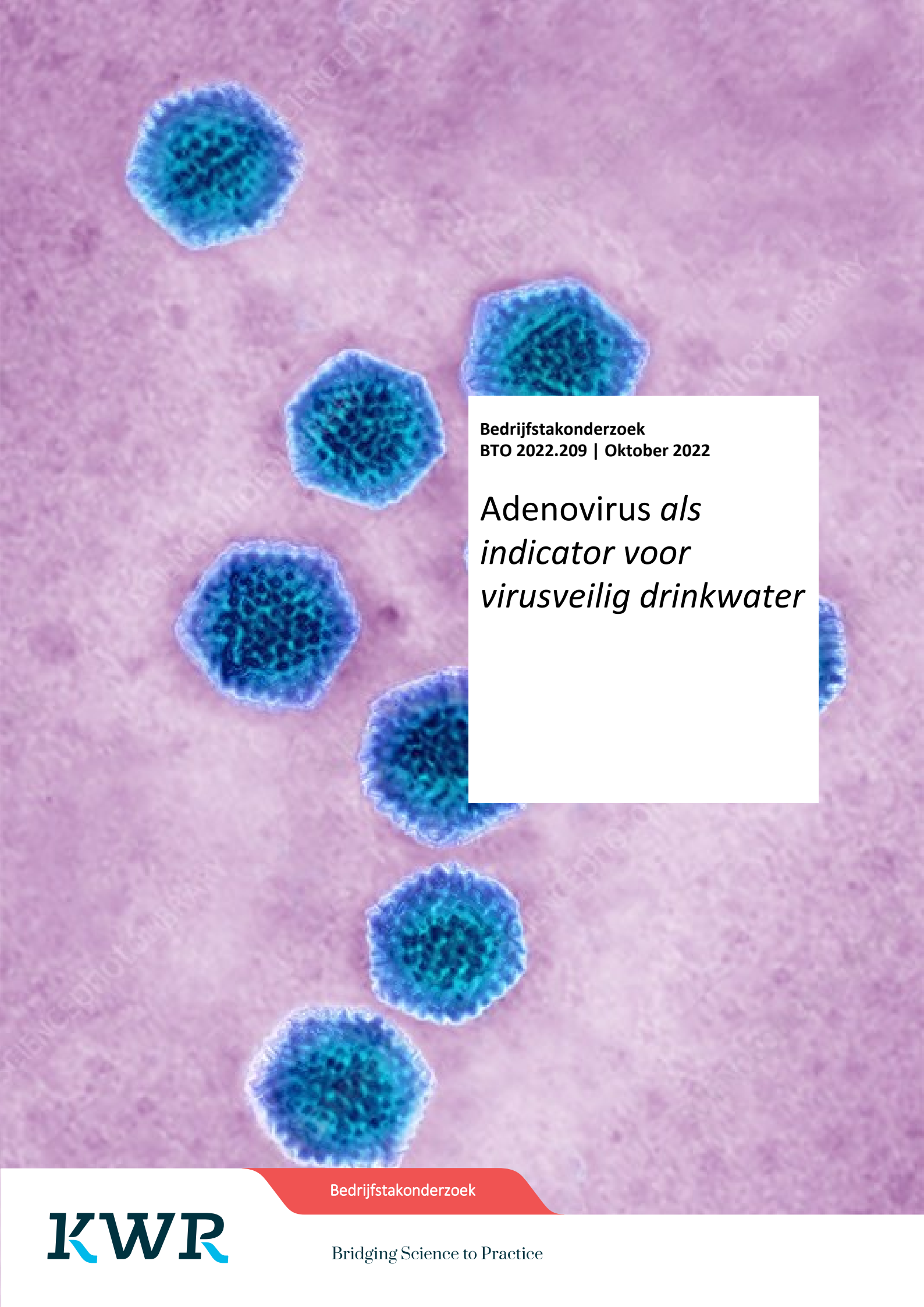




Bedrijfstakonderzoek
BTO 2022.209 | Oktober 2022

*Adenovirus als
indicator voor
virusveilig drinkwater*

Rapport

Adenovirus

BTO 2022.209 | Oktober 2022

Dit onderzoek is onderdeel van het collectieve Bedrijfstakonderzoek van KWR, de waterbedrijven en Vewin.

Opdrachtnummer

402045.271

Projectmanager

Dr. Michiel Hootsmans

Opdrachtgever

BTO - Bedrijfsonderzoek

Auteur(s)

Prof. dr. Gertjan Medema

Kwaliteitsborger(s)

Verzonden naar

Dit rapport is verspreid onder BTO-participanten.

Een jaar na publicatie is het openbaar.

Keywords

virus AMVD veilig drinkwater QMRA

Jaar van publicatie
2022

Meer informatie
Prof. dr. Gertjan Medema
T +316069653
E gertjan.medema@kwrwater.nl

PO Box 1072
3430 BB Nieuwegein
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511
E info@kwrwater.nl
I www.kwrwater.nl

KWR

Oktober 2022 ©

Alle rechten voorbehouden aan KWR. Niets uit deze uitgave mag - zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van KWR - 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.

Managementsamenvatting

Adenovirus als indicator voor virusveilig drinkwater

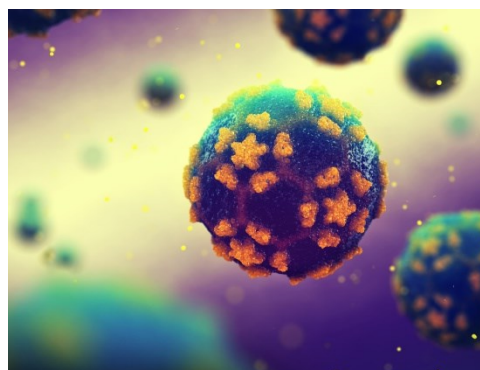
Auteur(s) Prof. dr. Gertjan Medema.

Adenovirus lijkt kritischer voor de veiligheid van de drinkwatervoorziening uit oppervlaktewater dan *Enterovirus*, omdat de concentratie bij innamepunten hoger ligt en *Adenovirus* zeer resistent is tegen UV. Dat geldt mogelijk ook voor kalksteenwinningen en oevergrondwater uit een grof-grind-pakket (waar nabehandeling met UV nodig is). Voor duin- en grondwaterwinningen is *Adenovirus* minder kritisch, omdat dit virus relatief goed verwijderd wordt tijdens bodempassage. Om te kunnen besluiten of *Enterovirus* in de Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater vervangen zou moeten worden door *Adenovirus*, zijn er belangrijke kennishiaten: 1. Wat is de concentratie infectieus *Adenovirus* van de serotypen 40/41 bij drinkwaterinnamepunten in oppervlaktewater? Aanbevolen wordt om de celkweek-methoden die *Adenovirus* 40/41 detecteren (HEK 293) te valideren en de concentratie infectieus *Adenovirus* 40/41 bij een aantal innamepunten uit oppervlaktewater te meten. 2. Is *Adenovirus* 40/41 uit riool- of oppervlaktewater resistentier tegen middendruk-UV en tegen chemische desinfectie dan de 'labstammen' die tot nu toe zijn gebruikt om de effectiviteit van desinfectieprocessen te beoordelen?



Adenovirus

versus



Enterovirus

Belang: *Adenovirus* als referentievirus?

Adenovirus komt in hogere concentraties voor in riool- en oppervlaktewater (inclusief drinkwaterinnamepunten) dan *Enterovirus*. *Adenovirus* is zeer resistent tegen UV desinfectie. Dat maakt *Adenovirus* mogelijk een kritischer virus voor het beoordelen van de veiligheid van de drinkwaterwinning uit oppervlaktewater en kwetsbaar grondwater dan *Enterovirus*, het virus dat nu als referentievirus in het Drinkwaterbesluit wordt aangegeven.

Aanpak: beschikbare kennis beoordelen

In een kort literatuuronderzoek is de kennis over *Adenovirus* bijeengebracht en beoordeeld, van voorkomen in riool-, rivier- en grondwater, verwijdering door zuiveringsprocessen en bodempassage, tot infectiviteit en ziektelast. Hierbij is *Enterovirus* als referentie gebruikt.

Op basis van deze informatie is voor een aantal scenario's van drinkwatervoorziening uit oppervlaktewater of kwetsbaar grondwater bepaald in hoeverre *Adenovirus* relevant is voor

de beoordeling van de drinkwaterveiligheid in het kader van de Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater.

Resultaten: hogere concentraties en resistenter tegen UV

De meeste informatie over *Adenovirus* in water is verzameld met PCR. Hieruit blijkt dat *Adenovirus*-deeltjes in beduidend hogere concentraties voorkomen dan *Enterovirus*, maar de meeste gegevens over *Enterovirus* zijn bepaald met celkweek, omdat daar alleen infectieuze virussen mee worden aangetoond. Over *infectieus Adenovirus* zijn beperkt gegevens beschikbaar (Biesbosch bekkens). Die geven aan dat de concentratie *infectieus Adenovirus* in uitgaand water van de bekkens hoger ligt dan die van *infectieus Enterovirus*. De gebruikte celkweekmethode was echter niet gevoelig voor het meest voorkomende en wateroverdraagbare type *Adenovirus* 41. De concentratie *infectieus, wateroverdraagbaar Adenovirus* is dus nog niet goed bekend.

Adenovirus is veel resistenter tegen UV dan *Enterovirus*. Middendruk-UV is effectiever tegen *Adenovirus* dan lage-druk-UV. De recente bevinding dat *Adenovirus* in rioolwater resistenter is tegen middendruk-UV dan 'labstammen' vraagt nadere aandacht, omdat het de bijdrage van middendruk-UV zou kunnen verlagen. Niet bekend is of dit ook voor andere desinfectieprocessen zou kunnen gelden, zoals chloordioxide. Chemische desinfectie en bodempassage zijn effectiever tegen *Adenovirus* (40/41) dan tegen *Enterovirus*. Daarmee is *Adenovirus* vooral kritischer voor zuiveringen waarin UV een belangrijke desinfectiebarrière is, bijvoorbeeld zuiveringen uit oppervlaktewater of kwetsbare kalksteen- of oevergrondwaterwinning. *Adenovirus* is zeer infectieus, net als *Enterovirus*, maar de ziektelast lijkt pas bij hogere doses te ontstaan.

Ziektelast wordt nu echter niet meegenomen in de Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater.

Toepassing: kennishiaten invullen

De beschikbare informatie lijkt aan te geven dat *Adenovirus* in hogere concentraties voorkomt bij drinkwaterinnamepunten. Ook is *Adenovirus* kritischer voor zuiveringen waar UV een belangrijke desinfectiebarrière is dan *Enterovirus*. De beschikbare informatie is nog niet sterk genoeg om te kunnen besluiten of *Enterovirus* in de Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater vervangen zou moeten worden door *Adenovirus*. Belangrijkste kennishiaat is de concentratie infectieus *Adenovirus* van de serotypen 40/41 bij drinkwaterinnamepunten in oppervlaktewater. Aanbevolen wordt om de celkweek-methoden die *Adenovirus* 40/41 detecteren (HEK 293) te valideren en de concentratie infectieus *Adenovirus* 40/41 bij een aantal innamepunten uit oppervlaktewater te meten. Daarnaast geeft een recente studie aan dat *Adenovirus* 40/41 uit riool- of oppervlaktewater resistenter is tegen middendruk-UV dan de 'labstammen' die tot nu toe zijn gebruikt om de effectiviteit van UV te beoordelen. Aanbevolen wordt te onderzoeken of infectieus *Adenovirus* 40/41 uit riool- of oppervlaktewater resistenter is tegen middendruk-UV en tegen chemische desinfectie met ozon en chloordioxide.

Het verschil in dosis voor ziekte wordt nu niet meegewogen in de AMVD. Dit zou in de werkgroep met RIVM en IL&T besproken kunnen worden.

Rapport

Dit onderzoek is beschreven in het rapport *Adenovirus* (BTO-2022-209).

