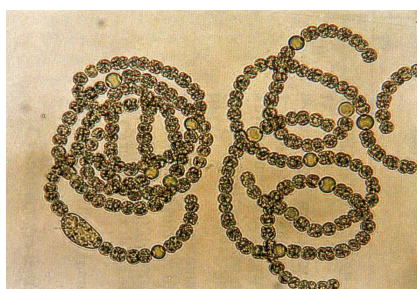
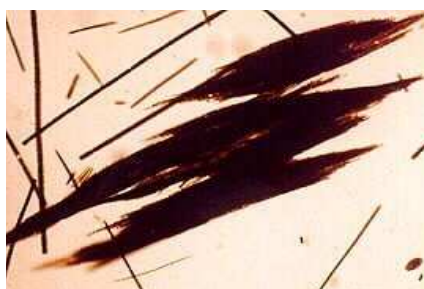
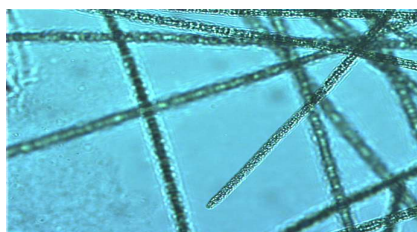
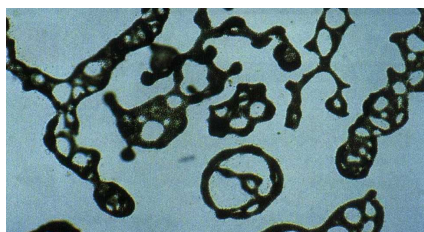
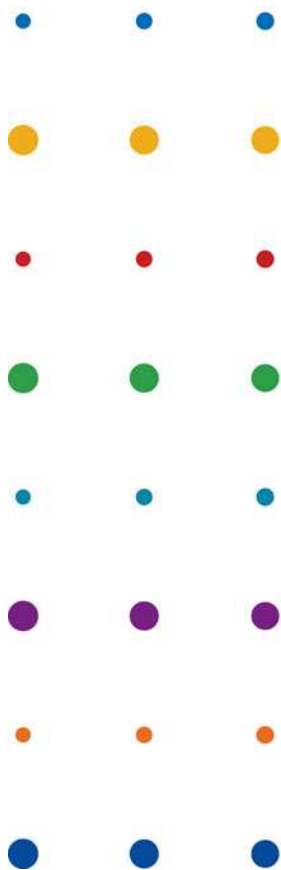


Blauwalgen in het zwemwaterprofiel

Handreiking om het risico op proliferatie
van toxische blauwalgen te beoordelen



Blauwalgen in het zwemwaterprofiel

Handreiking om het risico op proliferatie
van toxische blauwalgen te beoordelen

dossier : A2907-01-006
registratienummer : MD-WR20070080
versie : definitief

RWS Waterdienst

september 2008

INHOUD**BLAD**

1	INLEIDING	3
2	BEOORDELING KANS PROLIFERATIE BLAUWALGEN: WERKWIJZE	5
2.1	Gebiedsbeschrijving en hydromorfologie	6
2.2	Inventarisatie blauwalgegegevens	6
2.3	Is de informatie in de historische record voldoende?	8
2.4	Blauwalgegegevens niet voldoende: analyse toestandsvariabelen	9
2.5	Toestandsvariabelen: onvoldoende en/of alarmerend	9
2.6	Blauwalgenanalyse	10
2.7	Beoordeling: kans op proliferatie van toxische blauwalgen	11
2.8	Nadere beschrijving	11
2.9	Mogelijke routes door stappenplan	14
3	ACTIVITEITEN NA HET ZWEMWATERPROFIEL	17
3.1	Waartoe leidt de beoordeling?	17
3.2	Maatregelen	17
3.3	Frequentie van evaluatie van het zwemwaterprofiel en actualisering	17
	REFERENTIES	19

BIJLAGEN

1	INSPECTIE- EN BEMONSTERINGSPROTOCOL
2	VELDFORMULIER BEMONSTEREN VAN BLAUWALGEN
3	WERKVOORSCHRIFT BLAUWALGENANALYSE

1 INLEIDING

Begin 2006 is er een nieuwe Europese zwemwaterrichtlijn* in werking getreden, die in de Nederlandse wetgeving bijna één op één is overgenomen. Het doel van de nieuwe richtlijn is een hoger beschermingsniveau voor de gezondheid van zwemmers in oppervlaktewateren (Europees Parlement, 2004).

Naast monitoring moeten de lidstaten conform deze richtlijn voor iedere aangewezen zwemlocatie een zogenaamd Zwemwaterprofiel opstellen. Het zwemwaterprofiel is een beschrijving en beoordeling van het zwemwater met het oog op verontreinigingen in brede zin. De beschrijving is een weergave van het inzicht in het watersysteem en de bronnen (of oorzaken) van verontreinigingen.

In de Europese richtlijn wordt 'verontreiniging' gedefinieerd als: *"de aanwezigheid van microbiologische besmetting of andere organismen of afval, die de zwemwaterkwaliteit aantast en een risico voor de gezondheid van de baders inhoudt"*. Dit is verder uitgewerkt in artikel 8 en 9 en in kolom A van bijlage I. Kolom A in bijlage I omvat bacteriële verontreiniging en betreft de parameters 'Intestinale enterokokken' en '*Escherichia coli*'. De '*handreiking bij het opstellen van een zwemwaterprofiel*' (RIZA-Grontmij, 2005) kan worden gebruikt als hulpmiddel bij het opstellen van dit bacteriële deel van het zwemwaterprofiel. Het artikel 8 betreft cyanobacteriën. Lees onderstaande tekstbox voor een uitleg over cyanobacteriën.

Blauwalgen of cyanobacteriën?

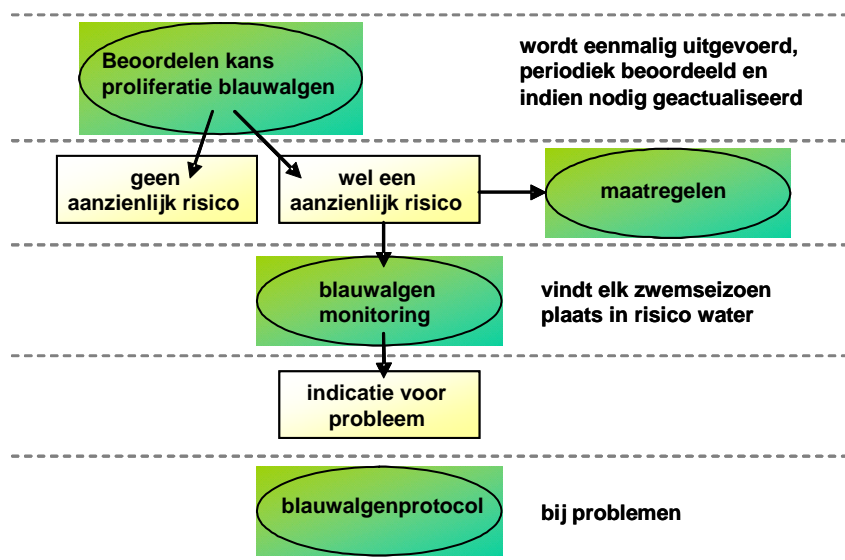
Hoewel blauwalgen (of blauwwieren) het pigment chlorofyl-a bezitten en net als algen in staat zijn tot fotosynthese, behoren zij tot het bacteriënrijk, omdat hun cellen eenvoudiger zijn opgebouwd dan die van algen. Zij hebben meestal een blauwgroene kleur, maar enkele soorten zijn roodbruin. De wetenschappelijke naam is cyanobacteriën, maar in de volksmond wordt nog steeds gesproken over blauwalgen of blauwwieren. In de zwemwaterrichtlijn wordt de term cyanobacteriën gebruikt. In deze handreiking hanteren we, tenzij letterlijk uit de wet geciteerd, de naam blauwalgen.

Een onderdeel van het zwemwaterprofiel is *een beoordeling van de mogelijke proliferatie van cyanobacteriën*' (=blauwalgen) (bijlage III, 1C). De handreiking is een hulpmiddel hierbij. Bij het opstellen van deze handreiking is gezocht naar aansluiting bij het Nederlandse beleid en de bestaande beheerssituatie in Nederland. De beoordeling van blauwalgen heeft namelijk consequenties voor het beheer (artikel 8):

1. *Indien het zwemwaterprofiel wijst op een mogelijke proliferatie van cyanobacteriën, wordt een passende controle uitgevoerd om, tijdig de gezondheidsrisico's te kunnen vaststellen.*
2. *Indien er zich een proliferatie van cyanobacteriën voordoet en er een gezondheidsrisico is vastgesteld of wordt vermoed, worden onmiddellijk passende beheersmaatregelen genomen ter voorkoming van blootstelling, waaronder voorlichting aan het publiek.*

* EU-richtlijn 2006/7/EG

De plaats van de blauwalgenrapportage in het zwemwaterbeheer is schetsmatig weergegeven in figuur 1.



Figuur 1. De plaats van de beoordeling op het risico van proliferatie van blauwalgen en het blauwalgenprotocol in het beheer van zwemwater

De nadruk ligt dus op de gezondheidsrisico's van optredende blauwalgenbloei. Die risico's schuilen voornamelijk in de toxines die door blauwalgen van de geslachten *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* en *Planktothrix* worden geproduceerd. De diverse toxines hebben uiteenlopende gezondheidseffecten. In deze handreiking ligt de nadruk op microcystines en microcystine-vormende blauwalgen. Deze nadruk is onder andere gebaseerd op het advies van de Gezondheidsraad (2001), die op haar beurt weer het advies van de WHO opvolgt (Chorus & Bartram, 1999). Of, en in welke mate, microcystines aanwezig zijn in een bloei hangt af van het type blauwalg die in die bloei aanwezig zijn en het aantal toxine bevattende cellen.

Naast deze handreiking is het rapport 'Blauwalgen in de nieuwe Europese Zwemwaterrichtlijn' verschenen (DHV, 2005). Dit rapport geeft achtergrondinformatie over blauwalgen en de diverse toxines en informatie over de huidige beheerssituatie met problemen en mogelijke oplossingen. Het rapport is tevens een aanloop naar praktische implementatie van de nieuwe richtlijn.

