgens de formule in regel 3 van Tabel 7.5. Ook zijn de waarden die gevonden zijn door Bradford en Schijven (2002) en Guber et al. (2006) in de figuur weergegeven. De waarden van Guber et al. en Bradford en Schijven wijken sterk af. Een van de verklaringen kan zijn dat de waarden gezamenlijk (en niet onafhankelijk) gefit zijn op de metingen. De in de literatuur gevonden waarden van α en β zijn bepaald door de betreffende onderzoekers. Wanneer de formule van Guber et al. (2006; regel 4 in Tabel 7.5) zou worden toegepast om de waarde van α bij Bradford en Schijven (2002) te bepalen zou deze ongeveer gelijk moeten zijn aan 7 (met ca. 80 mm/h beregend). Wanneer dan de waarde van β zou worden bepaald (om dezelfde uitgespoelde fractie te vinden) komt er een andere fitwaarde uit dan dat zij nu hebben gevonden bij een α van ongeveer 0,05.

In het model wordt gekozen om voor α de relatie volgens Guber et al. en voor β een waarde van 5 aan te houden; deze zijn ook in Figuur 7.6 weergegeven (driehoeken) voor regenintensiteiten van 1 tot 10 mm/h. De motivatie voor dit model is dat Guber et al. (2006) een relatie tussen α en de regenintensiteit zagen. In Nederland is de regenintensiteit lager dan in de experimenten en met dit model kan daarvoor worden gecorrigeerd. De waarde van β ligt bij Guber et al. meestal rond de 5 en bij Bradford en Schijven voor water met lage EGV (zoals ook voor regenwater geldt) is ook een waarde voor β van rond de 5 gevonden.



Figuur 7.6. Uitgespoelde fractie na 10 uur beregenen volgens de formule van regel 3 in Tabel 7.5 voor verschillende waarden van α en β (Bradford and Schijven 2002; Guber et al. 2006). De "keuze" geeft een aantal mogelijke waarden die in het numerieke model gebruikt zijn weer.

De bestaande studies die in de berekening zijn gebruikt tonen aan dat de uitspoeling van fecale micro-organismen gekoppeld is aan de uitspoeling van de andere bestanddelen in de mest. Dat betekent dat de snelheid waarmee fecaliën door regenval desintegreren en worden verspreid direct gekoppeld zijn aan de transportmogelijkheden van pathogenen uit mest. Dit zal sterk afhangen van de textuur van de fecaliën; droge vezelrijke mest zal zich minder gemakkelijk en snel verspreiden dan vezelarme dunne mest. Zo zullen *Campylobacter* in feces van vogels naar verwachting makkelijker worden ingespoeld dan *Campylobacter* uit rundermest waarop het huidige model is gebaseerd. Hiervoor bestaan nog geen goede modellen en dit is dus niet meegenomen in het model.

Tabel 7.5. Beschrijving van de parameters in het model van de uitspoeling. Invoer = "i", berekend = "b".

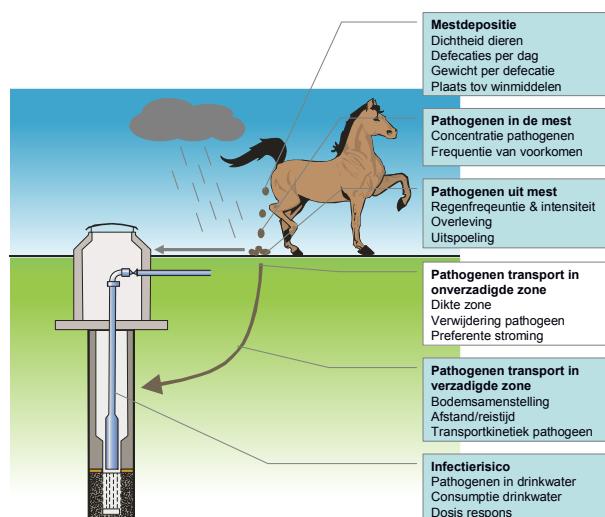
beschrijving	i/ b	naam parameter	afhankelijk- heid	bron	waarden scenario's <i>Campylobacter</i> in rundermest en norovirus humane feces	eenheid
1 aantal dagen dat meegenomen wordt in de berekening.	i	num_{dagen}			365	[-]
2 afname concentratie pathogenen in de mest ten gevolge van afsterving	i	μ_m	pathogeen	Hfdst 5	Campy: 0.24 ± 0.15 (n=10) ^a Noros: 0.14 ± 0.13 (n=14) ^b	log. dag ⁻¹
3 afname concentratie pathogenen in de mest ten gevolge van de inspoeling door regen	b	ΔC_{regen}	pathogeen	Bradford 2002	$\left[1 - \frac{1}{(1 + \alpha \beta T_{\text{regen}})^{1/\beta}} \right]$	[-]
4 fitparameter α	b	α	I_{regen}	Guber 2006	$0.0361 + 8.603 * I_{\text{regen}}$	[h ⁻¹]
5 fitparameter β	i	β	geleidbaarheid	Bradford 2002,	5 (water met lage EGV)	[-]
6 aantal uren regen op een dag	i	T_{regen}	wingebied	KNMI	Tijdreeks figuur 7.4	[h]
7 regenintensiteit op een dag	i	I_{regen}	wingebied	KNMI		[mm. h ⁻¹]
8 restant concentratie pathogenen in de mest na uitspoeling en afsterving	b	$M_{\text{mest_rest}}$	afsterving μ_m		$M_{\text{mest}} * C_{\text{mest}} * (1 - \Delta C_{\text{regen}}) * (1 - \mu_m)$	[kg.m ⁻²]

^a gemiddelde voor geselecteerde waarden (*; tabel 5.3) *Campylobacter*/ *E. coli* O157 in mest en bodem (4 – 23°C); ^b gemiddelde voor geselecteerde waarden (*; tabel 5.1) rotavirus en avian influenza virus in bodemvocht en menselijke feces (4 – 21°C)

Gekozen waarden voor de parameters (Tabel 7.5)

De bronnen zijn hoofdstuk 4 (uitspoeling) en 5 (afsterving) en het KNMI. Voor de uitspoeling is de combinatie van het model van Guber en Bradford/Schijven gebruikt. Voor de afsterving zijn geselecteerde gegevens over *Campylobacter* en *E. coli* O157 afsterving in mest en bodem gebruikt. Voor de afsterving van Norovirus in mest waren geen gegevens, daarom is de gemiddelde afsterving van rotavirus en het Avian influenza virus in mest en bodemvocht bepaald uit de geselecteerde gegevens van tabel als benadering gebruikt. Voor de regen is in de scenariostudie gewerkt met de tijdreeks (regen per uur; Figuur 7.4) van de maximale regensituatie van de afgelopen jaren, 2006 was van de afgelopen 5 jaar het natste jaar. Van Schiphol (het weerstation in de buurt van het scenariogebied) zijn uurgegevens vrij beschikbaar van het KNMI. Op 50% van de dagen regende het niet; op 5% van de dagen regende het gedurende 12 uur of meer (Figuur 7.5). In 90% van de uren regende het niet; in de resterende 10% van de tijd is de intensiteit gelijk aan of minder dan ca. 10 mm/h (Figuur 7.5).

7.5 Concentratie pathogenen na transport door de onverzadigde zone



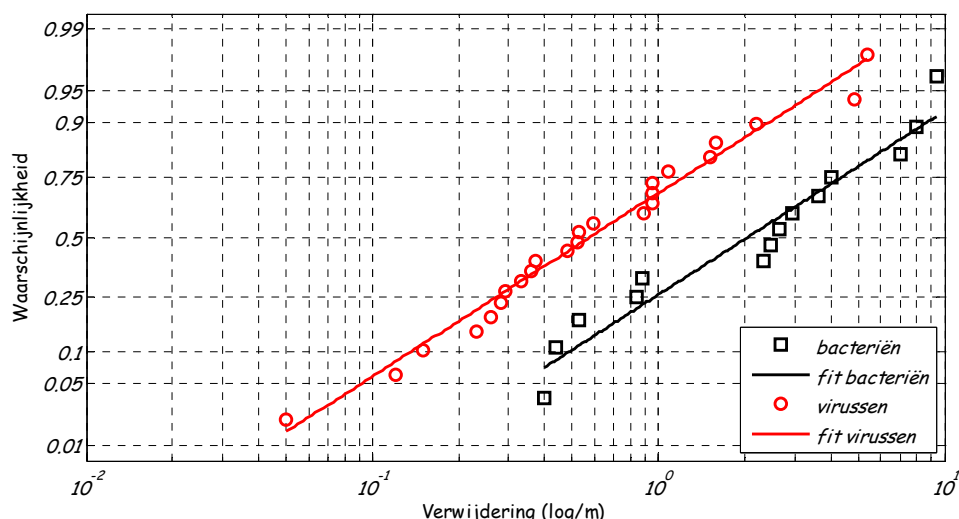
Modelbeschrijving

De fractie pathogenen die door de onverzadigde zone naar de verzadigde zone wordt getransporteerd hangt af van de mate van verwijdering en de afsterving tijdens het verblijf in de onverzadigde zone.

Kwantitatieve gegevens over transport van micro-organismen in de onverzadigde zone staan in hoofdstuk 4.2. Figuur 7.7 laat de waarden zien van de logverwijdering voor virussen en bacteriën van experimenten uit de literatuur (inclusief Solleveld) waarbij geen mestmatrix is gebruikt (bijlage 9). Van deze waarden is een lognormale verdeling geplott en zijn de daarbij horende statistische kentallen berekend (tabel boven figuur 7.7). Voor het model wordt verondersteld dat de logverwijdering in de onverzadigde zone lineair is met de dikte van de onverzadigde zone (in een 2 m dikke laag vindt 2 maal zo veel logverwijdering plaats als in een 1 m dikke laag) en onafhankelijk is van de regenintensiteit. Aanwijzingen voor deze lineaire relatie met de dikte is door Pang et al. 2009 voor een beperkt aantal individuele studies getoond. In de studie van Karathanasis et al. (2006) werd in 4 van de 10 onderzochte bodemprofielen een lineair verband waargenomen. De afname van de concentratie door verdunning ten gevolge van de regen is onafhankelijk hiervan meegenomen in het model. In de gevoeligheidsanalyse wordt de invloed van deze parameter gekwantificeerd. Dat betekent dat de variatie niet wordt meegenomen, maar de onzekerheid wel.

In de berekening bepalen de verwijdering (log/m) en de laagdikte het deel van de pathogenen dat de onderkant van de onverzadigde zone en de grondwaterspiegel (verzadigde zone) bereikt (Tabel 7.6). De concentratie na de onverzadigde zone wordt tevens bepaald door de verdunning door regenwater in de onverzadigde zone (de hoeveelheid regen in mm per m² is het volume water waarin de pathogenen zijn opgelost).

	virussen	bacteriën
lognormale verdeling μ	-0.55	0.72
lognormale verdeling σ	1.11	1.08
gemiddelde (log/m)	1.04	3.25



Figuur 7.7. Verwijdering en fit volgens lognormale verdeling voor de getallen uit bijlage 9 en de berekende statistische kentallen.

Tabel 7.6. Beschrijving van de parameters in het model van de onverzadigde zone. Invoer = "i", berekend = "b".

beschrijving	i/ b	naam parameter	afhankelijk- heid	bron	waarden scenario's Caumpylobacter in rundermest en norovirus humane feces	eenheid
dikte onverzadigde zone	i	h_{onv}	wingebied	Opgave	0,5	[m]
afname concentratie pathogenen in de mest ten gevolge van transport in de onverzadigde zone	i	ΔC_{onv}	pathogeen, wingebied	bijlage 8	Lognormale verdeling Figuur 7.7	[log. m ⁻¹]
concentratie pathogenen dat de onverzadigde zone verlaat, per dag	b	C_{onv}			$M_{mest} * C_{mest} * \Delta C_{regen} * 1e^{-\Delta C_{onv}} / (I_{regen} * N)$	[#.l ⁻¹]
concentratie pathogenen dat de onverzadigde zone verlaat, max van aantal (numdagen) dagen	b	$C_{pathogen}$			max van 365 dagen, met elke dag nieuwe deposities en concentratieafname in bestaande mest door uitspoeling en afsterving	[#.l ⁻¹]

Het transport in de onverzadigde zone hangt naar alle waarschijnlijkheid sterk af van de aanwezigheid van macro-poriën en preferente stroming (hoofdstuk 6), maar het lijkt niet eenvoudig om hier een eenduidig beeld van te krijgen. De mate van dispersiviteit in de onverzadigde zone is waarschijnlijk een belangrijke parameter voor de mate van doorslag bij hevige regen. Hiervoor bestaat nog geen goed model. Wel zit dit ingebed in het onderzoek bij Solleveld, waar preferente stroming aanwezig was (Nobel & Cirkel, 2005).

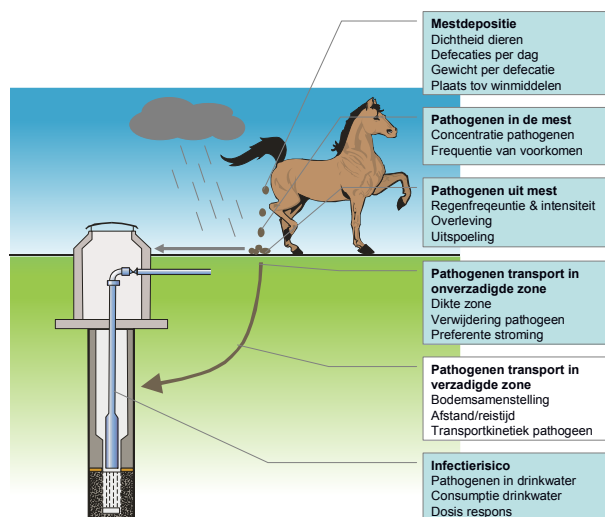
Met het model wordt de concentratie pathogenen in het water na de onverzadigde zone onder alle 'spots' (plaats van mestdepositie) berekend. De concentratie in het grondwater na de onverzadigde zone onder de individuele 'spots' wordt voor 365 dagen over het gehele gebied

berekend, vervolgens wordt alleen de dag waarop de hoogste gemiddelde concentratie in het grondwater gevonden wordt, gebruikt om door te rekenen in de verzadigde zone. Dit is de maatgevende dag. Het gemiddelde over het jaar is namelijk gelijk aan de maximale waarde gedeeld door 365. Dat komt doordat de overige waarden door het ontbreken van regenval al snel een factor 10 of meer lager zijn dan het maximum en dus nauwelijks bijdragen aan het gemiddelde.

Gekozen waarden voor de parameters (Tabel 7.6)

Voor de verwijdering door de onverzadigde zone is de lognormale verdeling gebruikt zoals weergegeven in figuur 7.7. De dikte van de onverzadigde zone is gegeven door het waterbedrijf en is voor het gehele wingebied gelijk verondersteld; dit is een vereenvoudiging van de werkelijkheid. Bekend is dat deze kan variëren en soms zeer gering kan zijn (Persoonlijke communicatie Trudy Suylen, Evides). Dit kan in het model meegenomen worden door de waarde voor de dikte anders te stellen. De verwijdering in de onverzadigde zone is in de gevoeligheidsanalyse meegenomen.

7.6 Concentratie pathogenen na transport door de verzadigde zone



Modelbeschrijving

Het transport van verontreinigingen uit een lekkend riool door de verzadigde zone is gemodelleerd door Schijven e.a. (2002; 2005; 2006) en het transport is ook gemodelleerd en gemeten in het BTO (van der Wielen et al. 2005; van der Wielen et al. 2008). In dit model zijn hechting, afsterving en verdunning meegenomen. Hetzelfde model is hier gebruikt; de modelbeschrijving is opgenomen in § 6.7 en tabel 7.7. Uit eerdere modelvalidatie (van der Wielen et al. 2008) bleek dat in een niet-homogeen watervoerend pakket het gebruik van afstand om de verwijdering door inactivatie uit te rekenen onbetrouwbare modelvoorspellingen geeft voor de totale virusverwijdering. Modelvoorspellingen worden betrouwbaarder als de reistijd wordt gebruikt om de verwijdering door inactivatie uit te rekenen. Dat betekent dat een koppeling met een grondwatermodel waarmee verblijftijden kunnen worden berekend tot een betere schatting van het model zal leiden.

Gekozen waarden voor de parameters (Tabel 7.7)

De beschrijving van de verschillende invoerparameters voor het gekozen scenario en belangrijkste berekende parameters staan in Tabel 7.7. Om deze scenario's niet onnodig complex te maken, is gekozen voor de kortste afstand tot de dichtstbijzijnde winput als maat voor de verblijftijd. Ondanks dat modelvoorspellingen betrouwbaarder worden als niet de

Tabel 7.7. Beschrijving van de parameters in het model van de verzadigde zone. Invoer = "i", berekend = "b".

