

DNA-DETECTIE TOEGEPAST BIJ BEHEER ZWEMWATER

Zwemwater in de open lucht wordt in Nederland streng gecontroleerd op blauwalgen en fecale bacteriën. KWR zette met enkele partners een belangrijke stap in de analyse van zwemwater: identificatie en tellingen van blauwalgen en fecale bacteriën met DNA-technieken. Vanaf nu kunnen blauwalgen snel en nauwkeurig worden aangetoond, en van fecale bacteriën kan worden vastgesteld uit welke dieren ze afkomstig zijn.

Nederland heeft ongeveer 670 natuurlijke zwemwaterlocaties, waarvan de meeste in het binnenland (er zijn circa 220 officiële locaties langs de kust). Zwemwater moet voldoen aan de Zwemwaterrichtlijn (EU, 2006). Het sluiten van locaties of het afgeven van negatieve zwemadviezen gebeurt meestal vanwege blauwalgen (cyanobacteriën). Die kunnen in voedselrijk water (fosfaat) bij warm weer overmatige bloei vertonen, waarbij sommige soorten giftige stoffen produceren. Ook hoge concentraties aan fecale bacteriën – indicatief voor ziekteverwekkers – kunnen aanleiding zijn tot maatregelen. Bronnen van fecale bacteriën zijn poep van bijvoorbeeld vogels, recreanten, koeien en honden.

Voor blauwalgen en fecale bacteriën gelden strenge normen. De gangbare methodes om deze organismen aan te tonen zijn omslachtig en kosten relatief veel tijd. KWR Wateronderzoek heeft de afgelopen jaren gewerkt aan DNA-methoden die routinematig toepasbaar zijn en snel resultaat opleveren. Hierbij is gebruik gemaakt van de kwantitatieve PCR methode (qPCR), gebaseerd op de polymerase kettingreactie (PCR). Hiermee kan een DNA-fragment van een organisme snel in hoge aantallen worden verkregen. De oorspronkelijke concentratie van het betreffende organisme kan worden afgeleid uit het moment dat het specifieke DNA-fragment tijdens de vermenigvuldiging wordt gedetecteerd.

QPCR VOOR BLAUWALGEN

Op basis van het Blauwalgenprotocol (2012) wordt zwemwater in het seizoen minstens tweewekelijks geïnspecteerd. Bij onraad worden monsters genomen. Er is veel kennis en ervaring nodig om blauwalgen onder een microscoop te herkennen en te tellen. Daardoor is lastig om de methode uniform te krijgen.

Vanaf 2009 zijn er qPCR-methoden ontwikkeld voor de vier meest voorkomende geslachten die toxines kunnen produceren: Microcystis, Planktothrix, Anabaena en Aphanizomenon. De methoden maken gebruik van het gen voor fycocyanine dat in alle blauwalgen aanwezig is, maar dat van soort tot soort verschilt. Fycocyanine is het pigment dat bij algenbloei voor de typische cyaanblauwe kleur zorgt.

In het Blauwalgenprotocol wordt ook Woronichinia genoemd, een geslacht dat vooral in stadswateren voorkomt. Deze blauwalg is bijna niet te kweken in het laboratorium, en er is vrijwel niets bekend over het DNA. In 2013 verzamelde KWR watermonsters, selecteerde circa 90 Woronichinia-kolonies en analyseerde het DNA van het fycocyaninegen. Met deze kennis was het mogelijk ook voor Woronichinia een qPCR-methode te ontwikkelen.

In een samenwerkingsverband tussen KWR en Intertek Life Sciences in Geleen zijn de qPCR-methoden toepasbaar gemaakt voor routinematige analyse. In 2013 bleken microscopische tellingen van blauwalgen en qPCR-resultaten in 95 procent van de gevallen (293 van de in totaal 306 monsters) tot een gelijke inschatting van het gezondheidsrisico van zwemwater te leiden.

QPCR VOOR FECALE BACTERIËN

Tot nu toe worden fecale bacteriën aangetoond door watermonsters te analyseren op *E. coli* en enterococci, bacteriën die voorkomen in darmen van alle warmbloedige dieren. Ze zijn zelf, over het algemeen, niet pathogeen, maar wijzen op de mogelijke aanwezigheid van andere fecale ziekteverwekkers in het water.

Elke diersoort heeft een eigen darmflora. Om de herkomst van de fecale bacteriën in het zwemwater te achterhalen zijn voor de voornaamste bronnen – mensen, vogels, varkens, koeien of herkauwers als groep (onder andere schapen, herten) – typerende bacterietypen uit de darmflora geïdentificeerd. Met qPCR kan worden bepaald of deze bacterietypen in het water aanwezig zijn en dus of het water feces bevat van één van deze groepen. Voor honden lukte dit niet en is gekozen voor een merker op basis van honden-DNA. Dit is mogelijk doordat uitwerpselen altijd ook darmepitheelcellen bevatten.

In 2012 en 2013 zijn tijdens het zwemseizoen watermonsters geanalyseerd van 19 zwemwaterlocaties die bij Rijkswaterstaat in beheer zijn. Bijna overal bevatte het water feces van vogels, wat klopte met vogelwaarnemingen ter plekke. Op een aantal locaties werden fecale bacteriën van mensen aangetoond. Meestal was de oorzaak aanwijsbaar: intensieve recreatie, recreatievaart (jachthavens), beroepsvaart. Soms was er een riooloverstort of een rioolwaterzuivering in de nabijheid.

Op een aantal locaties bevatte het zwemwater fecale bacteriën van koeien. Dit kan bijvoorbeeld komen doordat boerensloten in de buurt van de zwemwaterlocatie uitmonden. Honden waren op drie locaties een bron van betekenis.

De hoogste concentratie hondspecifieke merkers werd aangetroffen nabij een strand dat wordt geëxploiteerd als 'hondenstrand'.

Bart Wullings
Leo Heijnen
Kimberly Learbuch
Edwin Kardinaal e.a.
(KWR Water)

Op H2O-Online zijn twee artikelen gepubliceerd over dit onderwerp. Ze zijn te lezen door gebruik te maken van de QR-codes of te kijken op www.vakbladh2o.nl

Artikel 1



Artikel 2



SAMENVATTING

Zwemwater in de open lucht wordt in Nederland goed gecontroleerd op het voorkomen van blauwalgen en fecale bacteriën. Blauwalgen kunnen gifstoffen produceren, en vormen daarom bij grote dichtheid in zwemwater een gezondheidsrisico. Dat gebeurt vooral bij warm weer en in voedselrijk water (fosfaat). KWR heeft in de afgelopen jaren nieuwe kwantitatieve DNA-detectiemethoden (qPCR) ontwikkeld voor de vijf meest voorkomende boosdoeners onder de blauwalgen. qPCR is in 2013 succesvol routinematig toegepast op ruim 300 veldmonsters. qPCR is ook gebruikt om de herkomst van feces in zwemwater te onderzoeken. Met DNA-merkers bleek het mogelijk om verschillende bronnen te onderscheiden: mensen, vogels, honden, varkens, koeien en andere herkauwers. Het water van bijna alle locaties bevatte fecale bacteriën van watervogels; in ongeveer de helft werden darmbacteriën van mensen aangetroffen.