

RIVM rapport 703719017/2007

**De invloed van weersomstandigheden op de  
microbiologische kwaliteit van hemelwater  
toegepast voor toiletspoeling en schoonmaken**

F.M. Schets, R. Italiaander, H.H.J.L. van den Berg,  
A.M. de Roda Husman

Contact:

F.M. Schets

Laboratorium voor Zoönosen en Omgevingsmicrobiologie (LZO)

e-mail: [ciska.schets@rivm.nl](mailto:ciska.schets@rivm.nl)

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de VROM-Inspectie, in het kader van project 703719, Monitoring en handhaving drinkwater, deelproject Verkennende metingen.

## Rapport in het kort

### **De invloed van weersomstandigheden op de microbiologische kwaliteit van hemelwater toegepast voor toiletspoeling en schoonmaken**

Onderzoek naar de microbiologische kwaliteit van opgevangen regenwater dat bewaard werd in reservoirs toonde aan dat dit water altijd fecaal verontreinigd was en soms ziekteverwekkende micro-organismen zoals *Campylobacter*, *Legionella*, *Cryptosporidium* of *Giardia* bevatte. De mate van fecale verontreiniging van het water werd beïnvloed door de hoeveelheid neerslag en de neerslagintensiteit.

Als vervolg op een in 2005 uitgevoerd inventariserend onderzoek naar de microbiologische kwaliteit van opgevangen regenwater werd in 2006 het effect van omgevingsfactoren op de microbiologische kwaliteit van opgevangen regenwater onderzocht. Uit drie regenwaterreservoirs werden onder verschillende omstandigheden monsters genomen, zodat de mogelijke invloed van droogte, (hevige) neerslag, al dan niet na een periode van droogte, en temperatuur bestudeerd kon worden. De aanwezigheid van *Campylobacter*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Legionella*, *Cryptosporidium*, *Giardia* en enterovirussen werd onderzocht.

Bij een hoge neerslagintensiteit na een periode van droogte steeg het aantal fecale indicatorbacteriën in het water in de reservoirs en werden ziekteverwekkende bacteriën zoals *Campylobacter* gevonden. Door afspoeling van vogelfeces vanaf de daken kunnen hoge aantallen *Campylobacter* in de reservoirs terechtkomen, waardoor het denkbaar is dat bij gebruik van het opgevangen regenwater voor toiletspoeling niet aan het in het Waterleidingbesluit gestelde infectierisico van 1 per 10.000 personen per jaar wordt voldaan.

Trefwoorden: waterkwaliteit, regenwateropvang, huishoudwater, infectierisico

## Abstract

### **The effect of weather on the microbiological quality of rainwater used for toilet flushing and cleaning**

A 2006 study of the microbiological quality of rainwater collected in reservoirs demonstrated that this water was fecally contaminated at all instances and sometimes contained pathogenic micro-organisms such as *Campylobacter*, *Legionella*, *Cryptosporidium* or *Giardia*. The amount of rainfall and rainfall intensity influenced the level of faecal contamination of the water.

The study reported here - a follow up to a pilot study on the microbiological quality of collected rainwater carried out in 2005 - dealt specifically with the effect of environmental conditions on the microbiological quality of collected rainwater. Samples were taken from three reservoirs at various environmental conditions to study the effect of drought, heavy and normal rainfall (whether or not after a period of drought) and temperature. The presence of *Campylobacter*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Legionella*, *Cryptosporidium*, *Giardia* and enteroviruses was determined.

The number of faecal indicator bacteria in the reservoirs increased with high rainfall intensity, especially after a period of drought, and pathogenic micro-organisms such as *Campylobacter* were detected. Considering the high numbers of *Campylobacter* found in the reservoirs due to the runoff of bird faeces from roofs, it is conceivable that the requirement of one infection in 10,000 persons per year, as outlined in the Dutch Drinking Water Act, will not be met.

Key words: water quality, rainwater harvesting, household water, infection risk

# Inhoud

<b>Samenvatting</b>	<b>5</b>
<b>1. Inleiding</b>	<b>6</b>
<b>2. Materiaal en methoden</b>	<b>8</b>
<b>3. Resultaten</b>	<b>10</b>
3.1 <i>Indicatoren in reservoirwater</i>	10
3.2 <i>Pathogenen in reservoirwater</i>	14
3.3 <i>Regenwater van het dak van Waterschap Vallei en Eem</i>	15
3.4 <i>Weersomstandigheden</i>	15
3.5 <i>Correlaties</i>	18
<b>4. Discussie</b>	<b>20</b>
4.1 <i>Waterkwaliteit in regenwaterreservoirs</i>	20
4.2 <i>Weersinvloed op waterkwaliteit in regenwaterreservoirs</i>	20
4.3 <i>Pathogenen in regenwaterreservoirs</i>	22
4.3.1 <i>Campylobacter</i>	22
4.3.2 <i>Legionella</i>	23
4.3.3 <i>Vibrio en Salmonella</i>	23
4.3.4 <i>Enterovirussen</i>	24
4.3.5 <i>Cryptosporidium en Giardia</i>	24
4.4 <i>Gezondheidsrisico's</i>	25
<b>5. Conclusies</b>	<b>26</b>
<b>6. Aanbevelingen voor vervolgonderzoek</b>	<b>27</b>
<b>Literatuur</b>	<b>29</b>

## Samenvatting

Regenwater is aanvankelijk microbiologisch onbesmet, maar bij afstromen langs oppervlakken en tijdens opslag in reservoirs kan besmetting optreden, bijvoorbeeld wanneer vogelfeces van het dak wordt gespoeld of wanneer vogels of andere dieren toegang hebben tot het reservoir of bij onderhouds- of reparatiewerkzaamheden aan de installatie. De aanwezigheid van indicatorparameters zoals bacteriën van de coligroep, *E. coli* en intestinale enterococci is een aanwijzing voor besmetting van het water met feces van humane of dierlijke oorsprong en mogelijke aanwezigheid van (zoönotische) pathogene bacteriën zoals *Campylobacter*, *Salmonella*, *Vibrio* en *Clostridium*.

Regenwater is een toegestane bron voor huishoudwater toegepast voor toiletspoeling. Evenals voor drinkwater dient ook voor huishoudwater het infectierisico bij blootstelling binnen het in het Waterleidingbesluit opgenomen aanvaardbare niveau van 1 infectie per 10.000 personen per jaar te blijven. Hoewel het opgevangen regenwater op geen van de onderzoekslocaties gebruikt werd of gebruikt zal worden als drinkwater, is de microbiologische kwaliteit getoetst aan de drinkwaternormen, zoals deze zijn opgenomen in het Waterleidingbesluit.

Uit een in 2005 uitgevoerd inventariserend onderzoek naar de microbiologische kwaliteit van opgevangen regenwater op een viertal locaties in Nederland, bleek dat per locatie 96-100 % van de onderzochte monsters fecaal verontreinigd was. In 2006 werd een vervolgonderzoek uitgevoerd waarin op drie locaties het effect van omgevingsfactoren zoals temperatuur en neerslag op de microbiologische kwaliteit van opgevangen regenwater, bestemd voor toiletspoeling of schoonmaken, werd onderzocht. De monsters werden onder verschillende omstandigheden genomen, zodat de mogelijke invloed van droogte, neerslag, al dan niet na een periode van droogte, en temperatuur bestudeerd kon worden. Naast de aanwezigheid van indicatoren voor fecale verontreiniging, *Campylobacter*, *Salmonella* en *Vibrio*, werd tevens de aanwezigheid van *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Legionella* en enterovirussen onderzocht. De gedetecteerde en geïsoleerde pathogenen werden, daar waar mogelijk, getypeerd om vast te stellen of het om humaan pathogene soorten ging.

Het onderzoek toonde aan dat regenwater opgevangen in reservoirs fecaal verontreinigd was en (zoönotische) pathogenen bevatte die ziekte bij de mens kunnen veroorzaken, zoals *Campylobacter jejuni*. In de goed onderhouden en goed geïsoleerde betonnen reservoirs was de invloed van de buitentemperatuur op de temperatuur van het water in de reservoirs en daarmee op de microbiologische kwaliteit gering. De microbiologische kwaliteit van het opgevangen regenwater werd beïnvloed door de hoeveelheid neerslag; met name een hoge neerslagintensiteit na een periode van droogte had een stijging van zowel het aantal fecale indicatorbacteriën als het aantal pathogenen in het water in de reservoirs tot gevolg. De meest waarschijnlijke bron van fecale verontreiniging is vogelfeces die van de daken afspoelt. Op één locatie werden zodanig hoge aantallen *Campylobacter* in het reservoir aangetroffen dat het denkbaar is dat bij gebruik van het opgevangen regenwater voor toiletspoeling niet aan het in het Waterleidingbesluit gestelde infectierisico van 1 per 10.000 personen per jaar wordt voldaan.

# 1. Inleiding

In gebieden waar leidingwater niet altijd voorhanden is, bijvoorbeeld in afgelegen landelijke gebieden waar niet alle woningen zijn aangesloten op een leidingwaternet, is het opvangen van regenwater om in de waterbehoefte te voorzien gebruikelijk. Echter ook daar waar leidingwater in ruime mate beschikbaar is, zoals vrijwel overal in Nederland, wordt steeds vaker hemelwater opgevangen. Hemelwater wordt opgevangen in speciaal daarvoor geplaatste reservoirs, waarin het gedurende enige tijd bewaard wordt alvorens te worden gebruikt voor bijvoorbeeld toiletspoeling of het besproeien van de tuin. Regenwater is gratis en op deze manier kan op de kosten voor gebruik van gezuiverd drinkwater bezuinigd worden. Daarnaast is men er zich steeds meer van bewust dat er zuinig moet worden omgegaan met drinkwaterbronnen en energie. Door de toegenomen vraag naar drinkwater daalt de grondwaterspiegel op steeds meer plaatsen, met alle gevolgen voor verschillende ecosystemen van dien. Het gebruik van hemelwater past in een milieuvriendelijk en duurzaam beheer.

Regenwater is aanvankelijk onbesmet, maar bij afstromen langs oppervlakken en tijdens opslag in reservoirs kan besmetting optreden, bijvoorbeeld wanneer vogelfeces van het dak wordt gespoeld of wanneer vogels of andere dieren toegang hebben tot het reservoir, bij onderhouds- of reparatiewerkzaamheden aan de installatie of wanneer er sprake is van open leidingen. De aanwezigheid van indicatorparameters zoals (thermotolerante) bacteriën van de coligroep, *E. coli* en intestinale enterococci is een aanwijzing voor besmetting van het water met feces van humane of dierlijke oorsprong en mogelijke aanwezigheid van (zoönotische) pathogene bacteriën zoals *Campylobacter*, *Salmonella*, *Vibrio* en *Clostridium*, maar ook van parasieten, virussen of helminthen. Afhankelijk van het materiaal en de onderhoudsstatus van de reservoirs, alsmede de bewaartermijn, kan groei van micro-organismen zoals *Aeromonas* optreden en kan de microbiologische kwaliteit van het hemelwater verslechteren. Indien biofilmvorming optreedt, is kolonisatie door *Legionella* aannemelijk.