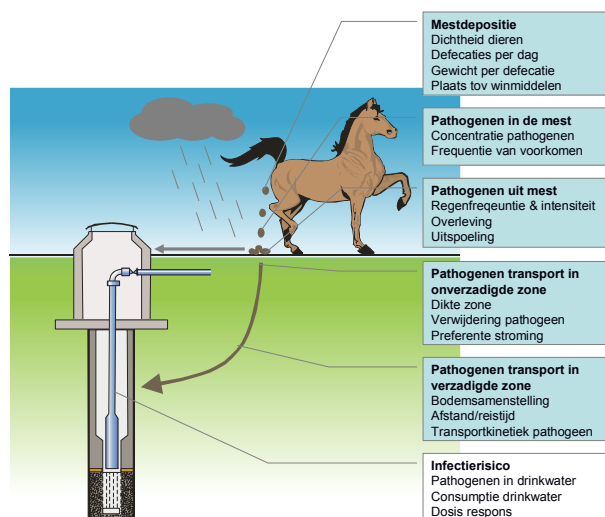
beschrijving	i/ b	naam parameter	afhankelijk- heid	Bron	waarden scenario's <i>Caympylobacter</i> in rundermest en norovirus humane feces	eenheid
concentratie pathogenen dat de verzadigde zone verlaat	b	C_A		(van der Wielen et al. 2005; van der Wielen et al. 2008)	$C_A = C_0 \times \exp\left(-\frac{3}{5} \alpha k_1 R^{\frac{5}{3}} + \frac{1}{2} \mu_l k_2 R^2\right)$ $C_0 = C_{\text{pathogen}}$	[#·l ⁻¹]
afstand besmettingsbron tot put	b	R	wingebied		hangt samen met Tabel 7.2	[m]
botsings- efficiëntie	b	α	wingebied (bodemtype, pH)	van der Wielen 2005 §2.4.2	$\alpha = \alpha_0 \times 0,9^{\left(\frac{pH - pH_0}{0,1}\right)}$	[-]
inactivatie- constante	i	μ_l	wingebied, pathogeen	van der Wielen 2005 §2.4.1	(sub)oxisch lognormale verdeling, M = -2,07; S = 0,57	[-]
porositeit	i	ε	wingebied	Hijnen 2005	E. coli $\mu = 0,12$; $\sigma = 0,03$	[h ⁻¹]
korrel- diameter	i	d_c	wingebied	van der Wielen 2005 §2.3.3	zandige bodems normale verdeling, $\mu = 0,37$; $\sigma = 0,06$.	[-]
dikte van het watervoerend pakket	i	D	wingebied	van der Wielen 2005 §2.4.7	grover zand lognormale verdeling M = -7,68; S = 0,4	[m]
onttrekkings- debiet	i	Q	wingebied	Opgave	28 (Bergen)	[m ³ . dag ⁻¹]
temperatuur	i	T	wingebied	van der Wielen 2005	12,0 (Bergen)	[°C]
afmeting pathogeen	i	d_p	pathogeen	van der Wielen 2005	virus normale verdeling, $\mu = 23,3\text{e-}9$; $\sigma = 3,1\text{e-}9$.	[m]
referentiewaarde van de botsings- efficiëntie	i	α_0	wingebied (bodemtype)	Hijnen 2005	E.coli 1.5e-6	
				van der Wielen 2005 §2.4.2	(sub)oxisch virus normale verdeling $\mu = 3,9\text{e-}5$, $\sigma = \mu/10$	[-]
				Hijnen 2005	E.coli $\mu = 0,1$, $\sigma = \mu/10$ (0,085 - 0,113)	
pH waarbij α_0 is bepaald	i	pH_0		van der Wielen 2005 §2.4.2	(sub)oxisch 7,5	
pH	i	pH	wingebied	Schijven 2001 pg. 35	pHo 7.8	[-]

afstand maar de reistijd wordt gebruikt om de verwijdering door inactivatie uit te rekenen is in de huidige scenariostudie de reistijd niet meegenomen, omdat anders voor elke put en regensituatie een reistijdmodel nodig is.

Een aantal gevoelige parameters in het model (botsingsefficiëntie, inactivatieconstante, korreldiameter) zijn locatiespecifiek en afhankelijk van het watervoerend pakket. Daarom is het belangrijk om deze waarden van specifieke locatie te weten (van der Wielen et al. 2008). De korreldiameter is voor de meeste winningen wel bekend, maar de botsingsefficiëntie en de inactivatieconstante zijn dat niet. De waarden voor deze twee parameters in de huidige scenariostudies gebaseerd op een duingebied, kunnen worden geschat uit gepubliceerd veld en kolomexperimenten met dit bodemtype (Tabel 7.7).

Voor de productiegegevens is het gemiddelde onttrekkingsdebiet van de 682 putten aangehouden. Er is geen rekening gehouden met de variatie in het onttrekkingsdebiet per put. Er is gerekend met een maximale onttrekking. Dat is een worst case situatie. Aangezien de informatie per put per dag bekend is bij het waterbedrijf kan dat wel worden meegenomen in een tijdreeks in het model.

7.7 Concentratie pathogenen in het grondwater en het jaarlijkse infectierisico



Modelbeschrijving

In het model wordt de concentratie na het transport door de verzadigde zone van alle putten bij elkaar genomen om tot de gemiddelde concentratie in het gewonnen grondwater te komen. Er zijn geen hydrologische gegevens van het scenariogebied in de berekening meegenomen. Er wordt dus een instantane menging en geen (verwijdering van pathogenen in de) nazuivering verondersteld. **Dit betekent dat geen rekening is gehouden met reistijdverschillen tussen de verschillende stroombanen.** Omdat bleek dat de dag die de maximale concentratie opleverde maatgevend is voor de concentratie pathogenen in het gewonnen grondwater (zie ook § 7.5) en dus voor het infectierisico, is met de gegevens van deze maatgevende dag verder gerekend.

Berekening infectierisico

In het nieuwe Drinkwaterbesluit is bepaald dat het maximale toegestane risico van microbiële infectie door drinkwaterconsumptie $1,0 \times 10^{-4}$ per persoon per jaar is (Drinkwaterbesluit 2011). Voor pathogenen houdt dit in dat de concentratie in drinkwater niet boven de $1,2 \times 10^{-6} \text{ l}^{-1}$ mag komen (De Roda Husman et al. 2005; van der Wielen et al. 2005). Deze maximale concentratie is teruggerekend van het maximaal toelaatbare infectierisico van $1,0 \times 10^{-4}$ en de consumptie van ongekookt drinkwater en de (maximale) dosis-respons relatie van de pathogenen (uit de

inspectierichtlijn). De gemiddelde volume-inname van ongekookt drinkwater in Nederland die in de Inspectierichtlijn is gebruikt is 0,223 liter per persoon per dag. De maximale dosis-responsrelatie gaat uit van de single-hit theorie met de aanname dat het binnenkrijgen van een pathogeen met 100% zekerheid leidt tot een infectie. Infectieuzer kan een pathogeen niet zijn. In de Inspectierichtlijn 5318 is daar voor de puntschatting van het infectierisico simpel gesteld dat het binnenkrijgen van 1 pathogeen 100% kans op infectie geeft. (de single hit theorie gaat eigenlijk uit van een Poisson verdeelde dosis maar dat is niet meegenomen). Met name Norovirus maar ook *Campylobacter* zijn zeer infectieus en de kans op infectie ligt niet ver van deze maximale dosis respons relatie (tabel 7.8). Voor deze scenario's is deze keuze dus maar heel beperkt conservatief. Bij *Cryptosporidium* en zeker *Giardia* zou het (op basis van de nu bekende gegevens over dosis-respons) wel conservatief zijn en kan met de werkelijke dosis-respons relaties worden gerekend.

Tabel 7.8 Infectierisico bij het binnenkrijgen van een dosis van 1 pathogeen

Pathogeen	Referentie	Model	Dosis	Kans op infectie
Max risk	Inspectierichtlijn 5318	Geen	1	100%
Norovirus	Teunis <i>et al.</i> , 2008	Hypergeometrisch	1	50%
<i>Campylobacter</i>	Teunis <i>et al.</i> 2005 pooled	Hypergeometrisch	1	28%
Rotavirus	Teunis 1996	Hypergeometrisch	1	27%
<i>Cryptosporidium</i>	Teunis <i>et al.</i> 2002	Hypergeometrisch	1	14%
<i>Giardia</i>	Teunis <i>et al.</i> 1996	Exponentieel	1	2%

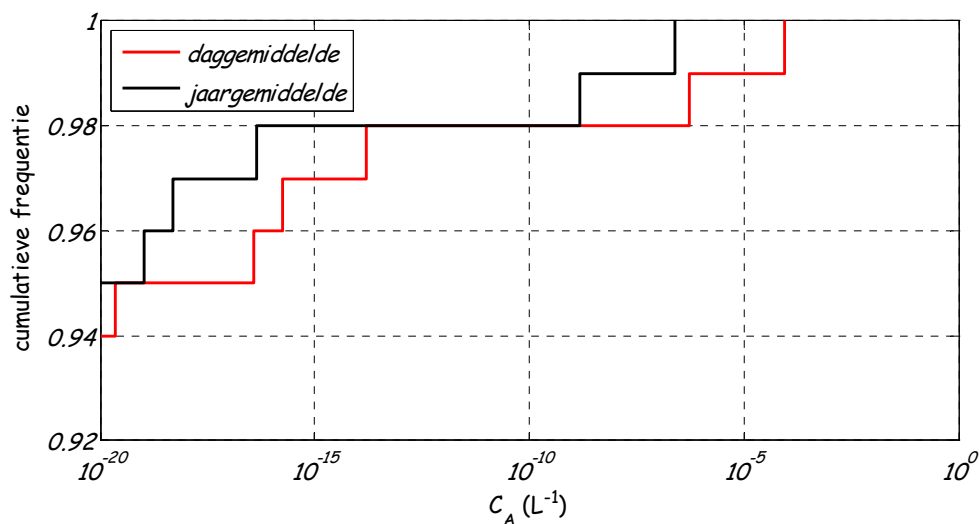
Omdat in deze scenario's (en waarschijnlijk in de meeste scenario's) blijkt dat er één dag maatgevend is, is het jaarrisico gelijk aan het maximale dagrisico/365.

Modeluitkomsten

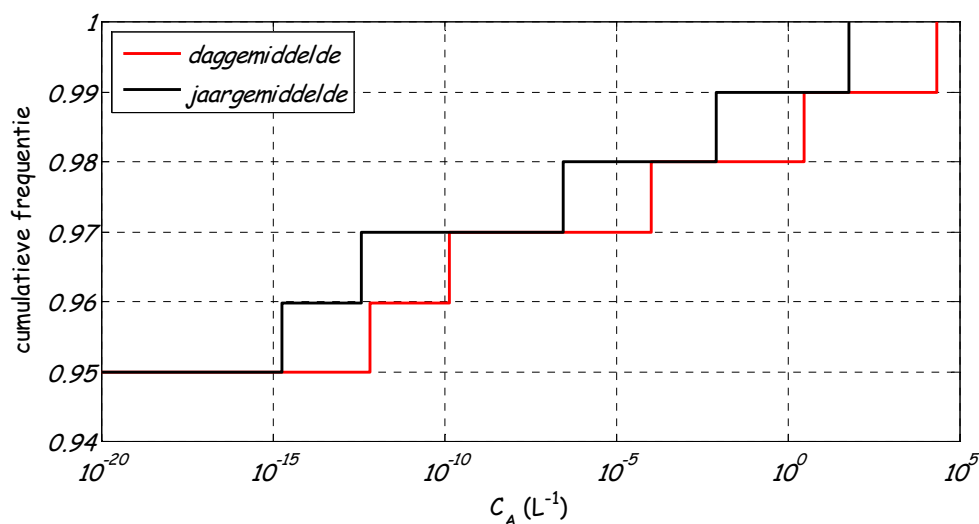
De parameters uit Tabel 7.3 - 7.8 zijn ingevoerd in het model. Voor de scenario's is respectievelijk de maximale dagconcentratie *Campylobacter* en norovirus in het ruwe water berekend met neerslaggegevens uit een jaar met relatief veel zware buien (2006), een gemiddelde afsterving in de mest, de maximale begrazingsdichtheid over het jaar en bij de maximale onttrekking door de putten. Voor beide scenario's is de uitkomst vergeleken met de gemiddelde jaarconcentratie behorende bij een geaccepteerd jaarlijks infectierisico van 1 op de 10.000 consumenten ($1,2 \times 10^{-6}$ l⁻¹). Het resultaat is een kansverdeling (Figuur 7.8). Hieruit blijkt dat voor het risico van een besmetting er 0 en 2% kans is dat het maximale jaargemiddelde (grijze lijn in figuur 7.8) voor respectievelijk *Campylobacter* en norovirus hoger is dan $1,2 \times 10^{-6}$ (tabel 7.13). De kans dat het maximale daggemiddelde hierboven is vanzelfsprekend hoger (Zwarte lijn in figuur 7.8).

Tabel 7.13. Kans op overschrijding van besmettingskans van $1,2 \times 10^{-6}$ p er jaar bij diverse scenario's.

Scenario (kleurindicatie; figuur 7.9/7.10)	<i>campylobacter</i>	virussen
basis scenario (zwart)	0%	2%
begrazingsdichtheid * 10 (groen)	7%	3%
pathogenenconcentratie * 10 (rood)	0%	2%
kg mest * 10 (licht blauw)	2%	3%
# deposities * 10 (licht groen)	6%	2%
100% besmet (blauw)	2%	4%



a



b

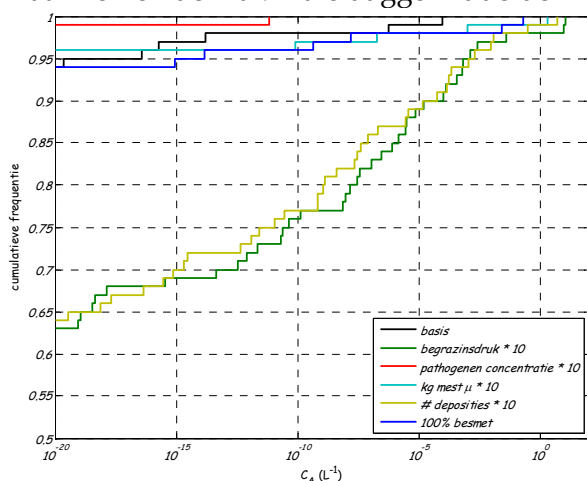
Figuur 7.8. Cumulatieve frequentieverdeling van de maximale dag- en jaarconcentratie (gemiddelde concentratie in het grondwater van het scenario gebied) van (a) *Campylobacter* uit runder mest (boven) en (b) norovirus uit menselijke feces (onder) in ruw grondwater. De jaarconcentratie is gelijk aan de maximale dagconcentratie / 365.

7.8 Gevoeligheidsanalyse: mestverspreiding

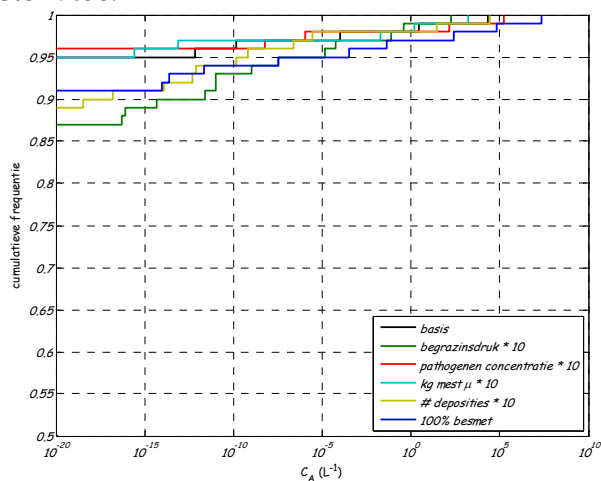
Voor de begrazingsdichtheid, pathogenen concentratie, hoeveelheid mest, het aantal mestdeposities en de besmettingsgraad is een gevoeligheidsanalyse gedaan door de waarde van de eerste vier parameters met een factor tien te vermenigvuldigen en voor de besmettingsgraad 100% aan te nemen. In Figuur 7.9 en 7.10 zijn de resultaten van de gemiddelde concentraties op dagbasis gegeven voor de beide scenario's.

Uit de gevoeligheidsanalyse blijkt dat het model vooral gevoelig is voor parameters die de kans bepalen dat een mestdepositie nabij de putten plaatsvindt: begrazingsdichtheid (het aantal dieren per m², **donkergroene** lijn) en het aantal mestdeposities (**lichtgroene** lijn). Omdat de mestdepositie voor de humane virusbesmetting zeer laag is (0,52 persoon met diarree per dag waarvan 16.2% met norovirus) heeft een 10-voudige toename hiervan minder effect dan waargenomen bij de runderen. De parameters pathogeenconcentratie heeft nauwelijks effect op de schattingen. Bij een 10-voudige mesthoeveelheid per depositie (**licht blauw**) en een 100%

besmettingsgraad (**donker blauw**) wordt de ligging van de verdeling nauwelijks veranderd maar nemen de maximale daggemiddelden wel sterk toe.



Figuur 7.9. Cumulatieve frequentieverdeling van de maximale dagconcentratie bij verschillende scenario's met *Campylobacter* uit rundermest.



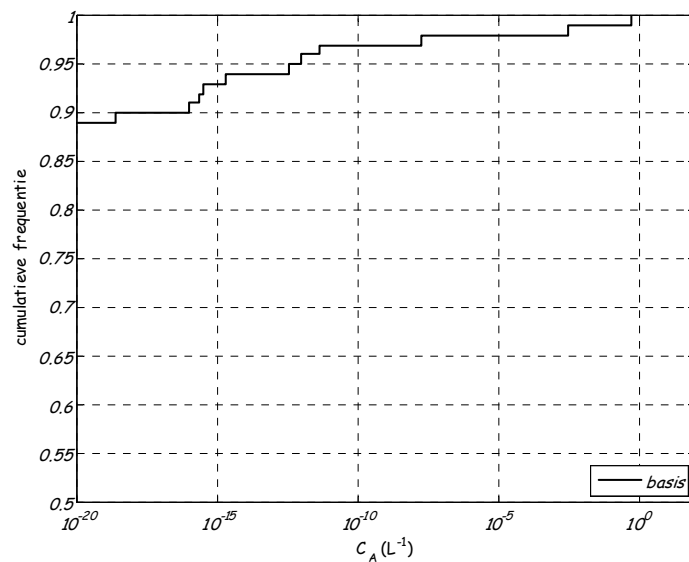
Figuur 7.10. Cumulatieve frequentieverdeling van de maximale dagconcentratie bij verschillende scenario's met virussen uit menselijke feces.