2 BEOORDELING KANS PROLIFERATIE BLAUWALGEN: WERKWIJZE

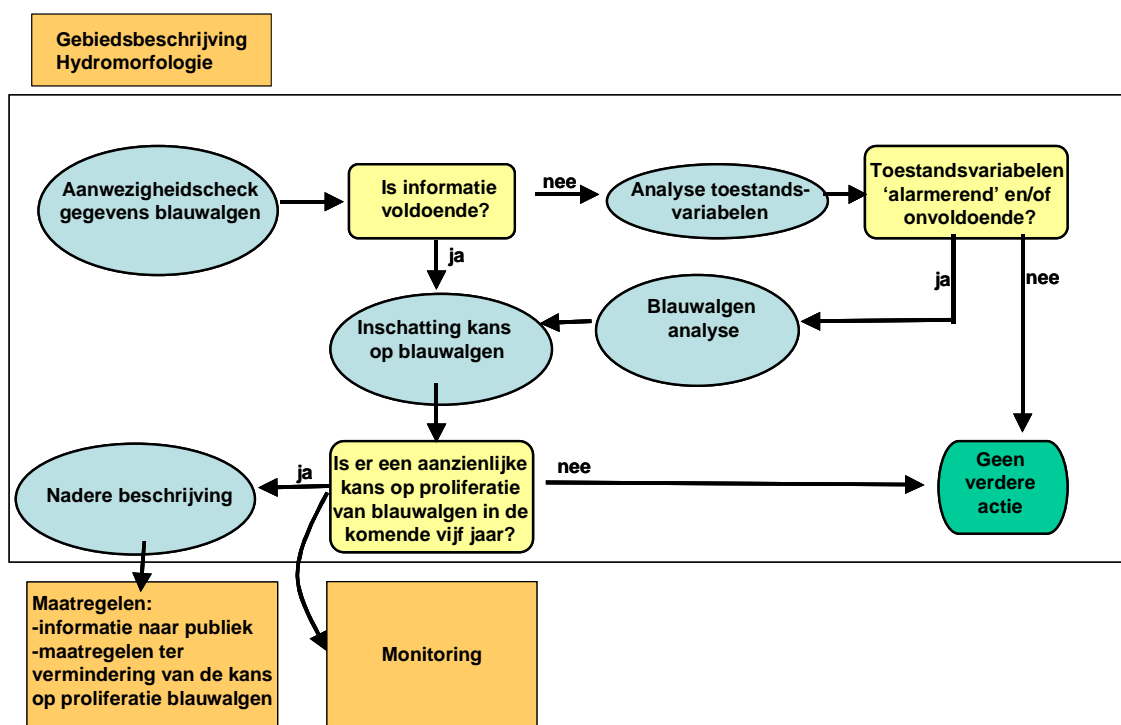
De beoordeling wordt opgebouwd in stappen, afhankelijk van de hoeveelheid beschikbare informatie en het oordeel over de kans op toxische bloei. De benodigde stappen en beslispunten zijn uitgewerkt in de volgende paragrafen en opgenomen in figuur 2. Voor locaties die nooit problemen kennen met blauwalgen is de beoordeling eenvoudig. Voor locaties waar een aanzienlijke kans bestaat op een toxische bloei, is de beoordeling uitgebreider.

Voor elk zwemwater wordt een basale beschrijving van het systeem gegeven, met daarin onder andere de ligging en begrenzing van de zwemzone. Het uiteindelijke doel is om een beoordeling te kunnen geven over het risico proliferatie van toxische blauwalgen. Dit kan alleen als er voldoende informatie is. Daarom is een stap ingebouwd waarin gecontroleerd wordt of voldoende informatie beschikbaar is. Als dit niet het geval is dient altijd extra meetinspanning plaats te vinden.

Als er wel voldoende informatie is, volgt de beoordeling op grond van de verzamelde gegevens. Als de beoordeling luidt dat het onwaarschijnlijk is dat er in de komende vijf jaar een toxische bloei optreedt, is de blauwalgenbeoordeling gereed. Dit oordeel en de onderbouwing maakt deel uit van het zwemwaterprofiel.

Als op grond van de verzamelde gegevens blijkt dat er een aanzienlijke kans is dat er in de komende vijf jaar proliferatie van toxische blauwalgen optreedt, dient een nadere beschrijving van het systeem te worden gemaakt én dient een passende controle te worden uitgevoerd in komende seizoenen. De nadere beschrijving heeft tot doel inzicht te geven in de werking van het systeem met betrekking tot het ontstaan van deze proliferatie van toxische blauwalgen. Dit betekent dat de achterliggende oorzaken/factoren worden beschreven die dit in de hand werken. De nadere beschrijving maakt het daarnaast mogelijk een oordeel te vormen over de meest effectieve maatregelen om de kans op proliferatie van toxische blauwalgen te doen afnemen.

De passende controle en mogelijke maatregelen worden besproken in het rapport 'Blauwalgen in de nieuwe Europese Zwemwaterrichtlijn' (DHV, 2005). De strategie voor publieksvoorlichting zal in een apart gremium worden uitgewerkt en komt hier niet verder aan de orde.



Figuur 2. Stappenplan voor het uitvoeren van de blauwalgenbeoordeling

2.1 Gebiedsbeschrijving en hydromorfologie

In het reguliere Zwemwaterprofiel wordt uitgebreid aandacht besteed aan de gebiedsbeschrijving van de zwemwaterlocatie en de hydromorfologie van het water waaraan de locatie zich bevindt (zie sectie Gebiedsbeschrijving en hydromorfologie uit Handreiking bij het opstellen van Zwemwaterprofielen, RIZA-Grontmij, 2005). In een dergelijke beschrijving dienen onder andere het oppervlak van het waterlichaam en van de zwemzone en een beschrijving van de overige functies die in het waterlichaam zijn vertegenwoordigd te worden opgenomen. Middels een duidelijke kaart worden de ligging en de begrenzing van het zwemwater in het waterlichaam weergegeven en indien aanwezig de ligging van steigers, strand en ligweiden.

In het kader van de eventuele blauwalgen problematiek is inzicht in de **diepte** van de plas eveneens gewenst (zie ook paragraaf 2.8 voor overige relevante gegevens met betrekking tot blauwalgen). Indien de zwemwaterlocatie deel uitmaakt van een waterlichaam waarvoor doelstellingen vanuit de KRW geformuleerd zijn, bevat de basale beschrijving tevens de KRW-duiding voor het waterlichaam (OWM-naam), de status (sterk veranderd, kunstmatig, natuurlijk) en het watertype van dit waterlichaam (KRW typen).

2.2 Inventarisatie blauwalgegevens

De uiteindelijke inschatting van de kans op overlast veroorzaakt door blauwalgen is voornamelijk gebaseerd op de aanwezigheid van toxische blauwalgen in het verleden. Daarom wordt in deze stap als eerste geïnventariseerd of er gegevens uit het verleden met betrekking tot de aanwezigheid van (toxische) blauwalgen aanwezig zijn. Deze gegevens kunnen bestaan uit de volgende informatie:

- Blauwalgenanalyses; de analyses kunnen uitgevoerd zijn volgens de methodiek zoals beschreven in paragraaf 2.6 (zie ook bijlage 3), als alternatief kunnen quick scans van het voorkomen van blauwalgen gebruikt worden.
- Informatie over de aanwezigheid van drijfslagen van blauwalgen.
- Informatie over kolonies van blauwalgen (vlokjes, sprietjes, bolletjes in de waterkolom) of algen/blauwalgen op oever/waterlijn.
- Informatie over microcystineconcentraties in waterfase en/of drijfslagen.
- Informatie over ziekte/sterfte van dieren met sterke aanwijzing dat blauwalgen hieraan (mede) ten grondslag liggen.
- Informatie over gezondheidsklachten bij recreanten met sterke aanwijzing dat blauwalgen hieraan (mede) ten grondslag liggen.

Een historische record is van groot belang om de kans op problemen te kunnen inschatten. Voor de meeste zwembassins zijn er van een reeks van jaren relevante gegevens beschikbaar, minimaal op basis van de Wet hygiëne en veiligheid badinrichtingen en zwemgelegenheden (Whvbz) en het Besluit hygiëne en veiligheid badinrichtingen en zwemgelegenheden (Bhvbz). Voor het zwemwaterprofiel moeten de beschikbare, voor blauwalgen relevante gegevens inzichtelijk worden gepresenteerd. Inzichtelijke presentatie van de volgende gegevens kan in de vorm van tabellen en/of grafieken:

- Quick scan blauwalgen en / of fytoplankton gegevens.
- Microcystine metingen.
- Optreden en gegevens drijfslag.
- Gezondheidsklachten i.v.m. voorkomen van blauwalgen.
- Diersterfte i.v.m. voorkomen blauwalgen.

Blauwalgen inventarisaties

Een quick scan kan op diverse manieren uitgevoerd worden, een indicatie van het aantal blauwalgen cellen / ml verdient de voorkeur (zie ook tekstblok in paragraaf 2.6). Blauwalgen inventarisaties kunnen ook plaats vinden volgens de methodes zoals beschreven in paragraaf 2.6 (zie ook bijlage 3).

Microcystine-metingen

Microcystine is een gifstof die door diverse soorten blauwalgen geproduceerd kan worden. Naast microcystine zijn blauwalgen in staat om ook nog andere soorten gifstoffen te produceren. Afhankelijk van de soort wordt er microcystine geproduceerd of een andere gifstof. In Nederland wordt echter alleen microcystine met enige regelmaat gemeten. Wanneer wel grote hoeveelheden blauwalgen maar lage concentraties microcystine gemeten worden betekent dat niet dat er geen gezondheidsrisico's bestaan. De aangetroffen blauwalgencellen zouden wel een andere gifstof aan kunnen maken. Indien microcystine gegevens beschikbaar zijn is het toch zinvol om deze in de blauwalgenbeoordeling te betrekken.

Verzamel bij voorkeur de historische uitkomsten van microcystine-metingen in de waterkolom van de zwembadzone, uitgedrukt in µg/l. De metingen van microcystine-concentraties in drijfslagen zijn wel relevant, maar minder illustratief voor de mate van toxiciteit van het zwembadwater. Hoge microcystine-concentraties in de waterkolom zijn onzichtbaar voor de zwemmer en vormen daarom potentieel een verborgen gevaar. Voor de meting van microcystines verwijzen we naar het rapport '*Cyanotoxine monitoring: standaardisering en validatie van methoden voor de Nederlandse Waterkwaliteitbeheerders*' (van der Oost, 2007).

Optreden van drijfslagen

Het betreft hier drijfslagen binnen, zowel als buiten, de zwembadzone. In geval van het vastleggen van deze informatie in tabelvorm dan kan in afwezigheid van een drijfslag dit gerapporteerd worden als 0, indien een

drijfslaag aanwezig is als 1. Als er geen informatie is wordt het betreffende vak of veld leeg gelaten. Indien bekend, wordt daarnaast het oppervlak van de drijfslaag vermeld in m². Een open vak of veld betekent dat er geen schatting van het oppervlak gemaakt is. Overige informatie die met betrekking tot een drijfslaag gerapporteerd kan worden is:

- Locatie van de drijfslaag en windrichting.
- Kleur en dikte van de drijfslaag (cm).
- Duur van de drijfslaag.
- Microcystine concentratie metingen in de drijfslaag.
- Blauwalgsamenstelling van de drijfslaag (wederom geconcentreerd op geslachten *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena* en *Aphanizomenon*).
- Digitale foto's.