Inhoud

Rapport	2
<i>Managementsamenvatting</i>	3
Inhoud	5
1 Inleiding	7
1.1 <i>Adenovirus</i> en de Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater	7
1.2 Doelstelling	7
2 Literatuuronderzoek <i>Adenovirus</i>	9
2.1 Opzet	9
2.2 Structuur	9
2.3 Taxonomie	9
2.4 Ziektebeeld	10
2.5 Voorkomen intestinale <i>HAdV</i> (40/41)	11
2.6 <i>Adenovirus</i> transmissie via water	11
2.7 Aanwezigheid in drinkwaterbronnen	12
2.8 <i>Adenovirus</i> verwijdering in de zuivering	14
2.8.1 Coagulatie/filtratie	14
2.8.2 Chemische desinfectie	15
2.8.3 Desinfectie met UV	15
2.9 Dosis-respons	18
3 Oppervlaktewaterzuivering met UV desinfectie	19
3.1 Beschrijving drinkwaterproductie Berenplaat	19
3.2 Adenovirussen in ruw-water	19
3.3 Verwijdering in de zuivering	20
3.4 Evaluatie	21
4 Drinkwater uit kwetsbare grondwaterwinning	22
4.1 Beschrijving winningen	22
4.2 Adenovirussen in ruw water	22
4.3 Verwijdering tijdens bodempassage	23
4.4 Evaluatie	24
5 Drinkwater uit oppervlaktewater met duinpassage en langzame zandfiltratie	25
5.1 Beschrijving winningen	25
5.2 Adenovirussen in ruw water	25
5.3 Verwijdering tijdens voorzuivering en duinpassage	25
5.4 Evaluatie	25

6	Conclusies en aanbevelingen	26
6.1	Concentratie bij drinkwater-innamepunten in oppervlaktewater	26
6.2	Concentratie in grondwater	27
6.3	Verwijdering in de zuivering	27
6.4	Infectiviteit	27
I	Referenties	29

Inleiding

1.1 Adenovirus en de Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater

Het nieuwe Richtsnoer Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater (AMVD; ILT, 2020) gaat uit van de vier indexpathogenen *Enterovirus*, *Campylobacter*, *Cryptosporidium* en *Giardia*, voor het vaststellen of drinkwater uit oppervlaktewater of kwetsbaar grondwater veilig is. Het Drinkwaterbesluit geeft aan dat het infectierisico ook moet worden bepaald voor andere pathogenen wanneer die relevant zijn voor de veiligheid van drinkwater. Vanwege hun hoge UV-resistentie worden Adenovirussen daarbij genoemd als mogelijk relevant bij zuivering met UV-desinfectie. Bij uitwerking van de AMVD stuiten de drinkwaterbedrijven op de vraag of *Adenovirus* in de betreffende situatie relevant is, en op uitdagingen bij het opstellen van een AMVD voor *Adenovirus* (Schijven et al. 2019a). Zo wordt *Enterovirus* met celkweek gemeten, maar is er geen duidelijkheid over een kweekmethode voor infectieuze intestinale *Adenovirus* 40/41. De kennis over *Adenovirus* in water is gebaseerd op (combinaties van) kweekmethoden voor *Adenovirus* en moleculaire methoden voor de specifiek intestinale typen 40 en 41. Daarnaast is van intestinaal *Adenovirus* 40/41 zelf geen dosis-responsrelaties bekend. Deze is van een ander (respiratoire) *Adenovirus* -type afgeleid, met onzekerheid over de representativiteit voor intestinale dosis-respons (Teunis et al. 2016).

In 2008/2009 is in het BTO een screening uitgevoerd met qPCR van *Adenovirus* 40/41 bij negen drinkwaterinnamepunten in Nederland (BTO 2011.010). *Adenovirus* 40/41 werd in alle innamepunten aangetroffen, behalve het Waterleidingkanaal (Waternet), in hoge concentraties (10.000-100.000 DNA-kopieën per liter). *Adenovirus* komt dus algemeen en in hoge concentraties voor in Nederlands oppervlaktewater. Bij Evides is in bepaalde situaties *Adenovirus* dé bepalende factor voor de benodigde desinfectiecapaciteit bij oppervlaktewaterzuiveringen (). De UV-resistentie van *Adenovirus* is daarin een belangrijke factor, maar ook de bevinding dat in het ruwwater van de Petrusplaat *Adenovirus* in hogere aantallen voorkomt dan *Enterovirus* (gemiddeld ca. 25x) en wordt *Adenovirus* gedurende een langere periode van het jaar aangetroffen dan *Enterovirus* (Schijven et al. 2019a). Voor veel andere oppervlaktewaterwinningen is niet bekend of *Adenovirus* relevant kan zijn.

Voor kwetsbaar grondwater ligt in de AMVD en onderzoek de nadruk op *Enterovirus*. Over transport en verwijdering van *Adenovirus* in de ondergrond zijn geen Nederlandse data en is in het algemeen nog weinig bekend. In Frankrijk, Spanje en de VS is *Adenovirus* ook aangetroffen in (diep) grondwater, ook in afwezigheid van fecale indicatoren (Ogorzaly et al. 2010; Albinana-Gimenez et al. 2009; Borchardt et al. 2012). *Adenovirus* overleeft lang in grondwater, langer dan bacteriofagen. Bij kwetsbare grondwaterwinningen wordt vaak UV-desinfectie als risico-beheersende maatregel voor *Enterovirus* overwogen. Voor *Adenovirus* is dit echter een minder effectieve maatregel (Augsburger et al. 2021). Daarom is het belangrijk te bepalen of bij een kwetsbare grondwaterwinning een risicoanalyse voor enterovirussen ook risico's voor *Adenovirus* afdekt, inclusief eventuele maatregelen.

1.2 Doelstelling

In dit bedrijfsonderzoek wordt wetenschappelijke kennis over *Adenovirus* bij elkaar gebracht (Hoofdstuk 2). Vervolgens wordt onderzocht wat de relevantie/het risico is van *Adenovirus* in typische situaties, zowel bij oppervlaktewater- als grondwaterwinning (Hoofdstuk 3-5). Hieruit volgt of en welke kennis nog ontbreekt om een robuuste AMVD voor deze pathogenen uit te voeren (Hoofdstuk 6).

Het onderzoek geeft voorbeelden van het toepassen van deze kennis voor de AMVD van typische drinkwatersystemen in Nederland. Dit resulteert in een indicatie in welke situaties *Adenovirus* relevant kan zijn, en hoe dit wordt beïnvloed door hiaten in kennis. Bedoeling is dat drinkwaterbedrijven deze voorbeelden zo direct mogelijk kunnen gebruiken voor het opstellen van AMVD's voor hun eigen specifieke systemen. Uit de kennishiaten zijn aanbevelingen opgesteld voor verder (BTO) onderzoek.

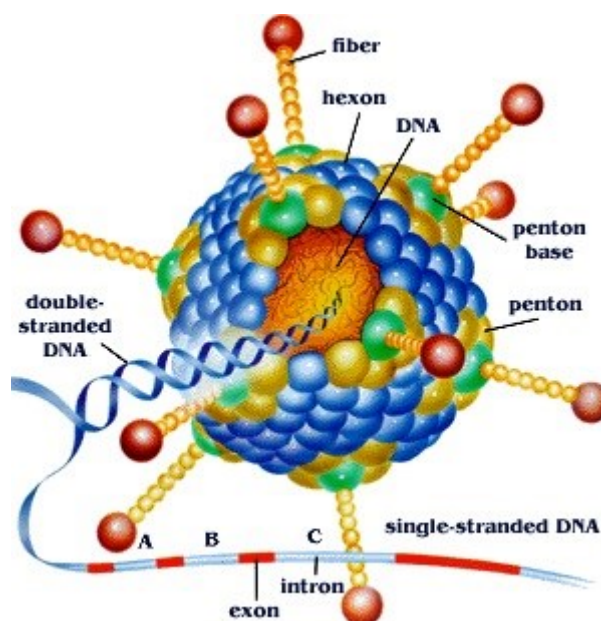
Literatuuronderzoek *Adenovirus*

2.1 Opzet

Het was niet mogelijk een volledig literatuuronderzoek volgens de PRISMA richtlijnen uit te voeren in het kader van dit project. Op basis van gerichte zoekopdrachten in de wetenschappelijke literatuur tot en met 2022, en de meest recente reviews (Rames et al. 2016; Allard 2017) is zo veel mogelijk relevante kennis verzameld en hier samengebracht en samengevat.

2.2 Structuur

Adenovirus heeft lineair dubbelstrengs DNA van ca 35000 base-paren. De structuur is een regelmatig twintigvlak (Figuur 1) van ca 90 nm, opgebouwd uit glycoproteïnes; hexonen op de vlakken en pentonen op alle hoeken van de vlakken. Op elke hoek is er een speciaal penton met een speldvormig uitsteeksel (fiber). De kop van de fiber speelt een rol bij de koppeling aan de gastheercellen. *Adenovirus* heeft geen lipoproteïne envelop (Embrey, 2002).



Figuur 1. Schematische weergave van Adenovirus

Bron:

http://www.openwetware.org/index.php?title=Special:Cite&page=WUSM_Microbes_and_Pathogenesis_Wiki:_Adenovirus_Group_9&id=395020

2.3 Taxonomie

Adenovirus valt binnen de familie *Adenoviridae*. Er worden 5 genera onderscheiden in deze familie, waar de *Adenovirussen* die zoogdieren infecteren vallen onder het geslacht *Mastadenovirus*. Daar vallen dus ook de humane *Adenovirussen* onder (eigenlijk dus *Mastadenovirus*, maar in dit rapport wordt *Adenovirus* gebruikt). Humaan *Adenovirus* (HAdV) wordt verder onderverdeeld in de species A t/m G, met daaronder een verdere verdeling in nummers. Tot 2007 werd hiervoor serotypering gebruikt, daarna

genotypering. Er zijn nu meer dan 100 genotypen humaan *Adenovirus* beschreven ([HAdV Working Group \(gmu.edu\)](https://gmu.edu)).

Adenovirus 40 en 41 vormen samen groep F (*HAdV-F40* en *HAdV-F41*) en zijn de *Adenovirus* soorten die exclusief darminfecties veroorzaken. Daarnaast zijn er meer *Adenovirus*-soorten die naast andere typen infectie ook diarree kunnen veroorzaken. In een studie onder Thaise kinderen kwamen *HAdV-F41*, *HAdV-C2*, *HAdV-B3* en *HAdV-C1* als meest prevalentie verwekkers van gastro-enteritis naar voren (Kumthip et al. 2019).

2.4 Ziektebeeld

Adenovirus infecties komen wereldwijd regelmatig voor, ook in Nederland. *Adenovirus* infecties komen vooral voor bij kinderen, ook omdat ze een sterke afweerrespons opwekken die langdurig beschermd. Afhankelijk van leeftijd, immuunstatus en type veroorzaakt *Adenovirus* verschillende ziektebeelden (Tabel 1). Bij gezonde individuen verloopt een infectie in ongeveer de helft van de gevallen zonder symptomen. Zijn er wel ziekteverschijnselen dan zijn deze vaak mild van aard.

Tabel 1. Ziektebeelden en types van humane Adenovirussen (naar: RIVM [Adenovirus infecties / LCI richtlijnen \(rivm.nl\)](https://www.rivm.nl))

	Ziektebeeld	Meest geassocieerde type(s)
Baby's en kinderen	bovenste luchtweginfecties of Pharyngitis, conjunctivitis en koorts	1-7, 21
	Pneumonie	1-3, 21
	Diarree	2, 3, 5, 31, 40, 41
Volwassenen	(epidemische) keratoconjunctivitis	8, 11, 19, 37
	acute luchtweginfectie	3, 4, 7, 14, 21
	pneumonie	4, 7, 14
Immuungecompromitteerden	Pneumonie	1-5, 7, 14, 21
	Hepatitis	1-3, 5, 7
	hemorragische cystitis, interstitiële nefritis	11, 34, 35
	meningoencefalitis	2, 6, 7, 12, 32

Diarree kan voorkomen bij infectie met elk type *Adenovirus*, maar *Adenovirus* 40 en 41 zijn specifieke verwekkers van gastro-enteritis, ofwel maagdarminfecties, met diarree als belangrijk symptoom. Bij deze intestinale *Adenovirussen* is er ook een duidelijke relatie met het optreden van diarree; de andere *Adenovirussen* worden ook in mensen zonder diarree aangetroffen. De symptomen van een infectie met *Adenovirus* 40/41 zijn vrijwel altijd diarree, meestal braken en koorts en soms buikpijn, uitdroging en luchtwegklachten. In een studie naar maag-darmontstekingen in Nederlandse huishoudens in de winters (omdat darminfecties door virussen dan het meest prevalent zijn) van 2016 en 2017 bleken virussen verantwoordelijk voor 52% van de ontstekingen, en daarvan was *Norovirus* het meest prevalent (25%), gevolgd door *Rotavirus* (15%), *Astrovirus* (8%) en *Adenovirus* 40/41 (4%) (Quee et al. 2020). Tweederde daarvan waren kinderen onder de 1 jaar. De ziektelast (percentage dat naar huisarts ging, medicatie kreeg, thuisbleef van school of werk) van de maag-darmontstekingen lag voor *Adenovirus* in dezelfde orde grootte als voor de andere virussen uit deze studie. Elk van de virussen werd ook (minder frequent) aangetroffen in een deel van de monsters ontlasting die genomen werden als controlemonsters (op momenten dat er geen symptomen waren van darmontsteking).