7.9 Interventie: afrastering

De kans dat een besmette dropping dicht bij een winput wordt gedeponeerd is dus bepalend voor het risico. Het is interessant om te kijken wat de invloed van afrastering is. De eerste berekeningen geven aan dat het model op dit aspect nog verdere detaillering behoeft om bevredigende resultaten op te leveren.

7.10 De uitspoeling van indicatorbacteriën: *E. coli*

Met het model kan eveneens worden berekend wat de gemiddelde concentratie *E. coli* bacteriën in het grondwater bij het scenario van de begrazing is. Op grond van gegevens van *E. coli* concentraties in rundermest (Cox et al., 2005; Klein et al., 2010; driehoeksverdeling $10^5 - 10^7 - 10^9$ per gram) en een 100% besmettingsgraad is de cumulatieve frequentieverdeling van de maximale dagconcentratie berekend bij het basis scenario van *Campylobacter*. Uit figuur 7.11 blijkt dat de kans op een overschrijding van de maximale dagconcentratie van 1 per 100 ml (10^{-1}) 1% en van een maximale dagconcentratie van 1 *E. coli* per 1000 liter ca. 2% is. Dat zou betekenen dat 1 op de 100 monsters van 100 ml positief is voor *E. coli* en bij onderzoek in grote volumes van 1000 liter dit percentage positieve monsters nog maar 2% is.



Figuur 7.11. De cumulatieve frequentieverdeling van de maximale dagconcentraties van *E. coli* in het grondwater bij het basis scenario met *Campylobacter* uit rundermest (*Campylobacter* gewijzigd in *E. coli* met aangepaste concentraties en besmettingsgraad)

8 Discussie en conclusies

Bij de Analyse Microbiologische Veiligheid (AMVD) van drinkwater locaties waar sprake is van een kwetsbare grondwaterwinning of oppervlaktewaterinfiltratie zijn er aanwijzingen dat het gewonnen grondwater vanaf maaiveld besmet kan raken vanuit mest van recreanten, (geïntroduceerde) grazers en wild. De belangrijkste aanwijzing daarvoor is dat soms lage concentraties fecale indicatorbacteriën in het grondwater worden aangetroffen. Dit is een aanwijzing dat pathogenen in dit grondwater aanwezig kunnen zijn en dus mogelijk een gezondheidsrisico ontstaat. Bij grondwaterbedrijven met kwetsbare winningen en bedrijven met kunstmatige oppervlaktewaterinfiltratie is de verblijftijd van het grond- of infiltratiewater zo lang en de verwijdering tijdens bodempassage dermate effectief dat de microbiologische veiligheid is gewaarborgd. Besmetting van het gewonnen grondwater via deze route is dan ook zeer onwaarschijnlijk. Dat brengt de verdenking op bronnen in het waterwingebied en besmetting vanaf maaiveld. Het gaat dan om grazers die bewust worden toegepast in het beheer, wilde fauna (dieren en vogels) die van nature in het gebied verblijven en mensen (recreanten).

Het karakter van het voorkomen (infrequent, lage concentraties) maakt het niet opportuun om met een meetprogramma het voorkomen van pathogenen in dit grondwater vast te stellen. Bovendien is de concentratie pathogenen die moet worden geborgd ($1,2 \times 10^{-6}$ /L) zo laag dat metingen onvoldoende waarborg kunnen bieden. In dit project is daarom een alternatieve methodiek ontwikkeld om het microbiologisch risico van het gewonnen grondwater uit kwetsbare waterwingebieden in te kunnen schatten. Deze methodiek is in lijn met de Inspectierichtlijn Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater.

De methodiek bestaat uit een conceptueel numeriek rekenmodel waarbij gebruik wordt gemaakt van kwantitatieve gegevens bekend over het betreffende gebied en gepubliceerd in de wetenschappelijke literatuur. In de navolgende paragrafen worden de discussie en conclusie van de verschillende onderdelen van het model gepresenteerd.

8.1 Mestverspreiding in waterwingebieden

Over het verspreiden van fecaliën in het gebied zijn nog weinig gegevens beschikbaar. Het gaat hierbij om de hoeveelheid en de locaties. In de doorgerekende scenario's is op basis van een aantal kengetallen van defecaties en populatiedichtheden en verblijf, de fecaliëbelasting willekeurig ingeschat. Aangezien de grazers in kuddeverband leven en vaak vaste routes afleggen is het waarschijnlijker dat er een andere ruimtelijke verdeling van de mestdepositie is. De beheerder van het wingebied heeft mogelijk goed zicht op de ruimtelijke spreiding van de grazers, maar zij konden het voor de onderzochte scenario's niet goed aangeven. Uiteindelijk wordt de plaats van de mestdepositie vooral bepaald door de keuze van foerageerlocatie in combinatie met de ligging van eventuele rustplekken en de fysiologie van het beest (bijvoorbeeld wordt de mest tijdens het grazen of tijdens het herkauwen geproduceerd).

Uit de gevoeligheidsanalyse blijkt dat de plaats van de mestdepositie een grote invloed heeft op de modeluitkomsten. Dat betekent dat voor een goede inschatting van het gezondheidsrisico de plaats van mestdepositie van groot belang is. Gegevensverzameling zou zich dus primair hier op moeten richten.

Om de mestverspreiding beter en realistischer te maken zijn een aantal mogelijkheden beschikbaar:

- Voor foerageergedrag van dieren zijn modellen beschikbaar (persoonlijke mededeling Hans Baveco, Alterra) waarmee de defecatielocaties beter kunnen worden ingeschat. Deze zijn mogelijk te gedetailleerd. Een eenvoudiger benadering is het gebied te karakteriseren op voedselbeschikbaarheid in het terrein voor de soort, eventueel met een weging naar afstand tot vaste rustplekken (als daar sprake van is). Dit levert een kaart op van verwacht terreingebruik, eventueel opgesplitst naar maanden of seizoenen;
- Een meer realistische inschatting van de verspreiding van fecaliën door recreanten is minder eenvoudig en vergt nader onderzoek. Een simpele maar arbeidsintensievere benadering is om reële gegevens van de fecaliën verspreiding in het gebied te verzamelen gedurende een aantal seizoenen. Dit zou kunnen plaatsvinden met een karteringsonderzoek. Voordeel van deze aanpak is dat deze gegevens direct uit het veld komen, het mogelijk maakt om speciale kwetsbare gebieden te selecteren, de fecaliën verspreiding door recreanten beter te kennen en direct inzicht geeft in de lokale situaties (zie foto van fecaliën op de putconstructie). Omdat de directe omgeving van de winmiddelen het meest relevant is kan (een steekproef van) een beperkt gebied om de winmiddelen worden gekarteerd.

8.2 Pathogenen in de mest

Over het vóórkomen (prevalentie) van pathogene micro-organismen in de feces van landbouwhuisdieren, wilde faune, vogels en mensen zijn kwantitatieve gegevens verzameld. Naast het aantonen in feces van individuen zijn ook concentraties van indexpathogenen en *E. coli* O157 geïnventariseerd. Er is een fragmentarisch beeld over de prevalentie van de pathogenen in de verschillende diergroepen. Hetzelfde geldt voor de concentraties waarbij een extra variatie is dat de concentraties met verschillende analysetechnieken zijn bepaald. Onderzoek van Waternet naar de prevalentie van pathogenen in mest van dieren in de duinen gaf de meest bruikbare informatie. Die dataset moet worden versterkt door in meer wingebieden gegevens te verzamelen.

8.3 Pathogenen uitspoeling uit de mest

Over de uitspoeling van pathogene micro-organismen uit fecaliën bij regenval zijn maar zeer weinig gegevens beschikbaar. Deze laten wel zien dat de uitspoeling gekoppeld is aan de uitspoeling van andere componenten waardoor kan worden verondersteld dat de snelheid van uitspoeling is gerelateerd aan de snelheid waarmee fecaal materiaal uiteenvalt en oplost. Dit zal sterk afhangen van de textuur van de feces dat per bron verschilt: van vloeibaar zoals bij (water)vogels en geïnfecteerde mensen tot vast en vezelrijk bij klein wild, herten, reeën en grazers. Dit onderdeel is een belangrijke stap in de verspreiding en meer specifieke gegevens zijn nodig om de uitspoeling goed te kwantificeren.

8.4 Bodem transport

8.4.1 In de onverzadigde zone

Het transport in de onverzadigde zone is gebaseerd op het onderzoek van Solleveld aangevuld met gegevens die in de literatuur hierover zijn gepresenteerd. In de scenariostudies gepresenteerd in dit rapport is uitgegaan van een vaste dikte van de onverzadigde zone van 0,5 m. Uit de praktijk is bekend dat deze sterk kan fluctueren en soms zeer gering kan zijn (Persoonlijke communicatie Trudy Suylen, EVIDES). Het transport in de onverzadigde zone wordt niet alleen door hechting en overleving bepaald maar ook door voorkeurstromen. Omdat hier geen procesmodel voor beschikbaar is, is een lineaire relatie tussen verwijdering

enerzijds en met de dikte van de onverzadigde zone en de regenintensiteit anderzijds verondersteld. Dit zal echter nader onderbouwd moeten worden. De kwantitatieve gegevens over de verwijdering die nu zijn gebruikt, zijn genomen uit de literatuur die zijn bepaald voor diverse bodemsoorten. Omdat het transport in de onverzadigde zone waarschijnlijk sterk afhangt van de aanwezigheid van macroporiën en preferente stroming is het de vraag of dit met een procesmodel beter benaderd kan worden. De mate van dispersiviteit in de onverzadigde zone is waarschijnlijk een belangrijke parameter voor de mate van doorslag bij hevige regen.

Gezien het grote effect hiervan op de mate waarin grondwater wordt belast met pathogenen is een nadere analyse van de gevoeligheid van het model voor dit aspect noodzakelijk. Daarnaast is het ook van belang de invloed van de laagdikte op de verwijdering nader te bepalen. De huidige aanname dat de verwijdering lineair geëxtrapoleerd kan worden met de laagdikte is hierbij een belangrijk onderzoeksaspect. Dit is opgenomen in het BTO-project Bodemtransport micro-organismen.

In hoofdstuk 6 is een overzicht gegeven van preferente stroombanen in de bodem die afhankelijk van de locatie en heterogeniteit van de bodem een belangrijke rol spelen bij het transport van micro-organismen in de onverzadigde zone. Er zijn technieken beschreven waarmee deze preferente stroombanen kunnen worden aangetoond. Kwantificering hiervan en koppeling aan transport van micro-organismen is momenteel niet mogelijk. De effecten hiervan zijn integraal opgenomen in transportgegevens over de onverzadigde zones. Door in het transportonderzoek met micro-organismen een verband te bepalen tussen de hydraulische condities van een onverzadigd zandpakket (k-waarde) met tracerproeven en de verwijdering van micro-organismen is het mogelijk dit aspect kwantitatief in het model op te nemen.

8.4.2 In de verzadigde zone

Een ander belangrijk en bepalende factor in het microbiologische risico van fecaal materiaal is het transport in de verzadigde zone. Dit wordt vooral bepaald door de verspreiding van fecaal materiaal in het waterwingebied en de lokalisering ten opzichte van de winmiddelen wat is gedemonstreerd aan de hand van het effect van afrastering op de resultaten van het model.

In de huidige scenario studies is de afstand tot de put gebruikt om de reistijd en daarmee de afsterving in de bodem te kwantificeren. Koppeling met gegevens uit grondwatermodellen levert de mogelijkheid om het model hierop te verbeteren door gebruik te maken van locatiespecifieke reistijden. Ook is het van belang om zoveel als mogelijk gebruik te maken van waarden voor de modelparameters botsingsefficiëntie (hechtingsefficiëntie) en korreldiameter van het watervoerend pakket die aansluiten bij de kenmerken van het locale watervoerende pakket. Dit vereist echter ook het bepalen van de hechtingsefficiëntie van deze locatie specifieke bodemtypen. Daarnaast speelt ook de variatie in het onttrekkingdebit per put een rol bij de grondwaterbesmetting. Deze kan als parameter aan het model worden toegevoegd.

8.4.3 Aspect van de reistijd

Zoals eerder aangeven in §7.7 is in de twee scenarioberekeningen de invloed van de reistijd in de onverzadigde en verzadigde zone niet meegenomen. Er is uitgegaan van een instantane menging van de verschillende stroombanen. De invloed van deze generalisatie is sterk afhankelijk van de variabiliteit in het verspreidingspatroon van de fecale besmetting in het gebied (hoeveelheid/locaties) en de afbraaksnelheid van pathogene organismen tijdens de reis naar de winput. Bij een weinig variërende fecale besmetting van het gebied qua hoeveelheid en verspreiding in combinatie met een geringe persistentie zal dit effect klein zijn en zijn de nu verkregen kwantitatieve gegevens goede gemiddelden te noemen. Is de belasting daarentegen sterk variabel en is er een reële kans dat verontreinigingen van meerdere bronnen door een hoge persistentie gelijktijdig winputten kunnen bereiken, wat meer aannemelijk lijkt, dan kan de uitkomst ook sterk variëren.

De variatie in reistijd kan in het model kwantitatief worden meegenomen (Bijlage 10). Voor de onverzadigde zone is daar een methode voor gepresenteerd door Van Laanen (1984). Voor de verzadigde zone kan bij het ontbreken van een lokaal grondwatermodel een analytische formule kunnen worden gebruikt om de reistijd mee te berekenen. De stroomsnelheid van bodemvocht en grondwater is sterk afhankelijk van duur en intensiteit van de neerslag. Door Maas, Vink en Cirkel (KWR) is een rekenschema ontwikkeld dat het mogelijk maakt om de reistijd te berekenen als functie van de herhalingskans van een neerslaggebeurtenis (zie bijlage 10).

8.5 Aanvullende gevoeligheidsanalyse

Een gevoeligheidsanalyse is gedaan voor de waardes van enkele invoerparameters. Een gevoeligheidsanalyse is niet voor alle invoerparameters uitgevoerd. Er is gekozen voor parameters die te maken hebben met de bovengrondse mest (pathogenen) verspreiding. Dit is geen uitputtende gevoeligheidsanalyse. Aanbevolen wordt om de gevoeligheidsanalyse uit te breiden met de overige invoerparameters, bijvoorbeeld met het model van de uitspoeling van pathogenen uit de mest. Aanbevolen wordt om dit modelonderdeel zoveel mogelijk losstaand te valideren. Voor het transport in de verzadigde zone is dit gedaan.

8.6 Validatie van het model

Validatie van het model is een belangrijk aspect voor de toepassing ervan. Voor de pathogenen zal een validatie niet mogelijk zijn gezien de lage wisselende concentraties. Wel is het mogelijk een validatie uit te voeren met de fecale indicatorbacteriën en bacteriofagen die algemeen voorkomen in fecalien. Door deze micro-organismen in het model te stoppen en de concentratie in het grondwater te berekenen **op grond van gegevens van een geselecteerde veldlocatie** en te vergelijken met de concentraties die met groot volume onderzoek worden bepaald kan worden gevalideerd in hoeverre de berekende kans op overschrijding van de concentratie de werkelijkheid beschrijft. Uit een eerste verkennende berekening is gebleken dat voor de verspreiding van *E. coli* uit rundermest de kans op het aantonen van *E. coli* in grond met zowel de standaard volumes en ook grote volumes klein is.

Voor het gebruik van natuurlijke fecale micro-organismen in een validatie zijn de volgende acties nodig

- net als voor de pathogenen in hoofdstuk 3 zullen kwantitatieve gegevens verzameld moeten worden over de aanwezigheid en concentraties van deze indicatoren in de mest;
- er zal een veldlocatie gekozen moeten worden waarvan realistische gegevens over de mestverspreiding worden verzameld;
- vervolgens zal in het grondwater van de betreffende locatie met groot volume metingen de concentratie indicatoren over een langere tijd gemeten moeten worden.

De geschatte overschrijdingskans van de concentratie met het model kan dan worden vergeleken met de werkelijk gemeten concentraties. Er zijn gegevens bij PWN beschikbaar die voor een dergelijke aanpak in aanmerking komen (persoonlijke communicatie Sander de Haas, PWN).

8.7 Infrastructuur van de grondwaterwinning

Het huidige model is beperkt tot de inschatting van microbiologische risico's voor het grondwater. Bekend is dat er ook microbiologische risico's zijn die voort kunnen komen uit

onvolkomenheden in de infrastructuur (besmetting put/boorgat vanaf maaiveld, lekken in vacuümleiding e.d.) waarmee het grondwater wordt gewonnen en naar de productielocatie wordt getransporteerd. De methodiek die in dit project is ontwikkeld kan ook voor deze situaties worden toegepast. Microbiologische risico's die voortkomen uit ingrepen in de winmiddelen zijn in het model buiten beschouwing gelaten omdat deze worden voorkomen door een hygiëncode die hiervoor is opgesteld.

8.8 Schatting van de concentratie pathogenen in gewonnen grondwater

Uit de kansverdelingen blijkt dat de kans 0 en 2% is dat onder de basiscondities van het doorgereken scenario dat de maximale dagconcentratie hoger is dan de gemiddelde jaarconcentratie van $>1,2E-6$ behorende bij een 10^{-4} infectierisico voor respectievelijk *Campylobacter* en norovirussen.