De chemische kwaliteit van opgevangen regenwater wordt beïnvloed door het materiaal van de daken waar het water langs afspoelt. De concentratie zink in het water is hoger wanneer het afspoelt langs een dak van gegalvaniseerd ijzer, terwijl de troebelheid hoger is wanneer het water van een dak met betonnen dakpannen afspoelt (Thomas en Greene, 1993).

Uit een in 2005 uitgevoerd inventariserend onderzoek naar de microbiologische kwaliteit van opgevangen regenwater op een viertal locaties in Nederland, bleek dat dit water vaak fecaal verontreinigd was: per locatie werden in 96-100 % van de onderzochte monsters indicatoren voor fecale verontreiniging aangetroffen. Een klein deel van de monsters (3,5 %) bevatte de ziekteverwekkende bacteriën *Campylobacter* en *Legionella* (Schets et al., 2005). Het opgevangen regenwater werd op geen van de onderzoekslocaties toegepast als drinkwater, maar desondanks werden de drinkwaternormen, zoals deze zijn opgenomen in het Nederlandse Waterleidingbesluit (Anonymous, 2001), gezien als de relevante normen om de microbiologische kwaliteit van het opgevangen regenwater aan te toetsen. Evenals voor

drinkwater dient ook voor huishoudwater, waarvoor regenwater als potentiële bron wordt gezien, het infectierisico bij blootstelling binnen het in het Waterleidingbesluit opgenomen aanvaardbare  $10^{-4}$ -niveau te blijven (Ministerie van VROM, 2003; Fernandes et al., 2006). Uit het onderzoek in 2005 bleek dat het opgevangen regenwater niet aan de normen voor drinkwaterkwaliteit voldeed.

In buitenlandse studies is eveneens aangetoond dat regenwater dat via afspoelen van daken wordt opgevangen en bewaard fecaal verontreinigd kan zijn en pathogene micro-organismen kan bevatten. Holländer et al. (1996) onderzochten 102 reservoirs in Duitsland en vonden in alle reservoirs bacteriën van de coligroep, *E. coli* en fecale streptococci. *Pseudomonas aeruginosa* werd in 11 % van de monsters gevonden, *Salmonella* slechts in één monster. *Staphylococcus aureus*, *Yersinia*, *Shigella*, *Legionella* en *Campylobacter* werden niet aangetroffen. Onderzoek van het water in 125 reservoirs in Nieuw-Zeeland toonde aan dat het water in 56 % van de reservoirs niet aan de normen voor drinkwaterkwaliteit voldeed (Simmons et al., 2001). *Aeromonas* werd in 16 % van de reservoirs gevonden; *Salmonella* werd aangetroffen in één van de 115 (0,9 %) en *Cryptosporidium* in twee van de 50 (4 %) onderzochte reservoirs. *Legionella*, *Campylobacter* en *Giardia* werden niet gevonden. Zeven onderzochte regenwatersystemen in Denemarken bevatten allemaal *E. coli* en ook *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas*, *Legionella*, *Campylobacter* en *Cryptosporidium* werden aangetroffen. *Giardia* werd niet gevonden (Albrechtsen, 2002). Abo-Shehada et al. (2004) onderzochten het voorkomen van *Cryptosporidium* in 435 reservoirs in Jordanië; zij vonden deze parasiet in 0,9 % van de reservoirs.

In 2005 werd gedurende een relatief korte periode onderzoek uitgevoerd; tijdens deze periode trad weinig variatie in weersomstandigheden op en viel er nauwelijks neerslag (Schets et al., 2005). Om het effect van omgevingsfactoren zoals temperatuur en neerslag beter te kunnen bestuderen, werd op drie van de vier in 2005 onderzochte locaties opnieuw de microbiologische kwaliteit van opgevangen regenwater onderzocht. Ditmaal werden de monsters onder verschillende omstandigheden genomen, zodat de mogelijke invloed van droogte, (hevige) neerslag, al dan niet na een periode van droogte, en temperatuur bestudeerd kon worden. Naast onderzoek naar de aanwezigheid van fecale indicatoren, *Campylobacter*, *Salmonella* en *Vibrio*, werd tevens de aanwezigheid van de parasitaire protozoa *Cryptosporidium* en *Giardia* en de aanwezigheid van enterovirussen onderzocht. De gedetecteerde en geïsoleerde pathogenen werden, daar waar mogelijk, getypeerd om vast te stellen of het om humaan pathogene soorten ging.

## 2. Materiaal en methoden

Op drie locaties (Tabel 1) werd van 15 mei tot en met 7 augustus 2006, met een tweewekelijks interval, een monster uit het reservoir voor opslag van opgevangen regenwater genomen. Indien een periode van (relatieve) droogte gevolgd werd door heftige regenval, werd een extra monster genomen. Op één locatie werden monsters genomen van water dat rechtstreeks van het dak afspoelde, voordat het in het reservoir terechtkwam.

*Tabel 1 Monsterlocaties.*

<b>Locatie</b>	<b>plaats</b>	<b>toepassing opgevangen regenwater</b>
Eokantoor	Bunnik	toiletspoeling, schoonmaken, planten begieten
Het Groene Dak	Utrecht	toiletspoeling
Waterschap Vallei en Eem	Leusden	toiletspoeling, schoonmaken

Alle monsters werden door RIVM-LZO onderzocht op de aanwezigheid van de in Tabel 2 genoemde indicatorparameters en pathogenen, gebruikmakend van de genoemde standaardmethoden (NEN- of ISO-normen, MGB-SOP's) of andere voorschriften en kweekmedia.

De monsters werden door Vitens onderzocht op de aanwezigheid van *Legionella* volgens de in Tabel 2 aangegeven NEN-norm, waarbij concentratie van de monsters door middel van filtratie werd toegepast. Bovendien werd een aangepaste methode gebruikt (VL-W-MB03: Het aantonen en bepalen van het aantal *Legionella*-bacteriën met behulp van membraanfiltratie) waarbij van elk monster een, in vergelijking met de NEN-methode, twee keer zo groot volume alleen na pasteurisatie werd onderzocht.

Op alle monsterlocaties werd ter plaatse bij elke monsterneming de temperatuur van het water gemeten; de pH en de troebelheid van de monsters werden in het laboratorium gemeten. De dagelijkse meteorologische gegevens van meetstation De Bilt werden via [www.knmi.nl](http://www.knmi.nl) opgezocht.



*Ondergronds  
opslagreservoir  
voor opgevangen  
regenwater*



Tabel 2 Methoden voor indicatoren en pathogenen.

<b>parameter</b>	<b>voorschrift</b>	<b>methode</b>	<b>isolatie; bevestiging</b>	<b>volume (ml)</b>
<i>E. coli</i> *	Rapid Test uit NEN-EN-ISO 9308-1	membraan-filtratie	Trypton Soya Agar (TSA)/Trypton Bile Agar (TBA); James	10-50-100
intestinale enterococcen	NEN-EN-ISO 7899-2	membraan-filtratie	Slanetz and Bartley Agar (S&B); Gal Esculine Azide Agar (GEAA)	10-50-100
bacteriën v.d. coligroep	NEN-EN-ISO 9308-1	membraan-filtratie	Laurylsulfaat-Agar (LSA); oxidase	10-50-100
koloniegetal 22 °C	NEN-EN-ISO 6222	gietplaat	Gistextract Agar (GA)	0,01-0,1-1,0
<i>Aeromonas</i>	NEN 6263	membraan-filtratie	Ampicilline Dextrine Agar (ADA)	1-10-100
<i>Campylobacter</i>	NEN 6269	membraan-filtratie/ ophoping	Preston/Karmali; hangende druppel	10-100-1000
<i>Salmonella</i>	SOP MGB/ M125	membraan-filtratie/ ophoping	Gebufferd peptonwater (BPW), Rappaport Vassiliades (RV), Brilljantgroen Agar (BGA); Ureumagar met TSI, LDC	10-100-1000
<i>Clostridium perfringens</i>	SOP MGB/ M189	membraan-filtratie	Modified Clostridium perfringens agar (MCP); ammonium-hydroxide	10-50-100
<i>Vibrio</i>	SOP MGB/ M603	membraan-filtratie/ ophoping	Alkalisch BPW (ABPW), Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS)	1000
<i>Legionella</i> **	NEN 6265	membraan-filtratie	Buffered Charcoal Yeast Extract Agar (BCYE)	500
<i>Cryptosporidium/ Giardia</i>	SOP MGB/ M003/ M004/ M193		Envirochek-filtratie, IMS-zuivering, IF-detectie	10.000
enterovirus	SOP MGB/ M156/ M159/ M602/ M053		filtratie, celkweek, extractie, RT-PCR	10.000

\*RVA-geaccrediteerde verrichting; prestatiekenmerken en telgrensinformatie zijn bij RIVM-LZO op te vragen.

\*\*Analyse uitgevoerd door Vitens.

## 3. Resultaten

### 3.1 Indicatoren in reservoirwater

De parameters voor fecale verontreiniging, bacteriën van de coligroep, *E. coli* en intestinale enterococci werden op alle monsterlocaties aangetroffen (Tabel 3). Wanneer wordt voldaan aan de eisen voor drinkwaterkwaliteit dienen deze parameters afwezig te zijn in 100 ml.

Bacteriën van de coligroep werden gevonden in alle monsters uit het reservoir van Waterschap Vallei en Eem (n=10; range 24 - 314 kolonievormende eenheden (kve) per 100 ml) en in zeven van de acht monsters uit het reservoir van Ekokantoor (range 0,5 - niet telbaar/100 ml) en uit het reservoir van Het Groene Dak (range 1,4 – niet telbaar/100 ml). Ook *E. coli* was in 20 van de 26 onderzochte monsters aanwezig. Bij Waterschap Vallei en Eem waren acht van de tien monsters positief (range 1,4 – 71 kve/100 ml); bij Ekokantoor waren vijf van de acht monsters positief (range 2,7 – 175 kve/100 ml) en bij Het Groene Dak werden zeven van de acht monsters positief gevonden (range 2,7 – 10.000 kve/100 ml).

Intestinale enterococci werden in alle monsters uit het reservoir van Waterschap Vallei en Eem aangetroffen (n=10; range 2,3 – 135 kve/100 ml), terwijl uit zowel het reservoir van Ekokantoor (range 1,4 – 1255 kve/100 ml) als het reservoir van Het Groene Dak (range 0,5 – 9546 kve/100 ml) zes van de acht monsters positief waren.