2.5 Voorkomen intestinale HAdV (40/41)

De intestinale *Adenovirussen* komen vooral endemisch voor; er zijn wel outbreaks van *Adenovirus* aangetoond maar veel minder vaak (1%) dan andere virussen zoals bv Norovirus (78%, Svraka et al., 2007). Dit beeld van vooral endemisch voorkomen wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de weinig typische symptomen, de lage sterfte en geringe seizoensfluctuatie (de Jong, 1996), hoewel meer HAdV infecties in de winter worden gemeld. Er is geen actieve surveillance op *Adenovirus* infecties, dus een goed beeld ontbreekt. Er zijn jaarlijks 1200 meldingen van infecties met HAdV 40/41 ([Adenovirus infecties | RIVM](#)). De intestinale *Adenovirus* komen vooral voor bij jonge kinderen. Uit populatiestudies naar darminfecties blijkt dat het percentage darminfectie-patiënten met *Adenovirus* rond 4-5% ligt onder nul-jarigen en 0-2% bij tieners en volwassenen (de Wit et al. 2001; Quee et al. 2020). De incubatietijd is 7-8 dagen en de ziektesymptomen houden gemiddeld 3-11 dagen aan. De virusuitscheiding van de intestinale *Adenovirus* (tot 10^{11} /g faeces) gaat door als de symptomen al verdwenen zijn, maar stopt na enkele weken, in tegenstelling tot de andere *Adenovirussen* die soms wel jaren (intermitterend) in de ontlasting worden aangetroffen in hoge aantallen, zonder ziekte te veroorzaken. *Adenovirus* 40/41 werd in Nederland in 3,8-3,9% van de maagdarm-infecties gevonden (de Wit et al. 2001; Quee et al. 2020). Met naar schatting 4,5 miljoen darminfecties per jaar ligt het totaal aantal *Adenovirus* 40/41 infecties rond de 170.000. Latere studies geven aan dat het aantal darminfecties in Nederland nog ruim 3x zo hoog ligt: 14-16 miljoen (Doorduyn, Van Pelt, and Havelaar 2012; Pijnacker et al. 2019), dat zich zou vertalen naar ca 600.000 HAdV 40/41 infecties per jaar in Nederland. Een populatiestudie in Engeland onder diarree bij jonge kinderen kwam op 9% HAdV uit (Gomara et al. 2008).

Voor transmissie via drinkwater zijn vooral de intestinale humane *Adenovirussen* (serotypen 40 en vooral 41) relevant, die een fecaal-orale verspreidingsroute hebben, net als andere verwekkers van gastro-enteritis. Daar zou de transmissieroute dus het drinken van met *Adenovirus* besmet drinkwater zijn. Daarnaast kan transmissie ook via waterdruppeltjes en aerosolen plaatsvinden. Om die reden is het relevant om ook andere *Adenovirus* typen mee te nemen in dit onderzoek om te beoordelen of ze relevant zijn voor de veiligheid van de Nederlandse drinkwatervoorziening.

2.6 *Adenovirus* transmissie via water

Adenovirus wordt vooral verspreid via vochtdruppeltjes uit de luchtwegen, meestal van persoon tot persoon. *Adenovirus* kan ook uitgescheiden worden via diarree en via die route water besmetten. Er zijn outbreaks van conjunctivitis en pharyngoconjunctivitis door *Adenovirus* via zwembaden en recreatiewater beschreven (Mena & Gerba, 2008). Outbreaks via drinkwater zijn ook geassocieerd met *Adenovirus*. Divizia et al. (2004) en Villena et al. (2003) vonden in enkele van de patiënten met diarree die besmet waren met *Adenovirus* 6 via fecaal verontreinigd drinkwater in Tirana, Albanië, maar altijd als co-infectie met *Rotavirus*, die veel vaker voorkwam. Dit lijkt dus eerder een bijeffect van luchtweg-infecties dan een gevolg van het drinken van besmet water. In Finland zijn ook *Adenovirussen* in patiënten aangetroffen bij een outbreak van darminfecties na het drinken van fecaal besmet drinkwater uit onvoldoende beschermd grondwater, maar ook hier betrof het co-infecties met o.a. *Norovirus* (Kukkula et al., 1997). Er zijn geen outbreaks van intestinale *Adenovirus* 40/41 beschreven. Gegeven het feit dat *Adenovirus* 40/41 in hoge concentraties in recreatiewater voorkomt (zie volgende paragraaf) en blootstelling van kinderen aan recreatiewater intensief kan zijn, is dat opmerkelijk. Blootstelling aan *Adenovirus* 40/41 via recreatiewater is waarschijnlijk; infecties via water worden dus of niet opgemerkt of leveren onvoldoende dosis *Adenovirus* om een substantieel risico op ziektesymptomen op te lopen.

2.7 Aanwezigheid in drinkwaterbronnen

Gegevens over het voorkomen van *Adenovirussen* in drinkwaterbronnen kan met verschillende methoden worden verzameld:

1. Kweekmethoden: met kweekmethoden worden *Adenovirussen* in water aangetoond die in staat zijn (humane) cellijnen te infecteren. Daarmee wordt dus tevens aangetoond dat het *Adenovirus* nog infectieus is. *Adenovirussen* kunnen over het algemeen goed worden gekweekt in celkweeken. Echter, juist de intestinale *Adenovirussen* 40 en 41 groeien slecht op de veel gebruikte cellijn A549. Recentere studies werken ook met cellijn 293, waar *Adenovirus* 41 wel op groeit. De informatie die is verzameld over *Adenovirus* in water met celkweekmethoden, toont dus wel infectieuze, maar vaak de non-intestinale, humane *Adenovirus* typen aan.
2. (q)PCR: soms wordt een PCR voor alle humane *Adenovirus* typen toegepast, en soms een PCR specifiek voor de intestinale *Adenovirus* 40/41. Gecombineerd met de methode voor het 'vangen' en concentreren van virussen in water is het waarschijnlijk dat hiermee *Adenovirus*-DNA in virusdeeltjes (infectieus of niet (meer) infectieus) wordt aangetoond, maar ook vrij DNA kan een signaal geven.

In studies waar beide methoden zijn ingezet levert qPCR (2-3 log-eenheden) hogere concentraties op dan celkweek. *Adenovirus* heeft 1 genoom van ca 35 kb per virusdeeltje met 30-40 'single-copy' genen, dus 1 gen-kopie is equivalent met 1 virusdeeltje. Een deel van het verschil tussen qPCR en celkweek in watermonsters kan veroorzaakt worden doordat juist *Adenovirus* 41 erg veel in water voorkomt en de celkweekmethode die niet oppikt. Het grootste deel van het verschil wordt waarschijnlijk veroorzaakt doordat niet alle *Adenovirus* deeltjes in water infectieus zijn.

Adenovirus komt wereldwijd algemeen voor in rioolwater en vrijwel altijd in hogere aantallen dan Enterovirus en andere darmvirussen. (Rames et al. 2016) geven een relatief recent overzicht van de studies in water, waarbij ook te zien is dat de gebruikte celkweek (CC) methode *HAdV* 41 niet aantreft, terwijl bij onderzoek met qPCR *HAdV* 41 het meest voorkomend blijkt.

Tabel 2. Humane *Adenovirus* serotypes die in water matrices zijn aangetroffen (aangepast naar (Rames et al. 2016)).

Adenovirus type	Context	Methode	Land	Referentie
3 en D (17, 32 of 49)	Rioolwater	CC-PCR	Marokko	(Amdioune et al. 2012)
3, 22, 27, 31, 46, 51	Rioolwater	CC-PCR	Canada	(Vidovic et al. 2011)
2, 3, 12, 40, 41	Rioolwater	qPCR	USA	(Fong et al. 2010)
3, 10, 41	Rioolwater	qPCR	Griekenland	(Kokkinos et al. 2010)
1, 2, 12, 31, 41	Rioolwater	qPCR	USA	(Kuo et al. 2010)
2, 31, 45	Rioolwater	CC	Italië	(Carducci et al. 2009)
11, 12, 31, 34, 35, 40, 41	Rioolwater	qPCR	Spanje	(Bofill-Mas et al. 2006)
1, 2, 3, 6, 12, 31, 40, 41	Rioolwater, rivier	NGS	Luxemburg	(Ogorzaly et al. 2015)
1, 2, 5, 6, 31, 41	Rioolwater, rivier	CC, qPCR	Luxemburg	(Ogorzaly et al. 2013)
2, 5, 15, 40, 41	Rioolwater, rivier	Divers	USA	(Jiang 2006)
1, 2, 3, 5, 6, 7, 15, 40, 41	Rioolwater, meer, rivier	Divers	Divers	(Mena and Gerba 2008)
1, 2, 3, 12, 31, 40, 41	Zee en zoet zwembadwater	qPCR, CC	Europa	(Wyn-Jones, Carducci, Cook, D'agostino, et al. 2011)
3, 4, 7, 14	Zwembaden	Divers	Divers	(Mena and Gerba 2008)

In Nederlands oppervlaktewater is door RIVM onderzoek gedaan aan *Adenovirus* met (MPN) PCR tegen alle humane *Adenovirus* (Rutjes en de Roda Husman, 2007). Alle 12 monsters waren positief en de meest waarschijnlijke concentraties lagen tussen 100 en 50.000 gen-kopieën per liter. Met een celkweek PCR zijn in drie monsters (2 rioolwater en 1 oppervlaktewater) infectieuze *Adenovirus* concentraties aangetroffen die 250-750x lager lagen dan met MPN-PCR. In 2008/2009 is een screening uitgevoerd in het BTO naar *Adenovirus* 40/41 met qPCR bij negen drinkwaterinnamepunten in Nederland. *Adenovirus* 40/41 werd in alle innamepunten aangetroffen, behalve het Waterleidingkanaal (Waternet), in hoge concentraties (10.000-100.000 gen-kopieën per liter, Heijnen & Medema, 2011). Daarmee is *Adenovirus* ook in Nederland algemeen voorkomend in water en in hoge aantallen. In 2011/2012 is het voorkomen van *Adenovirus* 40/41 onderzocht (met qPCR) in het Lekkanaal in Nieuwegein. Die studie gaf aan dat *Adenovirus* 40/41 vrijwel altijd aanwezig is, in de zomer rond 1000 gen-kopieën per liter en in de winter (ruim) 10.000 per liter. In 2012 is ook bij Evides in uitgaand water van de Petrusplaat onderzoek gedaan aan *Adenovirussen*, met zowel PCR als met celkweek. De concentraties waren in de winterperiode duidelijk hoger dan in de zomer; met qPCR waren de gemiddelde concentraties in de winter 50-316 gen-kopieën per liter, met celkweek waren de concentraties veel lager: 0,03 infectieuze eenheden per liter (Schijven et al. 2019a)(zie verder Hoofdstuk 3).

In een grote Europese studie naar virussen in recreatiewater zijn tijdens het zomerseizoen van 2006 1410 watermonsters (ook uit Nederland) onderzocht op (onder andere) *Adenovirus* met MPN-PCR voor alle humane *Adenovirus* soorten (Wyn-Jones et al., 2011). *Adenovirus* was het meest voorkomende virus (Tabel 3). De *Adenovirus* typen die zijn aangetroffen zijn 40/41 (49%), 31 (15%) en 12 (8%) en een enkele maal 1, 2, 3 en 19. Op een deelverzameling van 132 positieve monsters is het aantal gen-kopieën bepaald. Gemiddeld lag dit op 3260 gen-kopieën per liter. Met celkweek bleek in zoet water 20% en in zout water 47% van de met PCR positieve monsters ook infectieuze *Adenovirus* te worden aangetroffen. Op de celkweek werd geen *Adenovirus* 40/41 aangetroffen, waarschijnlijk omdat deze virussoorten niet groeien op de gebruikte cellen.

Tabel 3. *Adenovirus* in recreatiewater in Europa (Wyn-Jones, Carducci, Cook, D'agostino, et al. 2011).

	Adenovirus-positief	Norovirus-positief
Zoet recreatiewater (n=928)	381 (41%)	58 (6,3%)
Zout recreatiewater (n=482)	132 (27%)	79 (16%)
Alle recreatiewater (n=1410)	513 (36%)	132 (9,4%)

Overleving van *Adenovirussen* in oppervlaktewater is afhankelijk van de aanwezigheid/activiteit van biotische factoren (protozoa) en van zonlicht (McMinn et al. 2020).

Er zijn diverse studies die laten zien dat *Adenovirussen* ook in grondwater worden aangetroffen. Een merendeel is in watervoerende lagen in karst of rotsige bodem met scheuren, die niet goed beschermd zijn tegen microbiologische verontreinigingen (Allen et al. 2017; Borchardt et al. 2012; Rosiles-González et al. 2019; Sorensen et al. 2021). Deze studies keken ook naar andere virussen zoals *Norovirus* en *Hepatitis A* of *E virus*, en zeker *Norovirus* werd vaker aangetroffen. Dat lijkt aan te geven dat *Adenovirus* minder goed door de bodem getransporteerd wordt dan andere virussen. Een recente kolomstudie geeft aan dat *Adenovirus* beter verwijderd wordt door riviergrind dan MS2, maar minder dan *Rotavirus* ((Pang et al. 2021)). Desondanks is *Adenovirus* in Frankrijk ook aangetroffen in diep, afgesloten grondwater, en in afwezigheid van fecale indicatoren (Ogorzaly et al. 2010). *Adenovirus* overleeft ook lang in grondwater. De inactivatieconstanten voor infectieus HAdV2 waren 0,0076 log per dag (ofwel 1 log in 132 dagen) bij 4°C en 0,0279 log per dag (ofwel 1 log in 35,6 dagen) bij 20°C. Dat was beduidend langer dan MS2 bacteriofagen (respectievelijk 1 log in 23,4 en 1,4 dagen)(Ogorzaly et al. 2010). De redox-condities van deze experimenten zijn niet aangegeven.