Gezondheidsklachten in verband met blauwalgen

Dit gaat om gezondheidsklachten bij de mens waarbij een mogelijk verband met blauwalgen bestaat. Het gaat hierbij ondermeer om jeuk, huiduitslag, maagdarmklachten (misselijkheid, buikpijn, diarree), griepachtige verschijnselen, hoofdpijn, geïrriteerde ogen, oorpijn en blaren rond de mond. Welke klachten traden op en hoe zijn deze klachten binnen gekomen? Is er naar aanleiding van klachten nader onderzoek gedaan (microcystine-meting, blauwalgen en / of fytoplankton-inventarisatie, bacteriologisch onderzoek, onderzoek naar cercariën ofwel de parasieten die zwemmersjeuk veroorzaken), en wat was hiervan de uitkomst?

Diersterfte/ziekte in verband met blauwalgen

Dit gaat om sterfte of ziekte waarbij een mogelijk verband met blauwalgen bestaat. Welk(e) dier(en)? Hoeveel? Welke verschijnselen (verlamming, ademhalingsproblemen en/of vreemde nekhouding kunnen duiden op neurotoxines of botulisme)? Wat is bekend over blauwalgen in het relevante oppervlaktewater (toxineconcentraties, soorten blauwalgen)? Is er een omgevingsonderzoek gedaan om meer dode dieren te vinden? Is er pathologisch onderzoek gedaan (blauwalgen en/of toxines in maagdarmkanaal, toxines in weefsel zoals bijvoorbeeld van de lever)? Waren er andere factoren die de sterfte kunnen verklaren (botulisme, zuurstofloosheid, virusinfectie)?

2.3 Is de informatie in de historische record voldoende?

Inzicht in de mogelijkheid dat een toxische bloei in de toekomst optreedt, wordt verkregen uit de historische record. Daartoe moet deze voldoende informatie bevatten.

De historische record moet ten minste de volgende informatie bevatten:

- Quick scan blauwalgen en / of fytoplanktonanalyses: minimaal uitgevoerd gedurende 1 zwemwaterseizoen, de analyses zijn uitgevoerd volgens de methodiek zoals beschreven in paragraaf 2.6.
- Informatie over de aanwezigheid van drijfslagen. De inspectie hierop is gedurende een heel seizoen uitgevoerd, in en buiten de zwemzone (minimaal 10 inspecties).
- Informatie over kolonies van blauwalgen (vlokjes, sprietjes, bolletjes in de waterkolom) of algen/blauwalgen op oever/waterlijn. De inspectie hierop is gedurende een heel seizoen uitgevoerd (minimaal 10 inspecties).
- De informatie met betrekking tot microcystine, ziekte/sterfte van dieren en gezondheidsklachten bij zwemmers kunnen incidenteel zijn.

Indien aan de bovenstaande voorwaarden is voldaan hoeven er geen aanvullende metingen plaats te vinden en kan direct worden overgegaan naar de beoordeling (paragraaf 2.7). Als er gegevens ontbreken is er analyse van toestandsvariabelen noodzakelijk (paragraaf 2.4).

2.4 Blauwalgegevens niet voldoende: analyse toestandsvariabelen

Als er niet voldoende informatie beschikbaar is met betrekking tot het voorkomen van blauwalgen dient een inschatting plaats te vinden van aanwezigheid van blauwalgen in het zwemwater. Deze inschatting kan op basis van toestandvariabelen die over het algemeen voor zwemwateren voor handen zijn. Het betreft de variabelen doorzicht, chlorofyl en zuurgraad. Er wordt gebruik gemaakt van historische gegevens van deze variabelen. Het historische record dient daartoe voldoende informatie te bevatten.

De historische record moet ten minste de volgende informatie bevatten:

- Doorzichtmeting gedurende een heel seizoen (minimaal 10 metingen).
- Chlorofylmeting gedurende een heel seizoen (minimaal 10 metingen).
- pH-meting gedurende een heel seizoen (minimaal 10 metingen).

Als bij bovengenoemde inspectie en het laboratoriumonderzoek van standaard parameters blijkt dat:

- Het doorzicht minder dan 1 meter was, zonder aanwijsbare oorzaak, anders dan de groei van algen of blauwalgen,
en/of
- de pH hoger was dan 9 zonder aanwijsbare oorzaak, anders dan de groei van algen of blauwalgen,
en/of
- de chlorofyl-a-concentratie boven de grens de grens van 50 µg/l was,

dan wordt ook een blauwalgeninventarisatie uitgevoerd zoals beschreven in paragraaf 2.6.

Wanneer geen van de hierboven genoemde situaties zich heeft voorgedaan is een verdere actie niet essentieel. De conclusies met betrekking tot het voorkomen van blauwalgen worden verwoord in het zwemwaterprofiel en de blauwalgenrapportage is ten einde.

2.5 Toestandsvariabelen: onvoldoende en/of alarmerend

Als uit beschouwing volgens paragraaf 2.4 blijkt dat er minder dan de minimale gegevens beschikbaar zijn, worden de gegevens aangevuld middels nader onderzoek gedurende ten minste één seizoen. Dit onderzoek bestaat uit:

- Inspectie.
- Monsternamen.
- Laboratoriumonderzoek.

De inspectie en bemonstering (minimaal 10 maal) kunnen worden gecombineerd met de reguliere zwemwaterbemonsteringen. Voor de werkwijze van deze inspectie en bemonstering zie bijlage 1 *Inspectie- en Bemonsteringsprotocol Zwemwaterprofiel*. en bijlage 2 *Veldformulier bemonsteren van blauwalgen*. Er dient altijd een monster in tweevoud te worden genomen.

Voor de analyse hiervan geldt dat de volgende variabelen worden gemeten:

- Blauwalgeninventarisatie uitgevoerd zoals beschreven in 2.6.
- Andere tekenen van blauwalgen-dominantie met het blote oog zijn waargenomen (vlokken, sprietjes, bolletjes, algen/blauwalgen op waterlijn).

- Eventuele aanwezigheid van een drijfslaag.
- Microcystine-metingen zijn optioneel.

Waarom 10 inspecties en monsternames?

De dynamiek in fytoplanktensamenstelling, waar blauwalgen deel van uit maken, gedurende het seizoen is in de meeste plassen sterk. Een dominantie van bijvoorbeeld *Planktothrix* kan snel ontstaan en ook snel weer verdwijnen. Vaak ook zien we afwisseling van dominerende geslachten in een tijdsbestek van enkele weken. Het verrichten van meerdere metingen, verspreid over het zwemseizoen, draagt bij aan een beter beeld van de aanwezige blauwalgen en hun mogelijkheid om grote dichtheden te bereiken.

2.6 Blauwalgenanalyse

Dichtheden van potentieel toxische blauwalgen worden bepaald met de volgende inperkingen:

1. De determinatie dient **op geslachtsniveau** te geschieden.
2. De determinatie concentreert zich op de geslachten *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena*, en *Aphanizomenon* omdat dit in Nederland de **belangrijkste potentieel toxische blauwalgen** zijn. Van deze veel voorkomende geslachten is bekend dat ze microcystines kunnen produceren. Let wel, niet alle soorten/stammen binnen deze geslachten produceren deze toxines. Microscopische determinatie op soortniveau voegt echter weinig toe en vermindert vaak de vergelijkbaarheid. Vaak is de determinatie op soortniveau niet mogelijk of niet betrouwbaar. Bovendien is er geen duidelijk verband tussen een microscopisch gedetermineerde soort en het wel of niet toxisch zijn van deze soort (Janse et al. 2004).

Een **goede methode is de telling van cellen**: Voor een nauwkeurige wijze van telling kan gebruik gemaakt worden van het protocol in bijlage 3. Dit protocol is voor verschillende doeleinden opgesteld. Voor een goede telling voor het zwemwaterprofiel gelden de volgende randvoorwaarden, die de telling deels vereenvoudigen: Tel per monster minimaal 200 waarnemingen en minimaal 10 beeldvelden. Hierbij is een waarneming een losse cel of een kolonie/filament. Van elke kolonie/filament wordt een schatting gemaakt van het aantal cellen. Niet alle blauwalgen-cellen hoeven geteld te worden: Tel alleen cellen van de geslachten *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena* en *Aphanizomenon*. Differentiatie op soortniveau is niet nodig.

Er is **minimaal een goede quick scan nodig**. Hierbij wordt een aanduiding gegeven van de dichtheid in categorieën op basis van een snel microscopisch onderzoek. Bijvoorbeeld categorieën: afwezig, zeer weinig, weinig, algemeen, veel en zeer veel. Idealiter, kunnen deze categorieën via een kalibratie uitgedrukt worden in dichtheden. In het nieuwe blauwalgenprotocol zijn diverse kritische grenzen genoemd, o.a. het aantal cellen waarbij een zwemverbod uitgevaardigd dient te worden (Landelijke Werkgroep Cyanobacteriën, 2008). Systematisch gebruikte categorieën zijn in tabel of staafdiagram uit te zetten. Verschillende duidingen van de waarnemers moeten hiervoor worden teruggebracht tot bijvoorbeeld 6 categorieën. De categorieën worden dan genummerd (bijvoorbeeld, 0 is afwezig, 5 is zeer veel). Als er op betreffende datum geen bepaling is gedaan wordt het bijbehorende tabelvak leeg gelaten of op een andere wijze duidelijk dat er geen waarneming is. Indien mogelijk worden soorten die door waarnemers binnen 1 geslacht zijn onderscheiden, verzameld (opgeteld).

2.7 Beoordeling: kans op proliferatie van toxische blauwalgen

Als er voldoende informatie is, al dan niet na aanvullende metingen, volgt de beoordeling op mogelijke proliferatie van blauwalgen in de toekomst. Hierbij gebruiken we de volgende beoordelingscriteria:

Als één van de volgende zaken 'waar' was op enig moment in de afgelopen vijf jaar (inclusief het meetseizoen):

- er was een drijfslaag met detecteerbaar microcystine;
- microcystine-concentratie in waterfase was groter dan 20µg/l;
- er was ziekte/sterfte van dieren met sterke aanwijzing dat blauwalgen hieraan (mede) ten grondslag liggen;
- er waren gezondheidsklachten bij recreanten met sterke aanwijzing dat blauwalgen hieraan (mede) ten grondslag liggen;
- de dichtheid van *Microcystis* was groter dan 100.000 cellen/ml[†], of behoorde tot de hoogste categorie (bijvoorbeeld 'zeer veel') bij een quickscan;
- de dichtheid van *Planktothrix* was groter dan 100.000 cellen/ml, of groter dan 10.000 draden/ml, of behoorde tot de hoogste categorie (bijvoorbeeld 'zeer veel') bij een quickscan;
- de dichtheid van *Aphanizomenon* was groter dan 100.000 cellen/ml, of groter dan 10.000 draden/ml, of behoorde tot de hoogste categorie (bijvoorbeeld 'zeer veel') bij een quickscan;
- de dichtheid van *Anabaena* was groter dan 100.000 cellen/ml of groter dan 10.000 draden/ml, of behoorde tot de hoogste categorie (bijvoorbeeld 'zeer veel') bij een quickscan;

dan is er een **aanzienlijke kans** dat er in de komende vijf jaar sprake is van proliferatie van toxische blauwalgen optreedt.