De resultaten van de risicoanalyse die voor Solleveld destijds is uitgevoerd (Nobel et al., 2005) zijn puntschattingen. Onder de worst case scenario condities bij een dikte van de onverzadigde zone van 0,5 m, de dikte die ook in de huidige scenario berekening is genomen (Tabel 7.9), werd voor virussen, *Campylobacter* en *Cryptosporidium* in het grondwater van een individuele afzonderlijke winput te Solleveld de concentratie van $1,0E-6$ per liter behorende bij het jaarlijksinfectierisico overschreden. Wanneer uitgegaan werd van de kwaliteit van een totaal puttenveld waarin het verschil in dikte van de onverzadigde zone van de verschillende putten was verdisconteerd dan bleek voor de virussen en *Campylobacter* de concentratie nog steeds hoger dan $1,0E-6/l$ in het gezamenlijke grondwater van deze putten.

Wanneer deze gegevens worden vergeleken met de gegevens van de risicoberekeningen van de in dit rapport gepresenteerde scenario's dan kan worden geconcludeerd dat de kans op overschrijding van het infectierisico van norovirussen en *Campylobacter* onder deze meer realistische condities vele malen kleiner is dan berekend voor de worst case scenario's van Solleveld.

8.9 Eindconclusie en vervolg

Eindconclusie van het onderzoek beschreven in dit rapport is dat er een methodiek beschikbaar is voor het inschatten van microbiologische risico's in kwetsbare waterwingebieden waarmee de uitvoering van een AMVD kan worden uitgebreid en effecten van beheersmaatregelen kunnen worden doorgerekend. De eerste risico berekeningen tonen dat deze duidelijk lager zijn dan berekend voor de worst case situaties uit het eerdere onderzoek van 2005 (Nobel, et al, 2005).

Het ontwikkelde model kan worden toegepast op waterwingebieden. Bij de toepassing zijn de volgende facetten van belang:

- Validatie van het model bij een reëel waterwingebied met procesindicatoren (fecale indicatorbacteriën en bacteriofagen).
- Gezien het ontbreken van reële gegevens over verspreiding van fecaliën en de grote gevoeligheid van het model voor de locatie van de fecaliën ten opzichte van de winmiddelen, is het aan te bevelen bij de toepassing van dit model dit locatiespecifiek te bepalen.
- Er zou gestreefd moeten worden om locatiespecifieke reistijdgegevens in de onverzadigde en de verzadigde zone, alsmede actuele gegevens over de wateronttrekking, in het model op te nemen.

Aanbevelingen voor verbetering van de (gegevens gebruikt voor de) modelberekening

- De aanname dat de logverwijdering in de onverzadigde zone lineair kan worden geëxtrapoleerd naar de dikte van deze zone zal met concrete onderzoeksgegevens onderbouwd moeten worden.
- De invloed van preferente stroming is impliciet meegenomen in de kwantitatieve gegevens over de logverwijdering in de onverzadigde zone. Met experimenteel onderzoek en/of veldmetingen kan nagegaan worden of en in welke mate preferente stroombanen deze logverwijdering beïnvloedt. Een dergelijk onderzoek zou met het voorgaande aspect over de dikte van de onverzadigde zone kunnen worden gecombineerd.
- Betere en specifiekere gegevens over de pathogenen uitspoeling uit de mest, de verwijdering in de onverzadigde zone en de verwijdering in de verzadigde zone versterken de voorspellende waarde van het model. Ook zal gekeken moeten worden naar een optimalisatie van het model om maatregelen in het gebied zoals afrastering van kwetsbare zones te kunnen doorrekenen.

9 Referenties

- Abulreesh, H.H., Paget, T.A. and Goulder, R., 2006. *Campylobacter in waterfowl and aquatic environments: incidence and methods of detection*. Environ Sci Technol 40 (23), 7122-7131.
- Armstrong, G.L., Hollingsworth, J. and Morris, J.G., Jr., 1996. *Emerging foodborne pathogens: Escherichia coli O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world*. Epidemiol Rev 18 (1), 29-51.
- Assies, L., Eggenkamp, A.E. and Lipman, L.J.A., 2007. *Escherichia coli O157 bij gedomesticeerde Nederlandse konijnen*. Tijdschr Diergeneeskd 132 (2), 40-43.
- Atabay, H.I. and Corry, J.E., 1998. *The isolation and prevalence of campylobacters from dairy cattle using a variety of methods*. J Appl Microbiol 84 (5), 733-740.
- Avery, S. M., K. Killham, and D. L. Jones. 2005. Survival of E. coli O157:H7 in organic wastes destined for land application J. Appl. Microbiol. 99:814-822.
- Baker, J., Barton, M.D. and Lanser, J. (1999) *Campylobacter species in cats and dogs in South Australia*. Aust Vet J 77(10), 662-666.
- Bech, T. B.; Johnsen, K.; Dalsgaard, A.; Laegdsmand, M.; Jacobsen, O. H.; Jacobsen, C. S., (2010). *Transport and distribution of Salmonella enterica Serovar Typhimurium in loamy and sandy soil monoliths with applied liquid manure*. App. Environ. Microbiol. 76, (3), 710-714.
- Beutin, L., Karch, H., Aleksic, S., Spencker, F.B. and Rosenbaum, U. (1994) *Occurrence of verotoxin (Shiga-like toxin) producing Escherichia coli in human urinary tract infection*. Infection 22(6), 425.
- Bitton, G.; Pancorbo, O. C.; Overman, A. R.; Gifford, G. E., 1978. *Retention of viruses during sludge application to soils*. Prog. Water Technol. 10, 597-606.
- Bohm, M., White, P.C., Chambers, J., Smith, L. and Hutchings, M.R., 2007. *Wild deer as a source of infection for livestock and humans in the UK*. Vet J 174 (2), 260-276.
- Bouwknegt, M., Dam-Deisz, W.D.C., Wannet, W.J.B., Pelt van, W., Visser, G. and Giessen van de, A.W., 2003. *Surveillance of zoonotic bacteria in farm animals in The Netherlands*. RIVM Report 285859013/2003.
- Boyer, D. G.; Kuczyńska, E.; Fayer, R., 2009. *Transport, fate and infectivity of Cryptosporidium parvum oocysts released from manure and leached through macroporous soil*. Environ. Geol. 58, 1011-1019.
- Bradford, S. A.; Schijven, J. F., 2002. *Release of Cryptosporidium and giardia from dairy calf manure: impact of solution salinity*. Environ. Sci. Technol. 36, 3916-3923.
- Cabrita, J., Rodrigues, J., Braganca, F., Morgado, C., Pires, I. and Goncalves, A.P., 1992. *Prevalence, biotypes, plasmid profile and antimicrobial resistance of Campylobacter isolated from wild and domestic animals from northeast Portugal*. J Appl Bacteriol 73 (4), 279-285.
- Carlander, A.; Aronsson, P.; Allestam, G.; Stenstrom, T. A.; Perttu, K., 2000. *Transport and retention of bacteriophages in two types of willow-cropped lysimeters*. J. Environ. Sci. Health A 35, 1477-1492.
- Cey E. C., D. L. Rudolph, and J. Passmore. 2009. *Influence of macroporosity on preferential solute and colloid transport in unsaturated field soils*. Journal of Contaminant Hydrology
- Cey, E.E., Rudolph, D.L., 2009b. *Field study of macropore flow processes using tension infiltration of a dye tracer in partially saturated soils*. Hydrol. Process. 23, 1768-1779. doi:10.1002/hyp.7302
- Chalmers, R.M., Salmon, R.L., Willshaw, G.A., Cheasty, T., Looker, N., Davies, I. and Wray, C., 1997. *Vero-cytotoxin-producing Escherichia coli O157 in a farmer handling horses*. Lancet 349 (9068), 1816.
- Chan, M.C., Sung, J.J., Lam, R.K., Chan, P.K., Lee, N.L., Lai, R.W. and Leung, W.K., 2006. *Fecal viral load and norovirus-associated gastroenteritis*. Emerg Infect Dis 12 (8), 1278-1280.
- Chaban, B., Ngeleka, M. and Hill, J.E. (2010) *Detection and quantification of 14 Campylobacter species in pet dogs reveals an increase in species richness in feces of diarrheic animals*. BMC Microbiol 10, 73.
- Chappell, C.L., Okhuysen, P.C., Sterling, C.R. and DuPont, H.L., 1996. *Cryptosporidium parvum: intensity of infection and oocyst excretion patterns in healthy volunteers*. J Infect Dis 173 (1), 232-236.
- Cinque, K., Stevens, M.A., Haydon, S.R., Jex, A.R., Gasser, R.B. and Campbell, B.E., 2008. *Investigating public health impacts of deer in a protected drinking water supply watershed*. Water Sci Technol 58 (1), 127-132.

- Cizek, A., Literak, I. and Scheer, P., 2000. *Survival of Escherichia coli O157 in faeces of experimentally infected rats and domestic pigeons*. Lett Appl Microbiol 31 (5), 349-352.
- Close, M., Dann, R., Ball, A., Pirie, R., Savill, M. and Smith, Z. (2008) Microbial groundwater quality and its health implications for a border-strip irrigated dairy farm catchment, South Island, New Zealand. J Water Health 6(1), 83-98..
- Close, M., M. J. H. Noonan, R., and J. Bright. 2010. Microbial transport from dairying under two spray-irrigation systems in Canterbury, New Zealand. J. Environ. Qual. 39:824-833.
- Cox, P., Griffith, M., Angles, M., Deere, D. and Ferguson, C., 2005. *Concentrations of pathogens and indicators in animal feces in the Sydney watershed*. Appl Environ Microbiol 71 (10), 5929-5934.
- Davies, C. M.; Kaucner, C.; Altavilla, N.; Ashbolt, N. J.; Hijnen, W. A. M.; Medema, G. J.; Deere, D. 2005. *Fate and transport of surface water pathogens in watersheds*; Am. Water Works Res. Foundation, Denver, US.
- Dekker, L.W., Ritsema, C.J., 1994. *How water moves in a water repellent sandy soil. I. Potential and actual water repellency*. Water Resour. Res. 30, 2507-2517.
- De Roda Husman, A. M., Medema, G. J., Teunis, P. F. M., and Schijven, J. F. (2005). "Inspectierichtlijn Analyse microbiologische veiligheid drinkwater." VROM Inspectie, Haarlem.
- De Rooij, G.H., 1995. *A three-region analytical model of solute leaching in a soil with a water repellent top layer*. Water Resour. Res. 31, 2701-2707.
- de Wit, M.A., Koopmans, M.P., Kortbeek, L.M., van Leeuwen, N.J., Vinje, J. and van Duynhoven, Y.T., 2001a. *Etiology of gastroenteritis in sentinel general practices in the Netherlands*. Clin Infect Dis 33 (3), 280-288.
- de Wit, M.A., Koopmans, M.P., Kortbeek, L.M., van Leeuwen, N.J., Bartelds, A.I. and van Duynhoven, Y.T., 2001b. *Gastroenteritis in sentinel general practices, The Netherlands*. Emerg Infect Dis 7 (1), 82-91.
- de Wit, M.A., Koopmans, M.P., Kortbeek, L.M., Wannet, W.J., Vinje, J., van Leusden, F., Bartelds, A.I. and van Duynhoven, Y.T., 2001c. *Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology*. Am J Epidemiol 154 (7), 666-674.
- Davies, C. M.; Ferguson, C. M.; Kaucner, C.; Krogh, M.; Altavilla, N.; Deere, D. A.; Ashbolt, N. J., 2004. *Dispersion and Transport of Cryptosporidium Oocysts from Fecal Pats under Simulated Rainfall Events*. App. Environ. Microbiol. 70, (2), 1151-1159.
- Denneman, W. D., and P. J. H. de Vries. 1985. Guanotrofie door aalscholvers in het Naardermeer. De levende Natuur 86:219-222.
- Derlet, R.W. and Carlson, J.R., 2002. *An analysis of human pathogens found in horse/mule manure along the John Muir Trail in Kings Canyon and Sequoia and Yosemite National Parks*. Wilderness Environ Med 13 (2), 113-118.
- Dipineto, L., Santaniello, A., Fontanella, M., Lagos, K., Fioretti, A. and Menna, L.F., 2006. *Presence of Shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7 in living layer hens*. Lett Appl Microbiol 43 (3), 293-295.
- Doyle, M.P. and Schoeni, J.L., 1987. *Isolation of Escherichia coli O157:H7 from retail fresh meats and poultry*. Appl Environ Microbiol 53 (10), 2394-2396.
- Dunn, J.R., Keen, J.E., Moreland, D. and Alex, T., 2004. *Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in white-tailed deer from Louisiana*. J Wildl Dis 40 (2), 361-365.
- Engvall, E.O., Brandstrom, B., Andersson, L., Baverud, V., Trowald-Wigh, G. and Englund, L. (2003) Isolation and identification of thermophilic Campylobacter species in faecal samples from Swedish dogs. Scand J Infect Dis 35(10), 713-718.
- Ferguson, C. M.; Davies, C. M.; Kaucner, C.; Krogh, M.; Rodehutsors, J.; Deere, D.; Ashbolt, N. J., 2007. *Field scale quantification of microbial transport from bovine faeces under simulated rainfall events*. J. Wat. Health 05, (1), 83-95.
- Fischer, J.R., Zhao, T., Doyle, M.P., Goldberg, M.R., Brown, C.A., Sewell, C.T., Kavanaugh, D.M. and Bauman, C.D., 2001. *Experimental and field studies of Escherichia coli O157:H7 in white-tailed deer*. Appl Environ Microbiol 67 (3), 1218-1224.
- Flury, M., Flühler, H., Jury, W.A., Leuenberger, J., 1994. *Susceptibility of soils to preferential flow of water: a field study*. Water Resour. Res. 30, 1945-1954.
- Franco, A., Lovari, S., Cordaro, G., Di Matteo, P., Sorbara, L., Lurescia, M., Donati, V., Buccella, C. and Battisti, A., 2009. *Prevalence and concentration of Verotoxigenic Escherichia coli O157:H7 in adult sheep at slaughter from Italy*. Zoonoses Public Health 56 (5), 215-220.

- Franssen, F.F., Hooimeijer, J., Blankenstein, B. and Houwers, D.J., 2000. *Giardiasis in a white stork in The Netherlands*. J Wildl Dis 36 (4), 764-766.
- Garcia-Sanchez, A., Sanchez, S., Rubio, R., Pereira, G., Alonso, J.M., Hermoso de Mendoza, J. and Rey, J., 2007. *Presence of Shiga toxin-producing E. coli O157:H7 in a survey of wild artiodactyls*. Vet Microbiol 121 (3-4), 373-377.
- Garcia, A. and Fox, J.G., 2003. *The rabbit as a new reservoir host of enterohemorrhagic Escherichia coli*. Emerg Infect Dis 9 (12), 1592-1597.
- Graczyk, T.K., Majewska, A.C. and Schwab, K.J., 2008. *The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens*. Trends Parasitol 24 (2), 55-59.
- Graczyk, T.K., Fayer, R., Trout, J.M., Lewis, E.J., Farley, C.A., Sulaiman, I. and Lal, A.A., 1998. *Giardia sp. cysts and infectious Cryptosporidium parvum oocysts in the feces of migratory Canada geese (Branta canadensis)*. Appl Environ Microbiol 64 (7), 2736-2738.
- Graiver, D. A., C. L. Topliff, C. L. Kelling, and S. L. Bertelt-Hunt. 2009. *Survival of the Avian Influenza virus (H6N2) after land disposal*. Environ. Sci. Technol. 43:4063-4067.
- Gerke, H. H., and M. Th. van Genuchten. 1993. *A dual-porosity model for simulating the preferential movement of water and solutes in structured porous media*. Water Resour. Res. 29(2): 305-319.
- Gilpin, B. J., B. Robson, P. Scholes, F. Nourozi, and L. W. Sinton. 2008. *Survival of Campylobacter spp. in bovine faeces on pasture*. Lett. Appl. Microbiol. 48:162-166.
- Guber, A.K., Shelton, D.M., Pachepsky, Y.A., Sadeghi, A.M. and Sikora, L.J. (2006) *Rainfall-induced release of fecal coliforms and other manure constituents: comparison and modeling*. App. Environ. Microbiol. 72(12), 7531-7539.
- Haas, S.de and Rolf, H. (2006) *Analyse microbiologische veiligheid drinkwater productielocatie psBergen en psMensink NV PWN Waterleidingbedrijf Noord-Holland*. PWN rapport, Haarlem.
- Hahn, S., S. Bauer, and M. Klaassen. 2007. *estimation the contribution of carnivorous waterbirds to nutrient loading in freshwater habitats* Freshwater Biology 52:2421-2433.
- Hamnes, I.S., Gjerde, B., Robertson, L., Vikoren, T. and Handeland, K., 2006. *Prevalence of Cryptosporidium and Giardia in free-ranging wild cervids in Norway*. Vet Parasitol 141 (1-2), 30-41.
- Havelaar, A.H., 2001. *Campylobacteriose in Nederland*. RIVM rapport (250911001).
- Heijnen, L., 2009. *Pathogenen in de mest van grazers*. Rapport in opdracht van Waternet KWR 09.023.
- Heijnen, L. 2009. *Pathogenen in mest van grazers*; KWR Watercycle Research Institute, KWR 09.023, Nieuwegein, the Netherlands.
- Heuvelink, A.E., Zwartkruis-Nahuis, J.T., van den Biggelaar, F.L., van Leeuwen, W.J. and de Boer, E., 1999. *Isolation and characterization of verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 from slaughter pigs and poultry*. Int J Food Microbiol 52 (1-2), 67-75.
- Heuvelink, A.E., Heerwaarden, C.v., Tilburg, J.J.H.C., Zwartkruis-Nahuis, J.T.M. and Boer, E.d., 2003. *Kinderboerderijen: Hygiëne en zoönose verwekkers*. VWA/Keurigdienst van waren Rapport.
- Heuvelink, A.E., Zwartkruis, J.T.M., van Heerwaarden, C., Arends, B., Stortelder, V. and de Boer, E., 2008. *Pathogene bacteriën en parasieten in faeces van wilde dieren en in oppervlaktewater*. Tijdschr Diergeneeskde 133 (8), 330-335.
- Heuvelink, A.E., van den Biggelaar, F.L., de Boer, E., Herbes, R.G., Melchers, W.J., Huis in 't Veld, J.H. and Monnens, L.A., 1998a. *Isolation and characterization of verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 strains from Dutch cattle and sheep*. J Clin Microbiol 36 (4), 878-882.
- Heuvelink, A.E., van den Biggelaar, F.L., Zwartkruis-Nahuis, J., Herbes, R.G., Huyben, R., Nagelkerke, N., Melchers, W.J., Monnens, L.A. and de Boer, E., 1998b. *Occurrence of verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 on Dutch dairy farms*. J Clin Microbiol 36 (12), 3480-3487.
- Hijnen, W. A. M., A. T. Lugtenberg, H. Ruiter, R. J. Vink, and G. J. Medema. 2007a. Presented at the WQTC, Charlotte, NC, US.
- Hijnen, W. A. M., A. Brouwer-Hanzens, D. Harmsen, and E. Beerendonk. 2007b. *De afstervings-constanten van E. coli en enterococci in zoet en zout oppervlaktewater bepaald onder verschillende condities*. KWR 07.080, KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein, NL.
- Hijnen, W. A. M.; Brouwer-Hanzens, A. J.; Charles, K.; Medema, G. J., 2005. *Transport of MS2 phage, Escherichia coli, Clostridium perfringens, Cryptosporidium parvum and Giardia intestinalis in a gravel and a sandy soil*. Environ. Sci. Technol. 39: 7860-7868.
- Hijnen, W. A. M.; Medema, G. J. *Elimination of micro-organisms by drinking water treatment processes: a review*; BTO 2003.13-3 Third edition; BTO 2003.013-3, Kiwa Water Research, Nieuwegein: 2007.