2.8 Adenovirus verwijdering in de zuivering

2.8.1 Coagulatie/filtratie

In Nederland is onderzoek gedaan naar de verwijdering van *Adenovirus* 40/41 door coagulatie/filtratie met qPCR (Heijnen & Medema, 2011; Italiaander & Medema, 2013). *Adenovirus* in rivierwater bleek voor een groot deel aan deeltjes gehecht, in veel grotere mate dan somatische en F-specifieke colifagen. De verwijdering van vrij gesuspendeerde *Adenovirussen* en somatische colifagen lag beide rond de 0,7 log eenheden. Aan deeltjes gehechte *Adenovirussen* werden met >2 log-eenheden verwijderd.

Tabel 4. Humaan Adenovirus in riool- en rivierwater en na drinkwaterzuivering (data uit Spanje, Albinana-Gimenez et al. (2006)).

Locatie	Humaan Adenovirus	
	N+/N	Gen-kopieën/L
Riool	5/5	$1,4 \times 10^7$
Rivier	13/14	$3,0 \times 10^2$
Na drinkwaterzuivering	9/9	$4,5 \times 10^0$

N+/N: aantal positieve monsters/totaal aantal monsters

Tabel 5 Humaan Adenovirus in rivierwater en na drinkwaterzuiveringsprocessen (data uit Spanje, samengevat uit Albinana-Gimenez et al, 2009, geen verdere details over de zuivering (zoals type UV, dosis UV en chloor etc.)).

Adenovirus				
	Volume (L)	N+/N	Gen-kopieën/L	Log reductie
Productielocatie 1				
Rivier	1	9/9	$1,2 \times 10^4$	
Na breekpuntschlooring, coagulatie/sneelfiltratie	426	5/9	$7,0 \times 10^0$	3,2
Grondwater (toevoeging)	796	4/9	$2,0 \times 10^0$	-
Na ozon (0,1-0,2 mg/l, 15-20 min)	508	4/9	$8,7 \times 10^0$	0
Na actiefkoolfilters	655	1/9	$9,1 \times 10^{-2}$	2,0
Na nadesinfectie (Cl ₂)	980	0/9	0	-
Totaal				>5,1
Productielocatie 2				
Grondwater	1440	7/12	$5,5 \times 10^0$	
Na kaarsfilters	2100	5/12	$4,2 \times 10^0$	
Na UV en membraan-filtratie (NF of RO)	1750	5/12	$3,6 \times 10^0$	
Na nadesinfectie (Cl ₂)	1285	1/6	$1,0 \times 10^0$	
Productielocatie 3				
Rivier	1	10/12	$9,2 \times 10^3$	
Na breekpuntschlooring, coagulatie	10	2/12	$9,6 \times 10^1$	2,0
Na actiefkoolfilters	926	7/12	$2,2 \times 10^1$	0,6
Na nadesinfectie (Cl ₂)	1099	2/12	$1,0 \times 10^{-1}$	2,3
Totaal				4,9

N+/N: aantal positieve monsters/totaal aantal monsters

In Spanje is gekeken naar de verwijdering van *Adenovirus* door drinkwaterzuiveringsprocessen. In een eerste studie is gekeken naar 1 productielocatie. Rivierwater wordt daar gezuiverd met breekpuntschloring, coagulatie/sedimentatie, zandfiltratie, ozon en actiefkoolfiltratie en nachloring. Albinana-Gimenez et al. (2006) onderzochten de concentratie van humaan *Adenovirus* in rioolwater, rivierwater en in de drinkwaterzuivering (na actiefkoolfiltratie) met kwantitatieve PCR. De concentratie *Adenovirus* was in riool en rivierwater hoog. *Adenovirus* werd ook na de actiefkoolfiltratie nog gevonden (Tabel 4).

In een vervolgstudie (Albinana-Gimenez et al, 2009) is de verwijdering van *Adenovirus* bekeken op drie drinkwaterproductielocaties (Tabel 5). Daaruit komt naar voren dat *Adenovirus* in rivierwater aanwezig zijn, maar ook in grondwater. De auteurs geven aan dat het grondwater mogelijk besmet wordt door fecale bronnen. Breekpuntschloring en coagulatie verwijderen *Adenovirus*. In combinatie met snelfiltratie is de verwijdering nog substantiëler. Ozon lijkt geen reductie op te leveren en actiefkoolfilters en nadesinfectie met chloor wel. Daarbij moet opgemerkt worden dat bij het gebruik van qPCR inactivatie door ozon, chloor of UV niet goed te bepalen is, omdat het DNA ook in beschadigde virusdeeltjes nog voldoende intact kan zijn voor detectie met qPCR. De grondwaterzuivering met kaarsfilters en UV en nanofiltratie of omgekeerde osmose lijken nauwelijks *Adenovirus* te verwijderen. De auteurs geven zelf ook aan dat dit onverwachte resultaten zijn omdat NF en RO in principe zeer goede barrières zijn en *Adenovirus* (90nm) te groot zijn om de membranen te passeren. Zij geven aan dat lekstromen de oorzaak zouden kunnen zijn. In productielocatie 2 en 3 is met PCR *Adenovirus* in drinkwater gevonden. Met een celkweekmethode werden geen *Adenovirus* gevonden in drinkwater.

De concentratie van *Adenovirus* in rivierwater is dermate hoog dat *Adenovirus* kan worden gebruikt om de verwijdering van virussen in de drinkwaterzuivering te karakteriseren. Er zijn daarbij wel methodologische kwesties, zoals de lage opbrengst van de opwerkmethode en het feit dat de PCR ook niet-infectieuze virusdeeltjes aantoonst. Dat laatste is voor verwijderingsprocessen minder relevant dan voor desinfectieprocessen.

2.8.2 Chemische desinfectie

Mena & Gerba ((Mena and Gerba 2008)) hebben de beschikbare informatie over het effect van chemische desinfectie op *Adenovirus* op een rij gezet. Daaruit komt naar voren dat *Adenovirus* net zo gevoelig of zelfs gevoeliger is voor oxidatieve desinfectiemiddelen als andere darmvirussen. Juist de intestinale *Adenovirus* 40/41 zijn extra gevoelig voor inactivatie met chloor(dioxide, amine) of ozon. Tabel 4 geeft de gevonden Ct waarden voor 2 log (99%) inactivatie. Ozon en chloordioxide worden in de Nederlandse oppervlaktewaterzuivering toegepast en zijn dus (mits geen korte verblijftijd van water in de desinfectiereactor optreedt) effectieve desinfectieprocessen tegen *Adenovirus*, en extra tegen *Adenovirus* 40/41. Echter, het nadeel aan deze desinfectiemethoden zijn de bijproducten die gevormd kunnen worden, zoals bromaatvorming bij de toepassing van ozon en chloraat-/chlorietvorming bij de toepassing van chloordioxide. Chloordioxide-nadesinfectie wordt momenteel alleen nog toegepast door Evides en PWN, en beide bedrijven zijn op zoek naar alternatieve desinfectiemethoden.

2.8.3 Desinfectie met UV

Over de (on)gevoeligheid van *Adenovirus* door UV zijn het afgelopen decennium veel studies verschenen (zie review van (Hijnen, Beerendonk, and Medema 2006; Eischeid and Linden 2011) (Augsburger et al. 2021)), vooral omdat *Adenovirus* verreweg het meest UV resistente virus (en waterpathogeen) is. Die resistentie zit hem vooral in het feit dat *Adenovirus* een dubbelstrengs DNA virus is en daardoor na infectie van gastheercellen door de DNA reparatiemachinerie van de gastheercel ("onbedoeld") gerepareerd wordt. Andere wateroverdraagbare virussen zijn RNA virussen en daarvoor bezitten de gastheercellen niet dergelijke reparatiemechanismen.

In een eerder BTO rapport is de UV-dosis (of fluence) voor *Adenovirus* inactivatie weergegeven (Hijnen et al., 2005). Deze zijn weergegeven in tabel 5, aangevuld met recente studies. *Adenovirus* is zeer resistent tegen UV, veel resistenter dan andere virussen, parasieten en bacteriën. UV-straling veroorzaakt wel DNA schade aan *Adenovirus*, ook met dezelfde snelheid als bij andere microben, maar de schade aan *Adenovirus*-DNA leidt uiteindelijk niet tot vermindering van de virale infectiviteit (Eischeid, Meyer, and Linden 2009) (Rodríguez, Bounty, and Linden 2013). Aangenomen wordt dat UV-beschadigd *Adenovirus* DNA in de gastheercel wordt gerepareerd tijdens het infectieproces, omdat het *Adenovirus* genoom (dubbelstrengs-DNA) vergelijkbaar is met het genoom van de gastheercel (Guo, Chu, and Hu 2010). Dit geldt vooral voor de veelgebruikte lage-druk-UV-kwiklampen die straling uitzenden bij 253,7 nm, waarbij het belangrijkste inactiveringsmechanisme DNA-schade is (Beck et al. 2014). Middendruk-UV-kwiklampen stralen een polychromatisch UV-spectrum van 200 nm tot 500 nm uit, en die beschadigen zowel het viraal DNA, als virale eiwitten door de verre UV-C-golflengten (<225 nm), wat de inactivatie van *Adenovirus* versterkt ((Eischeid, Meyer, and Linden 2009; Linden et al. 2007; Beck et al. 2014)). Uit tabel 5 komt naar voren dat middendruk-UV duidelijk effectiever is tegen *Adenovirus* dan lage-druk-UV. Iets soortgelijks lijkt op te treden door H₂O₂ toe te voegen bij lage-druk-UV (Bounty et al., 2012). Een aantal studies heeft gekeken of er synergistisch effect te verwachten is van de combinatie van UV en chloor(amine), maar dat bleek niet het geval (Lee & Shin, 2011; Shin & Lee, 2010).

In de analyse die voor Evides is uitgevoerd is de inactivatie van (adeno)virus door UV bij 40 en 73 mJ/cm² gezien in de verwijdering van virussen in de totale zuivering ((Schijven et al. 2019b). Daarbij is gekeken naar zowel de praktijkmetingen aan somatische colifagen voor en na de zuiveringsprocessen als de wetenschappelijke literatuur over *Adenovirus* inactivatie door middendruk-UV. Op basis van de literatuur over *Adenovirus* desinfectie door middendruk-UV is een model opgesteld dat door de data past. Omdat de data niet lineair waren (minder effectieve inactivatie gemeten bij hogere doses) is dat een niet-lineair model:

$$\text{Log inactivatie} = 4,1 - e^{2,0 - \text{UV fluence} * 0,056}$$

Recent onderzoek laat zien dat *Adenovirus* die van 'nature' in rioolwater voorkomen beduidend resistenter zijn tegen middendruk-UV (Rodríguez et al. 2022). In het rioolwater van deze studie bleek voornamelijk *Adenovirus* 41 (een van de intestinale *Adenovirus* types) gekweekt te worden; wanneer de zeven uit rioolwater gekweekte Ad41-isolaten aan UV werden blootgesteld maakte dit voor lage druk-UV weinig verschil met de labgekweekte isolaten, maar voor middendruk-UV waren de riool-isolaten een stuk minder gevoelig dan de labgekweekte isolaten (Tabel 7). Voor DNA schade lijkt er dus geen verschil te zijn tussen de lab-isolaten en de riool-isolaten. De riool-isolaten leken een sterker/UV-resistenter viruskapsel te bezitten, waardoor minder schade door middendruk-UV werd aangebracht. Dat was vooral voor de intestinale Ad41 het geval, en minder voor Ad2, 33 en 56.

Tabel 6. Inactivatie van Adenovirus door chemische desinfectie als Ct99 (concentratie x contacttijd nodig voor 99% inactivatie), gebaseerd op Mena & Gerba, 2008.