Een **nadere beschrijving** van het systeem is nu noodzakelijk (paragraaf 2.8) én er dient een passende controle/monitoring te worden uitgevoerd in komende seizoenen. Passende controle is een term uit artikel 8 van de Zwemwaterrichtlijn. Monitoring is de interpretatie hiervan.

Wanneer geen van de hierboven genoemde situaties zich heeft voorgedaan is verdere actie niet essentieel. De conclusies met betrekking tot het voorkomen van blauwalgen worden verwoord in het zwemwaterprofiel en de blauwalgenrapportage is ten einde.

2.8 Nadere beschrijving

Als uit de beoordeling in 2.7 blijkt dat er een aanzienlijke kans is op het optreden van proliferatie van toxische blauwalgen in komende seizoenen wordt een meer diepgaande beschrijving gegeven van het watersysteem. Het doel van deze beschrijving is **inzicht te krijgen in de oorzaken** (bronnen) die proliferatie van blauwalgen teweegbrengen en versterken. Invloeden op blauwalgen en de werking van het systeem verschillen vaak per locatie. Daarom zal per systeem de werkwijze voor deze nadere beschrijving verschillen. De beschrijving moet geen woud van informatie zijn, maar moet focussen op de factoren die invloed hebben op de levenscyclus en groeikansen van de blauwalgen.

De meest gewenste situatie bij de nadere beschrijving is dat uiteindelijk het belang van de verschillende bronnen kan worden ingeschat. Een goede inschatting van de invloed van verschillende bronnen is namelijk de basis voor een rationele afweging van de effectiviteit van mogelijk te nemen maatregelen

[†] De grens van 100.000 cellen per ml komt voort uit de WHO adviezen in Chorus en Bartram, 1999 en WHO, 2003. Zie ook het rapport 'Blauwalgen in de nieuwe Europese Zwemwaterrichtlijn' (DHV, 2005).

tegen blauwalgenoverlast. Een nadere beschrijving geeft dus mogelijk een handvat voor beheer. Echter, een goed inzicht vereist in veel gevallen een nader onderzoek. De nadere beschrijving geeft aan in welke richting dit nadere onderzoek plaats moet vinden (bijvoorbeeld visstand, vegetatie, bronnen van verrijking).

Een bron van informatie waaruit geput kan worden is de karakterisering van het waterlichaam voor de Kaderrichtlijn Water (Artikel 5-rapportage). Immers, hierin zijn hydromorfologie en bronnen van verontreiniging (waaronder bronnen van nutriënten) reeds beschreven. Het is zaak hieruit een selectie te maken van de voor blauwalgen relevante gegevens. Bij voorkeur bevat de nadere beschrijving een beschrijving van hydromorfologie, nutriënten en bronnen, vegetatie en visstand.

Hydromorfologie

De afmeting en vorm van een plas of zwemzone kunnen van invloed zijn op de groei van blauwalgen. De **diepte** is bijvoorbeeld van belang. Sommige blauwalgen gedijen goed in ondiep water (bijvoorbeeld <2 m, *Planktothrix agardhii*), terwijl andere soorten juist succesvoller zijn in dieper water (bijvoorbeeld *Planktothrix rubescens*, *Microcystis*). Bovendien kunnen er in ondiepe plassen sneller groeibevorderde nutriënten uit de bodem worden nageleverd als gevolg van windwerking, bodemwoelende vis en sneller, opwarmend water. De **ligging van de zwemplaats** is ook van belang. Op sommige locaties is er kans dat er bij een bepaalde **windrichting** drijfzagen de zwemzone in drijven .

De aanwezigheid van diepere delen, of **putten**, kan invloed hebben op het succes van blauwalgen. *Microcystis*-cellen overwinteren bijvoorbeeld bij voorkeur in matig diepe delen van het water (circa 5 meter diep) en stijgen vervolgens in het voorjaar op om weer in aantal toe te nemen. Wanneer het water geïsoleerd is, kan deze 'zaadbank' elk jaar toenemen. Daarnaast kunnen diepe putten dienen als afvoer, waar blauwalgencellen vastgelegd worden.

Is het water **gemengd** of treedt er in de zomer een spronglaag op, is er **stroming** of is het water stagnant? De mate van **stroming** of **menging** beïnvloedt de mogelijkheid tot blauwalgenproliferatie. Blauwalgen kunnen als gevolg van hun drijfvermogen verticaal migreren en kunnen daardoor bij beperkte menging een competitief voordeel hebben ten opzichte van andere algen, die niet in staat zijn om naar het wateroppervlak te migreren en daar voldoende licht voor groei te ontvangen. Bij een hoge mixsnelheid neemt worden blauwalgen actief gemengd, ook naar diepere delen van oppervlaktewater waar onvoldoende licht voor de groei aanwezig is. Ook kunnen blauwalgen zich minder goed aanpassen aan snel wisselende lichtintensiteit. Het competitief voordeel ten opzichte van de overige algensoorten gaat hiermee verloren. In snelstromend water is de kans op blauwalgenbloei dus afwezig. Ook water dat regelmatig wordt doorspoeld, heeft een geringere kans op het optreden van blauwalgenbloei.

Is het water **geïsoleerd** van ander oppervlakte water of staat het in verbinding? Dit is noodzakelijke informatie om eventuele nutriëntbronnen aan te wijzen of geschikte maatregelen ter voorkoming van bloeien te formuleren. Het is belangrijk om te weten of er **kwel** is. Dit kan namelijk nutriënten en/of zout aan het systeem toevoegen. Verder kunnen al ingezette hydromorfologische maatregelende kwel, stroming of turbulentie beïnvloeden.

Nutriënten

Hierbij zijn **stikstof** en **fosfaat** belangrijke parameters. De meeste wateren zijn namelijk stikstof- of fosfaat-gelimiteerd, wat wil zeggen dat de groeisnelheid van blauwalgen wordt bepaald door de hoeveelheid biologisch beschikbaar stikstof of fosfaat. Wanneer in de nadere beschrijving beschreven wordt wat de concentraties aan fosfaat (totaal fosfaat en orthofosfaat) en stikstof (totaal stikstof en opgelost anorganisch stikstof) zijn, geeft dit nuttige informatie over de proliferatiekansen van blauwalgen. Hierbij is het belangrijk om de mogelijke bronnen van deze nutriënten te identificeren. Voorbeelden van mogelijke bronnen zijn: kwel, bodemsamenstelling, toestroom van gebiedsvreemd nutriëntrijk water of water dat mogelijk

versnelde mineralisatie in de hand werkt, nabijgelegen land- of tuinbouw, vogels, honden, vissers of het voeren van eendjes.

Om in te schatten of een nutriëntconcentratie hoog of laag is, kan ter vergelijking voor de totaalconcentraties gebruik gemaakt worden van de d.d. medio 2006 geldende waardes die behoren bij het Maximaal Toelaatbaar Risico (MTR-waarde), afkomstig uit de Vierde nota Waterhuishouding (Ministerie van V & W, 1998). De MTR-waarde voor totaalfosfaat is 0,15 mg/l en voor totaalstikstof 2,25 mg/l. Voor de opgeloste bestanddelen orthofosfaat en opgelost anorganisch stikstof bestaan geen MTR-waardes en zijn de concentraties vergeleken met waardes die volgens wetenschappelijke literatuur limiterend zijn voor de groei van blauwalgen (Verspagen, 2006). Voor orthofosfaat komt dat op een concentratie van 0,01 mg/l en voor DIN op een concentratie van 0,08 mg/l.

Achtergrondinformatie over nutriënten en bronnen kan worden gevonden in de 'Handleiding Bestrijding Eutrofiëring'; RIZA, 1996).

Overige chemie

In lichtbrakke tot zoute wateren is de **zoutconcentratie** van belang. In licht brak water gedijt *Anabaena*. *Microcystis* tolereert licht brak water. Zoutgehalten zijn grotendeels te relateren aan chloridegegevens. In veel zoete wateren blijven chlorideconcentraties te laag om *Anabaena* en of *Microcystis* voordeel te bieden ten opzichte van overig fytoplankton.

Vegetatie en visstand

Wat is het oppervlak begroeid met macrofyten in de zomermaanden? Net als algen maken waterplanten gebruik van voedingsstoffen als stikstof en fosfaat. Hierdoor zijn waterplanten een concurrent voor (blauw)algen. Voldoende waterplanten zal een mogelijke (blauw)algenbloei vertragen of voorkomen. Minder (blauw)algen zal het doorzicht in een plas verbeteren. Naast dat waterplanten concurreren om voedingsstoffen zorgen ze voor het invangen van zwevend materiaal wat de helderheid in wateren extra ten goede komt. Wanneer het water troebel is, bijvoorbeeld door hoge fytoplanktondichtheden of bodempopwerveling, zullen ondergedoken waterplanten ontbreken en zal het ecosysteem uit balans raken. Maak in de blauwalgenrapportage onderscheid tussen emergente, ondergedoken en drijvende waterplanten).

Wat is bekend over de vispopulatie? Snoeken zijn zichtjagers en zijn kenmerkend voor een evenwichtig ecosysteem. Bodemwoelende vis (o.a. brasem) daarentegen houden het water troebel en remmen ontwikkeling van waterplanten. Vanwege hun drijfvermogen en het efficiënter om kunnen gaan met beperkte lichteveelheden hebben blauwalgen voordeel van een beperkt doorzicht ten opzichte van het overige fytoplankton en waterplanten.

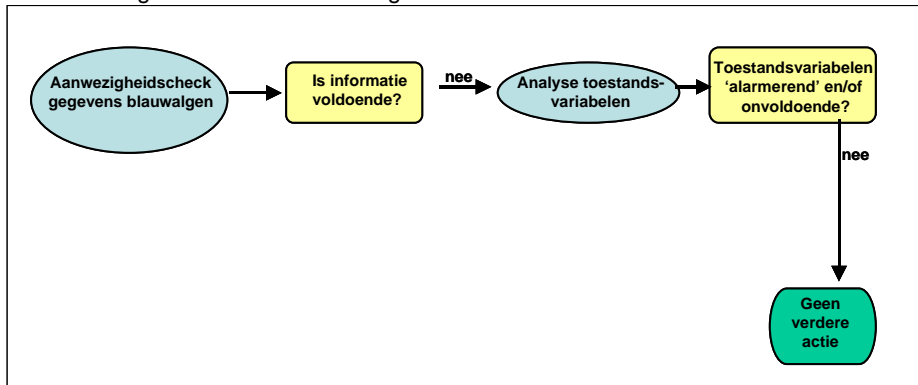
Maatregelen

Welke effectgerichte maatregelen zijn bij betreffende zwemlocatie ingezet? En wat was het effect daarvan? Maar ook welke maatregelen staan er voor de toekomst gepland? En wat is het te verwachten effect van die maatregelen?