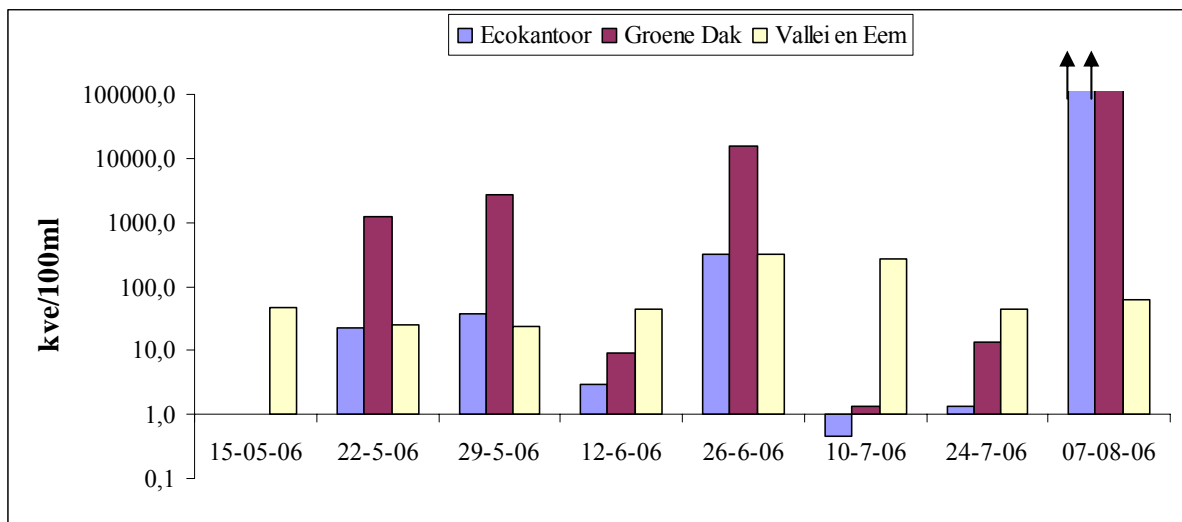
Op de drie onderzoekslocaties werden de hoogste aantallen fecale indicatoren gemeten op de dagen die vooraf werden gegaan door dagen met (hevige) regenval, te weten 22 en 29 mei, 26 juni en 7 augustus (Figuur 1 t/m 3 en Figuur 6).

Het totale aantal bij 22 °C kweekbare kiemen overschreed in alle 26 onderzochte monsters de norm voor drinkwater van 100 kolonievormende eenheden per milliliter. De gedetecteerde aantallen lagen tussen 392 en  $3,0 \times 10^6$  kve/ml (Tabel 3). De schommelingen in de gedetecteerde aantallen volgden veel minder duidelijk het patroon van de neerslag dan bij de fecale indicatoren het geval was (Figuur 4 en Figuur 6).

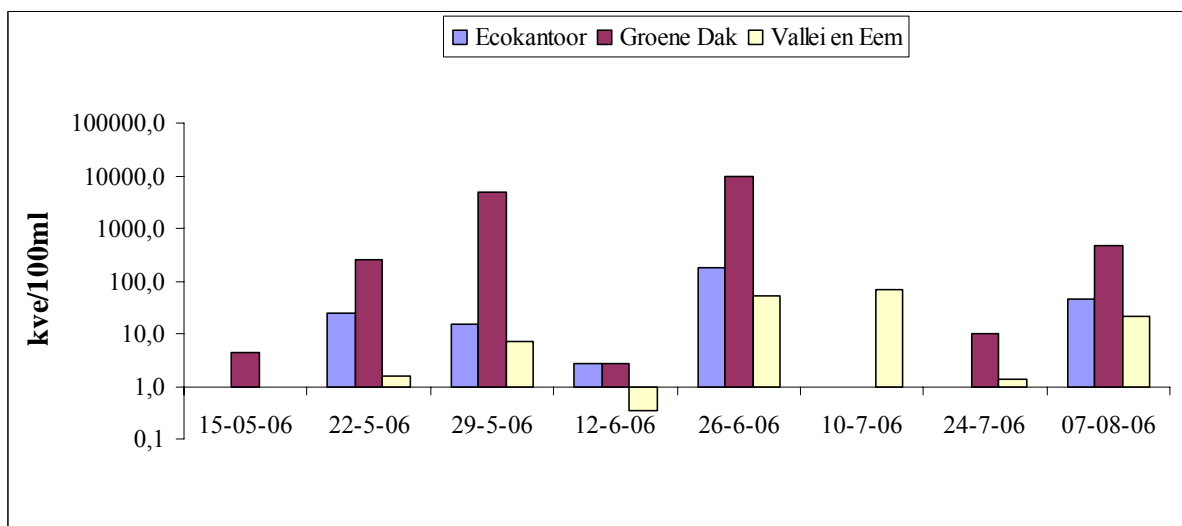
*Clostridium perfringens* werd in lage aantallen in een deel van de monsters van alle locaties aangetoond. Volgens het Waterleidingbesluit mag *Clostridium perfringens* in 100 ml drinkwater niet aanwezig zijn. Op 26 juni, 10 juli en 24 juli gaf de bij deze analyse meegenomen controle afwijkende resultaten. De analyseresultaten van de op deze data genomen monsters zijn daarom niet opgenomen in Tabel 3.



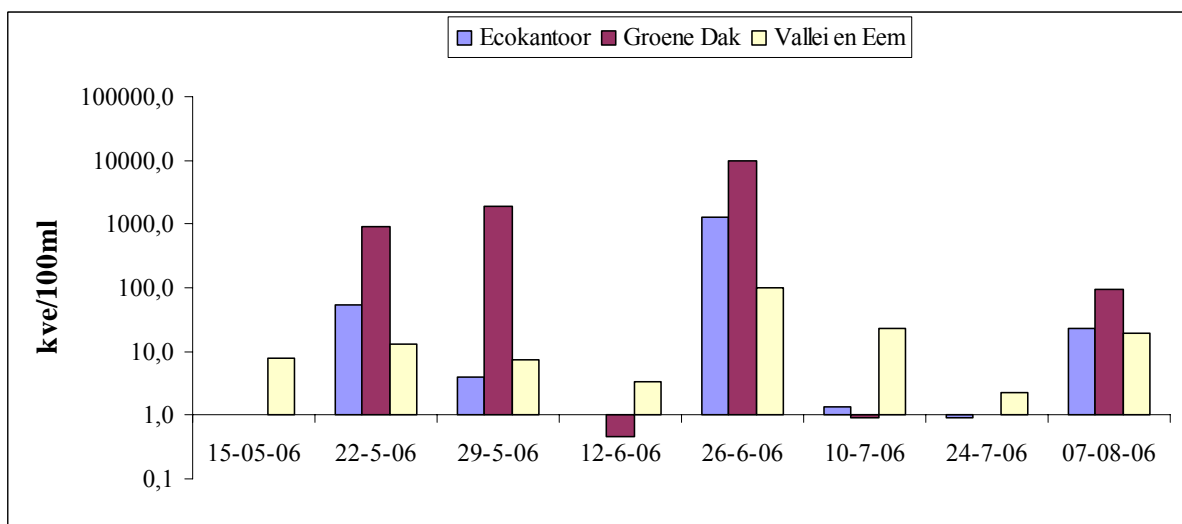
*Goot voor transport van opgevangen hemelwater naar het reservoir*



Figuur 1 De concentratie bacteriën van de coligroep in verschillende regenwaterreservoirs.



Figuur 2 De concentratie E. coli in verschillende regenwaterreservoirs.



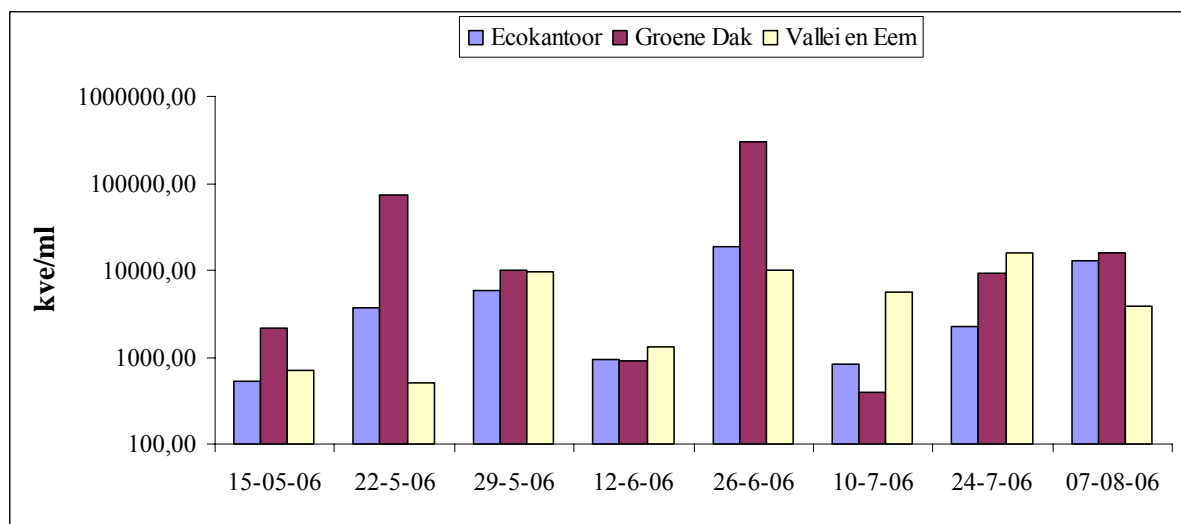
Figuur 3 De concentratie intestinale enterococci in verschillende regenwaterreservoirs.

Tabel 3 *Bacteriologische parameters.*

<b>datum monster</b>	<b>locatie</b>	<b>bact. v.d. coligroep (n/100 ml)</b>	<b><i>E. coli</i> (n/100 ml)</b>	<b>entero- coccen (n/100 ml)</b>	<b>kgt 22 °C (n/ml)</b>	<b><i>Aeromonas</i> (n/100 ml)</b>	<b><i>C. per- fringens</i> (n/100 ml)</b>
15/5/06	<i>Waterschap</i>	47	0	7,8	695	70	0
22/5/06	<i>Vallei &amp; Eem</i>	25	1,6	13	505	1318	0,7
29/5/06		24	7,2	7,5	9650	1800	4
12/6/06		45	0,3	3,3	1318	514	0
26/6/06		314	53	100	10000	16818	**
10/7/06		273	71	23	5590	5000	**
24/7/06		43	1,4	2,3	15950	7117	**
07/8/06		63	22	19	3864	905	0
22/5/06	dak	37	0	135	>>*	29000	16
31/5/06	dak	273	4,5	99	7702	32500	0,3
15/5/06	<i>Ecokantoor</i>	0	0	0	536	100	0,6
22/5/06		22	24	52	3700	1273	11
29/5/06		37	16	4,1	5850	400	0
12/6/06		3,0	2,7	0	923	55	0
26/6/06		314	175	1255	18636	3182	**
10/7/06		0,5	0	1,4	842	811	**
24/7/06		1,4	0	0,9	2223	7,4	**
07/8/06		>>*	46	23	12773	36	0
15/5/06	<i>Groene Dak</i>	0	4,4	0	2136	40	4,7
22/5/06		1250	254	900	73900	20000	31
29/5/06		2700	4750	1900	9909	19000	13
12/6/06		9,1	2,7	0,5	890	409	8
26/6/06		15500	10000	9546	3045000	85000	**
10/7/06		1,4	0	0,9	392	135	**
24/7/06		14	10	0	9250	18	**
07/8/06	>>*	455	96	15909	536	9,5	

\* Telling niet mogelijk door aanwezigheid van zeer grote aantallen bacteriën.