Serotype	Desinfectans	Watertype	Temperatuur (°C)	pH	Ct99 (mg.min/l)
Ad3	Chloor	Rivier	2	7,8	2,40
Ad7A	Chloor	Rivier	2	7,8	6,25
Ad11	Chloor	Rivier	2	7,8	6,75
Ad5	Chloor	Kraan	25	7,0	6,00
Ad40	Chloor	Chloorvraagvrij	5	7,0	0,03
Ad40	Chloor	Chloorvraagvrij	5	8,0	0,11
Ad2 ¹	Chloor	Chloorvraagvrij	5	7,0	0,02
Ad40 ¹	Chloor	Chloorvraagvrij	5	7,0	<0,02
Ad41 ¹	Chloor	Chloorvraagvrij	5	7,0	0,005
Ad2 ¹	Chloor	Chloorvraagvrij	5	8,0	0,04
Ad40 ¹	Chloor	Chloorvraagvrij	5	8,0	<0,02
Ad41 ¹	Chloor	Chloorvraagvrij	5	8,0	<0,02
Ad2 ²	Chloor	Drinkwaterzuivering	5	7,0	0,066
Ad2 ²	Chloor	Drinkwaterzuivering	5	8,0	0,08
Ad2 ²	Chloor	Drinkwaterzuivering	15	7,0	0,042
Ad2 ²	Chloor	Drinkwaterzuivering	15	8,0	0,041
Ad2 ³	Chloor	Demiwater	1	7,4	0,03
Ad2 ³	Chloor	Demiwater	1	10,0	1,8
Ad5 ⁴	Chloor	Chloorvraagvrij	5	8,5	0,06-0,1
Ad41 ⁴	Chloor	Chloorvraagvrij	5	8,5	0,06-0,1
Ad2 ¹	Chlooramine	Chloorvraagvrij	5	7,0	600
Ad40 ¹	Chlooramine	Chloorvraagvrij	5	7,0	90
Ad41 ¹	Chlooramine	Chloorvraagvrij	5	7,0	58
Ad2 ¹	Chlooramine	Chloorvraagvrij	5	8,0	990
Ad40 ¹	Chlooramine	Chloorvraagvrij	5	8,0	360
Ad41 ¹	Chlooramine	Chloorvraagvrij	5	8,0	190
Ad5 ⁴	Chlooramine	Chloorvraagvrij	5	8,5	100-300
Ad41 ⁴	Chlooramine	Chloorvraagvrij	5	8,5	100-300
Ad40	Chloordioxide	Chloorvraagvrij	5	7,0	0,28
Ad40	Ozon	Ozonvraagvrij	5-7	7,0	0,01

¹ Cromeans *et al* 2010; ² Kahler *et al* 2010 (aangepast); ³ Page *et al* 2010; ⁴ Baxter *et al.*, 2007

Tabel 7. Inactivatie van Adenovirus door UV; dosis (UV fluence) nodig voor 99/99,9% inactivatie.

Serotype	UV	Dosis ₉₉	Dosis _{99,9}
Ad2, 15, 40, 41	Lage druk	83	125
Ad40	Lage druk	111	167
Ad41 ¹	Lage druk	112	169
Ad2 ²	Lage druk	55-60	-
Ad40 ²	Lage druk	ca 100	-
Ad2 ³	Lage druk	ca 35	ca 50
Ad1 ⁴	Lage druk	69	103
Ad6 ⁴	Lage druk	77	115
Ad2 ⁵	Lage druk	ca 130	ca 190
Ad2 ⁵	Lage druk met H ₂ O ₂	ca 55	ca 80
Ad2 ⁶	Lage druk	ca 79	ca 128
Adriool (41) ⁷	Lage druk	ca 110	ca 165
Ad41	Midden druk	50	75
Ad2 ²	Midden druk	15-20	ca 30
Ad2 ²	Middendruk >240nm	ca 25	ca 40
Ad2 ³	Midden druk	ca 8	ca 15
Ad40 ²	Midden druk	ca 25	ca 40
Ad40 ²	Pulserend	10-15	20-25
Ad model ⁸	Midden druk	23	34
Adriool (41)⁷	Midden druk	62	93

¹(Ko, Cromeans, and Sobsey 2005); ²(Linden et al. 2007; Shin, Lee, and Linden 2009); ³(Eischeid, Meyer, and Linden 2009); ⁴(Nwachuku et al. 2005); ⁵(Bounty, Rodriguez, and Linden 2012); ⁶(Beck et al. 2014); ⁷(Rodríguez et al. 2022); ⁸(Schijven et al. 2019b)

2.9 Dosis-respons

Voor de dosis-respons van *Enterovirus* wordt in de AMVD en in QMRA-spot gebruik gemaakt van de dosis-responsrelatie van *Rotavirus*. *Rotavirus* is erg infectieus. Voor *Adenovirus* zijn dosis-respons studies uitgevoerd in de jaren 1960, met verschillende *Adenovirus* serotypen en verschillende blootstellingswegen (inslikken, inademing). Deze dosis-respons studies zijn samengevoegd in een algemene dosis-responsrelatie voor *Adenovirussen* (Teunis, Schijven, and Rutjes 2016). Daaruit blijkt dat ook *Adenovirus* zeer infectieus is, al bij lage concentraties (1 virus) is er al een gerede kans om de infectie op te lopen (ID₅₀ = 0,74 virus bij inslikken). Infectie is nog geen ziekte; die lijken pas bij een (veel) hogere dosis op te gaan treden (ID₅₀ = 592.000 virus bij inslikken; ca 210-240 virus bij inhalatie of contact met het hoornvlies). De infectiviteit van *Adenovirus* ligt op basis van deze studies in dezelfde grootte orde als voor *Rotavirus*. Daarmee is de dosis-responsrelatie niet onderscheidend voor de AMVD. De kans op ziekte bij een infectie lijkt wel duidelijk lager te zijn dan voor de huidige referentiepathogenen, hoewel een directe vergelijking met *Enterovirussen* lastig is vanwege de grote diversiteit in beide virusgroepen en gebrek aan dosis-responsdata.

Oppervlaktewaterzuivering met UV desinfectie

Voor dit voorbeeld wordt gebruik gemaakt van de analyse van productielocatie Berenplaat van Evides die is gepubliceerd (Schijven et al. 2019b). Deze is gebaseerd op de meetdata van *Adenovirus* uit 2012.

3.1 Beschrijving drinkwaterproductie Berenplaat

Productielocatie Berenplaat levert 100 miljoen m³ drinkwater en levert water aan een groot deel van de Rotterdamse woningen en bedrijven. Water uit de Bergse Maas wordt opgeslagen in de Biesbosch bekkens met een gemiddelde verblijftijd van vijf maanden, waarin de chemische en biologische kwaliteit van het water verbetert door natuurlijke processen zoals degradatie en sedimentatie. Ongeveer 12.000 m³/u wordt getransporteerd naar Berenplaat (via een leiding die 's zomers wordt voorzien van transportchlooring ter voorkoming van mosselaangroei (tegenwoordig wordt jaarrond chloor toegevoegd ter bestrijding van de guacamossel)), waar het via een bekken vrij direct de zuivering in stroomt. Virusconcentraties in water bij de uitgang van Petrusplaat (het laatste reservoir) zijn het uitgangspunt voor de AMVD. In de zuivering passeert het water eerst microzeven (maaswijdte 35 mm) en wordt vervolgens behandeld door coagulatie / slibdeken opheldering en dubbellaags-sneelfiltratie. De belangrijkste desinfectie vindt plaats in twee parallelle arrays van middendruk-UV-lampen, één op 40 mJ/cm² en de andere op 73 mJ/cm². De setpoint UV-dosis voor de beoogde desinfectiecapaciteit is continu in de reactor gehandhaafd door automatische sturing van de vermogensinstelling van de UV-lampen op variaties in de waterkwaliteit en debiet. Na UV-behandeling passeert het water actieve koolfilters. Omdat Hijnen et al. (2010) geen verwijdering van bacteriofaag MS2 zagen door deze actieve koolfilters op proeffabrieksschaal is deze behandelingsstap in de AMVD voor HAdV als niet relevant beschouwd. De eindbehandeling bestaat uit desinfectie met 0,1 mg/l chloordioxide in zomer en 0,05 mg/l chloordioxide in de winter. Het reine water wordt vóór distributie opgeslagen in gesloten reservoirs.

3.2 Adenovirussen in ruw-water

Voor het bepalen van de concentratie *Adenovirussen* in het ruw-water zijn 35 groot-volume (ca 60 liter) monsters genomen van het water af-Petrusplaat (voor de transportchlooring). De concentratie *Adenovirus* was duidelijk hoger in de wintermaanden (december-maart) dan in de rest van het jaar. Er is met verschillende methoden gemeten: met celkweek (A549, dus ongevoelig voor HAdV 41 die het meest wordt aangetroffen in water) en met een MPN-PCR en een qPCR methode voor zowel alle *Adenovirussen* van species ACDEF, als specifiek voor *Adenovirus* 40 en 41. Uiteindelijk is voor de AMVD primair uitgegaan van de concentraties die met de celkweek zijn aangetroffen. De concentratie infectieuze *Adenovirussen* waar mee is gerekend lag (Beta-verdeeld) rond het gemiddelde van 0,02-0,03 per liter. Ter vergelijking is ook gerekend met de concentraties bepaald met de qPCR, die ca 3 log hoger lagen. Maar deze concentraties zijn gecorrigeerd voor de verhouding tussen qPCR en celkweek van gemiddeld 1700:1, ofwel 3,2 log en daarmee kwamen deze in dezelfde grootte-orde uit als de concentraties gemeten met de celkweek. Verder had de qPCR een aantal hoge concentraties die de celkweek niet aantrof. De concentratie *Adenovirus* ligt ca. een factor 10 hoger dan de concentratie *Enterovirus* die eerder in afgeleverd water van de Biesbosch bekkens is gevonden (de Roda Husman 2006).

De studie heeft gekozen voor een zo robuust mogelijke aanpak, waarin zowel met celkweek als vier PCR assays is gekeken naar de concentratie *Adenovirussen*. Belangrijkste onzekerheid is de celkweek, want die is ook gebruikt om de PCR data te 'corrigeren' voor infectiviteit en voor het aandeel intestinale HAdV

40/41. De correctiefactor van 3,2 log is hoog, hoger dan voor andere virussen. Dat is, zoals de auteurs aangeven, mogelijk veroorzaakt door inactivatie van de virussen tijdens het lange verblijf in de bekkens. Maar ze geven ook aan dat het aandeel 40/41 erg hoog is (36-50%), en HAdV 41 slecht wordt aangetoond met de celkweek op A549.

Een studie in een Franse rivier (Meurthe) waar celkweek HEK 293 (waar HAdV 41 wel op groeit) werd vergeleken met (digital droplet)PCR kwam op een correctiefactor van 0,9-1,5 log uit, maar daar was de verblijftijd van de virussen in het water ook korter (Sedji et al. 2018).

Omdat de concentratie infectieuze *Adenovirus* (41) vrij onzeker is, maar wel bepalend voor de AMVD en benodigde virusverwijdering wordt aanbevolen meer gegevens te verzamelen over HAdV (met name (40 en) 41) met celkweek-methoden die ook deze serotypen detecteren (zoals HEK 293).

3.3 Verwijdering in de zuivering

De zuivering bestaat uit coagulatie/dubbellaagsfiltratie, UV desinfectie, actief koolfiltratie en nadesinfectie met chloordioxide. Zoals aangegeven bleek van de actief koolfiltratie niet of nauwelijks virusverwijdering te verwachten en is dat proces buiten beschouwing gelaten. Om de virusverwijdering door coagulatie/filtratie en door UV te meten, zijn metingen aan somatische colifagen in grote volumes gebruikt. Daarmee is een redelijk goed beeld verkregen van de verwijdering door coagulatie/filtratie. Die was beperkt, 0,5-0,8 log. Ook voor de UV is gebruik gemaakt van metingen aan colifagen in grote volumes. Daar is de gemeten verwijdering gemiddeld 2,6-3,0 log voor de 40 mJ/cm² straat en 1,7-4,2 log voor de 73 mJ/cm² straat. Dat lijkt niet logisch (lagere UV inactivatie bij 73 dan bij 40 mJ/cm²), maar het beeld over de verwijdering is minder betrouwbaar, vanwege de lage concentratie colifagen in het influent van de UV en het grote aandeel 'non-detects'. Ook is de UV-gevoeligheid van verschillende somatische colifagen behoorlijk variabel en minder resistent dan *Adenovirussen* (Lee and Sobsey 2011). Daarnaast is recent bekend geworden dat *Adenovirus* 41 gekweekt uit rioolwater beduidend resistent is tegen zowel lage- als middendruk-UV dan een stam die al langer labgekweekt is (Rodríguez et al. 2022).

Tabel 8. Concentratie infectieus Adenovirus in ruw water en logverwijdering (LV) door de zuiveringsprocessen Berenplaat

Proces	eenheid	Methode	Gemid- delde	95%	OF ¹	Gemid- delde	95%	Zomer
Ruw water	n/L	Metingen celkweek	0,03	0,12	4	0,004	0,013	
Coagulatie/vlokverwijdering	LV	Somatische colifagen	0,74	0,54	2	0,24	0,015	
Filtratie	LV	Somatische colifagen	0,023	0	1	0,27	0,13	
UV 40 mJ/cm ²	LV	Somatische colifagen	2,6	1,8	6	3	2,3	
UV 73 mJ/cm ²	LV	Somatische colifagen	4,2	3,4	6	1,7	5	
AKF	LV	Literatuur	0	0	1	0	0	
CIO ₂	LV	Lab MS2 + literatuur	6,8	5,9	8	14,4	13,5	
Totaal UV40	LV		12	11	10	17	16	
Totaal UV73	LV		13	13	1	16	20	

¹OF=onzekerheidsfactor: 95% gedeeld door gemiddelde (voor de logverwijdering op lineaire schaal om te kunnen vergelijken met de concentratie in ruw water).