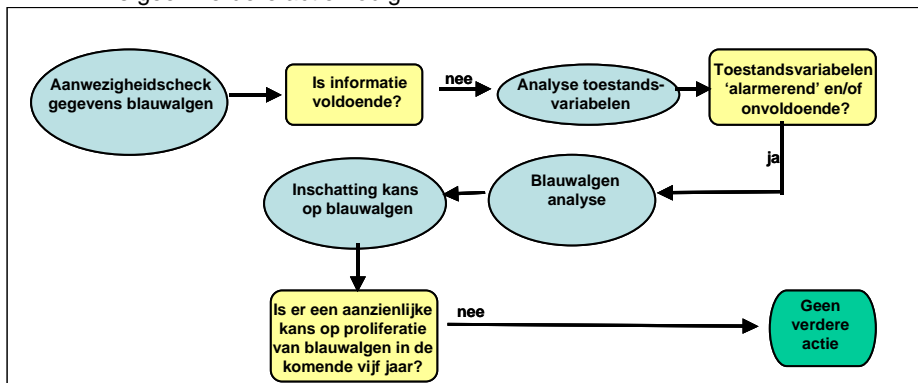
2.9 Mogelijke routes door stappenplan

Afhankelijk van de beschikbaarheid van informatie en de aangetroffen toestand zijn er **vijf** mogelijke routes door het stappenplan:

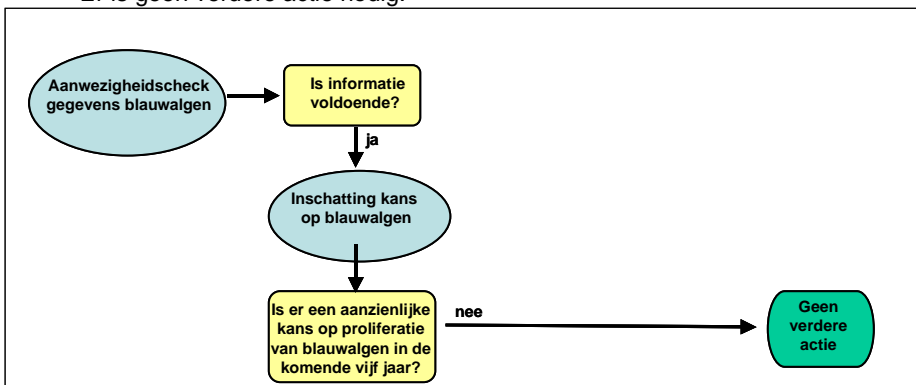
1. Er is niet voldoende informatie over blauwalgen
 Er is voldoende informatie over toestandsvariabelen
 De waarden zijn niet alarmerend
 Er is geen verdere actie nodig.



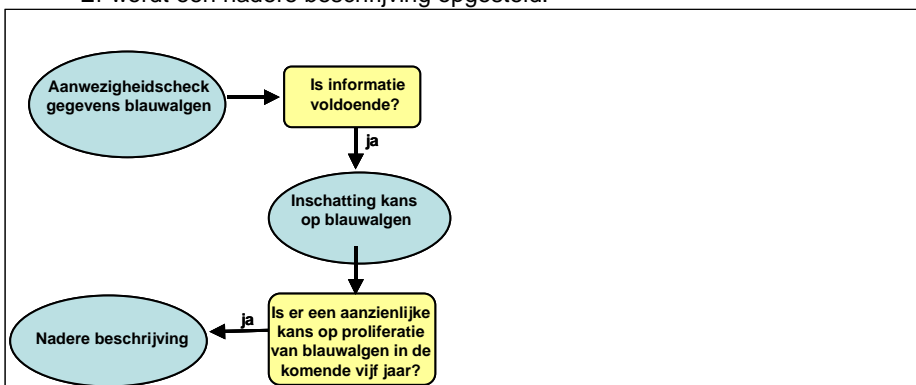
2. Er is niet voldoende informatie over blauwalgen
 Informatie over toestandsvariabelen is onvoldoende en/of alarmerend
 Er vindt monitoring van blauwalgen plaats
 Er is geen aanzienlijke kans op toxische bloei
 Er is geen verdere actie nodig.



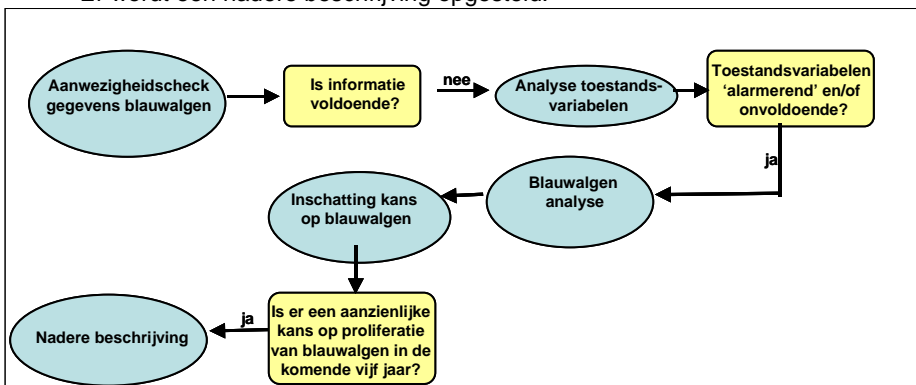
3. Er is voldoende informatie over blauwalgen
 Er is geen aanzienlijke kans op toxische bloei
 Er is geen verdere actie nodig.



4. Er is voldoende informatie over blauwalgen
 Er is een aanzienlijke kans op toxische bloei
 Er wordt een nadere beschrijving opgesteld.



5. Er is niet voldoende informatie over blauwalgen
 Informatie over toestandsvariabelen is onvoldoende en / of alarmerend
 Er vindt monitoring van blauwalgen plaats
 Er is een aanzienlijke kans op toxische bloei
 Er wordt een nadere beschrijving opgesteld.



DHV B.V.

De doorlooptijd en de benodigde inzet zijn afhankelijk van welke route door het stappenplan moet worden doorlopen. Zo heeft de waterbeheerder met voldoende meetinformatie over de afwezigheid van blauwalgen op basis waarvan hij inschat dat er geen aanzienlijke kans is op toxische bloei (route 3) weinig inzet en weinig tijd nodig. In gevallen waarbij aanvullend moet worden gemeten aan toestandsvariabelen (routes 1, 2 en 5) en/of aan blauwalgen (routes 2 en 5) kan de doorlooptijd flink oplopen. Aanbevolen wordt daarom om ruimschoots vóór aanvang van het zwemseizoen te starten met de analyse van gegevens. Als ten slotte op basis van de meetgegevens een aanzienlijke kans op toxische bloei bestaat (routes 4 en 5) moet rekening worden gehouden met extra inzet en doorlooptijd voor een nadere beschrijving.

3 ACTIVITEITEN NA HET ZWEMWATERPROFIEL

3.1 Waartoe leidt de beoordeling?

De beoordeling (paragraaf 2.7) moet ertoe leiden dat de vraag 'is er een aanzienlijke kans op toxische bloei in de komende vijf jaar?' kan worden beantwoord (zie ook figuur 2). Op deze vraag zijn twee antwoorden denkbaar:

Ja, er bestaat een aanzienlijke kans op proliferatie van toxische blauwalgen

Een passende controle (monitoring) is nodig. Dit rapport geeft geen aanbeveling over de juiste monitoring. In het Blauwalgenprotocol (Landelijke Werkgroep Cyanobacteriën, 2008) komt dit wel aan de orde. Een alternatief is het monitoren van de dichtheid van de geslachten *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* en *Planktothrix*. Ook is een getrapte monitoring mogelijk waarin pH, doorzicht en/of chlorofyl standaard worden gemeten en blauwalgensamenstelling wordt geanalyseerd bij overschrijding van drempelwaarden.

Nee, er bestaat geen aanzienlijke kans op proliferatie van toxische blauwalgen

Als de beoordeling luidt dat de kans op **proliferatie van toxische blauwalgen** niet aanzienlijk is, ontslaat dit de beheerder niet van alertheid. De formuleringen, zoals die in paragraaf 2.7 opgesomd zijn, zijn conservatief gekozen. Toch kan een plas in de toekomst alsnog problemen geven. Er kunnen bijvoorbeeld toch drijfslagen voorkomen ook als telling de 100.000 cellen per ml (bijvoorbeeld van *Microcystis*) tot dat moment nog niet gehaald heeft. Het Blauwalgenprotocol (Landelijke Werkgroep Cyanobacteriën, 2008) blijft toepasbaar

Als in een zwemwater waar voorheen geen problemen waren alsnog drijfslagen optreden of aan een van de andere criteria uit paragraaf 2.7 wordt voldaan, is er aanleiding om de beoordeling behorend bij het zwemwaterprofiel te actualiseren. Ook als in een watersysteem, waarvan de zwemlocatie deel uit maakt, ingrijpende maatregelen plaatsvinden, is het raadzaam, na een instellingsperiode, een nieuw zwemwaterprofiel inclusief een beoordeling op **proliferatie van toxische blauwalgen** op te stellen.

3.2 Maatregelen

De Europese Zwemwaterrichtlijn streeft naar verbetering van de veiligheidssituatie in zwemwateren. Bovendien spreekt de richtlijn in het geval van gezondheidsrisico's over het nemen van 'passende beheersmaatregelen ter voorkoming van blootstelling, waaronder voorlichting aan het publiek'.

De praktische maatregelen kunnen effectgerichte maatregelen zijn (zoals het toepassen van beluchtingsinstallaties of 'jetstreamers', het afzuigen of afzetten van drijfslagen), het plaatsen van waarschuwingen of zwemverboden of brongerichte maatregelen (zoals defosfatering, actief biologisch beheer, herstellen van stroming). Meer over deze maatregelen in het rapport 'Blauwalgen in de nieuwe Europese Zwemwaterrichtlijn' (DHV, 2005) en het rapport 'Beheermaatregelen ter bestrijding van cyanobacteriën' (DHV, 2007).

3.3 Frequentie van evaluatie van het zwemwaterprofiel en actualisering

De blauwalgenrapportage is onderdeel van het zwemwaterprofiel zoals door de Zwemwaterrichtlijn wordt voorgeschreven. In bijlage III van de Richtlijn wordt de frequentie van beoordeling van het profiel aangegeven, afhankelijk van de indeling als 'slecht', 'bevredigend/aanvaardbaar' 'goed' of 'zeer goed' zie tabel 1). Deze indeling is gebaseerd op het aantal kolonievormende eenheden van fecale bacteriën.

Voor zwemwater dat als 'slecht' wordt ingedeeld dient tenminste om de twee jaar te worden beoordeeld of de verschillende aspecten van het zwemwaterprofiel (waaronder de 'beoordeling op mogelijke proliferatie van blauwalgen') gewijzigd zijn. 'Indien nodig moet het geactualiseerd worden'.

Voor zwemwater dat ingedeeld is als 'bevredigend/aanvaardbaar' dan wel als 'goed', is dit, respectievelijk, 'tenminste om de drie jaar' en 'tenminste om de vier jaar'.

