Commissie
Integraal
Waterbeheer

Veilig zwemmen: Cyanobacteriën in zwemwater

Aangepast protocol 2002

september 2002

Inhoudsopgave

1 Inleiding *3*

2 Wat zijn cyanobacteriën? *4*

3 Wijzigingen in het protocol *5*

4 Beslisboom *6*

5 Referenties *9*

Bijlagen

1 Extractiemethoden 11

2 Analysemethoden 12

1 Inleiding

Dit protocol is opgesteld door de Cyanobacteriën-werkgroep, waarin o.a. IPO, NIOO, RIVM, RIZA, STOWA, UvA en enkele waterschappen zijn vertegenwoordigd. Het betreft hier een verbeterde versie van het protocol dat in 2000 is verschenen en dat is opgenomen in de door de CIW uitgebrachte Leidraad monitoring (maart 2001). Het doel van het gewijzigde protocol is om in Nederland op uniforme wijze om te gaan met mogelijke problemen met cyanobacteriën en hun toxines.

De Commissie Integraal Waterbeheer heeft het aangepaste protocol in haar vergadering van 26 september 2002 vastgesteld. De commissie beveelt aan om het protocol met de beslisboom (zie paragraaf 4) te volgen. Daarbij kunnen beide analysemethoden (bijlage 2) worden gebruikt. De keuze van de analysemethode is aan de waterbeheerder. Het gewijzigde protocol zal te zijner tijd worden opgenomen in de 'Leidraad monitoring' ter vervanging van het oude protocol.

Met behulp van de beslisboom kan het bevoegd gezag op tijd beslissingen nemen (al dan niet overgaan tot een waarschuwing of een zwemverbod) om mogelijke risico's voor de volksgezondheid te voorkomen.

2 Wat zijn cyanobacteriën?

Cyanobacteriën groeien optimaal bij een temperatuur tussen de 20 en 30 °C. Zij komen dan ook juist tot bloei in warme zomers, wanneer er een verhoogde recreatiedruk is. Bloei van cyanobacteriën kan echter het hele jaar optreden. Hierdoor is het moeilijk aan te geven in welke periode men zou moeten meten.

Sommige cyanobacteriën zijn in staat om cyanotoxines te produceren, welke verscheidene gezondheidsklachten kunnen veroorzaken. Veel cyanobacteriën die toxines kunnen produceren zijn tevens drijflaag-vormers. Daardoor kunnen de celgebonden cyanotoxines in hoge mate geconcentreerd worden in drijflagen.

De cyanotoxines kunnen als volgt worden ingedeeld:

- *Hepatotoxines: remmen eiwitfosfatase. Lage dosering kan leiden tot jeuk en/of huiduitslag en/of maagdarmklachten (misselijk, buikpijn, diarree), griepachtige verschijnselen, hoofdpijn, geïrriteerde ogen, oorpijn en blaren rond de mond. Hogere doseringen en/of chronische blootstelling kunnen leiden tot het ontwikkelen van tumoren en/of beschadiging van de lever, met mogelijk de dood tot gevolg. Belangrijkste toxines in deze groep zijn de microcystines, welke lang intact kunnen blijven in oppervlaktewater.*
- *Neurotoxines: grijpen aan op de overdracht van zenuwpulsen op de spiervezels. Symptomen zijn: afnemende activiteit, duizeligheid, ademhalingsproblemen en krampen. Bij hoge doseringen kan het leiden tot verlammingsverschijnselen en vervolgens zuurstofgebrek, met als mogelijk gevolg de dood. Belangrijkste toxine in deze groep is anatoxine.*

De belangrijkste potentieel toxische cyanobacteriën die in Nederland voorkomen zijn:

- *Anabaena flos-aquae, A. spiroides, A. circinales, A.lemmermanni;*
- *Microcystis spp, inclusief M. aeruginosa, M. flos-aquae;*
- *Nostoc sp.;*
- *Aphanizomenon flos-aquae;*
- *Planktothrix agardhii (voorheen Oscillatoria agardhii);*
- *Gloeotrichia echinulata.*

Het blijkt dat in Nederland voornamelijk microcystines (MC's) in oppervlaktewater worden gevonden (STOWA, 2000).