Voor de effectiviteit van de nadesinfectie met chloordioxide zijn de resultaten van proefonderzoek onder Berenplaat condities gebruikt van (Hornstra, Smeets, and Medema 2011). Daaruit bleek de inactivatie door de nadesinfectie substantieel te zijn, ondanks de lage concentraties chloordioxide. MS2 werd daarbij gebruikt als conservatieve indicator voor *Adenovirussen*. De gemiddelde inactivatie die is gebruikt in de AMVD was 6,9 log in de winter en 14,4 log in de zomer.

3.4 Evaluatie

Overall lijkt de zuivering ruim voldoende verwijderingscapaciteit voor *Adenovirussen* te hebben om veilig drinkwater te maken en aan de infectierisico-eis uit het Drinkwaterbesluit te voldoen. De onzekerheid is het grootst voor de UV, met name in de data van 73 mJ/cm². Dat is een gevolg van de beschikbare data en niet van de onzekerheid of variatie in het UV desinfectieproces. De nadesinfectie met chloordioxide levert in deze analyse veruit de grootste verwijdering en is essentieel voor het behalen van voldoende verwijderingsrendement. De logverwijdering door chloordioxide is ingeschat op basis van labonderzoek onder optimale omstandigheden. Dat is een grote stap naar de praktijk van nadesinfectie met dosering en sturing op lage concentraties en het behalen van zulke hoge logverwijdering met één proces stelt heel hoge eisen aan de procesbewaking/sturing van de nadesinfectie op het waarborgen van voldoende verwijdering. Vanwege de overcapaciteit van de totale zuivering hoeft de bewaking/sturing minder scherp gesteld te worden. Momenteel is Evides op zoek naar alternatieven voor de chloordioxide-nadesinfectie, vanwege de bijproductvorming. Het *Adenovirus* onderzoek laat zien dat de chloordioxide-nadesinfectie niet kan worden uitgeschakeld zonder alternatief proces dat voldoende *Adenovirus* verwijdering kan garanderen.

De recente bevinding dat *Adenovirus* in rioolwater resistenter is tegen UV dan 'labstammen' vraagt nadere aandacht, omdat het de bijdrage van UV zou kunnen verlagen. Niet bekend is of dit ook voor chloordioxide zou kunnen gelden.

Drinkwater uit kwetsbare grondwaterwinning

Voor dit voorbeeld wordt gebruik gemaakt van een grondwaterwinning waar het gewonnen grondwater kwetsbaar is voor microbiologische verontreiniging vanuit rioolwater of oppervlaktewater. Dat geldt bijvoorbeeld voor de winningen in kalksteen in Zuid Limburg, voor ondiepe winningen in andere gebieden en voor oevergrondwaterwinningen met relatief korte verblijftijd.

4.1 Beschrijving winningen

Hier wordt uitgegaan van een ondiepe of kalksteen-grondwaterwinning of oevergrondwaterwinning waar UV wordt of zou moeten worden toegepast als nabehandeling voor voldoende verwijdering van virussen voor de productie van veilig drinkwater.

Karst winning: winputten op geringe diepte in kalksteengebied met grondwater dat bij regenval beïnvloedt kan worden door instromend oppervlaktewater, dat overwegend bestaat uit effluent van een rioolwaterzuivering met de virussen die daar in aanwezig zijn.

Oevergrondwaterwinning: winning uit een ondiep watervoerend pakket in grindhoudend zand, met rivierwater dat met virussen is verontreinigd door lozingen van rioolwaterzuiveringen en riooloverstorten.

Grondwaterwinning: winning in een ondiepe, niet afgedekte watervoerende laag, dat beïnvloedt kan worden door een lekkend riool waar virussen de bodem in lekken (AMVD scenario) of door infiltrerend oppervlaktewater dat beïnvloedt kan worden door riooloverstorten.

4.2 Adenovirussen in ruw water

Rioolwater

Er zijn veel studies naar *Adenovirus* in rioolwater met PCR, maar slechts enkele met celkweekmethoden om infectieuze *Adenovirussen* te kwantificeren. Een studie (n=5) uit de Verenigde Staten met de G293 celkweek vond een mediane concentratie van 2240 infectieuze *Adenovirussen* per liter (Camacho, 2019).

Effluent

In dezelfde studie is ook naar effluent van een rioolwaterzuivering met actief slib gekeken (n=5). De mediane concentratie van infectieuze *Adenovirussen* in secundair effluent was 100 per liter.

Rivierwater

In Nederland zijn er data van uitgaand water van de Biesbosch (zie 3.1), maar door de lange verblijftijd van het water in de bekkens zijn deze data niet representatief voor rivierwater. In de door rioolwatereffluent verontreinigde Meurthe in Frankrijk zijn met de HEK293 celkweek 15 rivierwatermonsters van januari tot juni 2016 onderzocht op infectieuze *Adenovirussen* en *Adenovirus* DNA met de PCR. Alle 15 monsters waren positief voor *Adenovirus* met de PCR met een gemiddelde concentratie van 3600 (110-14000) gen-kopieën per liter en voor Ad41 met 2900 (130-9000) gen-kopieën per liter. Er was geen duidelijke seizoentrend (Sedji et al. 2018). Deze concentratie ligt in dezelfde orde-grootte als in de Europese zwemwaterstudie (Wyn-Jones, Carducci, Cook, D'Agostino, et

al. 2011). 14 van de 15 monsters in de Meurthe waren ook positief voor infectieuze *Adenovirussen*, in 6 daarvan was de concentratie te laag om te kwantificeren, in 8 monsters waar dat wel lukte was de concentratie 15-410 infectieuze *Adenovirus* per liter. De fractie infectieuze *Adenovirussen* ten opzichte van gen-kopieën per liter in deze 8 monsters lag tussen de 0,3 en 12,2%. Voor de analyse is uitgegaan van een mediane concentratie van 15 per liter.

4.3 Verwijdering tijdens bodempassage

Er zijn niet veel studies gedaan naar het gedrag van *Adenovirus* in de bodem. In de AMVD wordt gebruik gemaakt van de informatie over het gedrag van de (conservatieve) indicatorvirussen MS2, PRD1 en PhiX174 in de bodem (Schijven et al. 2000; Hornstra et al. 2018; Schijven and Hassanizadeh 2000; Schijven et al. 1999; Schijven et al. 1998). *Adenovirus* heeft andere grootte en oppervlakte-eigenschappen dan deze indicatorvirussen en zal zich dus in de bodem waarschijnlijk anders gedragen (Bellou et al. 2015). In BTO-onderzoek naar *Adenovirus* in oppervlaktewater en verwijdering tijdens coagulatie/filtratie (zie hoofdstuk 2) bleek dat een veel groter deel van *Adenovirus* aan deeltjes gehecht zat dan somatische en F-specifieke colifagen. Opgelost organisch koolstof verminderde de adsorptie van *Adenovirus* 2 aan bodemdeeltjes (Wong, Voice, and Xagorarakis 2013). Kolomstudies gaven aan dat het adsorptie en desorptiegedrag van *Adenovirus* en PRD1 in kalksteen vergelijkbaar was, MS2 werd hier duidelijk beter verwijderd en was dus geen goede indicator (Stevenson et al. 2015). In riviergrind wordt *Adenovirus* ca twee keer beter verwijderd dan MS2 (Pang et al. 2021).

Kalksteen

Op basis van gegevens van de kalksteenwinning bij Roodborn, waar bij hoge afvoeren van de Eijserbeek *E. coli*, somatische en F-specifieke fagen in een aantal winputten kunnen worden aangetroffen, was de 'verwijdering' (daadwerkelijke verwijdering + verdunning in grondwater) ca 7 log-eenheden voor zowel *E. coli* als beide fagen (AMVD Roodborn & Craubeek, 2013; Timmer et al, 2022).

Oevergrondwaterwinning

Gegevens van de oeverfiltratie in grindig zand bij Roosteren laten zien dat de verwijdering van indicatorvirussen en -bacteriën tijdens de eerste 22 meter oeverfiltratie ca 4 log-eenheden is. De volgende 116m levert nog 2-3 log-eenheden extra verwijdering. De hogere verwijdering in de eerste meters is mogelijk veroorzaakt door betere deeltjesverwijdering, hoger organische stof gehalte en biologische activiteit in de oever dan verder in het watervoerend pakket.

Ondiepe grondwaterwinning

In de AMVD wordt voor de eenvoudige berekening van de benodigde reistijd in de bodem gebruik gemaakt van de inactivatiesnelheid (en de verdunning van het debiet uit een lekkend riool in het totale debiet aan gewonnen grondwater). De inactivatiesnelheid is gebaseerd op een review van virusinactivatie in grondwater (Schijven and Hassanizadeh 2000) en kwam overeen met de inactivatiesnelheid van MS2 in anoxisch grondwater bij 12°C van 0,01 log/dag (Schijven et al. 2006). Samen met een conservatieve hechtingsefficiëntie (van 10^{-5}) uit onderzoek in anoxische watervoerende pakketten kwam dat op een afnamesnelheidsconstante van in de AMVD van 0,013 log/dag (Schijven, Hassanizadeh, and de Roda Husman 2010). Dat is waarschijnlijk conservatief omdat ondiep grondwater niet (diep) anoxisch is, en waarschijnlijk een hogere hechtingsefficiëntie en inactivatie oplevert.

4.4 Evaluatie

Kalksteenwinning onder invloed effluent

Omdat de Eijserbeek sterk onder invloed staat van effluent van een rioolwaterzuivering, wordt uitgegaan van een concentratie infectieuze *Adenovirussen* van 100 per liter. De verwijdering/verdunding van de karstwinning ligt op ca 7 log voor zowel bacterie- als virusindicatoren. Dat betekent een concentratie van ca 10^{-5} per liter in het gewonnen grondwater. De nageschakelde UV is nodig om onder deze omstandigheden microbiologisch veilig drinkwater te maken. Door de relatief hoge concentraties van infectieus *Adenovirus* in effluent, de hoge UV resistentie en de hoge infectiviteit van *Adenovirus*, is *Adenovirus* hier maatgevend voor de benodigde UV-dosis.

Oevergrondwaterwinning

De concentratie infectieuze *Adenovirussen* in rivierwater ligt op 15 per liter. De verwijdering van de passage door de oever naar de winputten is 6-7 log-eenheden. Daarna wordt het water uit de Maasputten verdund met gewonnen water uit grondwaterputten wat nog een log-verwijdering (ca 0,8-0,9) geeft (Beerendonk & Reijnen, 2007). Ook hier is de nageschakelde UV nodig voor microbiologisch veilig drinkwater, maar is niet zeker of *Adenovirus* hier maatgevend is (Juhasz, 2007).

Ondiepe grondwaterwinning

De concentratie infectieuze *Adenovirussen* in rioolwater ligt op 2240 per liter (ca 1 log hoger dan infectieuze *Enterovirussen*). De inactivatiesnelheid voor *Adenovirus* in grondwater ligt op 0,0076 log per dag (ofwel 1 log in 132 dagen) bij 4°C en 0,0279 log per dag (ofwel 1 log in 35,6 dagen) bij 20°C. Die snelheid ligt rond de snelheid die is gekozen voor de AMVD van 0,01 log/dag. Van de hechtingscoëfficiënt van *Adenovirus* zijn niet veel gegevens bekend. De kolomstudie in grindig zand leverde een grotere hechtingsnelheid voor *Adenovirus* dan voor MS2 (Pang et al. 2021). Met een hogere beginconcentratie, een vergelijkbare inactivatie en grotere mate van hechting van *Adenovirus* lijkt de berekeningswijze voor het standaard verontreinigingsscenario in de AMVD ook *Adenovirus* af te dekken. Belangrijkste onzekerheid daarbij is de hechting van *Adenovirus* (in vergelijking met de virusindicatoren) in een zandbodem, in plaats van in grindig zand.

Drinkwater uit oppervlaktewater met duinpassage en langzame zandfiltratie

5.1 Beschrijving winningen

Dit is het scenario met een generieke duininfiltratiewinning, waar rivierwater wordt voorgezuiverd met coagulatie/filtratie en naar de duinen getransporteerd, waar het water wordt ontvangen en verdeeld over infiltratiegebieden. Via infiltratiekanalen infiltreert het water in het duinzandpakket naar de ondiepe watervoerende laag. Het water wordt teruggewonnen via dieper liggende drains die het naar de nazuivering voeren. Daar kan het eerst in een open kom (Leiduin) of gesloten worden opgevangen. Zolang er geen inbreng/afstroming van menselijke fecaliën naar die open kom plaats vindt¹, maakt dit voor de virusrisico's weinig verschil. Voor met name bacteriële risico's (waaronder *Campylobacter*) maakt dit wel een groot verschil.

5.2 Adenovirussen in ruw water

Hier zijn dezelfde gegevens gebruikt als in 4.2, met een mediane concentratie infectieus *Adenovirus* in rivierwater van 15 per liter.

5.3 Verwijdering tijdens voorzuivering en duinpassage

Van de verwijdering van *Adenovirus* door de voorzuivering met coagulatie/filtratie zijn gegevens bekend uit eerder BTO-onderzoek: 0,7 log-eenheden voor vrij gesuspendeerde virusdeeltjes (Italiaander, 2013).