- Himathongkham, S., S. Bahari, H. Riemann, and D. Cliver. 1999. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in cow manure and cow manure slurry. *FEMS Microbiol. Lett.* 105:11-20.
- Hoehne, M., and Schreier, E. (2006). "Detection of Norovirus genogroup I and II by multiplex real-time RT-PCR using a 3'-minor groove binder-DNA probe." *BMC Infectious Diseases*, 6(1), 69.
- Hoogenboezem, W., Ketelaars, H.A.M., Medema, G.J., Rijs, G.B.J. and Schijven, J.F., 2001. *Cryptosporidium and Giardia: occurrence in sewage, manure and surface water*. Report for the Association of River Waterworks - RIWA.
- Hutchison, M. L., L. D. Walters, S. M. Avery, and A. Moore. 2005a. Decline of zoonotic agents in livestock wasted and bedding heaps. *J. Appl. Microbiol.* 99:354-362.
- Hutchison, M. L., L. D. Walters, A. Moore, and S. M. Avery. 2005b. Declines of zoonotic agents in liquid livestock wastes stored in batches on-farm. *J. Appl. Microbiol.* 99:58-65.
- Ives, R.L., Kamarainen, A.M., John, D.E. and Rose, J.B. 2007. Use of cell culture to assess *Cryptosporidium parvum* survival rates in natural groundwaters and surface waters. *Appl Environ Microbiol* 73(18), 5968-5970.
- Jenkins, M.B., Walker, M.J., Bowman, D.D., Anthony, L.C. and Ghiorse, W.C. 1999. Use of a sentinel system for field measurements of *Cryptosporidium parvum* oocyst inactivation in soil and animal waste. *Appl Environ Microbiol* 65(5), 1998-2005.
- Jiang, S.; Buchan, G. D.; Noonan, M. J.; Smoth, N.; Pang, L.; Close, M., 2008. Bacterial leaching from dairy shed effluent applied to a fine sandy loam under irrigated pasture. *Aust. J. Soil Res.* 46, (6), 552-564.
- Johnson, E., Atwill, E.R., Filkins, M.E. and Kalush, J., 1997. The prevalence of shedding of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. based on a single fecal sample collection from each of 91 horses used for backcountry recreation. *J Vet Diagn Invest* 9 (1), 56-60.
- Juhász-Holterman, M.H.A. and Meuleners, G.M.G. (2006) Analyse microbiologische veiligheid drinkwater Roodborn en Craubeek. WML rapport, Maastricht.
- Kapperud, G. and Rosef, O., 1983. Avian wildlife reservoir of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*, *Yersinia* spp., and *Salmonella* spp. in Norway. *Appl Environ Microbiol* 45 (2), 375-380.
- Kassa, H., Harrington, B.J. and Bisesi, M.S., 2004. *Cryptosporidiosis: a brief literature review and update regarding Cryptosporidium in feces of Canada geese (Branta canadensis)*. *J Environ Health* 6 (7), 34-40, 45.
- Karathanasis, A.D., Mueller, T.G., Boone, B. and Thompson, Y.L. (2006) Effect of soil depth and texture on fecal bacteria removal from septic effluents. *J. Wat. Health* 4(3), 395-404.
- Kataoka, Y., Irie, Y., Sawada, T. and Nakazawa, M. (2010) A 3-year epidemiological surveillance of *Escherichia coli* O157:H7 in dogs and cats in Japan. *J Vet Med Sci* 72(6), 791-794.
- Kemper, N., Aschfalk, A. and Holler, C., 2006. *Campylobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., and *Cryptosporidium* oocysts in semi-domesticated reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) in Northern Finland and Norway. *Acta Vet Scand* 48, 7.
- King, B.J., Keegan, A.R., Monis, P.T. and Saint, C.P. 2005. Environmental temperature controls *Cryptosporidium* oocyst metabolic rate and associated retention of infectivity. *Appl Environ Microbiol* 71(7), 3848-3857.
- Klein, M., Brown, L., Tucker, R.W., Ashbolt, N.J., Stuetz, R.M. and Roser, D.J. (2010) Diversity and abundance of zoonotic pathogens and indicators in manures of feedlot cattle in Australia. *Appl Environ Microbiol* 76(20), 6947-6950.
- Kobayashi, H., Kanazaki, M., Hata, E. and Kubo, M., 2009. Prevalence and characteristics of eae- and stx-positive strains of *Escherichia coli* from wild birds in the immediate environment of Tokyo Bay. *Appl Environ Microbiol* 75 (1), 292-295.
- Kohler, R., Krause, G., Beutin, L., Stephan, R. and Zweifel, C., 2008. Shedding of food-borne pathogens and microbiological carcass contamination in rabbits at slaughter. *Vet Microbiol* 132 (1-2), 149-157.
- Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut. "Onderzoeksgegevens t.b.v. VROM."
- Kudva, I. T., K. Blanch, and C. J. Hovde. 1998. Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3166-3174.
- Kuhn, R.C., Rock, C.M. and Oshima, K.H., 2002. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild ducks along the Rio Grande River valley in southern New Mexico. *Appl Environ Microbiol* 68 (1), 161-165.
- Kulli, B., Stamm, C., Papritz, A., Flühler, H., 2003. Discrimination of flow regions on the basis of stained infiltration patterns in soil profiles. *Vadose Zone J.* 2, 338-348.

- La Ragione, R.M., Best, A., Woodward, M.J. and Wales, A.D., 2009. *Escherichia coli* O157:H7 colonization in small domestic ruminants. *FEMS Microbiol Rev* 33 (2), 394-410.
- Larsen, R. E.; Miner, J. R.; Buckhouse, J. C. M., J.A., 1994. *Water-quality benefits of having cattle manure deposited away from streams*. *Bioresource Technol.* 48, 113-118.
- Larsson, M.H., and N.J. Jarvis. 1999. *Evaluation of a dual-porosity model to predict field-scale solute transport in a macroporous soil*. *J. Hydrol. (Amsterdam)* 215:153-171.
- Lewan E., Jenny Kreuger, Nicholas Jarvis 2009. *Implications of precipitation patterns and antecedent soil water content for leaching of pesticides from arable land*. *Agricultural Water Management* 96 (2009) 1633-1640
- Lillehaug, A., Bergsjø, B., Schau, J., Bruheim, T., Vikoren, T. and Handeland, K., 2005. *Campylobacter spp., Salmonella spp., verocytotoxic Escherichia coli, and antibiotic resistance in indicator organisms in wild cervids*. *Acta Vet Scand* 46 (1-2), 23-32.
- Luechtefeld, N.A., Blaser, M.J., Reller, L.B. and Wang, W.L., 1980. *Isolation of Campylobacter fetus subsp. jejuni from migratory waterfowl*. *J Clin Microbiol* 12 (3), 406-408.
- Majewska, A.C., Graczyk, T.K., Ślodka-Kowalska, A., Tamang, L., Jedrzejewski, S., Zduniak, P., Solarczyk, P., Nowosad, A. and Nowosad, P., 2009. *The role of free-ranging, captive, and domestic birds of Western Poland in environmental contamination with Cryptosporidium parvum oocysts and Giardia lamblia cysts*. *Parasitol Res* 104 (5), 1093-1099.
- Magic-Knezev, A. and Oorthuizen, W. (2006) Voorlopige analyse microbiologische veiligheid drinkwater (AMVD) Duinwaterbedrijf Zuid-Holland. Dunea rapport, Den Haag.
- Mawdsley, J. L.; Brooks, A. E.; Merry, R. J.; Pain, B. F., 1996. *Use of a novel tilting table apparatus to demonstrate the horizontal and vertical movement of the protozoan pathogen Cryptosporidium parvum in soil*. *Biol. Fertil. Soils* 23, 215-220.
- McLeod, M.; Aislabie, J.; Smith, J.; Fraser, R.; Roberts, A.; Taylor, M., 2001. *Viral and chemical tracer movement through contrasting soils* *J. Environ. Qual.* 30, 2134-2140.
- McLeod, M.; Aislabie, J.; Ryburn, J.; McGill, A.; Taylor, M., 2003. *Microbial and chemical tracer movements through two southlands soils*. *New Zealand Aust. J. Soil Res.* 41, 1163-1169.
- McLeod, M.; Aislabie, J.; Ryburn, J.; McGill, A., 2004. *Microbial and chemical tracer movement through granular, ultic and recent soils*. *New Z. J. Agric. Res.* 47, 557-563.
- McMurry, S. W.; Coyne, M. S.; Perfect, E., 1998. *Fecal coliform transport through intact soil blocks amended with poultry manure*. *J. Environ. Qual.* 27, 86-92.
- Medema, G. J. 1999. *Cryptosporidium and Giardia: new challenges to the water industry*. University of Utrecht, Utrecht, NL.
- Medema, G. J.; Ketelaars, H. A. M.; Hoogenboezem, W. 2001. *Cryptosporidium en Giardia: voorkomen in rioolwater, mest en oppervlaktewater met zwem- en drinkwaterfunctie*; RIWA, RIZA rapport 2000.035, ISBN 9036953324.
- Medema, G. J.; Stuyfzand, P. J. 2002. In *Removal of micro-organisms upon basin recharge, deep well injection and river bank filtration in the Netherlands*, 4th international symposium on artificial recharge, Adelaide, Australia, September 22-26, 2002; Dillon, P. J., Ed. Adelaide, Australia, September 22-26.
- Meerburg, B.G. and Kijlstra, A., 2007. *Role of rodents in transmission of Salmonella and Campylobacter*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 2774-2781.
- Meerburg, B.G., Jacobs-Reitsma, W.F., Wagenaar, J.A. and Kijlstra, A., 2006. *Presence of Salmonella and Campylobacter spp. in wild small mammals on organic farms*. *Appl Environ Microbiol* 72 (1), 960-962.
- Milnes, A.S., Stewart, I., Clifton-Hadley, F.A., Davies, R.H., Newell, D.G., Sayers, A.R., Cheasty, T., Cassar, C., Ridley, A., Cook, A.J., Evans, S.J., Teale, C.J., Smith, R.P., McNally, A., Toszeghy, M., Fütter, R., Kay, A. and Paiba, G.A., 2008. *Intestinal carriage of verocytotoxigenic Escherichia coli O157, Salmonella, thermophilic Campylobacter and Yersinia enterocolitica, in cattle, sheep and pigs at slaughter in Great Britain during 2003*. *Epidemiol Infect* 136 (6), 739-751.
- Moe, K., and J. A. Shirley. 1982. *The effects of relative humidity and temperature on the survival of human rotavirus in faeces*. *Archives Virol.* 72:179-186.
- Mons, M., van der Wielen, J., Blokker, M., Sinclair, M., Hulshof, K., Dangendorf, F., Hunter, P., and Medema, G. (2005). *Estimation of the consumption of cold tap water for microbiological risk assessment*, Kiwa N.V., Nieuwegein. BTO 2005.032.

- Moore, J.E., Gilpin, D., Crothers, E., Canney, A., Kaneko, A. and Matsuda, M., 2002. Occurrence of *Campylobacter* spp. and *Cryptosporidium* spp. in seagulls (*Larus* spp.). Vector Borne Zoonotic Dis 2 (2), 111-114.
- Moriarty, E.M., Sinton, L.W., Mackenzie, M.L., Karki, N. and Wood, D.R., 2008. A survey of enteric bacteria and protozoans in fresh bovine faeces on New Zealand dairy farms. J Appl Microbiol.
- Nobel, P. J.; Cirkel, D. G. 2005. Effecten van begrazing Solleveld op de microbiologische waterkwaliteit BTO 2005.006, Kiwa Water Research, Nieuwegein.
- Nobel, P. J.; Van Baar, M. J. C.; Draak, R.; Geelen, L. H. W. T.; Van der Hagen, H. J. G. M.; Hoogenboezem, W.; Medema, G. J.; Visser, A.; de Vries, C. N.; te Welscher, R. A. G. 1999. Effecten van begrazing op waterkwaliteit Studie bij DZH, GWA en PWN; KOA 98.204, Kiwa NV, Nieuwegein.
- Ogden, I.D., MacRae, M. and Strachan, N.J., 2004. Is the prevalence and shedding concentrations of *E. coli* O157 in beef cattle in Scotland seasonal? FEMS Microbiol Lett 233 (2), 297-300.
- Ogden, I.D., Dallas, J.F., MacRae, M., Rotariu, O., Reay, K.W., Leitch, M., Thomson, A.P., Sheppard, S.K., Maiden, M., Forbes, K.J. and Strachan, N.J., 2009. *Campylobacter* excreted into the environment by animal sources: prevalence, concentration shed, and host association. Foodborne Pathog Dis 6 (10), 1161-1170.
- Olley, J. and Deere, D. 2003 Targeting Rectification action in the Wingecarribee Catchment, Commonwealth Science Industrial Research Organisation, Australia, Technical Report 47/03, www.clw.csiro.au/publications/technical2003/, accessed 10 December 2004.
- Olson, M.E., Thorlakson, C.L., Deselliers, L., Morck, D.W. and McAllister, T.A., 1997. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. Vet Parasitol 68 (4), 375-381.
- Omisakin, F., MacRae, M., Ogden, I.D. and Strachan, N.J., 2003. Concentration and prevalence of *Escherichia coli* O157 in cattle feces at slaughter. Appl Environ Microbiol 69 (5), 2444-2447.
- Oostindie, K., L. Dekker, D. Moore, J. Wesseling en C. Ritsema. 2008. Preventie van preferente stroming in de zandgrond van een golfbaan. Stromingen 14 (2008) nummer 1.
- Overgaauw, P.A., van Zutphen, L., Hoek, D., Yaya, F.O., Roelfsema, J., Pinelli, E., van Knapen, F. and Kortbeek, L.M. (2009) Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. Vet Parasitol 163(1-2), 115-122.
- Ozawa, K., Oka, T., Takeda, N. and Hansman, G.S., 2007. Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan. J Clin Microbiol 45 (12), 3996-4005.
- Pacha, R.E., Clark, G.W., Williams, E.A. and Carter, A.M., 1988. Migratory birds of central Washington as reservoirs of *Campylobacter jejuni*. Can J Microbiol 34 (1), 80-82.
- Pacha, R.E., Clark, G.W., Williams, E.A., Carter, A.M., Scheffelmanier, J.J. and Debusschere, P., 1987. Small rodents and other mammals associated with mountain meadows as reservoirs of *Giardia* spp. and *Campylobacter* spp. Appl Environ Microbiol 53 (7), 1574-1579.
- Pachepsky, Y.A., Sadeghi, A.M., Bradford, S.A., Shelton, D.M., Guber, A.K. and Dao, T. (2006) Transport and fate of manure-borne pathogens: modeling perspective. Agricult. Water Man. 86, 81-92.
- Palmer, C.S., Traub, R.J., Robertson, I.D., Devlin, G., Rees, R. and Thompson, R.C. (2008) Determining the zoonotic significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Australian dogs and cats. Vet Parasitol 154(1-2), 142-147.
- Pang, L.; McLeod, M.; Aislabie, J.; Close, M.; Hector, R., 2008. Modeling transport of microbes in ten undisturbed soils under effluent irrigation Vadose zone J. 7, 97-111.
- Pang, L., 2009. Microbial removal rates in subsurface media estimated from published studies of field experiments and large intact soil cores. J. Environ. Qual. 38, 1531-1559.
- Pedraza-Diaz, S., Amar, C.F., McLauchlin, J., Nichols, G.L., Cotton, K.M., Godwin, P., Iversen, A.M., Milne, L., Mulla, J.R., Nye, K., Panigrahl, H., Venn, S.R., Wiggins, R., Williams, M. and Youngs, E.R., 2001. *Cryptosporidium meleagridis* from humans: molecular analysis and description of affected patients. J Infect 42 (4), 243-250.
- Penna Scorza Junior Romulo, Johan H. Smelt, Jos J. T. I. Boesten, Rob F. A. Hendriks and Sjoerd E. A. T. M. van der Zee. 2004. Vadose Zone Processes and Chemical Transport Preferential Flow of Bromide, Bentazon, and Imidacloprid in a Dutch Clay Soil
- Perillo, C.A., Gupta, S.C., Nater, E.A., Moncrief, J.F., 1999. Prevalence and initiation of preferential flow paths in a sandy loam with argillic horizon. Geoderma 89, 307-331.
- Perz, J.F. and Le Blancq, S.M., 2001. *Cryptosporidium parvum* infection involving novel genotypes in wildlife from lower New York State. Appl Environ Microbiol 67 (3), 1154-1162.