Het profiel van zwemwater dat als 'uitstekend' is ingedeeld, moet alleen worden beoordeeld en, indien nodig, geactualiseerd, indien de indeling veranderd wordt in 'goed', 'bevredigend/ aanvaardbaar' of 'slecht'.

Tabel 1: Frequentie van evaluatie zwemwaterindeling.

Zwemwaterindeling	beoordeling vindt plaats:
'uitstekend'	alleen als de indeling wijzigt in 'goed', 'aanvaardbaar' of 'slecht'
'goed'	om de vier jaar
'bevredigend/aanvaardbaar'	om de drie jaar
'slecht'	om de twee jaar

REFERENTIES

- Chorus, I. and J. Bartram (ed), 1999. Toxic cyanobacteria in water; a guide to their public health consequences, monitoring and management. World Health Organization, Geneva.
- Cyanobacteriën-werkgroep, 2002. Herkenning cyanobacteriën in het veld.
- DHV, 2005. Blauwalgen in de nieuwe Europese Zwemwaterrichtlijn, in opdracht van RIZA.
- DHV, 2007, Beheermaatregelen ter bestrijding van cyanobacterieoverlast; analyse naar effectiviteit en haalbaarheid. In opdracht van RWS Waterdienst.
- Europees Parlement en de Raad van de Europese Unie, 2004. Ontwerp Richtlijn 2004/.../EG van het Europees Parlement en de Raad van de Europese Unie betreffende het beheer van de zwemwaterkwaliteit en tot intrekking van Richtlijn 76/160/EEG
- Gezondheidsraad, 2001. Microbiële risico's van zwemmen in de natuur. Den Haag; publicatie nr. 2001/25.
- Janse, I., W. E. A. Kardinaal, M. Meima, J. Fastner, P. M. Visser, and G. Zwart. 2004. Toxic and non-toxic *Microcystis* colonies in natural populations can be differentiated on the basis of rRNA gene internal transcribed spacer diversity. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:3979-3987.
- Landelijke Werkgroep Cyanobacteriën, 2008. Blauwalgenprotocol versie 8.
- Ministerie van Verkeer & Waterstaat, 1998. Vierde nota Waterhuishouding.
- Oost, R. van der, 2007. Cyanotoxine monitoring: standaardisering en validatie van methoden voor de Nederlandse Waterschappen. Rapport STOWA project deel 1.2005
- RIZA, 1996. Handleiding Bestrijding Eutrofiëring, nota 96.049A t/m E. ISBN 90365010U
- RIZA-Grontmij, 2005. Handreiking bij het opstellen van een zwemwaterprofiel.
- Verspagen, J.H.M., 2006. Benthic-pelagic coupling in the population dynamics of the cyanobacterium *Microcystis*. Proefschrift Universiteit van Utrecht.

COLOFON

Opdrachtgever	: RWS Waterdienst
Project	: Handreiking Blauwalgen in het Zwemwaterprofiel
Dossier	: A2907-01-006
Omvang rapport	: 20 pagina's
Auteur	: Gabriël Zwart, Edwin Kardinaal
Bijdrage	: Martin de Haan, Elise Koolmees
Projectleider	: Martin de Haan
Projectmanager	: Johan Krijgsman
Datum	: 16 september 2008
Naam/Paraaf	:

DHV B.V.

*Ruimte en Mobiliteit
Laan 1914 nr. 35
3818 EX Amersfoort
Postbus 1132
3800 BC Amersfoort
T (033) 468 20 00
F (033) 468 28 01
E info@dhv.nl
www.dhv.nl*

BIJLAGE 1 INSPECTIE- EN BEMONSTERINGSPROTOCOL

Aangepast vanuit: Richtlijnen voor het nemen van oppervlaktewatermonsters voor onderzoek naar toxines van blauwalgen en voor de globale bepaling van de algensamenstelling. Afkomstig van de landelijke overleggroep Cyanobacteriën.

1. DOEL

Het doel van dit voorschrift is om richtlijnen te geven voor inspectie en monsterneming van blauwalgen in oppervlaktewater. Dit voorschrift is samengesteld voor reguliere monitoring en aangepast voor het opstellen van het zwemwaterprofiel.

2. TOEPASSINGSGBIED

Dit protocol is van toepassing voor het opstellen van het blauwalgendeel van zwemwaterprofielen.

3. DEFINITIES

Drijf laag Min of meer aaneengesloten laag van algen waar je niet of nauwelijks doorheen kunt kijken met een oppervlakte van minimaal 1m².

Blauwalgendorfiantie Zichtbare dominantie van blauwalgen in de waterkolom in de vorm van kolonies bestaande uit klontjes (aaneenplakte losse cellen) of vlokjes (draadjes / sprietjes). De kolonies zijn meestal lichtgroen, maar kunnen er ook lichtblauw, bleekgroen tot bijna wit uitzien. Daarnaast zijn er ook soorten die in losse draadjes groeien en geen kolonies vormen en daardoor moeilijker met het blote oog te herkennen zijn. In een monster met deze soort bacteriën kan vaak een wirwar van zwevende draadjes gezien worden. Het water ziet er dan uit als een 'groene soep'. Niet toxische algensoorten (bv. Groenalgen) bestaan zelden uit alleen maar kleine draadjes en veroorzaken in mindere mate een groene soep (zie folder: 'Herkenning cyanobacteriën in het veld', Cyanobacteriën-werkgroep, 2002).

4. TOESTELLEN EN HULPMIDDELEN

- Groene glazen monsterfles met een brede hals en inhoud van 250 ml (voor ELISA analyse).
- Glazen groene monsterfles met inhoud van 1 liter (voor HPLC analyse).
- Doorzichtige plastic monsterfles met inhoud van 250 ml (voor soortensamenstelling).
- Steekbuis voor nemen van watermonsters in de waterkolom.
- Emmer met touw.
- Thermometer
- PH-meter
- Zuurstofmeter
- Kunststof wegwerphandschoenen en "tuinhandschoenen".
- Secchischijf met bevestigingsdraad, voorzien van een maatverdeling om de 20 cm.

- Topografische atlas met ingetekende monsterpunten, schaal 1:25.000
- Fotomap van de monsterpunten.
- (Dienst)auto; geschikt voor transport van monsters en hulpmiddelen.
- Een (elektrische) koelkast in elke monsternemingauto, aangesloten op de accu van de auto. Voorzien van een thermometer.
- Koelbox met koelelementen indien er geen koelkast aanwezig is. Controleer de temperatuur in de koelbox m.b.v. een thermometer.
- Een digitaal fototoestel.
- Lieslaarzen.
- Windmeter
- De folder 'Herkenning Cyanobacteriën in het veld' (www.stowa.nl, thema cyanobacteriën)

5. WERKWIJZE

5.1 Voorbereiding

Controleer vóór vertrek of benodigde toestellen en hulpmiddelen (4) aanwezig zijn.

Neem vóór het bemonsteren voorzorgsmaatregelen met betrekking tot veiligheid en gezondheid.

Gebruik handschoenen (4.9) en afhankelijk van de situatie lieslaarzen (4.17).

Zet de koelkist (4.14) bij vertrek naar de monsterpunten aan of neem een koelbox (4.15) met bevroren elementen mee.

Bij de bemonsteringslocatie: het 'veldformulier bemonsteren van blauwalgen' volledig invullen (bijlage 2).

5.2 Inspectie en bemonstering ten behoeve van het zwemwaterprofiel

Voor het opstellen van het zwemwaterprofiel wordt elke plas gedurende één seizoen onderzocht. Dit onderzoek bestaat uit inspecties en monsternames.

De inspectie bestaat uit

visuele inspectie van het gehele watersysteem op drijfslagen en algen/blauwalgen op de waterlijn)

visuele inspectie van een watermonster genomen in een kleurloze, transparante fles.

secchi-disk meting in de zwemzone.

pH meting in de zwemzone.

temperatuurmeting in de zwemzone.

Bemonstering:

Neem bij elke inspectie een monster van de waterkolom binnen de zwemzone.

De visuele inspectie betreft het gehele systeem.

drijfslaag

Als bij deze inspecties een drijfslaag wordt waargenomen in de zwemzone of buiten de zwemzone in het grotere systeem, wordt de drijfslaag bemonsterd (alsmede de waterkolom in de zwemzone). Een drijfslaag buiten de zwemzone in het water dat in verbinding staat met de zwemzone is namelijk een duidelijke indicatie dat ook in de zwemzone drijfslagen kunnen optreden. Bij de beoordeling op drijfslagen is de folder 'Herkenning Cyanobacteriën in het veld' (www.stowa.nl, thema cyanobacteriën) een goed hulpmiddel. Neem van de drijfslaag altijd een duidelijke foto.

algen op strand

Als bij deze inspecties op het strand, bijvoorbeeld bij de waterlijn, een duidelijke laag of strook algen/blauwalgen wordt aangetroffen wordt dit genoteerd. Neem van deze laag/strook altijd een duidelijke foto.

waarneming kolonies in waterfase

Als bij deze inspecties kleine bolletjes of vlokjes in het water worden waargenomen (Microcystis, Gloeotrichia) of minuscule 'grasprietjes' (Aphanizomenon) of als het monster roze gekleurd lijkt te zijn (Planktothrix rubescens) wordt dit genoteerd. Bij de beoordeling op blauwalgen in de waterkolom is de folder 'Herkenning Cyanobacteriën in het veld' (www.stowa.nl, thema cyanobacteriën) een goed hulpmiddel.

Bij een drijfslaag in het zwemgebied vindt de waterkolom bemonstering buiten de drijfslaag plaats en niet eronder (om te voorkomen dat de drijfslaag onbedoeld wordt meebemonsterd)

* Optioneel: bij een drijfslaag met een omvang van meer dan 100 m² wordt aanbevolen de drijfslaag op meerdere locaties te bemonsteren.

5.3 Uitvoering: hoe bemonsteren?

Neem alle monsters minimaal in tweevoud. Het eerste monster dient voor bepaling van chlorofyl. Het tweede monster kan dienen voor de blauwalgenanalyse van het te onderzoeken monster. Optioneel kan nog een derde monster worden genomen ten behoeve van de bepaling van microcystine.

Het monster voor blauwalgenanalyse wordt genomen in een doorzichtige plastic of glazen fles van 250 ml. Voor eventuele microcystine bepaling wordt een fles van 250 ml, of van 1 liter, half met watermonster gevuld (het volume is afhankelijk van de analysemethode, 250 ml voor ELISA, 1 liter voor HPLC).

Hieronder wordt per situatie aangegeven hoe er bemonsterd moet worden:

Een drijfslaag

Neem het monster op de plek waar de drijfslaag het dikst is.

Plaats de fles schuin in de drijfslaag, de opening van de fles net onder het wateroppervlak, zodat de drijfslaag in het flesje spoelt.

Waterkolom

Neem het monster op de plek waar de reguliere bemonstering plaatsvindt, maar altijd buiten een eventuele drijfslaag.