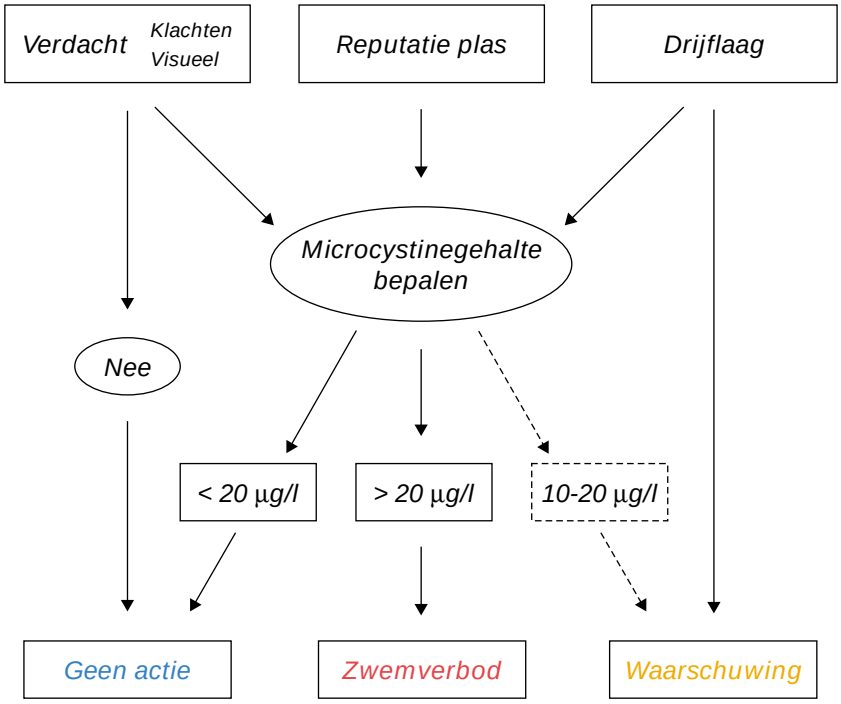
3 Wijzigingen in het protocol

In vergelijking met het vorige protocol (CIW, 2001) zijn de volgende wijzigingen aangebracht:

- *De beslisboom is vereenvoudigd door slechts de waarde van 20 µg MC/l als 'harde' eis te adviseren. Het protocol is hierdoor gemakkelijker te handhaven en doordat de tussenwaarde (10 µg MC/l) is verdwenen is waarschijnlijk de hoeveelheid werk voor de waterbeheerder afgenomen.*
- *Voor de bepaling van microcystines zijn twee geschikte methoden beschreven die door de waterbeheerder gebruikt kunnen worden.*

4 Beslisboom

De aangepaste beslisboom is hieronder weergegeven. In de bijbehorende uitleg wordt achtergrondinformatie gegeven en worden enkele stappen uit de beslisboom nader toegelicht.



Uitleg bij de beslisboom

Drijflaag

Een drijflaag ontstaat door een concentratie van cyanobacteriën. Drijflagen worden vaak gevormd door potentieel toxische cyanobacteriën. In een drijflaag is een verhoogde concentratie cellen aanwezig en dus mogelijk ook een hoge concentratie toxines, omdat de toxines voornamelijk in de cellen zitten. Indien zo'n drijflaag aanwezig is, is er dus een mogelijk gezondheidsrisico voor de recreanten. Bij aanwezigheid van een drijflaag is het zaak om de zwemplaats te bemonsteren op cyanobacteriën en microcystines en een waarschuwing uit te laten gaan (door de provincie).
Deze waarschuwing wordt pas ingetrokken als de drijflaag verdwenen is en er < 20 µg MC/l wordt gevonden op de zwemplaats.

Reputatie locatie

Er zijn diverse redenen om microcystine-bepalingen in het reguliere meetprogramma op te nemen. Aanbevolen wordt deze bepalingen op te nemen, indien:

- *Er in het verleden problemen met cyanobacteriën in de plas zijn geweest.*
- *Er in het verleden gezondheidsklachten als gevolg van cyanobacteriën zijn opgetreden.*

Als hierover twijfel bestaat, wordt aangeraden een aantal malen microcystines te meten in de zwemplaats, met name op het moment dat er indicaties zijn voor het voorkomen van cyanobacteriën.