- Philips, R.E., Quisenberry V. L. and J. Zeleznik. 1995. *Water and solute movement in an undisturbed macroporous column: extraction pressure effects*. Soil Sci. Soc. Am. J. 59:707-712 (1995).
- Poot, M. J. M., and T. J. Boudewijn. 1998. *Facesproductie door individuele vogels in spaarbekkens in de Brabantse Biesbosch*. Bureau Waardenburg, Culemborg.
- Prescott, J.F. and Bruin-Mosch, C.W., 1981. *Carriage of Campylobacter jejuni in healthy and diarrheic animals*. Am J Vet Res 42 (1), 164-165.
- Pritchard, G.C., Smith, R., Ellis-Iversen, J., Cheasty, T. and Willshaw, G.A., 2009. *Verocytotoxigenic Escherichia coli O157 in animals on public amenity premises in England and Wales, 1997 to 2007*. Vet Rec 164 (18), 545-549.
- Quisenberry V. L. , R.E. Philips nad J. Zeleznik. 1994. *Spatial distribution of water and chloride macropore flow in a well-structured soil*. Soil. Sci. Soc. Am. J. 58:1294-1300.
- Quy, R.J., Cowan, D.P., Haynes, P.J., Sturdee, A.P., Chalmers, R.M., Bodley-Tickell, A.T. and Bull, S.A., 1999. *The Norway rat as a reservoir host of Cryptosporidium parvum*. J Wildl Dis 35 (4), 660-670.
- Redondo, P. G. 2009. *Number of faecal pellets dropped daily by the wild rabbit (Oryctolagus cuniculus)*. J. Anim. Vet. Adv. 8:2635-2637.
- Ritsema, C.J. and Dekker, L.W., 1994. *How water moves in a water repellent sandy soil. 2. Dynamics of fingered flow*. Water Resour. Res., 30: 2519-2531.
- Ritsema, C.J., Dekker, L.W., 1996. *Influence of sampling strategy on detecting preferential flow paths in water repellent sand*. J. Hydrol. 177, 33-45.
- Ritsema C.J. and L.W. Dekker, 1999. *Preferential flow in water repellent sandy soils: principles and modeling implications*. Journal of Hydrology 231-232 (2000) 308-319
- Rhoades, J.R., Duffy, G. and Koutsoumanis, K., 2009. *Prevalence and concentration of verocytotoxigenic Escherichia coli, Salmonella enterica and Listeria monocytogenes in the beef production chain: a review*. Food Microbiol 26 (4), 357-376.
- Rickard, L.G., Siefker, C., Boyle, C.R. and Gentz, E.J., 1999. *The prevalence of Cryptosporidium and Giardia spp. in fecal samples from free-ranging white-tailed deer (Odocoileus virginianus) in the southeastern United States*. J Vet Diagn Invest 11 (1), 65-72.
- Robertson, L.J., Campbell, A.T. & Smith, H.V., 1992. *Survival of Cryptosporidium parvum oocysts under various environmental pressures*. Appl Environ Microbiol, 58:11:3494.
- Rodriguez-Calleja, J.M., Garcia-Lopez, I., Garcia-Lopez, M.L., Santos, J.A. and Otero, A., 2006. *Rabbit meat as a source of bacterial foodborne pathogens*. J Food Prot 69 (5), 1106-1112.
- Roodsari, R. M.; Shelton, D. M.; Shirmohammadi, A.; Pachepsky, Y. A.; Sadeghi, A. M.; Starr, J. L., 2005. *Fecal coliform transport as affected by surface conditions*. Trans. ASAE 48, 1055-1061.
- Rosef, O., Gondrosen, B., Kapperud, G. and Underdal, B., 1983. *Isolation and characterization of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from domestic and wild mammals in Norway*. Appl Environ Microbiol 46 (4), 855-859.
- Rudi, K., Hoidal, H.K., Katla, T., Johansen, B.K., Nordal, J. and Jakobsen, K.S., 2004. *Direct real-time PCR quantification of Campylobacter jejuni in chicken fecal and cecal samples by integrated cell concentration and DNA purification*. Appl Environ Microbiol 70 (2), 790-797.
- Scaife, H.R., Cowan, D., Finney, J., Kinghorn-Perry, S.F. and Crook, B., 2006. *Wild rabbits (Oryctolagus cuniculus) as potential carriers of verocytotoxin-producing Escherichia coli*. Vet Rec 159 (6), 175-178.
- Schijven, J. F. 2001. *Virus removal from groundwater by soil passage*. Technische Universiteit Delft, Delft, the Netherlands.
- Schijven, J. F., and Hassanizadeh, S. M. 2002. *Virus removal by soil passage at field scale and groundwater protection of sandy aquifers*. Water Science and Technology, 123-129.
- Schijven, J. F.; de Bruin, H. A. M.; Hassanizadeh, S. M.; de Roda Husman, A. M., 2003. *Bacteriophages and clostridium spores as indicator organisms for the removal of pathogens by passage through saturated dune sand*. Water Res. 37, 2186-2194.
- Schijven, J. F.; Bradford, S. A.; Shihui, Y., 2004. *Release of Cryptosporidium and Giardia from dairy cattle manure: physical factors*. J. Environ. Qual. 33, 1499-1508.
- Schijven, J. F., Mulschlegel, J. H. C., Hassanizadeh, S. M., Teunis, P. F. M., and De Roda Husman, A. M. 2005. *Berekening beschermingzones van Nederlandse grondwaterwinningen voor bescherming tegen virusbesmetting. Onzekerheids- en gevoeligheidsanalyse.* " 330000003/2004, RIVM, Bilthoven.
- Schijven, J. F., Mulschlegel, J. H. C., Hassanizadeh, S. M., Teunis, P. F. M., and de Roda Husman, A. M. 2006. *"Determination of protection zones for Dutch groundwater wells against virus contamination - Uncertainty and sensitivity analysis."* Journal of Water and Health, 4(3), 297-312.

- Schijven, J. F.; De Roda Husman, A. M. 2009. *Analyse microbiologische veiligheid*; Rapport 703719038/2009, RIVM, Bilthoven.
- Schijven, J. F.; Hassanizadeh, S. M.; De Roda Husman, A. M., 2010. Vulnerability of unconfined aquifers to virus contamination. *Water Res.* 44, 1170-1181.
- Schmidt, M., and K. Sommer. 2004. Dispersal of vascular plants by game in northern Germany. Part I: Roe deer (*Capreolus capreolus*) and wild boar (*Sus scrofa*). *Eur. J. Forest Research* 123:167-176, DOI 10.1007/s10342-004-0029-3.
- Scotter, D.R. 1978. *Preferential solute movement through larger soil voids I. Some computations using simple theory.* *Aust. J. Soil. Res.*, 16: 257-267.
- Shelton, D. R.; Pachepsky, Y. A.; Sadeghi, A. M.; Stout, W. L.; Karns, J. S., 2003. Release rates of manure-born coliform bacteria from data on leaching through stony soil. *Vadose zone J.* 2, 34-39.
- Shuang Jiang A , D , Graeme D. Buchan B , Mike J. Noonan A , Neil Smith A , B , Liping Pang C and Murray Close C, *Australian Journal of Soil Research.*
- Skirrow, M.B., 1977. *Campylobacter enteritis: a "new" disease.* *Br Med J* 2 (6078), 9-11.
- Smith, M. S.; Thomas, G. W.; White, R. E.; Ritonga, D., 1985. Transport of *Escherichia coli* through intact and disturbed soil columns. *J. Environ. Qual.* 14, (1), 87-91
- Smith, H.V., Brown, J., Coulson, J.C., Morris, G.P. and Girdwood, R.W., 1993. Occurrence of oocysts of *Cryptosporidium* sp. in *Larus* spp. gulls. *Epidemiol Infect* 110 (1), 135-143.
- Smith, R.P., Chalmers, R.M., Mueller-Doblies, D., Clifton-Hadley, F.A., Elwin, K., Watkins, J., Paiba, G.A., Hadfield, S.J. and Giles, M., 2010. Investigation of farms linked to human patients with cryptosporidiosis in England and Wales. *Prev Vet Med* 94 (1-2), 9-17.
- Sreter, T. and Varga, I., 2000. *Cryptosporidiosis in birds--a review.* *Vet Parasitol* 87 (4), 261-279.
- Stanley, K.N., Wallace, J.S., Currie, J.E., Diggle, P.J. and Jones, K., 1998a. Seasonal variation of thermophilic campylobacters in lambs at slaughter. *J Appl Microbiol* 84 (6), 1111-1116.
- Stanley, K.N., Wallace, J.S., Currie, J.E., Diggle, P.J. and Jones, K., 1998b. The seasonal variation of thermophilic campylobacters in beef cattle, dairy cattle and calves. *J Appl Microbiol* 85 (3), 472-480.
- Sturdee, A.P., Chalmers, R.M. and Bull, S.A., 1999. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in wild mammals of mainland Britain. *Vet Parasitol* 80 (4), 273-280.
- Suylen, G.M.H. (2006a) Microbiologische veiligheid drinkwater productielocatie Ouddorp - voorlopige analyse -. Evides rapport, Rotterdam.
- Suylen, G.M.H. (2006b) Microbiologische veiligheid drinkwater productielocatie Haamstede - voorlopige analyse -. Evides rapport, Rotterdam.
- Suzuki, H. and Yamamoto, S., 2009. *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in the world: a literature survey. *J Vet Med Sci* 71 (3), 255-261.
- Tate, K. W.; Atwill, M. R.; George, M. R.; McDougald, M. K.; Larsen, R. E., 2000. *Cryptosporidium parvum* transport from cattle fecal deposits on California rangelands. *J. Range Manage* 53, 295-299.
- Teunis, P. F. M., van der Heijden, O. G., van der Giessen, J. W. B., and Havelaar, A. H. (1996). "The dose-response relation in human volunteers for gastro-intestinal pathogens." RIVM, Bilthoven.
- Teunis, P.F., Moe, C.L., Liu, P., Miller, S.E., Lindesmith, L., Baric, R.S., Le Pendu, J. and Calderon, R.L. (2008) Norwalk virus: how infectious is it? *J Med Virol* 80(8), 1468-1476
- Thelin, R.; Gifford, G. F., 1983. Fecal coliform release pattern from fecal material from cattle. *J. Environ. Qual.* 12, (1), 57-63.
- Valdes-Dapena Vivanco, M. M., and M. M. Adam. 1983. Survival of *Campylobacter jejuni* in different media and faeces at different temperatures and times of preservation. *Acta Microbiol. Hungarica* 30:69-74.
- Van der Wielen, P. W. J. J., M. Blokker, and G. J. Medema. 2005. *Het modelleren van microbiologische beschermingszones rond grondwaterwinningen.* BTO 2005.035, Nieuwegein.
- Van der Wielen, P. W. J. J.; Blokker, M.; Medema, G. J., 2006. Modelling the length of microbiological protection zones around phreatic sandy aquifers in The Netherlands. *Wat. Sci. Technol.* 54, (3), 63-69.
- van der Wielen, P. W. J. J., Senden, W., and Medema, G. (2008). "De microbiologische veiligheid van de 60-dagenzone rond grondwaterwinningen." BTO 2008.004, KWR Watercycle Reserach Institute, Nieuwegein
- Van der Wielen, P. W. J. J.; Senden, W. J. M. K.; Medema, G. J., 2008. Removal of Bacteriophages MS2 and ΦX174 during Transport in a Sandy Anoxic Aquifer. *Environ. Sci. Technol.* 54: 63-69.
- Van der Wielen, P. W. J. J.; Senden, W. J. M. K.; Medema, G. J. 2008. De microbiologische veiligheid van de 60-dagenzone rond grondwaterwinningen; BTO 2008.004, Kiwa Water Research, Nieuwegein.

- Van Lanen, H.A.J. (1984) Verblijftijd van water in de onverzadigde zone van zandgronden in gebieden met diepe grondwaterstanden. *H2O* 17(1):9-16
- Wang, A., Ruch-Gallie, R., Scorza, V., Lin, P. and Lappin, M.R. (2011) *Prevalence of Giardia and Cryptosporidium species in dog park attending dogs compared to non-dog park attending dogs in one region of Colorado*. *Vet Parasitol.*
- Waterleidingbesluit <http://www.wetten.nl/waterleidingbesluit>, February 2010
- Weese, J.S., 2002. *A review of equine zoonotic diseases in veterinary medicine*. *AAEP Proceedings* 48, 362-369.
- Weiler M. and Felix Naef. 2003. *Simulating surface and subsurface initiation of macropore flow*. *Journal of Hydrology* 273: 139-154
- Weiler M.H. 2001. *Mechanisms controlling macropore flow during infiltration Dye tracer experiments and simulations*. Thesis Swiss federal institute of technology Zürich.
- Wetsteyn, F. J. 2005. Analyse microbiologische veiligheid drinkwater., Artikelcode: 5318. VROM-Inspectorate, Haarlem NL
- White R.E. 1985. *The influence of macropores on the transport of dissolved and suspended matter through soil*. Springer Verlag. New York inc. Adv. In soil science Vol. 3.
- Wright, E.P. (1982) The occurrence of *Campylobacter jejuni* in dog faeces from a public park. *J Hyg (Lond)* 89(2), 191-194.
- Wuijts, S.; Rutjes, S. A.; Van der Aa, N. G. F. M.; Mendizabal, I.; De Roda Husman, A. M. 2008. *The influence of human and animal sources on groundwater abstraction*; .
- Yao, K. M., Habibian, M. T., and O'Melia, C. R. (1971). "Water and waste water filtration: Concepts and applications." *Environmental Science and Technology*, 5(11), 1105-1112.
- Yoshida, T., Kasuo, S., Azegami, Y., Uchiyama, Y., Satsumabayashi, K., Shiraishi, T., Katayama, K., Wakita, T., Takeda, N. and Oka, T., 2009. *Characterization of sapoviruses detected in gastroenteritis outbreaks and identification of asymptomatic adults with high viral load*. *J Clin Virol* 45 (1), 67-71.
- Yoshiuchi, R., Matsubayashi, M., Kimata, I., Furuya, M., Tani, H. and Sasai, K. (2010) *Survey and molecular characterization of Cryptosporidium and Giardia spp. in owned companion animal, dogs and cats, in Japan*. *Vet Parasitol* 174(3-4), 313-316.
- Zhou, L., Kassa, H., Tischler, M.L. and Xiao, L., 2004. *Host-adapted Cryptosporidium spp. in Canada geese (Branta canadensis)*. *Appl Environ Microbiol* 70 (7), 4211-4215.
- Zweifel, C., Scheu, K.D., Keel, M., Renggli, F. and Stephan, R., 2008. *Occurrence and genotypes of Campylobacter in broiler flocks, other farm animals, and the environment during several rearing periods on selected poultry farms*. *Int J Food Microbiol* 125 (2), 182-187.