Gebruik een steekbuis voor een verticale bemonstering van de waterkolom tot een diepte van 50 cm, en breng het water over in een schone emmer. Indien geen steekbuis aanwezig is kan het water ook rechtstreeks met een emmer worden bemonsterd.

Giet het water uit de emmer met een trechter in de monsterflessen.

6. TRANSPORT, BEWAREN EN CONSERVEREN

Voorzie de bemonsteringsflessen van stickers met eenduidige herkenning-informatie.

Plaats na monsternamen de flessen in een donkere koelkast (4.12) of koelbox (4.13).

Neem het monster binnen 24 uur in behandeling.

Als de monsters niet binnen vereiste tijd in behandeling genomen worden, moeten ze in de koelkast bewaard worden.

Conserveer monsters voor microscopisch onderzoek die langer dan 48 uur bewaard moeten worden met lugol (1:100 verhouding lugol:water).

DHV B.V.

BIJLAGE 2 VELDFORMULIER BEMONSTEREN VAN BLAUWALGEN

Omschrijving monsterpunt : _____
Datum monsterneming : _____
Monsterpuntcode : _____
Naam onderzoeker : _____

VELDWAARNEMINGEN

Drijfslaag aanwezig* : JA / NEE; indien ja: BINNEN / BUITEN ZWEMGEBIED _____
Dikte drijfslaag (cm) : _____
Oppervlakte drijfslaag (m²) : _____
Kleur drijfslaag : _____
Kenmerken van de drijfslaag : _____ (aaneengesloten, los)

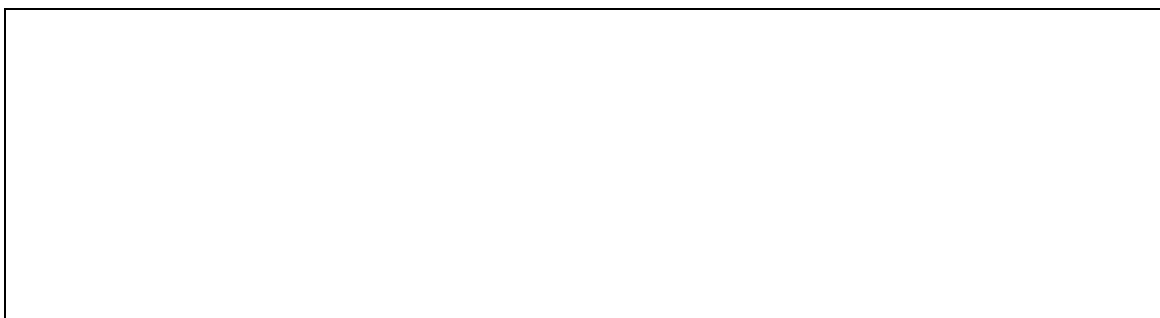
Blauwalgdominantie** : JA/NEE _____
Kenmerken dominantie : _____ (vlokken, bolletjes etc.)
Windsterkte : _____
Weer : _____ (regen, bewolkt, zonnig)
Weer voorafgaande week : _____
Opmerkingen : _____ (bijv. dode vis/vogels, aantal zwemmers etc.)

*: **Drijfslaag** Aaneengesloten laag van algen waar je niet of nauwelijks doorheen kunt kijken met een minimale oppervlakte van 1m².
: **Blauwalgdominantie Zichtbare dominantie van de blauwalgen in de waterkolom in de vorm van groene klontjes of vlokjes.

VELDMETINGEN

Zichtdiepte (cm) : _____
Watertemperatuur (°C) : _____
pH : _____
Zuurstof (optioneel) : _____
Dia- of foto (no.) : _____

Locatieschets (geef op de schets de drijfslaag of de zone met blauwdominantie duidelijk aan):



BIJLAGE 3 WERKVOORSCHRIFT BLAUWALGENANALYSE

Als basis voor dit document is gebruik gemaakt van het voorschrift:

Kwaliteit van water - Richtlijn voor het tellen van fytoplankton met behulp van omgekeerde microscopie
(Utermöhl-techniek), NEN-EN 15204: 2006

1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De analyse is gericht op het kwalitatief en kwantitatief bepalen van potentieel toxische en drijfslaagvormende blauwalgen in oppervlaktewater.

2. BEGINSEL

Uit een geconserveerd monster wordt kwantitatief een te analyseren volume genomen. Nadat dit volume in een bezinkingscuvet is bezonken, worden met behulp van een omgekeerd microscoop aan de hand van een analyse protocol en determinatieliteratuur de blauwalgen geteld en benoemd tot op het vereiste taxonomische niveau. Hierbij worden de afzonderlijke cellen geteld. Bij draden en kolonies waarvan het exacte aantal cellen moeilijk te tellen is, wordt een zo goed mogelijke schatting van het aantal cellen gemaakt.

3. CHEMICALIËN

Ten behoeve van de blauwalgenanalyse worden de volgende chemicaliën gebruikt:

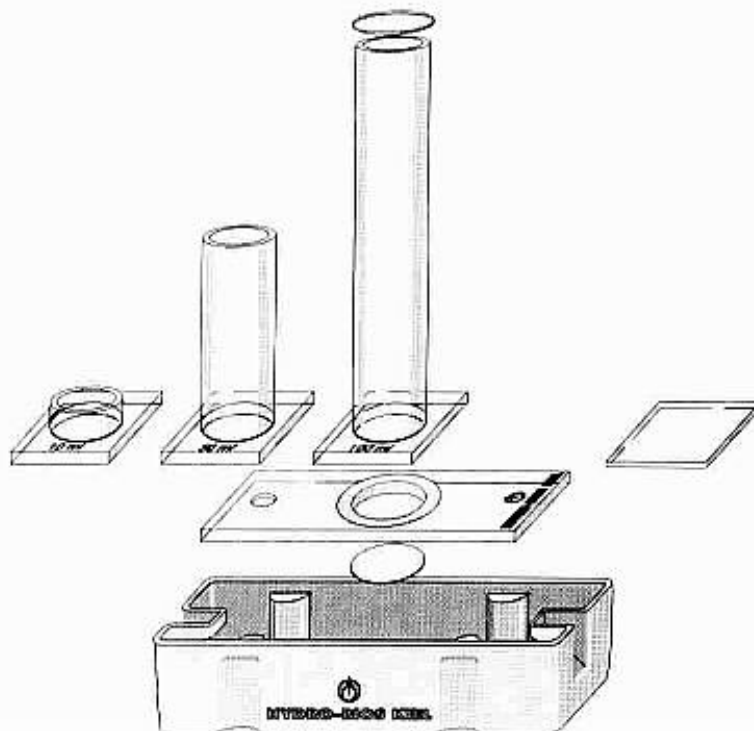
- Formaldehyde 37%
- Basische Lugol (verzadigde oplossing), gemaakt volgens onderstaand recept

Recept Lugol-oplossing

- Los 10 gr KJ op in 20 ml demiwater
- Voeg 5 gr J₂ toe en los op
- Vul dit aan met 50 ml demiwater waarin 5 gr NaAc is opgelost. Deze oplossing is in een donkere glazen fles na opening 1 jaar houdbaar.

4. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

- Automatische pipet met afgezaagde, gekalibreerde pipetpunten
- Bezinkingscuvetten (zie figuur 1)
- Centrifuge
- Dekglazen cat. 1, 48 X 48 mm
- Flesjes van 30 ml, polystyrene met schroefdop en inlage
- Meetoculair
- Omgekeerd microscoop
- Pipetten (glashelder polystyreen)
- Raster van 10 x 10 hokjes
- Schudmachine



Figuur 1. Bezinkingscuvet en bezinkingstelkamer

5. WERKWIJZE

5.1 Ingangscontrolle

De oppervlaktewatermonsters welke op het laboratorium worden aangeboden zijn direct na bemonstering in het veld geconserveerd met 5 ml Lugol per 1 liter monster. Controleer bij binnenkomst of de Lugol niet is geoxideerd: het monster moet cognackleurig zijn. Voeg zonodig Lugol toe tot de cognackleur is bereikt. Teken op de monsterpot aan indien Lugol is toegevoegd.

Controleer of de monsterpot niet te vol is afgevuld: houdt een gemiddelde van 90% van het totale volume aan. De inhoud kan dan goed worden gehomogeniseerd. Als de pot zo vol is afgevuld dat dit het schudden belemmert dient dit genoteerd te worden en als dit vaak voorkomt dient dit gemeld te worden aan de bemonsteringscoördinator.

Als de pot te vol is afgevuld moet de pot zo goed mogelijk worden gehomogeniseerd. Haal vervolgens een zodanige hoeveelheid monster uit de pot dat het resterende monster op de juiste wijze kan worden geschud.

Bewaar de monsters, maximaal een half jaar, in de koelcel bij een temperatuur van 5 ± 3 °C.

5.2 Inzetten

5.2.1 Ruimte

Werk bij het inzetten van de monsters zoveel mogelijk onder de volgende omstandigheden:

- Werk in een ruimte waar de Lugoldamp kan worden afgezogen. Lugol is niet schadelijk bij lage concentraties maar heeft een sterke geur.
- De bezinkingstafel moet waterpas en trillingsvrij zijn.
- De temperatuur moet zo constant mogelijk zijn (zie onder).

5.2.2 Temperatuur

Het is heel belangrijk dat alle materialen tijdens het inzetten dezelfde temperatuur hebben. Als er wordt gewerkt met materialen die allemaal een verschillende temperatuur hebben zal het monster in het bezinkingscuvet niet homogeen uitzakken. Zorg ervoor dat:

- Het monster 2 dagen is geacclimatiseerd bij de bezinkingstemperatuur in de zuurkast.
- De verdunde Lugol (water met enkele druppels Lugol tot cognackleur), de preparaten en de pipetpuntjes op bezinkingstemperatuur zijn.
- Er zo min mogelijk warmte-overdracht via de handen plaatsvindt.
- De verdunde Lugol na het inzetten van de monsters direct wordt aangevuld, zodat het bij het volgende gebruik de bezinkingstemperatuur heeft.
- De preparaten na de bezinking worden gecontroleerd.

5.2.3 Algemene inzetmethode

Controleer of het monster in de monsterpot goed (zichtbaar) uitgezonken is. Is dit niet het geval dan kan het zijn dat er (veel) 'drijvende' algen aanwezig zijn. In dit geval moet bij inzetten het aantal niet-gesedimenteerde algen beoordeeld worden door controle van de bovenstaande vloeistof.

Codeer met behulp van een etiket de bodemplaat van de telkamer. Neem hiervoor de gegevens over van de monsterpot. Noteer op de tellijst of het monster ontkleurd is (geweest) voordat het monster werd ingezet.

Het in te zetten volume kan gerelateerd worden aan de hoeveelheid detritus en aan de historische inzetlijst. Hierop staat vermeld:

- lokatie
- bemonsteringsdatum
- eventueel chlorofyl gehalte
- ingezet volume
- aantal getelde beeldvelden
- determinatiedatum
- analist

Streef ernaar zoveel monster in te zetten dat bij een vergroting van 600x zich per rasterbeeldveld gemiddeld niet meer dan 5 waarnemingen³⁾ bevinden.