\*\* Analyseresultaat verworpen in verband met afwijkend resultaat controle.

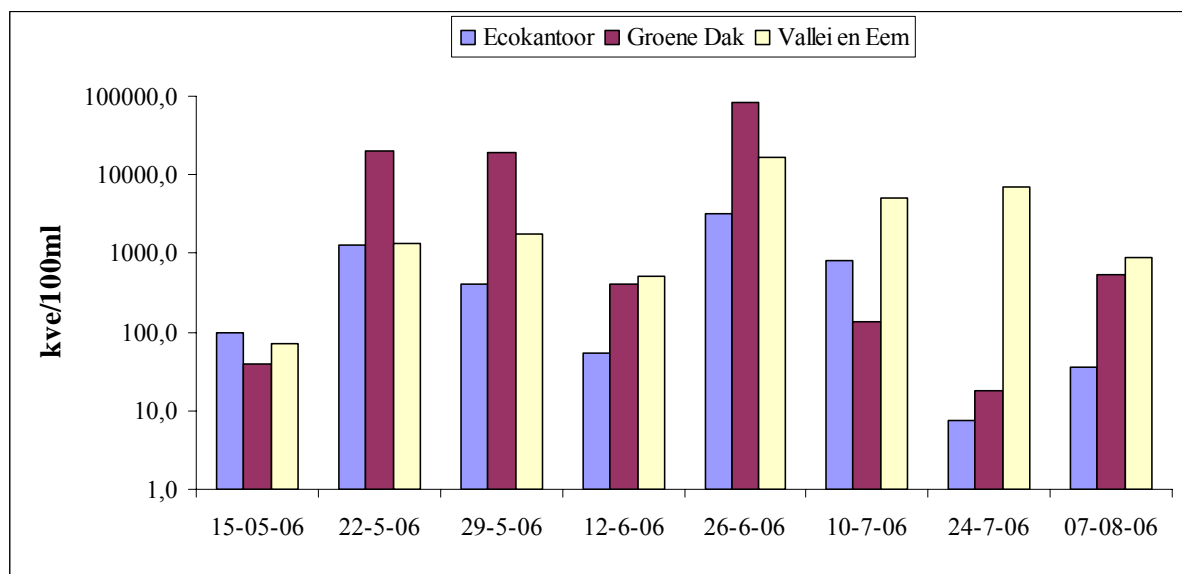


Figuur 4 De concentratie bij 22 °C kweekbare kiemen in verschillende regenwaterreservoirs.

*Aeromonas* werd in alle monsters aangetroffen; de laagste aantallen werden gevonden in monsters uit het reservoir van Ekokantoor (n=8; range 7,4 – 3182 kve/100 ml), terwijl de aantallen in monsters uit het reservoir van Het Groene Dak het sterkst schommelden (n=8; range 18 – 85.000 kve/100 ml). De aantallen die in het reservoir van Waterschap Vallei en Eem werden aangetroffen, varieerden van 70 tot 29.000 kve/100 ml. De in het Waterleidingbesluit opgenomen grenswaarde van 1000 kve/100 ml werd in 12 van de 26 onderzochte monsters overschreden (Tabel 3). In het water uit het reservoir van Het Groene Dak werden pieken in de aantallen *Aeromonas* gemeten op de dagen die vooraf werden gegaan door dagen met (hevige) regenval (22 mei, 29 mei, 26 juni, 7 augustus); op de andere locaties was de relatie tussen het aantal gedetecteerde *Aeromonas* en regenval voorafgaande aan bemonstering veel minder duidelijk (Figuur 5). In totaal zijn 32 *Aeromonas*-stammen geïsoleerd en getypeerd; de meest voorkomende soort was *A. hydrophila*. In Tabel 4 is aangegeven welke *Aeromonas*-soorten op welke locatie werden aangetroffen.

Tabel 4 *Aeromonas*-stammen geïsoleerd uit regenwaterreservoirs.

Locatie	totaal aantal isolaten	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. caviae</i>
Waterschap Vallei en Eem	20	15	4	1
Ekokantoor	5	5	0	0
Het Groene Dak	7	7	0	0



Figuur 5 De concentratie *Aeromonas* in verschillende regenwaterreservoirs.

### 3.2 Pathogenen in reservoirwater

*Salmonella* en *Vibrio* werden in geen van de onderzochte monsters gedetecteerd. Deze genera waren afwezig in de onderzochte volumes van respectievelijk 1,1 en 2 liter.

*Campylobacter* werd gevonden in monsters genomen op 22 mei, 29 mei en 26 juni uit het reservoir van Het Groene Dak. Het meest waarschijnlijke aantal (MPN) in de monsters van 22 mei en 26 juni bedroeg 240 *Campylobacter* per liter; in het monster van 29 mei kon geen MPN bepaald worden omdat alle verdunningen positief waren: MPN > 240/l. *Campylobacter* werd ook aangetroffen in een monster dat op 22 mei uit het reservoir van Ekokantoor werd genomen (MPN 23/l). Typering van de *Campylobacter*-isolaten in de vier positieve monsters toonde aan dat het om *C. jejuni* subspecies *jejuni* ging.

In een monster dat op 10 juli uit het reservoir van Ekokantoor werd genomen, werd *Legionella* in een concentratie van 65 kve/l aangetroffen. Serotypering van een isolaat toonde aan dat het om *Legionella non-pneumophila* ging. In alle overige monsters werd *Legionella* niet gevonden (14 monsters), of kon geen uitslag worden gegeven doordat veel storende flora aanwezig was (9 monsters).

De parasitaire protozoa *Cryptosporidium* en *Giardia* werden beide eenmaal aangetroffen. In het monster dat op 24 juli uit het reservoir van Het Groene Dak genomen werd, werd één *Cryptosporidium*-oöcyste gevonden, terwijl in het monster dat op 24 juli uit het reservoir van Ekokantoor werd genomen één *Giardia*-cyste werd aangetroffen. Nadere bevestiging en typering van deze kleine aantallen (oö)cysten was niet mogelijk.

Kweekbare enterovirussen werden in geen van de monsters gevonden; ook met Polymerase Chain Reaction (PCR) werd geen enterovirus-RNA aangetoond.

### 3.3 Regenwater van het dak van Waterschap Vallei en Eem

Het regenwater dat tijdens regenval door medewerkers van Waterschap Vallei en Eem werd opgevangen, bleek voor een deel te bestaan uit regenwater dat daadwerkelijk langs het dak afspoelde, rechtstreeks in de opvangvaten, maar voor een deel ook uit regenwater dat direct uit de lucht werd opgevangen. De vaten werden door de medewerkers voor een aantal uren neergezet en vervolgens werd het opgevangen water samengevoegd in één groot monstervat tot één mengmonster. De gedetecteerde aantallen micro-organismen zijn hierdoor niet representatief voor de aantallen die bij regenval van het dak spoelen omdat verdunning met onbesmet hemelwater heeft plaatsgevonden. De aantallen indicatoren voor fecale verontreiniging lagen in dezelfde orde van grootte als in de monsters uit de reservoirs (Tabel 3), maar de aantallen *Aeromonas* waren in de monsters van het dak veel hoger. In deze monsters werden geen *Salmonella*, *Vibrio*, *Cryptosporidium* en *Giardia* gevonden. De aanwezigheid van *Legionella* werd niet onderzocht.

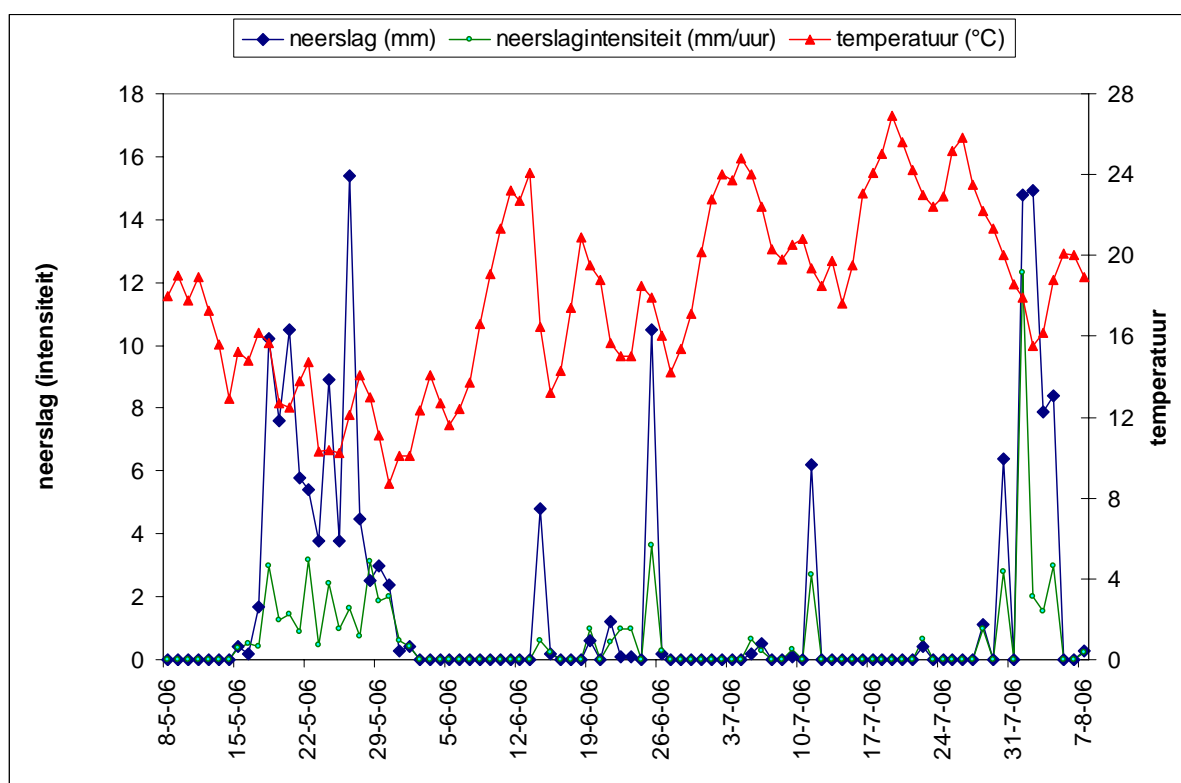
### 3.4 Weersomstandigheden

Tijdens het onderzoek waren de weersomstandigheden zeer variabel. Perioden van droogte werden afgewisseld met natte perioden en perioden waarin in korte tijd zeer veel neerslag viel. Ook de buitentemperatuur varieerde aanzienlijk. In Tabel 5 zijn de meteorologische gegevens per week samengevat en in Figuur 6 zijn de daggegevens voor temperatuur, neerslag en neerslagintensiteit grafisch weergegeven. In de figuren 7 en 8 zijn de windrichtingen weergegeven die gedurende de onderzoeksperiode werden vastgesteld op respectievelijk dagen met en zonder regenval. Op dagen met neerslag overheersen winden uit zuidwestelijke richting, terwijl op droge dagen winden uit noordelijke en oostelijke richtingen overheersen. Wind uit noordwestelijke richting werd zowel op dagen met als op dagen zonder neerslag regelmatig waargenomen.