Bijlage 1: gegevens van begrazing in waterwingebieden

rund en paard	opv (ha)	# GVE koe	# GVE paard	begraasd sinds	duur per jaar (jaar)	Rund/ha/j	Paard/ha/j
Ameland, Hagedoornveld e.o.	120	11	3.5	2002-2005	1	0.09	0.03
Berenweide/Crauwels' land	11.2	2	2		1	0.18	0.18
Bierlap/kijfhoek	270	25	12	1990	1	0.09	0.04
Bleek	26.7	9.9	2	1988	0.7	0.26	0.05
Grafelijkheidsduinen	75	10	4.2	2008	1	0.13	0.06
Helmduinen	125	5	5	1992	1	0.04	0.04
Kraansvlak Natuurkern	218.5	15	8	2004	1	0.07	0.04
N-Bakkum/Diederik/Zwartevlak	56.7	11.5	3	1995 (1999)	0.6 - 1.0	0.12	0.05
NPZK	2100	62	25.9		gg		
Terschelling, Oosterend	100	25	25	2002	0.42 - 0.5	0.11	0.13
Texel Bollekamer	300	30	7	1996	1	0.10	0.02
Texel, Geul	250	25	7	1996	1	0.10	0.03
Vennewater koeland	12.4	6	5.6	1945	0.5	0.24	0.23
Westert	17.2	2.75	4	1988	0.3 - 0.7	0.05	0.16
rund							
Ameland, Lange duinen Zuid	70	7	0.08	2005	0.75	0.08	
Berkheide	250	8.00	0.03	2001	1	0.03	
Boreel	63.5	10.80	0.22	2003	gg		
Buizerdvlak	93.5	6.40	0.03	2000	0.5	0.03	
de Doolhof	26.3	3.60	0.07	1996	0.5	0.07	
de Rellen	64.7	5.10	0.04	1992	0.5	0.04	
Doornvlak	28.9	6.00	0.21	2003	1	0.21	
Duinen van Goeree:	163	40	0.16	1990	0.67	0.16	
Duvelshoek (brand)	27	07-Jan	0.33	2005	1	0.26	
Engelse veld	11.9	5.40	0.23	1998	0.5	0.23	
Grote Eiland ICAS	7.5	5.00		1998	0.5	0.33	
Koningsbosch N+Z	15.2	6.50	0.17	(1945) 1981	0.4	0.17	
Kraansvlak Noordduinen	127.5	11.30	0.06	2004	0.67	0.06	
Pettemerduinen 1	74	8	0.11	1995	1	0.11	
Pettemerduinen 2	19	8	0.42	1995	1	0.42	

Texel De Muy 1	50	6	0.12	2009	1	0.12	
Texel De Muy 2	40	6	0.10	2009	0.67	0.10	
Texel De Muy 3	150	20	0.13	2009	1	0.13	
Texel Ploegelanden	35	10	0.29	2000	1	0.29	
Voornes Duin: Panproject	35	10	0.14	2006	0.5	0.14	
Voornes Duin: Vogelpoel	35	10	0.29	2008	1	0.29	
Vuurbaakduin	21.1	gg	gg	2004	gg		
Zee van Staal	5.9	gg	gg	2004	gg		
Zeeveld noord	130	18.00	0.07	1988	0.5	0.07	
Zeeveld zuid	75	16.00	0.14	1996-2006 (2008)	0.67	0.14	
Zwanenwater	270	50 - 60	0.12	1986	0.67	0.14	
paard							
Karpervijver	0.3	gg	gg	2002	gg		
Terschelling, recrea	58.3	21	0.15	2004	0.42		0.15
Vennewater paardenland	17.3	11.9	0.69	(1945) 1987	1		0.69

Bijlage 2: Vee, runderen

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van Runderen						
Diersoort	Pathogeen	% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode	Studie (referentie)
Runderen	<i>Campylobacter</i>	55	Slachtkoeien Engeland		Kweek	(Milnes et al., 2008)
		89	Slachtkoeien Engeland	Gem: 6,1E+02 MPN/g	Kweek	(Stanley et al.,
		70	Melkkoeien Engeland	Gem: 3,3E+04 MPN/g	(MPN)	1998b)
		31,5 (1998)	Kuddes melkvee Nederland		Kweek	(Bouwknegt et al.,
		6,5 (1999)	Kuddes melkvee Nederland			2003)
		83,9 (1998)	Kuddes slachtvee Nederland			
		58,3 (1999)	Kuddes slachtvee Nederland			
		11	Kinderboerderijen Nederland		Kweek	(Heuvelink et al.,
			Boerderijen Nieuw Zeeland	Med.: 3,9E+05 KVE/g (range: 15-1,8E+07)	Kweek	(Moriarty et al.,
		22	Boerderijen in Schotland	Gem. 3E+04 DNA/g	Kweek	(Ogden et al., 2009)
		70	Melkvee boerderij	Gem. 4.7E+03 MPN/g (range: 36-21466/g)	Kweek	(Gilpin et al., 2008)
		80	Amsterdamse waterleidingduinen	Gem: 9,0E+07 DNA/g (range: 9,2E+01-4,1E+08)	PCR	(Heijnen, 2009)
	Pathogene <i>E. coli</i> (o.a. O157)	4,7	Slachtkoeien Engeland			(Milnes et al., 2008)
		6,2 (range: 0-57)	Diverse			(Rhoades et al.,
		Varierend per kudde: 0-9,5	Verschillense kuddes melkkoeien en slachtkoeien in de USA			(Armstrong et al.,
		6,3	Slachtkoeien in Nederland			(Heuvelink et al.,
						1998a)

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van Runderen						
Diersoort	Pathogeen	% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode	Studie (referentie)
	Pathogene <i>E. coli</i> (o.a. O157)	5 (1998) 6 (1999) 5 (1998) 9 (1999) 11 (2000)	Slachtkoeien in Nederland Melkkoeien in Nederland		Kweek	(Bouwknegt et al., 2003)
		15	Amsterdamse waterleidingduinen	Gem.: 1,4E+06 DNA/g	PCR	(Heijnen, 2009)
		7,5	Slachtkoeien in Engeland	<1,0E+02 tot 1,0E+04 KVE/g		(Omisakin et al., 2003)
	<i>Cryptosporidium</i>	5,2	Melkkoeien Nieuw Zeeland	1-25		(Moriarty et al., 2008)
		20-90% van de kuddes (afhankelijk van leeftijd)	Slachtkoeien in Nederland Melkkoeien negatief	5,3E+02-5,2E+04 oocysten/g		(Hoogenboezem et al., 2001)
		57 (kalveren) 22 (volw. Koeien)	In het wild levende koeien in Australië	0-183 oocysten/g (kalveren) 0-10 oocysten/g (volw. Koeien)		(Cox et al., 2005)
		53,4	Slachtkoeien en melkkoeien in Engeland			(Smith et al., 2010)
		2	Amsterdamse waterleidingduinen			(Heijnen, 2009)
	<i>Giardia</i>	4,5	Melkkoeien Nieuw Zeeland	1-17 cysten/g		(Moriarty et al., 2008)
		72-97% van de kuddes	Slachtkoeien	2,5E+03-3,2E+04 cysten/g		(Hoogenboezem et al., 2001)
		1,2	Melkkoeien			
		78	In het wild levende koeien in Australië	0-533 cysten/g (kalveren) 0-293 cysten/g (volw. Koeien)		(Cox et al., 2005)

Bijlage 3: Vee: schapen en geiten

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van schapen en geiten						
Diersoort	Pathogeen	% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode	Studie (referentie)
Schapen en geiten	<i>Campylobacter</i>	92	Lammeren in slachthuizen in Engeland	40-1,0E+07 KVE/g	Kweek	(Stanley et al., 1998a)
		29	Schapen, grazend op het land in Engeland			
		43,8	Schapen in slachthuizen		Kweek	(Milnes et al., 2008)
		25	Grazende schapen in Schotland	Gem.: 2E+05 KVE/g	Kweek	(Ogden et al., 2009)
		19	Amsterdamse waterleidingduinen	Gem.: 2,6E+08 KVE/g (range: 9,2E+01-4,1E+08)	PCR	(Heijnen, 2009)
	Pathogene <i>E. coli</i> (o.a. O157)	4	Slachthuizen in Nederland			(Heuvelink et al., 1998a)
		1,3	Schapen in slachthuizen in Engeland			(Milnes et al., 2008)
		7,1	Schapen in slachthuizen in Italië	<2,6E+02 – 1,0E+06		(Franco et al., 2009)
		0	Amsterdamse waterleidingduinen			(Heijnen, 2009)
		Schapen: 24,4 Geiten: 9,9	Kinderboerderijen en wildparken in Engeland en Wales			(Pritchard et al., 2009)
	<i>Cryptosporidium</i>	67	Vrij levende schapen bij waterwingebied in Australië	Mediaan: 17 oocysten/g, soms >7000 oocysten/g		(Cox et al., 2005)
		Schapen: 39,6 Geiten: 20	Boerderijen in Engeland en Wales			(Smith et al., 2010)
	<i>Giardia</i>	67	Vrij levende schapen bij waterwingebied in Australië	Mediaan: 26 cysten/g, soms 500 cysten/g		(Cox et al., 2005)

Bijlage 4: Vee: paarden

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van paarden						
Diersoort	Pathogeen	% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode	Studie (referentie)
Paarden	<i>Campylobacter</i>	0	Paarden in Noorwegen			(Rosef et al., 1983)
		0	Gezonde paarden en paarden met diarree			(Prescott and Bruin-Mosch, 1981)
		Aantal te klein	1 besmet paard op een boerderij met veel besmet pluimvee			(Zweifel et al., 2008)
	Pathogene <i>E. coli</i> (o.a. O157)	Aantal te klein	Besmetting van paardenhandelaar via contact met paarden			(Chalmers et al., 1997)
		Aantal te klein	Paarden op een boerderij met besmette runderen			(Heuvelink et al., 1998b)
		0	81 feces monsters van paarden in natuurparken in USA			(Derlet and Carlson, 2002)
	<i>Cryptosporidium</i>	23	Paarden op boerderijen met besmette runderen in Canada			(Olson et al., 1997)
		25	Paarden op boerderijen met runderen in Engeland en Wales			(Smith et al., 2010)
		0	91 volwassen paarden die worden gebruikt voor recreatie in California			(Johnson et al., 1997)
	<i>Giardia</i>	20	Paarden op boerderijen met besmette runderen in Canada			(Olson et al., 1997)
		0	91 volwassen paarden die worden gebruikt voor recreatie in California			(Johnson et al., 1997)

Bijlage 5: Wild: hertartigen

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van wild (hertachtigen)					
Diersoort Pathogeen		% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode Studie (referentie)
Herten en Reeën	<i>Campylobacter</i>	1,2	In het wild levende herten en reeën in Nederland		Kweek (Heuvelink et al., 2008)
		2,6	Herten op kinderboerderijen in Nederland		Kweek (Heuvelink et al., 2003)
		Reeën: 6 Damherten: 10	Amsterdamse waterleidingduinen	Gem.: 3,4E+06 DNA/g (Range: 2,7E+03 - 1,6E+07)	PCR (Heijnen, 2009)
		Rendieren: 0,04	Finland en Noorwegen		Kweek (Kemper et al., 2006)
		Hertachtigen: 0,3 Reeën: 2,6	Wild in Noorwegen		Kweek (Lillehaug et al., 2005)
	Pathogene <i>E. coli</i> (o.a. O157)	Edelherten: 1,5 Reeën: 0 Damherten: 0	Wild in Spanje		(Garcia-Sanchez et al., 2007)
		Witstaartherten: 0,4	Slachtoffers van jacht in USA		(Dunn et al., 2004)
		Reeën: 0,5	In het wild levende herten en reeën in Nederland		(Heuvelink et al., 2008)
		Herten: 0	Herten op kinderboerderijen in Nederland		Kweek (Heuvelink et al., 2003)
			Experimenteel geïnfecteerde herten	Range: 3,2E+03 - 1,3E+05 KVE/g	Kweek (Fischer et al., 2001)
		Reeën: 6 Damherten: 2	Amsterdamse waterleidingduinen	Gem.: 4,4E+04 DNA/g (Range: 8,2E+02 - 1,1E+05)	PCR (Heijnen, 2009)
	<i>Cryptosporidium</i>	Elanden: 3,2 Edelherten: 0,3 Reeën: 6,2	Wild in Noorwegen		(Hamnes et al., 2006)

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van wild (hertachtigen)					
Diersoort Pathogeen		% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode Studie (referentie)
	<i>Cryptosporidium</i>	10,2	Hertachtigen in de nabijheid van bekkens voor drinkwater in Melbourne		(Cinque et al., 2008)
		Damherten: 6 Chinese muntjacs: 10	Wild in Engeland		(Sturdee et al., 1999)
		Witstaart herten: 11	Wild in de regio New York		(Perz and Le Blancq, 2001)
		Reeën: 3 Damherten: 8	Amsterdamse waterleidingduinen		PCR (Heijnen, 2009)
			1 hert in waterwingebied in Sydney	6 oocysten/gram	(Cox et al., 2005)
	<i>Giardia</i>	Elanden: 12,3 Edelherten: 1,7 Reeën: 15,5	Wild in Noorwegen		(Hamnes et al., 2006)
		Witstaart herten: 2,9/1,1	Witstaartherten, 2,9% besmet in Virginia en 1,1% in Mississippi		(Rickard et al., 1999)

Bijlage 6: Wild: klein wild

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van klein wild					
Diersoort Pathogeen		% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode Studie (referentie)
Klein wild: Konijnen Hazen Muizen Ratten	<i>Campylobacter</i>	Konijnen: 0,4	Konijnen voor consumptie in Zwitserland		(Kohler et al., 2008)
		Konijnen: 0 Hazen: 0	43 hazen en 38 konijnen in Nederland		(Heuvelink et al., 2008)
		Ratten: 58	Ratten in Portugal		(Cabrita et al., 1992)
			Aangetoond bij Huismuizen en Bruine ratten op boerderijen in Nederland		(Meerburg et al., 2006)
		Muskusratten: 8	Muskusratten (n=25) in Nederland		(Heuvelink et al., 2008)
	Pathogene <i>E. coli</i> (o.a. O157)		Konijnen op kinderboerderijen		(Garcia and Fox, 2003)
			Feces van konijnen in wildpark in Engeland als bron voor infectie van mensen		(Scaife et al., 2006)
			Konijnen voor consumptie in Spanje		(Rodriguez-Calleja et al., 2006)
			Konijnen voor consumptie in Zwitserland		(Kohler et al., 2008)
		0	Tamme konijnen op kinderboerderijen		(Assies et al., 2007)
		Hazen: 2,3 Konijnen: 0	In het wild levende konijnen en hazen in Nederland		(Heuvelink et al., 2008)

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van klein wild					
Diersoort Pathogeen		% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode Studie (referentie)
	<i>Cryptosporidium</i>		1 van de 2 onderzochte konijnen in een waterwingebied in Australie	77 oocysten/g	(Cox et al., 2005)
		Konijnen: 7 Egels: 25 Bosschmuizen: 35 Dwergspitsmuizen: 10 Dassen: 15 Vossen: 9	Wild in Engeland (28 konijnen onderzocht)		(Sturdee et al., 1999)
		Bruine ratten: 24	Onderzoek van 438 ratten in Engeland		(Quy et al., 1999)
	<i>Giardia</i>	Konijnen: 0	Niet aangetoond bij 2 onderzochte konijnen in een waterwingebied in Australie		(Cox et al., 2005)
		Muizen: 65	In het wild levende muizen in Amerika		(Pacha et al., 1987)

Bijlage 7: vogels

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van vogels					
Diersoort Pathogeen		% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode Studie (referentie)
Vogels	<i>Campylobacter</i>	Pluimvee: 58	Pluimvee (bundeling van diverse studies)		(Suzuki and Yamamoto, 2009)
		Wilde eenden: 35	Studie in Colorado (USA)		(Luechtefeld et al., 1980)
		Bonte kraai: 90 Meeuwen: 50 Duiven: 4	Verschillende vogelsoorten in de stad Oslo		(Kapperud and Rosef, 1983)
		Kippen: 60 Mussen: 46 Eenden: 41	Verschillende vogelsoorten in Portugal		(Cabrita et al., 1992)
		Eenden: 73 Ganzen: 5	Verschillende vogelsoorten in de staat Washington (USA)		(Pacha et al., 1988)
		Kraaien: 60 Watervogels: 22	In het wild levende vogels in Nederland		(Heuvelink et al., 2008)
	Pathogene <i>E. coli</i> (o.a. O157)	Kippen: 4	Kippenfokkerijen in Italië	Kweek+PCR	(Dipineto et al., 2006)
		o.a. Duiven: 6 Mussen: 13 Spreeuwen: 18	Verschillende vogelsoorten in japan	Kweek+PCR	(Kobayashi et al., 2009)
		Kippen: 0 Kalkoenen: 1,3	Pluimvee in slachthuizen in Nederland	Kweek	(Heuvelink et al., 1999)
		Weidevogels: 0 Watervogels: 0	In het wild levende vogels in Nederland	Kweek	(Heuvelink et al., 2008)

Het voorkomen en de concentratie van pathogene micro-organismen in de feces van vogels					
Diersoort Pathogeen	% besmet	Locatie	Concentratie (per gram feces) bij positieve monsters	Methode	Studie (referentie)
	<i>Cryptosporidium</i>	Kippen: 22-88 Eenden en ganzen: 50-59 Fazanten: 20-60 Meeuwen: 22-100 Meeuwen: 22	Overzicht van verschillende Europese studies		(Sreter and Varga, 2000)
		Ganzen	Op 7 van de 9 locaties in de USA wordt <i>Cryptosporidium</i> aangetoond	gem.3,7E+03 oocysten/g feces	(Graczyk et al., 2008) (Smith et al., 1993)
		Eenden: 49	Eenden aan de Rio Grande rivier	gem. 48 oocysten/g feces (Range: 0-2E+03) oocysten/g feces	(Graczyk et al., 2008, Kuhn et al., 2002)
		Ganzen	Op 9 van de 9 locaties in de USA wordt <i>Cryptosporidium</i> aangetoond	Ganzen: gem.4,1E+03 cysten/g feces	(Graczyk et al., 2008, Graczyk et al., 1998)
		Eenden: 28		gem. 48 oocysten/g feces (Range: 0-2,9E+04) oocysten/g feces	(Graczyk et al., 2008, Kuhn et al., 2002)
	<i>Giardia</i>	Ganzen	Op 9 van de 9 locaties in de USA wordt <i>Cryptosporidium</i> aangetoond	Ganzen: gem.4,1E+03 cysten/g feces	(Graczyk et al., 2008, Graczyk et al., 1998)
		Eenden: 28		gem. 48 oocysten/g feces (Range: 0-2,9E+04) oocysten/g feces	(Graczyk et al., 2008, Kuhn et al., 2002)

Bijlage 8: uitspoeling uit mest zonder bodemtransport

Overzicht van gegevens over uitspoeling van virussen, bacteriën en protozoa uit mest zonder bodemtransport