Voor duinpassage zijn in het BTO veldexperimenten uitgevoerd (Schijven et al. 1999; Hornstra et al. 2018). De experimenten in Leiduin bij 15°C lieten een hoge verwijdering van MS2 zien van 8,5 log-eenheden over 16 m bij een poriewatersnelheid van 2,1 m/d en 9,1 log over 16 meter bij een poriewatersnelheid van 1,1 m/d. Voor PRD1 lag dat lager op respectievelijk 4,0 en 7,2 log-eenheden.

5.4 Evaluatie

De hogere concentratie van infectieuze *Adenovirus* in de rivier vraagt wel wat meer verwijdering dan voor infectieus *Enterovirus*. Beide onderzoeken naar de virusverwijdering door duinpassage (Schijven et al. 1999; Hornstra et al. 2018) concluderen dat de duinen een zeer effectieve barrière zijn tegen virussen. Met een minimale verblijftijd van 60 dagen en de daarmee equivalente afstand van 29 – 54 meter ligt de verwijdering op >8 log-eenheden. De hechtingsefficiëntie die uit het duinonderzoek komt (ca 10⁻³) is lager dan de experimenten met *Adenovirus* in grindig zand lieten zien ((Pang et al. 2021)). Daarmee lijkt *Adenovirus* beter verwijderd te worden en is duinpassage ook voor *Adenovirus* waarschijnlijk een zeer effectieve barrière.

¹ Nabesmetting van geïnfilterd duinwater door inspoeling van fecaliën van recreanten nabij de winmiddelen viel buiten de scope van dit onderzoek.

Conclusies en aanbevelingen

Doel van dit bedrijfsonderzoek was het verzamelen van de wetenschappelijke kennis over *Adenovirus* om te beoordelen wat de relevantie is van *Adenovirus* in typische situaties van de Nederlandse drinkwatervoorziening, zoals oppervlaktewaterwinning met directe zuivering of via duinpassage, of ondiepe of oevergrondwaterwinning. De beoordeling diende ook en vooral om te bepalen welke kennis nog ontbreekt om een robuuste AMVD voor deze pathogenen uit te voeren.

Voor de beoordeling van de relevantie van *Adenovirus* in het kader van de AMVD is vooral de vergelijking met *Enterovirus* van belang, het referentievirus voor de AMVD. *Adenovirus* kan kritischer zijn voor de drinkwaterveiligheid dan de huidige referentiepathogeen voor virussen (*Enterovirus*) als:

- de concentratie bij innamepunten hoger is dan die van *Enterovirus*, en/of
- *Adenovirus* minder verwijderd wordt in de zuivering dan *Enterovirus*, en/of
- de infectiviteit van *Adenovirus* hoger is dan *Rotavirus* (de AMVD/QMRAspot gebruikt de *Rotavirus* dosis-respons relatie).

6.1 Concentratie bij drinkwater-innamepunten in oppervlaktewater

Uit de literatuurstudie komt naar voren dat *Adenovirus* consistent aanwezig is in rioolwater in hoge concentraties, frequent voorkomt in oppervlaktewater en ook daar in relatief hoge concentraties, hoger dan *Enterovirus*. Bij Nederlandse drinkwaterinnamepunten in rivieren lag de concentratie in de winter boven de 10.000 per liter, in een lang verblijf in de Biesbosch bekkens op 50-316 per liter. Deze data zijn verkregen met qPCR. Gebruik van de qPCR concentraties in de AMVD zou hoge zuiveringsrendementen vragen, terwijl een zeer significant deel van de *Adenovirus* niet infectieus is. Dat lijkt dus niet proportioneel.

Voor de Biesbosch bekkens is daarom daarnaast de concentratie infectieuze *Adenovirus* bepaald met celkweek (A549). Die concentratie lag veel lager, op 0,03 per liter. Dit is ca een factor 10 hoger dan eerder gerapporteerde concentraties infectieus *Enterovirus* in dit water.

Daarmee lijkt *Adenovirus* kritischer voor de veiligheid van de drinkwatervoorziening uit oppervlaktewater dan *Enterovirus*. Een relevant kennishiaat is echter de concentratie infectieus *Adenovirus* van de serotypen 40/41 bij drinkwaterinnamepunten. Gebruik van de huidige celkweek is niet goed geschikt voor de belangrijkste *Adenovirus* typen die via water overdraagbaar zijn (40/41). Gekoppeld met de bevinding dat *Adenovirus* 40/41 36-50% van de *Adenovirus* uitmaakt in afgeleverd water van de Biesbosch zet dat vraagtekens bij het gebruik van de ratio qPCR/A549-celkweek.

Aanbevolen wordt om de celkweek-methoden die *Adenovirus* 40/41 detecteren (HEK 293) te valideren. Als blijkt dat betrouwbare data kunnen worden verkregen over infectieus *Adenovirus* 40/41 in Nederlands oppervlaktewater, wordt aanbevolen te onderzoeken in welke concentraties infectieus *Adenovirus* 40/41 voorkomen bij een aantal innamepunten uit oppervlaktewater (waar UV een belangrijke barrière is/kan worden in de zuivering), en deze te vergelijken met de al beschikbare gegevens over de concentratie infectieuze *Enterovirus*. Als uit dit onderzoek blijkt dat de concentratie infectieus *Adenovirus* 40/41 significant hoger ligt dan de concentratie infectieus *Enterovirus*, lijkt het opportuun om voor die winningen de AMVD te gaan baseren op de data van infectieus *Adenovirus*.

40/41, in plaats van op *Enterovirus*, en dus het meetprogramma dan op infectieus *Adenovirus* 40/41 te richten.

6.2 Concentratie in grondwater

Adenovirus lijkt beter te verwijderd worden tijdens bodempassage dan andere virussen. *Adenovirus* kan wel lang overleven in grondwater. Voor de duininfiltratiewinningen lijkt de verwijdering tijdens bodempassage ruim voldoende. Ook voor ondiepe grondwaterwinninge lijkt *Adenovirus* niet bepalend. Meten van *Adenovirus* in grondwater in het kader van de AMVD is met de beschikbare kennis niet opportuun.

Aanbevolen wordt om de beschikbare kennis te versterken door de verwijdering/hechting van *Adenovirus* aan zand te vergelijken met andere virussen (zoals in het BTO project “AMVD grondwater” is gepland).

Voor grondwaterwinninge die onder invloed staan van verontreiniging, zoals de kalksteen winninge of oevergrondwaterwinning in grindig zand, en een UV-installatie hebben om de microbiologische veiligheid te waarborgen kan *Adenovirus* wel relevant zijn (vanwege de UV resistentie, niet vanwege de bodempassage).

6.3 Verwijdering in de zuivering

Adenovirus is vooral bepalend voor zuiveringe waar UV een belangrijke desinfectie barrière uitmaakt. Duidelijk is dat *Adenovirus* veel resistenter is tegen UV dan *Enterovirus*, en ook dat middendruk-UV effectiever is tegen *Adenovirus* dan lage-druk-UV. De recente bevinding dat *Adenovirus* in rioolwater resistenter is tegen middendruk-UV dan ‘labstammen’ vraagt nadere aandacht, omdat het de bijdrage van middendruk-UV zou kunnen verlagen. Niet bekend is of dit ook voor andere desinfectieprocessen zoals chloordioxide zou kunnen gelden. Chemische desinfectie is relatief effectief tegen *Adenovirus* (40/41), maar het toekennen van een zeer hoge log-inactivatie aan een chemisch (na)desinfectieproces (zoals in Schijven et al, 2019) stelt wel heel hoge eisen aan de procesbewaking/sturing om die hoge mate van inactivatie te waarborgen. In de Nederlandse praktijk van meerdere barrières komt het zo zwaar leunen op één proces echter niet voor. Daarnaast kan chemische desinfectie ongewenst zijn vanwege bijproductvorming.

Aanbevolen wordt te onderzoeken of infectieus *Adenovirus* 40/41 uit riool- of oppervlaktewater resistenter is tegen middendruk-UV en tegen chemische desinfectie met ozon en chloordioxide (als dit nog significante barrières tegen *Adenovirus* blijven).

6.4 Infectiviteit

Voor de dosis-respons van *Enterovirus* wordt in de AMVD en in QMRA-spot gebruik gemaakt van de dosis-responsrelatie van *Rotavirus*. *Rotavirus* is erg infectieus. *Adenovirus* is ook zeer infectieus, al bij lage concentratie (1 virus) is er al een gerede kans om de infectie op te lopen ($ID_{50} = 0,74$ virus bij inslikken). De infectiviteit van *Adenovirus* ligt op basis van deze studie in dezelfde grootte orde als voor *Rotavirus*. Daarmee is de dosis-responsrelatie niet onderscheidend voor de AMVD.

Infectie is nog geen ziekte; de beschikbare informatie over de kans op ziekte bij een *Adenovirus*-infectie lijkt aan te geven dat de kans duidelijk lager is dan voor de huidige referentiepathogenen, hoewel een directe vergelijking met *Enterovirussen* lastig is vanwege de grote diversiteit in beide virusgroepen en gebrek aan dosis-responsdata.

Aanbevolen wordt de literatuur over infectie- en ziekterisico en ziektelast van *Adenovirus* en de huidige referentievirus(sen) *Enterovirus*, *Rotavirus*) te volgen om te zien of nieuwe bevindingen het huidige beeld veranderen. Ook wordt aanbevolen in de werkgroep over het richtsnoer AMVD vast te stellen hoe om te gaan met verschillen tussen ziektelast tussen mogelijke referentiepathogenen.

I Referenties

- Albinana-Gimenez, Nestor, Marize P. Miagostovich, Byron Calgua, Josep M. Huguet, Lleonard Matia, and Rosina Girones. 2009. 'Analysis of adenoviruses and polyomaviruses quantified by qPCR as indicators of water quality in source and drinking-water treatment plants', *Water Res*, 43: 2011-19.
- Allard, A., Vantarakis, A. 2017. 'Adenoviruses.' in J.B. Rose, Jiménez-Cisneros, B. (ed.), *Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project)* (Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO).
- Allen, Amy S., Mark A. Borchardt, Burney A. Kieke, Kari E. Dunfield, and Beth L. Parker. 2017. 'Virus occurrence in private and public wells in a fractured dolostone aquifer in Canada', *Hydrogeology Journal*, 25: 1117-36.
- Amdiouini, H., A. Faouzi, N. Fariat, M. Hassar, A. Soukri, and J. Nourilil. 2012. 'Detection and molecular identification of human adenoviruses and enteroviruses in wastewater from Morocco', *Letters in Applied Microbiology*, 54: 359-66.
- Augsburger, Nicolas, Andri Taruna Rachmadi, Noor Zaouri, Yunho Lee, and Pei-Ying Hong. 2021. 'Recent Update on UV Disinfection to Fulfill the Disinfection Credit Value for Enteric Viruses in Water', *Environ Sci Technol*, 55: 16283-98.
- Beck, Sara E., Roberto A. Rodriguez, Karl G. Linden, Thomas M. Hargy, Thomas C. Larason, and Harold B. Wright. 2014. 'Wavelength Dependent UV Inactivation and DNA Damage of Adenovirus as Measured by Cell Culture Infectivity and Long Range Quantitative PCR', *Environ Sci Technol*, 48: 591-98.
- Bellou, M. I., V. I. Syngouna, M. A. Tselepi, P. A. Kokkinos, S. C. Paparrodopoulos, A. Vantarakis, and C. V. Chrysikopoulos. 2015. 'Interaction of human adenoviruses and coliphages with kaolinite and bentonite', *Sci Total Environ*, 517: 86-95.
- Bofill-Mas, Silvia, Nestor Albinana-Gimenez, Pilar Clemente-Casares, Ayalkibet Hundesa, Jesus Rodriguez-Manzano, Annika Allard, Miquel Calvo, and Rosina Girones. 2006. 'Quantification and stability of human adenoviruses and polyomavirus JCPyV in wastewater matrices', *Appl Environ Microbiol*, 72: 7894-96.
- Borchardt, M. A., S. K. Spencer, B. A. Kieke, E. Lambertini, and F. J. Loge. 2012. 'Viruses in nondisinfected drinking water from municipal wells and community incidence of acute gastrointestinal illness', *Environ Health Perspect*, 120: 1272-9.
- Bounty, S., R. A. Rodriguez, and K. G. Linden. 2012. 'Inactivation of adenovirus using low-dose UV/H₂O₂ advanced oxidation', *Water Res*, 46: 6273-8.
- Camacho, J. C. 2019. *Detection and Quantification of Infectious Human Enteric Viruses in a Pilot Wastewater Reclamation Facility* (UNC, Chapel Hill, USA).
- Carducci, Annalaura, R Battistini, E Rovini, and Marco Verani. 2009. 'Viral removal by wastewater treatment: monitoring of indicators and pathogens', *Food and Environmental Virology*, 1: 85-91.
- de Roda Husman, A. M.; Ketelaars, H. A. M.; Lodder, W. J.; Medema, G. J.; Schets, F. M. 2006. 'De microbiologische kwaliteit van het ingenomen en afgeleverde water van Waterwinningbedrijf Brabantse Biesbosch in 2001', *RIVM report 330250002*.
- de Wit, M. A. S., M. P. G. Koopmans, L. M. Kortbeek, W. J. B. Wannet, J. Vinjé, F. van Leusden, A. I. M. Bartelds, and Y. T. H. P. van Duynhoven. 2001. 'Sensor, a Population-based Cohort Study on Gastroenteritis in the Netherlands: Incidence and Etiology', *Am J Epidemiol*, 154: 666-74.
- Doorduyn, Y., W. Van Pelt, and A. H. Havelaar. 2012. 'The burden of infectious intestinal disease (IID) in the community: a survey of self-reported IID in The Netherlands', *Epidemiology and Infection*, 140: 1185-92.
- Eischeid, A. C., and K. G. Linden. 2011. 'Molecular indications of protein damage in adenoviruses after UV disinfection', *Appl Environ Microbiol*, 77: 1145-7.
- Eischeid, A. C., J. N. Meyer, and K. G. Linden. 2009. 'UV disinfection of adenoviruses: molecular indications of DNA damage efficiency', *Appl Environ Microbiol*, 75: 23-8.
- Fong, Theng-Theng, Mantha S Phanikumar, Irene Xagorarakis, and Joan B Rose. 2010. 'Quantitative detection of human adenoviruses in wastewater and combined sewer overflows influencing a Michigan river', *Appl Environ Microbiol*, 76: 715-23.
- Gomara, M. Iturriza, R. Simpson, A. M Perault, C. Redpath, P. Lorgelly, D. Joshi, M. Mugford, C. A Hughes, J. Dalrymple, U. Desselberger, and J. Gray. 2008. 'Structured surveillance of infantile gastroenteritis in East Anglia, UK: incidence of infection with common viral gastroenteric pathogens', *Epidemiology and Infection*, 136: 23-33.