De condities in de reservoirs zijn weergegeven in Tabel 6. In alle reservoirs was de gemiddelde pH van het water ongeveer 7; de gemiddelde troebelheid lag in alle reservoirs lager dan 1 FTU (formazin turbidity unit). Het verloop van de watertemperatuur in de reservoirs is grafisch weergegeven in Figuur 9. Zowel in het reservoir van Waterschap Vallei en Eem als in dat van Het Groene Dak liep de temperatuur gedurende het onderzoek geleidelijk op. De watertemperatuur in het reservoir van Ecoland lag hoger dan die in de andere reservoirs, maar steeg gedurende de zomer niet veel.

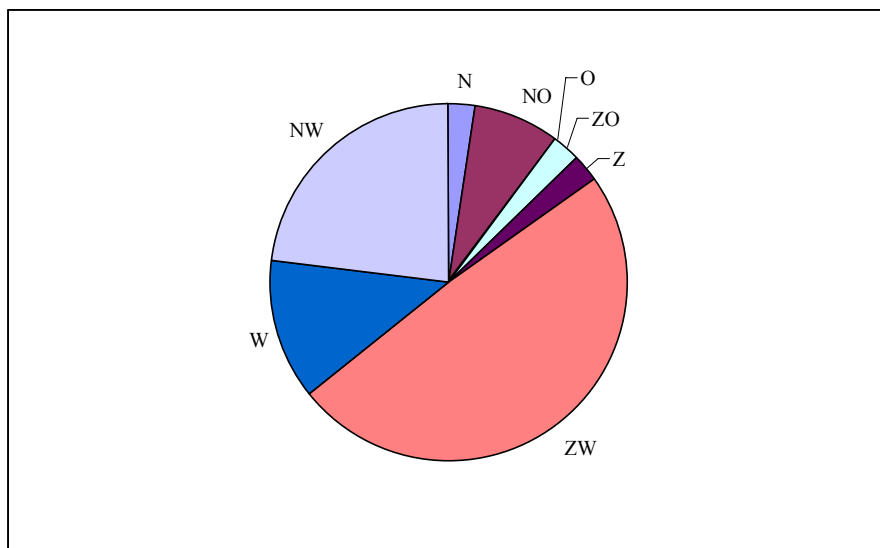
Tabel 5 Meteorologische gegevens over de onderzoeksperiode afkomstig van meetstation De Bilt ([www.knmi.nl](http://www.knmi.nl)). De bemonsteringsdagen zijn in rood aangegeven.

datum	week	neerslag (mm)	neerslag-duur (uur)	gemiddelde temperatuur (°C)	maximale gemiddelde etmaaltemperatuur (°C)
08/5/06-14/5/06	19	0	0	17,1	19,0
<b>15/5/06-21/5/06</b>	20	36,4	28,8	14,4	16,2
<b>22/5/06-28/5/06</b>	21	44,3	33,7	12,2	14,7
<b>29/5/06-04/6/06</b>	22	6,1	4,3	11,3	14,1
05/6/06-11/6/06	23	0	0	16,8	23,2
<b>12/6/06-18/6/06</b>	24	5,0	9,1	18,4	24,1
19/6/06-25/6/06	25	12,5	5,9	17,2	19,5
<b>26/6/06-02/7/06</b>	26	0,2	0,7	18,5	24,0
03/7/06-09/7/06	27	0,8	2,5	22,2	24,8
<b>10/7/06-16/7/06</b>	28	6,2	2,3	19,8	23,1
17/7/06-23/7/06	29	0,4	0,6	24,5	26,9
<b>24/7/06-30/7/06</b>	30	7,5	3,4	23,0	25,8
31/7/06-06/8/06	31	46,0	16,5	15,5	20,1
<b>07/8/06</b>	32	0,3	1,2	18,9	24,8

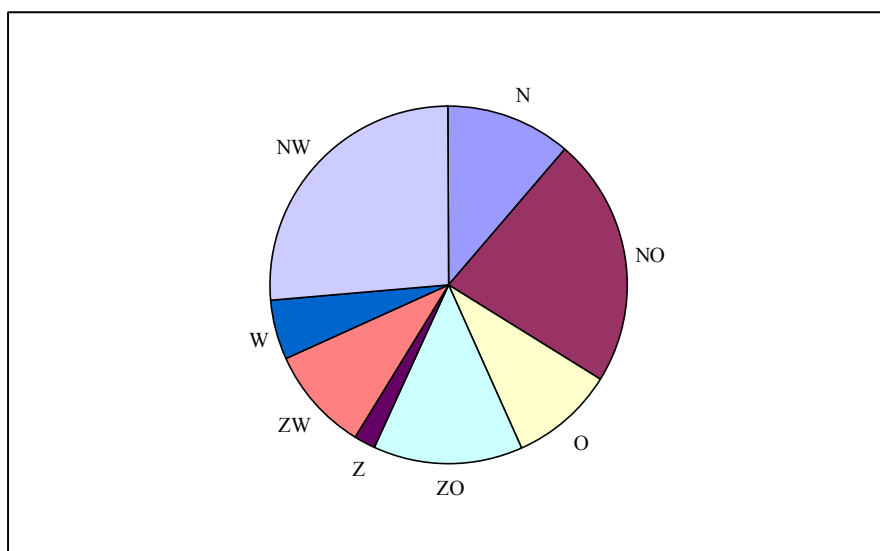


Figuur 6 Het verloop van de temperatuur, de neerslag en de neerslagintensiteit gedurende de onderzoeksperiode.





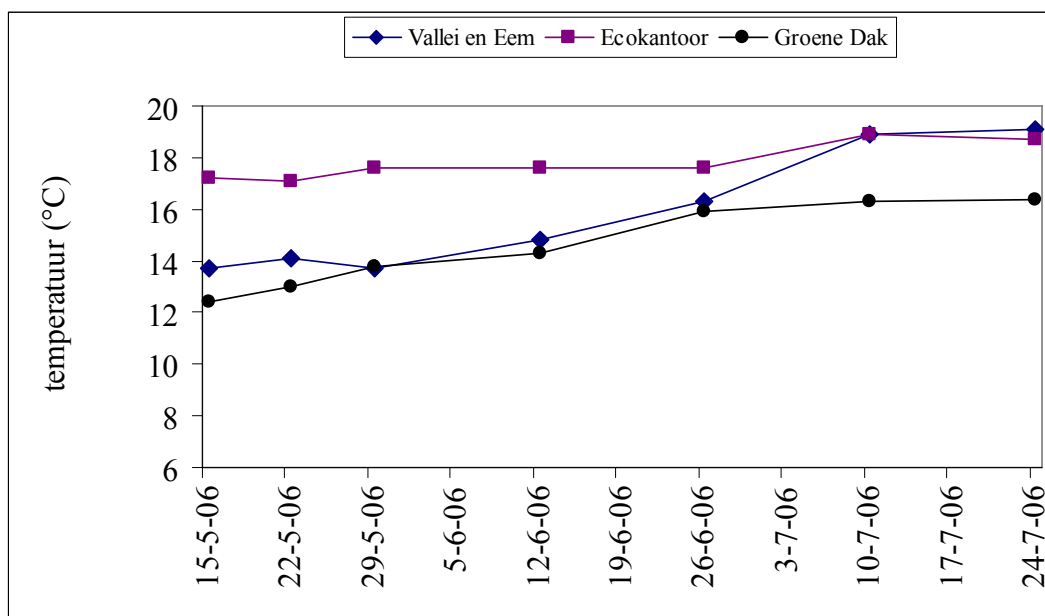
Figuur 7 Windrichtingen vastgesteld op dagen met neerslag (n=39).



Figuur 8 Windrichtingen vastgesteld op dagen zonder neerslag (n=53).

Tabel 6 Fysische en chemische parameters in de regenwaterreservoirs.

locatie	temperatuur (°C)	pH	troebelheid (FTU)
Waterschap Vallei & Eem	15,8 (13,7-19,1)	6,9 (6,8-7,1)	0,5 (0-2,2)
Ecokantoor	17,8 (17,1-18,9)	7,0 (6,6-7,8)	0,1 (0-1,0)
Het Groene Dak	14,6 (12,4-16,4)	7,2 (5,9-8,2)	0,9 (0-2,3)



Figuur 9 Het verloop van de temperatuur in de verschillende regenwaterreservoirs.

### 3.5 Correlaties

Om vast te stellen of gemeten parameters met elkaar verband hielden of mogelijk een gemeenschappelijke bron hadden, zijn voor alle microbiologische en meteorologische parameters correlatiecoëfficiënten berekend (Tabel 8). Er bestaan gemiddelde tot sterke correlaties tussen de microbiologische parameters, maar met uitzondering van de neerslagintensiteit (en de windsnelheid voor *C. perfringens*) zijn er geen sterke correlaties tussen de microbiologische en meteorologische parameters.