<i>Organismen</i>	<i>Regenint.</i>	<i>Duur</i>	<i>Regen</i>	<i>Uitspoeling</i>		<i>Conditie</i>		
	mm/h	uur	mm	%	%/uur	Opp.	Hoek	Rundermest
PRD1	110	0.5	55	0.03	0.06	ja	18	vers
PRD1	110	0.5	55	0.6	1.2	ja	18	vers
PRD1	110	0.5	55	0.0006	0.0012	ja	18	1 week
PRD1	110	0.5	55	0.06	0.12	ja	18	1 week
<i>E. coli</i>	110	0.5	55	1.3	2.6	ja	18	vers
<i>E. coli</i>	110	0.5	55	1.4	2.8	ja	18	vers
<i>E. coli</i>	110	0.5	55	0.04	0.08	ja	18	1 week
<i>E. coli</i>	110	0.5	55	15.3	30.6	ja	18	1 week
<i>E. coli</i>	61	1	61	23	23	ja	20	
<i>E. coli</i>	61	1	61	68	68	ja	20	
<i>E. coli</i>	61	2.25	140	13.5	6	ja	10	
<i>Cryptosporidium</i>	7.6	12	90	<0.01	<0.0008	ja	7.5	
<i>Cryptosporidium</i>	76.2	1.5	114	5.2	3.5	ja	10	
<i>Cryptosporidium</i>	110	0.5	55	0.5	1	ja	18	vers
<i>Cryptosporidium</i>	110	0.5	55	0.9	1.8	ja	18	vers
<i>Cryptosporidium</i>	110	0.5	55	0.01	0.02	ja	18	1 week
<i>Cryptosporidium</i>	110	0.5	55	0.06	0.12	ja	18	1 week
<i>Cryptosporidium</i>	79.5	4.1	326	2.1	0.5	nee	0	
<i>Cryptosporidium</i>	79.5	4.1	326	9.6	2.3	nee	0	
<i>Cryptosporidium</i>	79.5	4.1	326	9.4	2.3	nee	0	
<i>Cryptosporidium</i>	79.5	84	6678	42.4	0.5	nee	0	
<i>Giardia</i>	79.5	4.1	326	10	2.4	nee	0	
<i>Giardia</i>	79.5	4.1	326	13.6	3.3	nee	0	
<i>Giardia</i>	79.5	4.1	326	11.6	2.8	nee	0	
<i>Giardia</i>	79.5	84	6678	29.8	0.4	nee	0	

Bijlage 9: transport in de onverzadigde zone

<i>References virus</i>	<i>Material</i>	<i>Depth (m)</i>	<i>Rain/infiltration mm/h</i>	<i>Source</i>	<i>Org.</i>	<i>log/m</i>
Powelson	Coarse sand clay	4.30	83	Effluent	MS2	0.1
Gerba 1991	Sandy gravel almost saturated	4.58	417	Effluent	MS2	0.1
Ho 1992	Sand (k-16 m/d)	3.75	4.2	Effluent	Coliphages	0.2
Vaughn 1981	Coarse sand	7.62	60	Afvalwater	polio	0.2
Jansons 1989	Sand low pH Asutralia	3.00	167	Effluent	entero	0.3
Vaughn 1981	Coarse sand	7.62	10	Afvalwater	polio	0.3
Vaughn 1981	Coarse sand	7.62	5	Afvalwater	polio	0.3
Gerba 1991	Sandy gravel almost saturated	4.58	417	Effluent	PRD1	0.3
Vaughn 1981	Coarse sand	7.62	8333	Afvalwater	polio	0.4
Jansons 1989	Sand low pH Asutralia	3.00	167	Effluent	Echovirus	0.4
Jansons 1989	Sand low pH Asutralia	1.00	167	Effluent	coxsackie	0.5
Gerba 1991	Sandy gravel almost saturated	4.58	42	Effluent	PRD1	0.5
Gerba 1991	Sandy gravel almost saturated	4.58	42	Effluent	MS2	0.5
Powelson	Coarse sand clay	4.30	83	Effluent	PRD1	0.6
Frazier 2002	Granit	1.05	8.3	Tracer infil	MS2	0.9
Jansons 1989	Sand low pH Asutralia	0.50	167	Effluent	polio	1.0
Jansons 1989	Sand low pH Asutralia	0.50	167	Effluent	coxsackie	1.0
Anders 2005	Fine sand	1.50	gg	Afvalwater	MS2	1.0
Jansons 1989	Sand low pH Asutralia	1.00	167	Effluent	Echovirus	1.1
Anders 2005	Fine sand	1.50	gg	Afvalwater	PRD1	1.5
McKay 1999	Fractured clayey till	3.40	1-10	Tracer infil	PRD1	1.6
Nobel 1999	Sand dunes k-11 m/d	0.50	12.5	Tracer infil	MS2	2.2
Pang 2001	Pumice sand	1.16	6.25	Effluent	F-RNA	4.8
Nobel 1999	Sand dunes k-11 m/d	0.50	12.5	Tracer infil	PhiX 174	5.4

gg = geen gegevens

<i>References Bacteria</i>	<i>Material</i>	<i>Depth (m)</i>	<i>Rain/infiltration mm/h</i>	<i>Source</i>	<i>Org.</i>	<i>log/m</i>
Aislabie 2001	Clay soil k - 0.7-1.2 m/d	0.7	5-10	DSE	FC	0.4
Sinton 1986	Coarse soil	9.5	gg	septic	FC	0.44
Jansons 1989	Sand low pH Asutralia	3	167	Effluent	FC	0.53
Ho 1992	Sand (k-16 m/d)	3.75	4.2	Effluent	FC	0.84
Prapac 2002	silty clay loam	5	gg	pig manure	F. streptococ	0.88
McLeod 2001	Sandy soil k - 2.4-4.8 m/d	0.7	5	DSE	FC	2.34
McLeod 2003	Silty loam k - 0.1 - 1.0 m/d	0.46	5	DSE	FC	2.47
McLeod 2004	Claye loam k - 0.3 - 2.8 m/d	0.7	5	DSE	FC	2.64
Pang 2001	Pumice sand	1.16	6.25	Effluent	FC	2.66
McLeod 2004	Silty clay loam k - 0.1 - 2.1 m/d	0.7	5	DSE	FC	3.61
Pang 2008	Deep silty loam k - 0.35 - 9.2 m/d	0.7	5	DSE	FC	4.04
Nobel 1999	Sand dunes k-11 m/d	0.5	12.5	Tracer infil	E. coli	7
Nobel 1999	Sand dunes k-11 m/d	0.5	12.5	Tracer infil	Campylobacter	8
McLeod 2004	Fine sandy loam k-0.5-1.0 m/d	0.7	5	DSE	FC	9.34

gg = geen gegevens

Bijlage 10: meenemen van de reistijd

Gemiddelde verblijftijd in de onverzadigde zone

Gijsbert Cirkel, KWR

Aannamen

Geen preferente stroming, er wordt uitgegaan van propstroming in de intermediaire zone van de onverzadigde zone, geen preferente stroming, aanvulling gelijk aan netto neerslagoverschot, alleen zandige bovengronden (fijn zand en grof zand). In de berekeningen is uitgegaan van maatgevende neerslag met een herhalingstijd van 12 jaar.

Verblijftijd

De verblijftijd in de onverzadigde zone kan men op een eenvoudige manier als volgt bepalen (Van Lanen, 1984):

$$t_r = a * \frac{B_0}{B} \quad (1)$$

waarin:

a = de verdringingscoëfficiënt (dimensieloos)

B₀ = de hoeveelheid bodemvocht die zich in de onverzadigde zone bevindt (m³)

B = de hoeveelheid water die de onverzadigde zone binnenstroomt (m³/d)

Bovenstaande vergelijking geldt voor de intermediaire zone van de onverzadigde zone. Indien wordt uitgegaan van propstroming dan geldt a = 1. Het volume bodemvocht in de onverzadigde zone kan worden vervangen door het product van de dikte (D) en het gemiddelde vochtgehalte (θ) van de intermediaire zone. De hoeveelheid water die dagelijks de bovenkant binnenstroomt, is gelijk aan het neerslagoverschot NN (m/d). Dit geeft de volgende vergelijking:

$$t_r = \frac{D * \theta}{NN} \quad (2)$$

Het gemiddelde vochtgehalte in een zandige onverzadigde zone is een functie van de textuur en in mindere mate van de grootte van het neerslagoverschot. Het gemiddelde vochtgehalte kan met de volgende vergelijking worden bepaald (Van Lanen, 1984):

$$\theta = \alpha + \beta * 10^{\log NN} \quad (3)$$

Voor grof zand bedragen de waarden voor α en β respectievelijk 0.0859 en 0.007, voor fijn zand bedragen de waarden voor α en β respectievelijk 0.3 en 0.038. Op basis van de bodemkaart is per waterwingebied bepaald welke bovengrond er aanwezig is. Als de bovengrond uit een ander materiaal bestaat dan zand is voor de textuur fijn zand aangenomen. De dikte van de onverzadigde zone is voor dunne onverzadigde zones gebaseerd op de grondwatertrappenkaart.

Berekening reistijden

De reistijden zijn berekend met de hierboven vermelde formules. Ook voor de onverzadigde zone is de kritische neerslag iteratief bepaald (zie stukje Kees V voor meer detail). Op een aantal pompstations heeft de deklaag geen zandige textuur maar bijvoorbeeld klei of veen. Uit oogpunt van vereenvoudiging is voor de pompstations waar dit gebeurt als grondsoort fijn zand aangenomen. Er is geen rekening gehouden met preferente stroming, muizenholen, scheurvorming in kleigronden e.d..

De reistijd kan bij dunne onverzadigde zones zeer worden verkort als een van deze verschijnselen voorkomt.

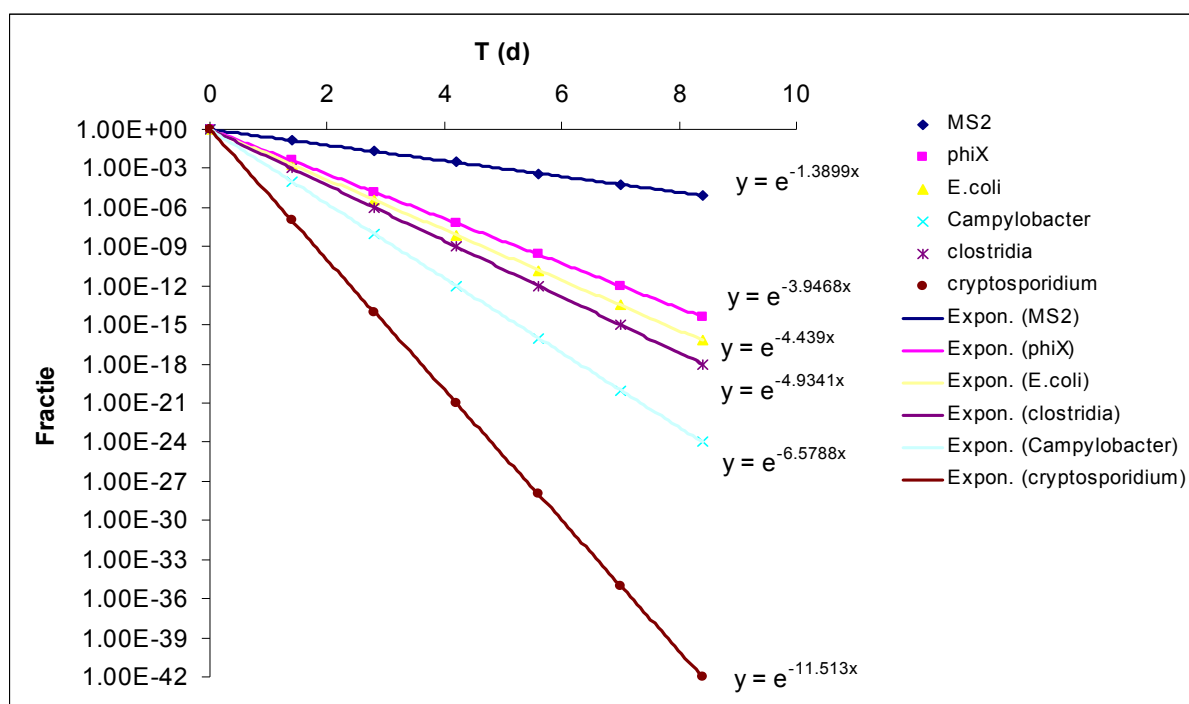
De reistijden en fracties zijn bepaald met de data zoals aangeleverd door Wiel Senden, en met een tabel met gecorrigeerde data op basis van de grondwatertrappen.

Verwijdering in de onverzadigde zone

Over de verwijdering van micro-organismen in de onverzadigde zone is nog zeer weinig kennis. In deze studie zijn de eerste resultaten van de veldproef Solleveld gebruikt. Bij deze proef is de verwijdering door een halve meter onverzadigde zone voor de volgende organismen bepaald: Virussen (PhiX, MS2), Bacteriën (E coli, Campylobacter), sporen (Clostridium) en protozoën (Cryptosporidium). De in de veldproef gemeten waarden zijn vervolgens opgeschaald naar andere diktes en verblijftijden (tabel 1). De opgeschaalde waarden zijn vervolgens uitgezet tegen de verblijftijd (figuur 1)

Tabel 1 In de veldproef Solleveld gemeten waarden (fractie over $1/(C/C_0)$) en opschaling naar andere diktes en verblijftijden.

dikte (m)	T (d)	virussen		bacteriën		sporen	protozoën
		MS2	phiX	E.coli	Campylobacter	clostridia	cryptosporidium
0	0	1.00E+00	1.00E+00	1.00E+00	1.00E+00	1.00E+00	1.00E+00
0.5	1.4	1.43E-01	3.98E-03	2.00E-03	1.00E-04	1.00E-03	1.00E-07
1	2.8	2.04E-02	1.59E-05	4.00E-06	1.00E-08	1.00E-06	1.00E-14
1.5	4.2	2.92E-03	6.32E-08	8.00E-09	1.00E-12	1.00E-09	1.00E-21
2	5.6	4.16E-04	2.52E-10	1.60E-11	1.00E-16	1.00E-12	1.00E-28
2.5	7	5.95E-05	1.00E-12	3.20E-14	1.00E-20	1.00E-15	1.00E-35
3	8.4	8.50E-06	4.00E-15	6.40E-17	1.00E-24	1.00E-18	1.00E-42



Figuur 1 Overgebleven fractie en verblijftijd

Verblijftijd langs de kortste stroomlijn bij een onvolkomen putfilter

Kees Maas, KWR

Aannamen

Geen natuurlijke gradiënt, geen onverzadigde zone, wel grondwateraanvulling uit neerslag.

Eerst zonder neerslag

De stroomsnelheid langs de lijn die vanaf de grondwaterspiegel verticaal omlaag naar het putfilter loopt is te vinden door het putfilter te beleggen met puntbronnen. Wegens de eindige pakketdikte moeten de puntbronnen eindeloos gespiegeld worden in de onder- en de bovenzijde van de aquifer.

Stroomsnelheid tgv een puntbron in een punt recht boven de bron:

$$v(z) = \frac{q}{4\pi\varepsilon(z - z_p)^2} \quad (1)$$

met v = snelheid, z = positie van het punt, q = debiet, ε = porositeit, z_p = positie van de bron.

2.2 Stroomsnelheid tgv een lijnbron, in een punt dat in het verlengde van de lijnbron ligt:

$$v(z) = \frac{Q/\ell}{4\pi\varepsilon} \int_a^b \frac{1}{(z - z_p)^2} dz_p = \frac{Q}{4\pi\varepsilon} \frac{1}{(a - z)} \frac{1}{(b - z)} \quad (2)$$

met Q = totaal debiet van de lijnbron, ℓ = lengte van het filter, a = onderkant filter, b = bovenkant filter.

Spiegelen

Het nodige puzzelwerk levert als resultaat van de oneindige spiegeling:

$$v(z) = \frac{Q}{4\pi\varepsilon} \left(\frac{1}{a+z} \cdot \frac{1}{b+z} - \frac{1}{a-z} \cdot \frac{1}{b-z} \right) + \frac{Q}{4\pi\varepsilon} \sum_{n=2,4,\dots}^{\infty} \left(\frac{1}{nD+a+z} \cdot \frac{1}{nD+b+z} - \frac{1}{nD+a-z} \cdot \frac{1}{nD+b-z} + \frac{1}{nD-a+z} \cdot \frac{1}{nD-b+z} - \frac{1}{nD-a-z} \cdot \frac{1}{nD-b-z} \right) \quad (3)$$

met D = pakketdikte.

Alleen neerslag

De verticale stroomsnelheid tgv een grondwateraanvulling N verloopt lineair met de diepte:

$$v(z) = \frac{N(D - z)}{\varepsilon D} \quad (4)$$

Superpositie

De snelheid tgv zowel de onttrekking als de aanvulling wordt gevonden door superpositie van (3) en (4):

$$v(z) = (3) + (4) \quad (5)$$

Anisotropie

Anisotropie is in rekening te brengen door de snelheid te vermenigvuldigen met $\sqrt{k_v/k_h}$, dus

$$v(z) = \{(3) + (4)\} \sqrt{\frac{k_v}{k_h}} \quad (6)$$

met $k_{h,v}$ = horizontale, resp. verticale doorlatendheid.

Verblijftijd

De verblijftijd is te berekenen met

$$t = \int_0^b \frac{1}{v(z)} dz \quad (7)$$

Ik vrees dat analytische integratie niet gaat lukken; daarom numeriek; zie M-file.Q/(4*pi*eps)