- Guo, H., X. Chu, and J. Hu. 2010. 'Effect of host cells on low- and medium-pressure UV inactivation of adenoviruses', *Appl Environ Microbiol*, 76: 7068-75.
- Hijnen, W. A. M., E. F. Beerendonk, and G. J. Medema. 2006. 'Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review', *Water Res*, 40: 3-22.
- Hornstra, L. M., J. F. Schijven, A. Waade, G. S. Prat, F. J. C. Smits, G. Cirkel, P. J. Stuyfzand, and G. J. Medema. 2018. 'Transport of bacteriophage MS2 and PRD1 in saturated dune sand under suboxic conditions', *Water Res*, 139: 158-67.
- Hornstra, L. M., P. W. M. H. Smeets, and G. J. Medema. 2011. 'Inactivation of bacteriophage MS2 upon exposure to very low concentrations of chlorine dioxide', *Water Res*, 45: 1847-55.
- Jiang, Sunny C. 2006. 'Human adenoviruses in water: occurrence and health implications: a critical review', *Environ Sci Technol*, 40: 7132-40.
- Ko, G., T. L. Cromeans, and M. D. Sobsey. 2005. 'UV inactivation of adenovirus type 41 measured by cell culture mRNA RT-PCR', *Water Res*, 39: 3643-9.
- Kokkinos, P, S Filippidou, K Karlou, and A Vantarakis. 2010. 'Molecular typing of enteroviruses, adenoviruses, and hepatitis A viruses in untreated and treated sewage of a biological treatment plant in Greece', *Food and Environmental Virology*, 2: 89-96.
- Kumthip, K., P. Khamrin, H. Ushijima, and N. Maneekarn. 2019. 'Enteric and non-enteric adenoviruses associated with acute gastroenteritis in pediatric patients in Thailand, 2011 to 2017', *PLOS ONE*, 14: e0220263.
- Kuo, David H-W, Fredrick J Simmons, Scott Blair, Elizabeth Hart, Joan B Rose, and Irene Xagorarakis. 2010. 'Assessment of human adenovirus removal in a full-scale membrane bioreactor treating municipal wastewater', *Water Res*, 44: 1520-30.
- Lee, H. S., and M. D. Sobsey. 2011. 'Survival of prototype strains of somatic coliphage families in environmental waters and when exposed to UV low-pressure monochromatic radiation or heat', *Water Res*, 45: 3723-34.
- Linden, K. G., J. Thurston, R. Schaefer, and J. P. Malley, Jr. 2007. 'Enhanced UV inactivation of adenoviruses under polychromatic UV lamps', *Appl Environ Microbiol*, 73: 7571-4.
- McMinn, Brian R., Eric R. Rhodes, Emma M. Huff, and Asja Korajkic. 2020. 'Decay of infectious adenovirus and coliphages in freshwater habitats is differentially affected by ambient sunlight and the presence of indigenous protozoa communities', *Viral J*, 17: 1.
- Mena, Kristina D, and Charles P Gerba. 2008. 'Waterborne adenovirus', *Reviews of environmental contamination and toxicology*: 133-67.
- Nwachuku, N., C. P. Gerba, A. Oswald, and F. D. Mashadi. 2005. 'Comparative inactivation of adenovirus serotypes by UV light disinfection', *Appl Environ Microbiol*, 71: 5633-6.
- Ogorzaly, L., I. Bertrand, M. Paris, A. Maul, and C. Gantzer. 2010. 'Occurrence, survival, and persistence of human adenoviruses and F-specific RNA phages in raw groundwater', *Appl Environ Microbiol*, 76: 8019-25.
- Ogorzaly, Leslie, Henry-Michel Cauchie, Christian Penny, Aline Perrin, Christophe Gantzer, and Isabelle Bertrand. 2013. 'Two-day detection of infectious enteric and non-enteric adenoviruses by improved ICC-qPCR', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97: 4159-66.
- Ogorzaly, Leslie, Cécile Walczak, Méliissa Galloux, Stéphanie Etienne, Benoît Gassilloud, and Henry-Michel Cauchie. 2015. 'Human adenovirus diversity in water samples using a next-generation amplicon sequencing approach', *Food and Environmental Virology*, 7: 112-21.
- Pang, Liping, Kata Farkas, Susan Lin, Joanne Hewitt, Aruni Premaratne, and Murray Close. 2021. 'Attenuation and transport of human enteric viruses and bacteriophage MS2 in alluvial sand and gravel aquifer media—laboratory studies', *Water Res*, 196: 117051.
- Pijnacker, R., M. J. Mangen, G. van den Bunt, E. Franz, W. van Pelt, and L. Mughini-Gras. 2019. 'Incidence and economic burden of community-acquired gastroenteritis in the Netherlands: Does having children in the household make a difference?', *PLOS ONE*, 14: e0217347.
- Quee, Franke A., Marieke L. A. de Hoog, Rob Schuurman, and Patricia Bruijning-Verhagen. 2020. 'Community burden and transmission of acute gastroenteritis caused by norovirus and rotavirus in the Netherlands (RotaFam): a prospective household-based cohort study', *The Lancet Infectious Diseases*, 20: 598-606.
- Rames, Emily, Anne Roiko, Helen Stratton, and Joanne Macdonald. 2016. 'Technical aspects of using human adenovirus as a viral water quality indicator', *Water Res*, 96: 308-26.
- Rodríguez, R. A., S. Bounty, and K. G. Linden. 2013. 'Long-range quantitative PCR for determining inactivation of adenovirus 2 by ultraviolet light', *J Appl Microbiol*, 114: 1854-65.
- Rodríguez, Roberto A., Cesar Navar, Jatuwat Sangsanont, and Karl G. Linden. 2022. 'UV inactivation of sewage isolated human adenovirus', *Water Res*, 218: 118496.

- Rosiles-González, G., G. Ávila-Torres, O.A. Moreno-Valenzuela, C. Cháidez-Quiroz, C.I. Hernández-Flores, G. Acosta-González, J.K. Brown, W.Q. Betancourt, C.P. Gerba, and C. Hernández-Zepeda. 2019. 'Norovirus and human adenovirus occurrence and diversity in recreational water in a karst aquifer in the Yucatan Peninsula, Mexico', *Journal of Applied Microbiology*, 127: 1255-69.
- Schijven, J. F., S. M. Hassanizadeh, and A. M. de Roda Husman. 2010. 'Vulnerability of unconfined aquifers to virus contamination', *Water Res*, 44: 1170-81.
- Schijven, J. F., W. Hoogenboezem, P. J. Nobel, G. J. Medema, and A. Stakelbeek. 1998. 'Reduction of FRNA-bacteriophages and faecal indicator bacteria by dune infiltration and estimation of sticking efficiencies', *Water Science and Technology*, 38: 127-31.
- Schijven, J. F., G. Medema, A. J. Vogelaar, and S. M. Hassanizadeh. 2000. 'Removal of microorganisms by deep well injection', *Journal of Contaminant Hydrology*, 44: 301-27.
- Schijven, J. F., J. H. C. Mülschlegel, S. M. Hassanizadeh, P. F. M. Teunis, and A. M. de Roda Husman. 2006. 'Determination of protection zones for Dutch groundwater wells against virus contamination - uncertainty and sensitivity analysis', *Journal of Water and Health*, 4: 297-312.
- Schijven, J., P. Teunis, T. Suylen, H. Ketelaars, L. Hornstra, and S. Rutjes. 2019a. 'QMRA of adenovirus in drinking water at a drinking water treatment plant using UV and chlorine dioxide disinfection', *Water Res*, 158: 34-45.
- Schijven, Jack F., Wim Hoogenboezem, Majid Hassanizadeh, and Jos H Peters. 1999. 'Modeling removal of bacteriophages MS2 and PRD1 by dune recharge at Castricum, Netherlands', *Water Resources Research*, 35: 1101-11.
- Schijven, Jack F., and S. Majid Hassanizadeh. 2000. 'Removal of Viruses by Soil Passage: Overview of Modeling, Processes, and Parameters', *Critical reviews in environmental science and technology*, 30: 49-127.
- Schijven, Jack, Peter Teunis, Trudy Suylen, Henk Ketelaars, Luc Hornstra, and Saskia Rutjes. 2019b. 'QMRA of adenovirus in drinking water at a drinking water treatment plant using UV and chlorine dioxide disinfection', *Water Res*, 158: 34-45.
- Sedji, Maryse Iris, Mihayl Varbanov, Marie Meo, Marius Colin, Laurence Mathieu, and Isabelle Bertrand. 2018. 'Quantification of human adenovirus and norovirus in river water in the north-east of France', *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 30497-507.
- Shin, G. A., J. K. Lee, and K. G. Linden. 2009. 'Enhanced effectiveness of medium-pressure ultraviolet lamps on human adenovirus 2 and its possible mechanism', *Water Sci Technol*, 60: 851-7.
- Sorensen, James P. R., Phil Aldous, Sarah Y. Bunting, Susan McNally, Barry R. Townsend, Megan J. Barnett, Tessa Harding, Roberto M. La Ragione, Marianne E. Stuart, Holly J. Tipper, and Steve Pedley. 2021. 'Seasonality of enteric viruses in groundwater-derived public water sources', *Water Res*, 207: 117813.
- Stevenson, Margaret E., Regina Sommer, Gerhard Lindner, Andreas H. Farnleitner, Simon Toze, Alexander K.T. Kirschner, Alfred P. Blaschke, and Jatinder P.S. Sidhu. 2015. 'Attachment and Detachment Behavior of Human Adenovirus and Surrogates in Fine Granular Limestone Aquifer Material', *Journal of Environmental Quality*, 44: 1392-401.
- Teunis, P., J. Schijven, and S. Rutjes. 2016. 'A generalized dose-response relationship for adenovirus infection and illness by exposure pathway', *Epidemiology and Infection*, 144: 3461-73.
- Vidovic, Sinisa, Mahmoud Aly, Cecily Flemming, Susan Springthorpe, and Syed A Sattar. 2011. 'Genetic analysis of infectious human adenoviruses from wastewaters of two urban communities in Canada shows first evidence of genotypes Ad3a16 and Ad3a18 in North America', *Appl Environ Microbiol*: AEM. 02795-10.
- Wong, Kelvin, Thomas C. Voice, and Irene Xagorarakis. 2013. 'Effect of organic carbon on sorption of human adenovirus to soil particles and laboratory containers', *Water Res*, 47: 3339-46.
- Wyn-Jones, A Peter, Annalaura Carducci, Nigel Cook, Martin D'agostino, Maurizio Divizia, Jens Fleischer, Christophe Gantzer, Andrew Gawler, Rosina Girones, and Christiane Höller. 2011. 'Surveillance of adenoviruses and noroviruses in European recreational waters', *Water Res*, 45: 1025-38.
- Wyn-Jones, A. P., A. Carducci, N. Cook, M. D'Agostino, M. Divizia, J. Fleischer, C. Gantzer, A. Gawler, R. Girones, C. Höller, A. M. de Roda Husman, D. Kay, I. Kozyra, J. López-Pila, M. Muscillo, M. S. Nascimento, G. Papageorgiou, S. Rutjes, J. Sellwood, R. Szewzyk, and M. Wyer. 2011. 'Surveillance of adenoviruses and noroviruses in European recreational waters', *Water Res*, 45: 1025-38.