*Dak waarvan regenwater wordt opgevangen*

Tabel 8 Correlatiecoëfficiënten voor bacteriologische en meteorologische parameters.  
Sterke correlaties zijn in rood weergegeven, gemiddelde correlaties in blauw.

locatie		parameter										
		TC	EC	IE	kgt22	aero	CP	neersl	intens	wind	T	Tres
WVE	TC		<b>0,9</b>	<b>0,8</b>	0,2	<b>0,8</b>	<b>-0,7</b>	-0,2	0,3	-0,3	0,2	<b>0,5</b>
	EC			<b>0,6</b>	0,2	<b>0,6</b>	0,0	-0,2	0,3	-0,2	0,2	<b>0,6</b>
	IE				0,2	<b>0,9</b>	-0,2	0,1	<b>0,7</b>	-0,2	-0,1	0,1
	kgt22					<b>0,6</b>	<b>0,9</b>	-0,1	0,2	-0,5	0,3	<b>0,6</b>
	aero						<b>0,8</b>	-0,1	<b>0,6</b>	-0,4	0,1	<b>0,5</b>
	CP							<b>0,6</b>	0,2	0,1	<b>-0,6</b>	<b>-0,5</b>
	T							<b>-0,8</b>	<b>-0,7</b>	<b>-0,6</b>	1,0	<b>0,8</b>
ECO	TC		<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>0,9</b>	0,2	0,2	<b>0,9</b>	-0,2	-0,2	-0,2
	EC			<b>1,0</b>	<b>0,9</b>	<b>0,9</b>	0,2	0,2	<b>0,8</b>	-0,1	-0,2	-0,2
	IE				<b>0,8</b>	<b>0,9</b>	<b>0,9</b>	0,2	<b>0,7</b>	-0,2	-0,1	-0,2
	kgt22					<b>0,7</b>	-0,2	0,3	<b>1,0</b>	0,0	-0,2	-0,2
	aero						<b>0,9</b>	0,3	<b>0,7</b>	0,1	-0,3	-0,2
	CP							<b>0,6</b>	0,2	<b>0,9</b>	-0,4	<b>-0,7</b>
	T							<b>-0,8</b>	<b>-0,7</b>	<b>-0,6</b>	1,0	<b>0,7</b>
GD	TC		<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	0,4	0,2	<b>0,9</b>	-0,1	-0,2	0,3
	EC			<b>1,0</b>	<b>0,9</b>	<b>0,9</b>	0,0	0,3	<b>0,7</b>	-0,2	-0,4	0,2
	IE				<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	0,4	0,2	<b>0,8</b>	-0,1	-0,3	0,3
	kgt22					<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	0,1	<b>0,7</b>	-0,2	-0,1	0,4
	aero						<b>0,8</b>	0,3	<b>0,8</b>	0,3	-0,3	0,2
	CP							<b>0,8</b>	0,4	<b>1,0</b>	<b>-0,5</b>	-0,1
	T							<b>-0,8</b>	<b>-0,7</b>	<b>-0,6</b>	1,0	<b>0,7</b>

WVE: Waterschap Vallei en Eem; ECO: Eekantoor; GD: Het Groene Dak.

TC: bacteriën van de coligroep; EC: Escherichia coli; IE: intestinale enterococci; kgt22: koloniegetal bij 22 °C; aero: Aeromonas; CP: Clostridium perfringens; neersl: som van de hoeveelheid neerslag op bemonsteringsdag en drie voorafgaande dagen; intens: gemiddelde neerslagintensiteit over bemonsteringsdag en drie voorafgaande dagen; wind: gemiddelde windsnelheid over bemonsteringsdag en drie voorafgaande dagen; T: gemiddelde temperatuur over bemonsteringsdag en drie voorafgaande dagen; Tres: temperatuur in reservoir.

## 4. Discussie

Onderzoek naar de microbiologische kwaliteit van opgevangen regenwater dat bewaard werd in reservoirs toonde aan dat dit water vrijwel altijd fecaal verontreinigd was en soms ziekteverwekkende micro-organismen zoals *Campylobacter*, *Legionella*, *Cryptosporidium* of *Giardia* bevatte. Het is bovendien mogelijk dat andere pathogene micro-organismen aanwezig waren dan die waar in deze studie onderzoek naar is gedaan. De mate van microbiologische verontreiniging van het water werd beïnvloed door de hoeveelheid neerslag en de neerslagintensiteit.

### 4.1 Waterkwaliteit in regenwaterreservoirs

De parameters voor fecale verontreiniging, bacteriën van de coligroep, *E. coli* en intestinale enterococci werden in 96 % van de monsters aangetroffen. Deze resultaten bevestigen de bevindingen uit een inventariserend onderzoek dat in 2005 werd uitgevoerd (Schets et al., 2005). Door de aanwezigheid van de indicatoren voor fecale verontreiniging en het overschrijden van de norm voor het totale aantal bij 22 °C kweekbare kiemen in drinkwater voldeed het opgevangen en bewaarde regenwater niet aan de wettelijke kwaliteitseisen gesteld aan drinkwater (Anonymous, 2001). Bij aanwezigheid van indicatoren voor fecale verontreiniging in het water bestaat er een hogere kans op de aanwezigheid van (zoönotische) pathogene micro-organismen. Tijdens de onderzoeksperiode werd tevens op geen van de locaties voldaan aan de door de USEPA (United States Environmental Protection Agency) (Anonymous, 2004) opgestelde richtlijnen voor hergebruik van behandeld afvalwater voor bijvoorbeeld toiletspoeling. In deze richtlijnen is opgenomen dat het aantal fecale coliformen in geen enkel monster uit een systeem hoger dan 14 per 100 ml mag zijn. Voor *E. coli* voldoet geen van de onderzochte regenwatersystemen aan deze eis, terwijl dat in 2005 voor twee van deze drie locaties wel zo was (Schets et al., 2005).

### 4.2 Weersinvloed op waterkwaliteit in regenwaterreservoirs

Het onderzoek in 2006 werd gedurende een periode van drie maanden uitgevoerd. In deze periode traden zeer wisselende weersomstandigheden op die duidelijk invloed hadden op de aantallen gedetecteerde micro-organismen. Monsters die genomen werden in perioden met weinig tot geen neerslag bevatten lage aantallen fecale indicatororganismen. Daarentegen bevatten monsters die genomen werden op dagen die, na een periode van droogte, vooraf werden gegaan door dagen met veel neerslag en een hoge neerslagintensiteit, hoge tot zeer hoge aantallen fecale indicatoren.

Hoewel er voor de fecale indicatoren geen correlatie met de hoeveelheid neerslag op de dag van bemonsteren en de daaraan voorafgaande drie dagen bestond, was de correlatie met de

neerslagintensiteit op deze dagen voor deze en de meeste andere parameters, waaronder *Aeromonas*, op de locaties Ekokantoor en Het Groene Dak gemiddeld tot sterk positief. Bij Waterschap Vallei en Eem was dit beeld veel minder duidelijk. Mogelijk spelen hierbij het materiaal en de helling van het dak een rol. Het gebouw van Het Groene Dak heeft een relatief glad dak met dakpannen dat vrij steil loopt, terwijl het dak van het gebouw van Waterschap Vallei en Eem begroeid is met vegetatie en een flauwere helling heeft. Het dak van Ekokantoor zit hier zowel voor wat materiaal (rubber met grind) als de helling betreft tussenin. Afstroming van regenwater en afspoeling van op het dak aanwezige verontreinigingen, zoals vogelfeces, zal gemakkelijker gebeuren van een glad dak dan van een dak met een laag vegetatie. Deze laag zal in eerste instantie het regenwater opnemen en uitspoeling van verontreinigingen zal met vertraging plaatsvinden. Dit kan verklaren waarom bij Waterschap Vallei en Eem de gevonden aantallen op bemonsteringsdagen in droge perioden hoger zijn dan op andere locaties en veelal vergelijkbaar met de aantallen die direct na regenval werden gemeten. De daling in gemeten aantallen, van dagen direct na regenval naar dagen in droge perioden, is op deze locatie veel minder scherp dan op de andere locaties. Evans et al. (2006) onderzochten de invloed van het weer op de microbiologische samenstelling van regenwater afgespoeld van daken. Zij richtten zich daarbij vooral op de wind en vonden een grote invloed van de wind (zowel snelheid als richting) op met name het koloniegetal. In de door ons gerapporteerde studie werd geen sterke correlatie tussen de windsnelheid en het koloniegetal bij 22 °C gevonden, wel werd op de locaties Ekokantoor en Het Groene Dak een sterke correlatie gevonden tussen de windsnelheid en de concentratie *C. perfringens*. De sterke correlatie van *C. perfringens* met de windsnelheid kan op een verhoogd transport en toegenomen dispositie van (sporen) van *C. perfringens* bij hogere windsnelheid duiden. Uit analyse van KNMI-gegevens is duidelijk gebleken dat de wind bij regen uit een andere richting komt dan op droge dagen. Met de wind kunnen verontreinigingen aangevoerd worden die op de daken afgezet kunnen worden en met regenwater afgespoeld kunnen worden. Afhankelijk van locatiespecifieke karakteristieken zal deze dispositie een rol spelen bij de microbiologische of chemische verontreiniging van opgevangen regenwater.

Door de goede isolatie van de onderzochte regenwaterreservoirs heeft de buitentemperatuur slechts een geringe invloed op de temperatuur van het water in de reservoirs en daarmee op de microbiologische kwaliteit van het opgeslagen regenwater. In juli werd op alle locaties een stijging van het koloniegetal bij 22 °C waargenomen in een droge periode waarin de buitentemperatuur tot zomerse waarden steeg en de temperatuur in de reservoirs opliep. Mogelijk heeft dit ertoe geleid dat bacteriën zich in het water hebben kunnen vermeerderen. Alleen voor het reservoir van Waterschap Vallei en Eem werd een gemiddelde correlatie gevonden van de parameters bacteriën van de coligroep, *E. coli*, koloniegetal 22 °C en *Aeromonas* met de watertemperatuur in het reservoir. In dit reservoir werd de sterkste temperatuurstijging gemeten. *A. hydrophila* was de meest voorkomende *Aeromonas*-soort. Deze soort kan zowel gastro-enteritis (Havelaar et al., 1992) als huidinfecties (Vally et al., 2004; Hiransuthikul et al., 2005) veroorzaken en vanuit hygiënisch oogpunt is de aanwezigheid van deze pathogenen in opgevangen regenwater ongewenst.

## 4.3 Pathogenen in regenwaterreservoirs

### 4.3.1 *Campylobacter*

*Campylobacter* werd tijdens het onderzoek in 2006 viermaal gevonden op twee verschillende locaties, telkens op dagen die vooraf werden gegaan door dagen met veel neerslag. In 2005 werd *Campylobacter* in één van de vier onderzochte reservoirs gevonden (Schets et al., 2005). Ook in andere Europese studies werd *Campylobacter* niet vaak gevonden: Albrechtsen (2002) vond *Campylobacter* in twee van de zeven onderzochte regenwatersystemen in Denemarken, maar Holländer et al. (1996) daarentegen vonden geen *Campylobacter* in 162 reservoirs in Duitsland.

*Campylobacter* werd driemaal bij Het Groene Dak aangetroffen, één keer bij Ekokantoor en niet bij Waterschap Vallei en Eem. Dit beeld past bij het hierboven beschreven effect van materiaal en helling van het dak op het afspoelen van bijvoorbeeld vogelfeces waarin zich *Campylobacter* bevindt. Op het dak van het gebouw van Waterschap Vallei en Eem komen tussen de vegetatie veel vogels voor, waardoor besmetting van het water met *Campylobacter* te verwachten was. De mogelijk vertraagde uitspoeling van vogelfeces op dit dak heeft waarschijnlijk gevolgen voor de detectie van *Campylobacter*: bij langer verblijf op het dak wordt *Campylobacter* blootgesteld aan bijvoorbeeld zonlicht, droogte, wind en hitte, waarbij afsterving plaatsvindt. Het is echter ook mogelijk dat door de (twee)wekelijkse bemonstering de piek van vers in het reservoir gespoelde *Campylobacter* gemist werd.