Verdacht

Er zijn verschillende redenen, waarom een zwemplaats verdacht kan zijn, en wel:

- *Er zijn gezondheidsklachten opgetreden bij recreanten van de zwemplaats, waarbij een mogelijke relatie bestaat met cyanobacteriën (dit hoeft geen drijflaag te zijn). Deze kunnen gemeld zijn via GGD-en en/of provincies. Natuurlijk moet er dan meteen een meetprogramma worden opgesteld.*
- *Er zijn visuele aanwijzingen (veelal melding door een recreant (klacht) of door een strandbeheerder). Visuele inspectie van de zwemplaats tijdens de reguliere bemonstering voor de WHVZ/WVO is nuttig om te bekijken of er een mogelijk cyanobacteriënprobleem is. De aanwezigheid van een drijflaag (zie boven), 'groene soep' (of een sterk groene kleuring) of 'blauw schuim' kan een indicatie voor de aanwezigheid van potentieel toxische cyanobacteriën zijn. Indien met het blote oog waarneembare algenkolonies/algenbolletjes te zien zijn is dit een hele duidelijke aanwijzing: vaak zijn dit potentieel toxische cyanobacteriën.*

Andere mogelijke aanwijzingen zijn:

- *Stank en de aanwezigheid van dode vissen en/of vogels (indien dit niet door botulisme wordt veroorzaakt).*
- *Indien men routinematig al chlorofyl-bepalingen uitvoert en de waarden hiervan boven de 25 µg/l (≈ > 10 µg MC/l; WHO, 1999) uitkomen, wordt ook aanbevolen om microcystines te meten, tenzij bekend is dat het geen cyanobacteriën betreft maar uitsluitend groenwieren of andere algen.*

Microcystinegehalte

De cyanotoxines kunnen de oorzaak zijn van het optreden van gezondheidsklachten. Daarom wordt in deze beslisboom voorgesteld om deze specifiek te bepalen, omdat dan alleen duidelijk wordt of er inderdaad een gezondheidsrisico door cyanotoxines op de zwemplaats is. Er zijn verschillende methoden beschikbaar (zie bijlage 2):

- *Analyse van microcystines m.b.v. HPLC. Een gevoelige methode, waarbij alle microcystines individueel geanalyseerd worden.*
- *Analyse van microcystines m.b.v. een ELISA-immunokit. Met deze relatief snelle methode worden niet alle microcystines individueel bepaald. Het geeft dus een indicatie.*

Uit een vergelijkend onderzoek uitgevoerd door het RIZA blijkt dat analyse van MICROCYSTINE m.b.v. de ELISA-immunokit of m.b.v. de HPLC-methode een vergelijkbaar beeld geeft. De ELISA-immunokit kan goed gebruikt worden voor een snelle screening van een zwemplaats. Echter, deze methode kan niet discrimineren tussen verschillende soorten microcystines en geeft dus een 'overall'-gehalte aan microcystine. De HPLC-methode geeft daarentegen een betrouwbaar beeld én inzicht in de soort en hoeveelheid microcystines die aanwezig zijn in de zwemplaats.

Waarschuwing of zwemverbod

Op basis van de microcystinebepaling en eventueel gezondheids-klachtenonderzoek besluit de provincie in overleg met de water-kwaliteitsbeheerder tot een waarschuwing of een zwemverbod. Naast zwemmers kunnen ook surfers, duikers en waterskiërs intensief in contact komen cyanobacteriën. Minder ervaren surfers en duikers kunnen relatief veel water binnen krijgen en waterskiërs kunnen mogelijk via aërosolen blootgesteld worden aan potentieel toxische cyanobacteriën (WHO, 1999).

Suggesties voor waarschuwingsteksten:

- *Aanraden zich niet in de drijflaag te begeven en zich na het zwemmen goed af te spoelen.*
- *Aanraden zich niet in het water te begeven in verband met verhoogde gezondheidsrisico's als gevolg van cyanobacteriën.*
- *Aanraden om niet te surfen, duiken en/of waterskiën in verband met verhoogde gezondheidsrisico's als gevolg van cyanobacteriën.*

Het microcystinegehalte (20 µg MC/l) in de beslisboom is gebaseerd op de aanbevelingen van de WHO uit 1999 en het advies van de Gezondheidsraad in 2001.

Aanbevolen wordt nu (op basis van metingen van microcystines):

- *< 20 µg MC/l: geen actie;*
- *> 20 µg MC/l: zwemverbod (eventueel dwingende waarschuwing) en meting herhalen. Indien weer een hoge waarde gevonden wordt is er zeker een verhoogde kans op vele gezondheidsklachten.*

Een zwemverbod wordt opgeheven als de microcystine-gehaltes weer tot een aanvaardbaar niveau zijn gedaald (< 20 µg/l).

De Cyanotox-werkgroep is van mening, dat indien gehaltes tussen de 10 en 20 µg MC/l gemeten worden (en er geen drijflaag aanwezig is) er al actie ondernomen zou kunnen worden. Men zou dan bijvoorbeeld kunnen waarschuwen of frequenter kunnen bemonsteren.
In geval van een drijflaag wordt geadviseerd de waarschuwing van kracht te laten zijn tot deze verdwenen is, omdat in drijflagen allerlei rottingsprocessen kunnen optreden. Bij herhaaldelijke problemen wordt aanbevolen permanent een waarschuwingsbord te plaatsen.