Indien een monster 'weinig' fytoplankton bevat wordt er maximaal 10 ml monster ingezet. Bevat een monster daarentegen 'veel' fytoplankton, maak dan gebruik van de automatische pipet zodat een kleiner volume ingezet kan worden.

Homogeniseer het monster zolang op de schudmachine dat 100 tot 200 omwentelingen zijn gerealiseerd (Sournia, 1978). Schud langer bij de aanwezigheid van veel detritus, de algen komen dan los van het detritus.

Neem een bezinkingscuvet en plaats het opzetstuk van 10 ml. op de bodemplaat, welke zich op het opvangbakje bevindt. (zie figuur 1). Druk het opzetstuk stevig op de bodemplaat, en zet het monster in volgens onderstaande aanwijzingen

Laat het monster gedurende 3 uur per cm cuvethoogte bezinken (Jones, 1979).

5.2.4 Inzetten van 10 ml

Druk het opzetstuk stevig op de bodemplaat en vul het opzetstuk met het homogene monster. Zorg dat er een bollemeniscus op het inzetstuk staat.

Sluit het opzetstuk door een rond afdekglasje luchtblvrij op het opzetstuk te schuiven.

Verwijder na de bezinkingstijd de bovenstaande vloeistof door het opzetstuk naar de zijde met het gat te schuiven.

Sluit het cuvet door een vierkant dekglas luchtblvrij op het cuvet te schuiven.

Laat het opzetstuk langzaam leeglopen door het ronde afdekglas voorzichtig te verwijderen. Het monster is nu gereed voor determinatie.

5.2.5 Inzetten van een volume kleiner dan 10 ml

Controleer in het algemeen logboek voor fytoplankton of de automatische pipet gecallibreerd is en voldoet aan de gestelde eisen.

Pipetteer met de pipet met een afgezaagde gecallibreerde pipetpunt een hoeveelheid (zie tabel 1) van het homogene monster op.

³⁾ Waarneming: een waarneming is de alg zoals je deze ziet in de telkamer; als gehele of gedeeltelijke kolonie, als celdraad of als een meercellig fragment, als losse cel, als coenobium of een gedeelte ervan.

Tabel 1. Inzetten monster met een volume kleiner dan 10 ml.

Aantal Lugol	ml verdund	Aantal ml monster	Eindtotaal (ml) monster bij gebruik van 10 ml opzetstuk
	10	10	5
	12	8	4
	14	6	3
	16	4	2
	18	2	1
	19	1	0.5

Pipetteer het monster in een buisje met schroefdop van 30 ml.

Voeg aan het gepipetteerde monster verdunde Lugol (water met enkele druppels Lugol tot cognackleur) toe met behulp van een automatische pipet, zodat het totaal volume op 20 ml komt (zie tabel 3).

Homogeniseer het verdunde monster met de hand en zet het zojuist verdunde monster verder in volgens de methode als boven beschreven.

5.2.6 Controle bovenstaande vloeistof

Controleer de bovenstaande vloeistof op "niet uitgezonken" algen wanneer:

- de algen in de monsterpot niet gesedimenteerd zijn gedurende de opslag in de koelcel (visueel waarneembaar).
- er historische of andere aanwijzingen zijn omtrent problemen met een specifiek monsterpunt.
- er andere aanwijzingen zijn betreffende informatie van de opdrachtgever
- algen los boven de bodem van het bezinkingspreparaat zweven. Dit is met behulp van een 200x vergroting of een binoculair microscoop goed te zien

Wanneer de drijvende algen blauwalgen met gasvacuolen betreffen, kunnen deze vacuolen 'geklapt' worden met behulp van een injectiespuit. Hierbij wordt een plastic injectiespuit met het monster gevuld en wordt de zuiger met een harde klap tegen een vaste ondergrond geslagen onder gelijktijdig dichthouden van de uitstroom opening. Door de acute drukverhoging raken de gasvacuolen beschadigd en verliezen de blauwalgen hun drijfvermogen.

5.2.7 Controle ingezette monster

Controleer voor het determineren het monster met behulp van een binoculair microscoop om te zien of de algen homogeen verdeeld zijn in de telkamer. Is de verdeling niet goed doordat bijvoorbeeld de algen aan één kant liggen of dat er relatief te veel detritus aanwezig is waarin de algen ingevangen zitten, zet dan het monster opnieuw in. Homogeniseer het monster dan bij een hogere schudsnelheid (stand 10).

Het beoordelen of de algen wel of niet goed verdeeld zijn is gebaseerd op 'expert judgement'. Laat bij twijfel een andere analist mede beoordelen. Maak hiervan een aantekening in het dagelijks logboek fytoplankton.

5.3 ANALYSE

5.3.1 Algemeen

De integrale analyse is gericht op een betrouwbare dichtheidsbepaling van de belangrijkste geslachten uit de groep van de blauwalgen. Grote en relatief schaarse soorten worden geteld in een groot volume bij een zwakke vergroting. Kleine en relatief talrijke soorten worden geteld in een klein volume bij sterke vergroting (zie tabel 2).

Tabel 2. Relatie cel (kolonie) grootte met de vergroting

omvang individu	abundantie individu	volume deelmonster	vergroting
groot	laag	groot	10x20
groot	middelmatig	middelmatig	10x20 of 10x63
klein	middelmatig	middelmatig	10x63
klein	hoog	klein	10x63

Voor de analyse worden minimaal 10 beeldvelden onderzocht en maximaal een hele cuvet.

5.3.2 Determinatie

Er dient te worden gedetermineerd tot op geslachtsniveau. Alleen de blauwalgen *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* en *Planktothrix* worden geteld.

5.3.3 Draadvormige algen en kolonies tellen

Maak bij draadvormige algen en kolonies waarvan het exacte aantal cellen moeilijk te tellen is, een schatting van het aantal cellen.

Uitgangspunt bij kolonies is het aantal cellen per rasterdeel (dit is één hokje van het 10 x 10 raster).

Tel bij draadvormige algen voor elk voorkomend taxon in minimaal 4 (fragmenten van) draden het aantal cellen overeenkomend met in totaal 400 µm, en per fragment maximaal 100 µm. Vervolgens wordt de draadlengte van het te tellen taxon bepaald door de lengte te schatten op basis van een rasterdeel. Met deze gegevens kan aan het eind van de determinatie het aantal cellen worden berekend.

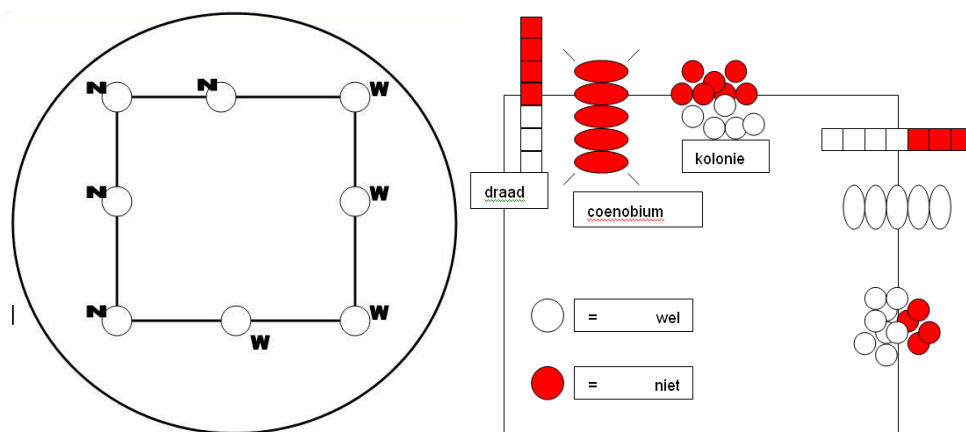
Indien het aantal of de grootte van kolonies en draadvormige algen van belang zijn, dient dit apart te worden bepaald en in een specifiek protocol worden vastgelegd. Dit dient veelal bij een lagere vergroting (200 X) te worden uitgevoerd.

5.3.4 Telstrategie voor cellen op de rand van het telraster

Tel cellen die op de rand van het telraster liggen (volgens figuur 2). Dit geldt voor losse cellen en cellen die deel uitmaken van een coenobium, kolonie of draad.

Voor coenobia geldt deze strategie voor het al dan niet meetellen van het gehele coenobium. Voor kolonies en draadvormige algen geldt dat alleen de cellen in het beeldveld worden geteld; de cel die op de rand ligt wordt al dan niet geteld volgens figuur 2. De cellen van een kolonie of draad die geheel buiten het telraster liggen worden niet meegeteld.

Indien cellen slecht te onderscheiden zijn wordt gewerkt op basis van de lengteschatting van het draadvormiggedeelte binnen het rasterfeld.



Figuur 2. Meetellen van 'randgevallen': W = wel, N = niet). De figuur is van toepassing op het tellen van cellen van kolonies en draden.

5.3.5 Conservering voor lange termijn opslag van monsters

Werk met 37% formaldehyde in de zuurkast met handschoenen aan. Een voor de gezondheid schadelijke concentratie in de lucht kan door verdamping van de stof bij 20 °C vrij snel worden bereikt (Mac-waarde 1.5 mg m⁻³). Er mag op het moment dat er gewerkt wordt met formaldehyde geen zoutzuur in de zuurkast aanwezig zijn. Formaldehyde reageert met zoutzuur onder vorming van het zeer giftige bis(chloormethyl)ether. Raadpleeg zonodig tabel 5.

- Meng de monsterfles op de schudmachine (zie boven).
- Doe hierna zo snel mogelijk 25 tot 27 ml van het monster in een flesje van 30 ml.
- Voeg hierbij 3 ml formaldehyde 37 %, en sluit het flesje.
- Voorzie het flesje van een etiket met daarop de locatie, de bemonsteringsdatum en het labinfosnr.
- Sla de monsters op in de koelcel en vermeldt dat er 5% formaldehyde in de potjes zit

6. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

De analyseresultaten worden aan de hand van onderstaande formule omgerekend naar aantal cellen per ml:

$$A = \frac{\frac{B}{C} * D}{E}$$

waarbij:

- A = het aantal cellen per ml.
- B = het aantal gevonden cellen per taxon.
- C = het aantal beeldvelden.
- D = factor (=oppervlakte telkamer gedeeld door oppervlakte van een beeldveld.)
zie voor het vaststellen en berekenen W 7100 2.014
- E = het aantal ml monster dat ingezet is.

7. LITERATUUR

Jones J.G., 1979. A guide to methods for estimating microbial numbers and biomass in fresh water. Freshwater Biological Association, Scientific Publication 39.

Sournia, A. (ed.), 1978. Phytoplankton manual. Unesco, Paris.

Utermöhl H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplanktonmethodik. Mitt. Int. Ver. Limnol. (9): 1-39.