Uit het inventariserend onderzoek in 2005 is gebleken dat de onderzochte reservoirs zich ondergronds bevinden en dat kleine zoogdieren geen directe toegang tot de reservoirs hebben (Schets et al., 2005). Afspoeling van vogelfeces is dan ook de meest waarschijnlijke bron van fecale verontreiniging. In Europa werd *C. jejuni* gevonden in feces van meeuwen soorten (*Larus* spp.) in Noord-Ierland (Moore et al., 2002) en in Zweden (Broman et al., 2002; Waldenström et al., 2002). Broman et al. (2004) vergeleken de isolaten uit de studie onder trekvogels in Zweden door Waldenström et al. (2002) onderling en met isolaten uit patiënten. Isolaten afkomstig van een vogelsoort of van groepen vogels die samen foerageerden vertoonden meer overeenkomsten dan isolaten uit andere groepen vogels. De subtypen die in de wilde vogels werden gevonden, kwamen niet overeen met de subtypen die bij patiënten werden gevonden. Overeenkomsten werden wel gevonden tussen isolaten uit vogels (spreeuw en merel) die in de buurt van de mens leven en humane isolaten. De kans op transmissie van *Campylobacter* van vogels naar de mens lijkt groter wanneer vogels in de woonomgeving van de mens leven. Alle geïsoleerde stammen zijn getypeerd als *C. jejuni* subspecies *jejuni*. Deze bacterie kan ziekte bij de mens veroorzaken en wordt gezien als een van de belangrijke veroorzakers van gastro-enteritis bij de mens (Allos et al., 2001). Bij mensen met een verminderde afweer worden ook gevallen van ernstigere ziektebeelden zoals bacteremie (bacteriën in de bloedbaan) veroorzaakt door *C. jejuni* subspecies *jejuni* gerapporteerd (Monselise et al., 2004).

### 4.3.2 *Legionella*

*Legionella* werd slechts in één reservoir aangetroffen. Echter, de detectie van *Legionella* in de monsters uit de reservoirs werd, evenals in het in 2005 uitgevoerde onderzoek, sterk gehinderd door de aanwezigheid van andere bacteriën, de zogenaamde stoorflora. Hierdoor kon in een aantal gevallen slechts een gering volume worden onderzocht of kon geen betrouwbaar resultaat worden afgegeven. De aanwezigheid van *Legionella* kan op basis van de verkregen resultaten niet worden uitgesloten. De in het Waterleidingbesluit voorgeschreven methode blijkt door de geringe selectiviteit vooral geschikt voor onderzoek van monsters drinkwater waarin weinig storende flora aanwezig is (Veenendaal en In 't Veld, 2005). Voor onderzoek van monsters waarin veel storende flora aanwezig is, zoals monsters uit regenwaterreservoirs, maar ook monsters uit koeltorens, is een selectieve methode gewenst die voor zowel *L. pneumophila* als *L. non-pneumophila* een goed rendement heeft en bovendien onderscheid kan maken tussen de verschillende *Legionella*-soorten die worden gedetecteerd (Lodder et al., in voorbereiding).

### 4.3.3 *Vibrio* en *Salmonella*

*Vibrio* en *Salmonella* werden zowel in 2005 als in 2006 in geen van de reservoirs aangetoond. Voor deze pathogenen werden, evenals voor *Campylobacter*, vogels als mogelijke besmettingsbron gezien. De aanwezigheid van *Vibrio*-soorten werd aangetoond in watervogels (onder andere meeuwen, ganzen, spreeuwen, aalscholvers) in de Verenigde Staten (Ogg et al., 1989; Buck et al., 1990). Ook Lee et al. (1982) en West et al. (1983) vonden *Vibrio*-soorten in feces van watervogels in Europa (Kent, Engeland); de onderzochte vogelsoorten werden niet nader gespecificeerd. Uba en Aghogho (2000) vonden *Vibrio* in regenwaterreservoirs in Nigeria, maar deze waren afkomstig uit de feces van hagedissen. *Salmonella* werd in een studie in Noorwegen aangetoond in de feces van onder andere meeuwen, duiven, kraaien en watervogels (Refsum et al., 2002). Deze vogels kunnen ook in een stedelijke omgeving voorkomen op daken van gebouwen. Holländer et al. (1996) vonden *Salmonella* in één van de 93 onderzochte regenwatersystemen in Duitsland, terwijl ook Simmons et al. (2001) slechts in één van de 115 onderzochte regenwaterreservoirs in Nieuw-Zeeland *Salmonella* vonden. De aanwezigheid van *Salmonella* werd bepaald in volumes variërend van 10 ml tot één liter, omdat dergelijke volumes van invloed kunnen zijn voor de volksgezondheid. Echter, om *Salmonella* in regenwaterreservoirs aan te tonen is het waarschijnlijk nodig om volumes groter dan één liter te onderzoeken.

*Vibrio* werd in verschillende studies aangetoond in de feces van meeuwen; omdat deze vogels in Nederland in de stedelijke omgeving worden waargenomen, werd deze parameter opgenomen in het onderzoek. Het is niet aannemelijk dat *Vibrio* niet aangetoond werd als gevolg van een te geringe gevoeligheid van de detectiemethode; de toegepaste methode kan enkele bacteriën in een liter water aantonen. Het is echter wel mogelijk dat de meeuwen die in Nederland in een stedelijke omgeving op daken voorkomen niet besmet zijn met *Vibrio* en dat andere mogelijk besmette vogelsoorten niet in een stedelijke omgeving op daken verblijven. Bovendien bestaat de mogelijkheid dat *Vibrio*-bacteriën in de reservoirs in een

levensvatbaar niet-kweekbaar stadium aanwezig zijn en door de toegepaste kweekmethode niet aangetoond kunnen worden (Oliver, 2005). Hierover zou door toepassing van moleculaire methoden, die het DNA van de bacteriën aantonen, uitsluitel verkregen kunnen worden.

#### **4.3.4 Enterovirussen**

Enterovirussen zijn in geen van de regenwaterreservoirs aangetroffen. De methoden die in deze studie zijn toegepast voor de detectie van enterovirussen zijn ontworpen voor de detectie van humane enterovirussen (Rutjes en De Roda Husman, 2004). De aanwezigheid van humane enterovirussen in regenwater dat via daken afspoelt en opgevangen wordt, is niet waarschijnlijk. Het water uit de reservoirs is echter onderzocht op deze parameter omdat deze in het Waterleidingbesluit is opgenomen.

#### **4.3.5 *Cryptosporidium* en *Giardia***

Zowel *Cryptosporidium* als *Giardia* werden slechts eenmaal gevonden; omdat het in beide gevallen slechts één (oö)cyste betrof was nadere bevestiging of typering niet mogelijk. *Cryptosporidium* en *Giardia* kunnen zowel van dierlijke als van humane herkomst zijn, maar in regenwaterreservoirs is dierlijke herkomst waarschijnlijker. Heitmann et al. (2002) onderzochten feces van ganzen in Canada op het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia*; beide protozoa werden niet aangetroffen in 77 ganzen. Een onderzoek onder ganzen in de Verenigde Staten (Maryland) toonde de aanwezigheid van *Cryptosporidium* en *Giardia* wel aan (Graczyk et al., 1998). Het is echter niet waarschijnlijk dat ganzen zich op daken van gebouwen in een stedelijke omgeving bevinden en zij zijn dan ook in deze studie geen waarschijnlijke bron voor *Cryptosporidium* en *Giardia*. Moore et al. (2002) onderzochten het voorkomen van deze parasieten in de feces van 205 meeuwen in Noord-Ierland, maar troffen ze niet aan. Eerder vonden Pavlasek (1993) en Smith et al. (1993) wel *Cryptosporidium* bij meeuwen in, respectievelijk, Tsjechië en Schotland. Kuhn et al. (2002) vonden *Giardia* in feces van wilde eenden (*Anas* spp), maar deze dieren zijn geen regelmatige bezoekers van daken van gebouwen. Een Nederlandse melding van een *Giardia*-infectie bij vogels betrof een jonge ooievaar die deel uitmaakte van een kolonie wilde ooievaars die in de buurt van Meppel verbleef (Franssen et al., 2000). Hoewel er in de internationale literatuur geen melding wordt gemaakt van onderzoek naar het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* bij meeuwen en andere vogels die in Nederland op daken van gebouwen in een stedelijke omgeving verblijven, bestaat de mogelijkheid dat zij in deze studie een bron van deze protozoa zijn geweest.



## 4.4 Gezondheidsrisico's

Regenwater wordt gezien als potentiële bron voor huishoudwater, waarvoor bij blootstelling, evenals voor drinkwater, het infectierisico binnen het in het Waterleidingbesluit opgenomen aanvaardbare risico van maximaal 1 infectie per 10.000 personen per jaar dient te blijven (Ministerie van VROM, 2003). Op dit moment is de enige toegestane toepassing van huishoudwater gebruik voor toiletspoeling (Ministerie van VROM, 2003).

Wanneer per persoon drie toiletbezoeken per dag en dus circa 1000 toiletbezoeken per jaar worden aangenomen, ligt bij een maximaal infectierisico van  $10^{-4}$  per persoon per jaar de infectiekans per toiletbezoek in de orde van grootte van  $10^{-7}$ . Op drie meetdagen werd in het reservoir van Het Groene Dak een concentratie *Campylobacter* van  $\geq 240$  per liter gemeten. Uitgaande van een hoge infectiviteit van *Campylobacter* kan een ingeslikt volume van 4  $\mu\text{l}$  van dit water per jaar leiden tot een infectierisico van  $10^{-4}$  per jaar. Blootstelling kan plaatsvinden door inslikken van druppels via aerosolen of door aanraken van besmette oppervlakken (Gerba et al., 1975; Barker et al., 2005), maar de mate van blootstelling via deze route is vooralsnog niet gekwantificeerd. Hoewel dit ruwe schattingen zijn, is het aannemelijk dat het inslikken van een volume van 4  $\mu\text{l}$  spoelwater per jaar bij toiletbezoek kan plaatsvinden, waarbij overschrijding van het gestelde infectierisico van  $10^{-4}$  denkbaar is. Het werkelijke infectierisico dient echter nog geschat te worden.