5 Referenties

STOWA (2000) Toxische blauwalgen in recreatiewateren. STOWA rapportnummer 2002-20.

WHO (1999) Toxic cyanobacteria in water. Eds. Ingrid Chorus and Jamie Bartram. E& FN Spon, London, NY. ISBN 0-419-23930-8.

Gezondheidsraad (2001) Microbiële risico's van zwemmen in de natuur. Publicatienumer 2001/25. ISBN 90-5549-401-1.

RIZA (2001) Microcystines in cyanobacteriën. Onderzoek naar de toepasbaarheid van HPLC-DAD en ELISA. Stageverslag C. Mels, Werkdocument 2001.212X.

CIW (2001) Leidraad monitoring. Definitief rapport.

Bijlagen

Bijlage 1 Extractiemethoden

Extractiemethoden voor microcystines uit cyanobacteriën
Gebaseerd op artikel: Metcalf J.S. & Codd G.A. (2000)

Methoden

1) *cellenmateriaal (pellet of filter) droogvriezen, oplossen in 70-75% methanol drie maal achter elkaar, centrifugatie of filtratie, MC in supernatant of filtraat;*
2) *resuspensie van cellen in bidest gevolgd door 1 min. ultrasonificatie (MSE Soniprep 150, 5mm diameter probe, full power), centrifugatie of filtratie, MC in sup of filtraat;*
3) *resuspensie in bidest gevolgd door behandeling in magnetron (650 W, full power) min. 9 minuten, centrifugatie of filtratie, MC in sup of filtraat;*
4) *resuspensie in bidest, min 1 min. koken in waterbad, centrifugatie of filtratie, MC in sup of filtraat.*

Methoden voor verschillende MC's geven allen vergelijkbare opbrengst (methode 2 gaf iets lagere opbrengst).

Opmerkingen

- *2, 3 en 4 zijn zeer geschikt voor ELISA omdat een teveel aan methanol de bepaling stoort (Metcalf et al. 2000).*
- *MC in waterige oplossingen (zoals het geval bij 2, 3 en 4) blijven aan plastic plakken, dus veelvuldig gebruik van plastic puntjes en epjes leidt tot onderschatting van de concentratie (Hyenstrand et al. 2001).*

Referenties

Hyenstrand, P., J. S. Metcalf, et al. (2001). "Losses of the cyanobacterial toxin microcystin-LR from aqueous solution by adsorption during laboratory manipulations." Toxicon 39(4): 589-594.

Metcalf, J. S. and G. A. Codd (2000). "Microwave oven and boiling waterbath extraction of hepatotoxins from cyanobacterial cells." Fems Microbiology Letters 184(2): 241-246.

Metcalf, J. S., P. Hyenstrand, et al. (2000). "Effects of physicochemical variables and cyanobacterial extracts on the immunoassay of microcystin-LR by two ELISA kits." Journal of Applied Microbiology 89(3): 532-538.

Bijlage 2 Analysemethoden

. . . . . .

Analysemethoden

HPLC-analyse
Benodigdheden:
- *Microcystine standaarden*
- *Diverse chemicaliën*
- *HPLC met Diode Array Detector*

Bijzonderheden: Alle MC's kunnen gedetecteerd worden. Geen inzicht in toxiciteit. Het vergt enige ervaring om in een veldmonsters de MC's van andere peptiden te kunnen onderscheiden. Soms erg moeilijk zodat een Massaspectrometrie analyse nog nodig is om zeker te zijn welk microcystine het is.

ELISA-immunokit
Benodigdheden:
- *Microcystine-standaarden*
- *Antilichamen (commercieel verkrijgbaar)*
- *Diverse chemicaliën*
- *Plate reader*

Bijzonderheden: Voorbehandelde platen zijn commercieel verkrijgbaar. Niet alle microcystines worden gedetecteerd. Niet alle microcystines zijn getest.
De methode is relatief simpel uit te voeren en geeft snel resultaten.

Veilig zwemmen: Cyanobacteriën in zwemwater

Aangepast protocol 2002

Werkgroep 4: Water en milieu

CIW-rapporten kunnen worden besteld bij drukkerij Cabri BV, fax (0320) 28 53 11 of e-mail: ciw@cabri.nl, of worden gedownload vanaf de CIW-website (www.ciw.nl).