*Regenwater  
toegepast voor  
toiletspoeling*

## 5. Conclusies

- Regenwater opgevangen in de onderzochte reservoirs was fecaal verontreinigd en bevatte zoönotische pathogenen, zoals *Campylobacter jejuni*, die ziekte bij de mens kunnen veroorzaken.
- De microbiologische kwaliteit van het opgevangen regenwater werd beïnvloed door de weersomstandigheden; een hoge neerslagintensiteit na een periode van droogte veroorzaakte inspoeling van verontreinigingen en een stijging van het aantal bacteriën in het water in de reservoirs.
- Door afspoeling van vogelfeces kunnen hoge aantallen *Campylobacter* in de reservoirs terechtkomen, waardoor het aannemelijk is dat bij gebruik van het opgevangen regenwater voor toiletspoeling niet aan het in het Waterleidingbesluit gestelde infectierisico van 1 per 10.000 personen per jaar wordt voldaan.
- In de goed onderhouden en goed geïsoleerde onderzochte betonnen reservoirs was de invloed van de buitentemperatuur op de temperatuur van het water in de reservoirs en daarmee op de microbiologische kwaliteit gering.

## 6. Aanbevelingen voor vervolgonderzoek

- Onderzoek naar het effect van bewaren op de microbiologische kwaliteit van hemelwater, zowel in praktijksituaties als onder gecontroleerde laboratoriumcondities, waarbij wordt onderzocht in hoeverre micro-organismen in opgevangen hemelwater overleven, wat de rol van de gebruikte materialen voor reservoirs en leidingen daarbij is en in welke mate inactivatie door bijvoorbeeld hechting een rol speelt.
- Onderzoek naar mogelijke behandelingen van hemelwater die gedurende opslag voor een goede microbiologische kwaliteit zorgen.
- Epidemiologisch onderzoek in situaties waar opgevangen hemelwater in de praktijk wordt toegepast voor toiletspoeling en voor besproeien van gewassen voor humane consumptie, waarbij eveneens zowel de aanwezigheid van (zoönotische) pathogene micro-organismen in toiletspoelwater en de gevormde aerosolen als op de gewassen wordt vastgesteld.
- Combinatie van alle gegenereerde gegevens ten behoeve van een risicoschatting zoals aangegeven in het beleidsstandpunt inzet huishoudwater BWL/2003057326 (Ministerie van VROM, 2003).

## **Dankwoord**

De auteurs danken de betrokken medewerkers van E-Connection in Bunnik (Ecokantoor) en Waterschap Vallei en Eem in Leusden en de bewoners van Het Groene Dak in Utrecht voor hun medewerking aan dit onderzoek. Dhr. R. Bryson van Vitens wordt dank gezegd voor het transport van de monsters voor *Legionella*-analyse naar Leeuwarden. Arieke Docters van Leeuwen en Willemijn Lodder (RIVM-LZO) worden bedankt voor hun hulp bij de analyses.

## Literatuur

- Abo-Shehada MN, Hindyia M, Saiah A. 2004. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* in private drinking water cisterns in Bani-Kenanah district, northern Jordan. *Int J Environm Health Res*, 14 (5), 351-358.
- Albrechtsen HJ. 2002. Microbiological investigations of rainwater and graywater collected for toilet flushing. *Wat Sci Tech*, 46 (6-7), 311-316.
- Allos BM. 2001. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis*, 32, 1201-1206.
- Anonymous. 2001. Besluit van 2 januari 2001 tot wijziging van het Waterleidingbesluit in verband met de richtlijn betreffende de kwaliteit van voor menselijke consumptie bestemd water. *Staatsblad*, 31.
- Anonymous. 2004. Guidelines for Water Reuse (EPA/625/R-04/108). Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.
- Barker J, Jones MV. 2005. The potential spread of infection caused by aerosol contamination of surfaces after flushing a domestic toilet. *J Appl Microbiol*, 99, 339-347.
- Broman T, Palmgren H, Bergström S, Sellin M, Waldenström J, Danielsson-Tham M-L, Olsen B. 2002. *Campylobacter jejuni* in black-headed gulls (*Larus ridibundus*): prevalence, genotypes, and influence on *C. jejuni* epidemiology. *J Clin Microbiol*, 40 (12), 4594-4602.
- Broman T, Waldenström J, Dahlgren D, Carlsson I, Eliasson I, Olsen B. 2004. Diversities and similarities in PFGE profiles of *Campylobacter jejuni* isolated from migrating birds and humans. *J Appl Microbiol*, 97, 834-843.
- Buck JD. 1990. Isolation of *Candida albicans* and halophilic *Vibrio* spp. from aquatic birds in Connecticut and Florida. *Appl Environm Microbiol*, 56 (3), 826-828.
- Evans CA, Coombes PJ, Dunstan RH. 2006. Wind, rain and bacteria: the effect of weather on the microbial composition of roof-harvested rainwater. *Water Res*, 40, 37-44.
- Fernandes TMA, Schout C, De Roda Husman AM, Eilander A, Vennema H, Van Duynhoven YTHP. 2006. Gastroenteritis associated with accidental contamination of drinking water with partially treated water. *Epidemiol Infect*, doi: 10.1017/S0950268806007497.

- Franssen FFJ, Hooijmeijer J, Blankenstein B, Houwers DJ. 2000. Giardiasis in a white stork in the Netherlands. *J Wildl Dis*, 36 (4), 764-766.
- Gerba CP, Wallis C, Melnick JL. 1975. Microbiological hazards of household toilets: droplet production and the fate of residual organisms. *Appl Microbiol*, 30 (2), 229-237.
- Graczyk TK, Fayer R, Trout JM, Lewis EJ, Farley CA, Sulaiman I, Lal AA. 1998. *Giardia* sp. cysts and infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in the feces of migratory Canada Geese (*Branta canadensis*). *Appl Environm Microbiol*, 64 (7), 2736-2738.
- Havelaar AH, Schets FM, Van Silfhout A, Jansen WH, Wieten G, Van der Kooij D. 1992. Typing of *Aeromonas* strains from patients with diarrhoea and from drinking water. *J Appl Bact*, 72, 435-444.
- Heitman TL, Frederick LM, Viste JR, Guselle NJ, Morgan UM, Thompson RCA, Olson ME. 2002. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* and characterization of *Cryptosporidium* spp. isolated from wildlife, human, and agricultural sources in the North Saskatchewan river basins in Alberta, Canada. *Can J Microbiol*, 48, 530-541.
- Hiransuthikul N, Tantisiriwat W, Lertutsahakul K, Vibhagool A, Boonma P. 2005. Skin and soft-tissue infections among tsunami survivors in southern Thailand. *Clin Infect Dis*, 41, e93-96.
- Holländer R, Bullermann M, Groß C, Hartung H, König K, Lücke F-K, Nolde E. 1996. Mikrobiologisch-hygienische Aspekte bei der Nutzung von Regenwasser als Betriebswasser für Toilettenspülung, Gartenbewässerung und Wäschewaschen. *Gesundheitswesen*, 58, 288-293.
- Kuhn RC, Rock CM, Oshima KH. 2002. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild ducks along the Rio Grande river valley in Southern New Mexico. *Appl Environm Microbiol*, 68 (1), 161-165.
- Lee JV, Bashford DJ, Donovan TJ, Furniss AL, West PA. 1982. The incidence of *Vibrio cholerae* in water, animals and birds in Kent, England. *J Appl Bacteriol*, 52, 281-291.
- Lodder WJ, Schets FM, Rutjes SA, De Roda Husman AM. Ontwikkeling *Legionella*-detectiemethode. RIVM rapport in voorbereiding.
- Ministerie van VROM. 2003. Beleidsstandpunt inzet huishoudwater (BWL/2003057326). Ministerie van VROM, Den Haag.

- Monselise A, Blickstein D, Ostfeld I, Segal R, Weinberger M. 2004. A case of cellulitis complicating *Campylobacter jejuni* subspecies *jejuni* bacteremia and review of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 23, 718-721.
- Moore JE, Gilpin D, Crothers E, Canney A, Kaneko A, Matsuda M. 2002. Occurrence of *Campylobacter* spp. and *Cryptosporidium* spp. in Seagulls (*Larus* spp.). *Vector borne and zoonotic diseases*, 2(2), 111-114.
- Ogg JE, Ryder RA, Smith Jr. HL. 1989. Isolation of *Vibrio cholerae* from aquatic birds in Colorado and Utah. *Appl Environ Microbiol*, 55, 95-99.
- Oliver JD. 2005. The viable but nonculturable state in bacteria. *J Microbiol*, 43 (S), 93-100.
- Pavlassek I. 1993. The black-headed gull (*Larus ridibundus* L), as new host for *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae). *Vet Med (Praha)*, 38 (10), 629-638 (alleen *abstract*, artikel in Tsjechisch).
- Refsum T, Handeland K, Baggesen DL, Holstad G, Kapperud, G. 2002. *Salmonellae* in avian wildlife in Norway from 1969 to 2000. *Appl Environ Microbiol*, 68 (11), 5595-5599.
- Rutjes SA, De Roda Husman AM. 2004. Procedure voor virusdetectie in water ten behoeve van het Nederlands. Waterleidingbesluit 2001. RIVM rapport 330000007, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven.
- Schets FM, Van den Berg HHJL, Lodder WL, Docters van Leeuwen AE, In 't Veld S, De Roda Husman AM. 2005. De microbiologische kwaliteit van hemelwater toegepast voor toiletspoeling, schoonmaken en tuinsproeien – Inventariserend onderzoek 2005. RIVM rapport 703719009, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven.
- Simmons G, Hope V, Lewis G, Whitmore J, Gao W. 2001. Contamination of potable roof-collected rainwater in Auckland, New Zealand. *Water Res*, 35 (6), 1518-1524.
- Smith HV, Brown J, Coulson JC, Morris GP, Girdwood RW. 1993. Occurrence of oocysts of *Cryptosporidium* sp. in *Larus* spp. gulls. *Epidemiol Infect*, 110 (1), 135-143.
- Thomas PR, Greene GR. 1993. Rainwater quality from different roof catchments. *Wat Sci Tech*, 28 (3-5), 291-299.
- Uba BN, Aghogho O. 2000. Rainwater quality from different roof catchments in the Port Harbour district, Rivers State, Nigeria. *J Water Suppl Res Tech*, 49.5, 281-288.

- Vally H, Whittle A, Cameron S, Dowse GK, Watson T. 2004. Outbreak of *Aeromonas hydrophila* wound infections associated with mud football. Clin Infect Dis, 38, 1084-1089.
- Veenendaal H, In 't Veld S. 2005. Vergelijking isolatiemedia voor *Legionella*. H<sub>2</sub>O, 13, 33-35.
- Waldenström J, Broman T, Carlsson I, Hasselquist D, Achterberg RP, Wagenaar JA, Olsen B. 2002. Prevalence of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter coli* in different ecological guilds and taxa of migrating birds. Appl Environm Microbiol, 68 (12), 5911-5917.
- West PA, Lee JV, Bryant TN. 1983. A numerical taxonomic study of species of *Vibrio* isolated from the aquatic environment and birds in Kent, England. J Appl Bacteriol, 55, 263-282.