

RIVM rapport 330400001/2006

**Pathogene micro-organismen in zwemwater in
relatie tot indicatoren voor fecale
verontreiniging**

F.M Schets, H.H.J.L. van den Berg, W.J. Lodder,
A.E. Docters van Leeuwen, A.M. de Roda
Husman

Contact:

F.M. Schets

Microbiologisch Laboratorium voor Gezondheidsbescherming
ciska.schets@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van Directoraat Generaal Milieubeheer,
Directie Bodem, Water en Landelijk gebied in het kader van project M/330400
Recreatiewater, kennisvraag Implementatie herziening Europese Zwemwaterrichtlijn.

RIVM, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven, telefoon: 030 - 274 91 11; fax: 030 - 274 29 71

Het rapport in het kort

Pathogene micro-organismen in zwemwater in relatie tot indicatoren voor fecale verontreiniging volgens de herziene Europese Zwemwaterrichtlijn

In zwemwater wat voldeed aan de normen voor microbiologische kwaliteit uit de huidige Zwemwaterrichtlijn 76/160/EEG werden micro-organismen aangetroffen die infectieziekten zoals gastro-enteritis of oorontsteking kunnen veroorzaken. Op basis van de strengere normen uit de herziene Zwemwaterrichtlijn 2006/7/EC werd de kwaliteit van dit zwemwater minder gunstig beoordeeld.

Op twee officiële Nederlandse zwemlocaties, Katwijk-Noord en Vinkeveenseplassen (bij eiland 1), is de aanwezigheid van (potentieel) pathogene micro-organismen onderzocht en gerelateerd aan de huidige en de herziene Europese zwemwaternormen; voor de parameters uit de herziene Zwemwaterrichtlijn werden twee verschillende (toegestane) detectiemethoden toegepast.

De ziekteverwekkende micro-organismen *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio*, *Cryptosporidium* en *Giardia* werden op beide locaties aangetroffen. *Campylobacter* werd niet gevonden bij Katwijk-Noord, maar wel in de Vinkeveenseplassen. *Salmonella*, norovirus en enterovirus werden op geen van beide locaties aangetroffen, terwijl rotavirus eenmaal bij Katwijk-Noord en adenovirus eenmaal in de Vinkeveenseplassen werd aangetoond.

Volgens de huidige Zwemwaterrichtlijn was de waterkwaliteit bij Katwijk-Noord 'uitstekend' en in de Vinkeveenseplassen 'goed'. Voor de parameters uit de herziene Zwemwaterrichtlijn bestond er verschil in beoordeling bij gebruik van de verschillende methoden: op basis van membraanfiltratie was de waterkwaliteit bij Katwijk-Noord 'goed', terwijl deze op basis van Most Probable Number (MPN) resultaten 'aanvaardbaar' was. De zwemwaterkwaliteit in de Vinkeveenseplassen werd op basis van beide methoden als 'slecht' beoordeeld.

Er zijn aanwijzingen verkregen dat de beoordeling van de waterkwaliteit op Nederlandse zwemlocaties volgens de herziene Zwemwaterrichtlijn afhankelijk is van de toegepaste detectiemethode (membraanfiltratie of MPN). Het voldoen aan de Europese Zwemwaterrichtlijn garandeert niet de afwezigheid van voor de mens ziekteverwekkende micro-organismen in zwemwater.

Trefwoorden: Europese Zwemwaterrichtlijn, waterkwaliteit, pathogenen, indicatoren

Abstract

Pathogenic micro-organisms in bathing water related to faecal indicators according to the revised European Bathing Water Directive

Micro-organisms possibly causing infectious diseases such as gastroenteritis or inflammation of the ear were detected in bathing water that complied with the current European Bathing Water Directive 76/160/EEG. On the basis of the stricter guidelines in the revised Bathing Water Directive 2006/7/EC, the quality of these bathing waters was assessed as being less favourable. In this study, the presence of pathogenic micro-organisms was related to the current and revised European bathing water guidelines at two official bathing sites in the Netherlands, Katwijk-Noord and Vinkeveenseplassen (island 1). Indicator parameters in the revised Bathing Water Directive were analysed by using two different (permitted) detection methods. The (potentially) pathogenic micro-organisms *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio*, *Cryptosporidium* and *Giardia* were detected at both sampling sites. *Campylobacter* was not found at Katwijk-Noord, but was detected at Vinkeveenseplassen. *Salmonella*, norovirus and enterovirus were not detected at either site, whereas rotavirus was detected once at Katwijk-Noord and adenovirus once at Vinkeveenseplassen. According to the current Bathing Water Directive, water quality was 'excellent' at Katwijk-Noord and 'good' at Vinkeveenseplassen. The use of different methods for detecting the revised Bathing Water Directive parameters resulted in deviant assessments of water quality. Based on membrane filtration results, water quality at Katwijk-Noord was rated 'good', whereas on the basis of Most Probable Number (MPN) results it was 'acceptable'. Bathing water quality at Vinkeveenseplassen was assessed 'poor' by either method. The assessment of bathing water quality at Dutch bathing sites was, according to the revised Bathing Water Directive, indicated as being dependent on the detection method used for faecal indicators. Compliance with the European bathing water guidelines does not guarantee the absence of human pathogenic micro-organisms in water.

Key words: European Bathing Water Directive, water quality, pathogens, indicators

Inhoud

Samenvatting	5
1. Inleiding	7
1.1 De Europese Zwemwaterrichtlijn	7
1.2 Herziening Europese Zwemwaterrichtlijn	7
1.3 Microbiologische indicator parameters in de Europese Zwemwaterrichtlijn	8
1.4 Enumeratie van indicator parameters	9
1.5 Pathogene micro-organismen in zwemwater	10
1.6 Onderzoek in 2005	11
2. Materiaal en Methoden	12
2.1 Monsterlocaties	12
2.2 Monsterneming	12
2.3 Analyses	12
2.4 Onderzoek relatie oorklachten en aanwezigheid <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
3. Resultaten	17
3.1 Indicatoren voor fecale verontreiniging	17
3.2 Pathogene micro-organismen	19
3.3 Relatie oorklachten en aanwezigheid <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
4. Discussie	21
5. Conclusies	24
Dankwoord	24
Literatuur	25
Bijlage 1 Brief aan huisartsen	28
Bijlage 2 Vragenlijst voor huisartsen	29
Bijlage 3 Ruwe data	30

Samenvatting

Om de volksgezondheid te beschermen tegen mogelijke risico's als gevolg van zwemmen in oppervlaktewater trad in 1976 de Europese Zwemwaterrichtlijn 76/160/EEG in werking. In februari 2006 is de herziene Zwemwaterrichtlijn 2006/7/EC, die de richtlijn uit 1976 zal gaan vervangen, gepubliceerd. De microbiologische parameters uit richtlijn 76/160/EEG, totale coliformen, fecale coliformen en fecale streptococci, zullen bij inwerkingtreding van de herziene richtlijn vervangen worden door de parameters intestinale enterococci en *Escherichia coli*. De nieuwe parameters geven een betere koppeling tussen fecale verontreiniging van zwemwater en gezondheidseffecten dan de huidige parameters, maar ook voor de nieuwe parameters lijkt er geen eenduidige relatie met de aanwezigheid van pathogene micro-organismen in het water te bestaan. In zwemwater wat op basis van fecale indicatoren aan de Europese normen voldoet, zouden toch pathogene micro-organismen, die ziekten zoals gastro-enteritis en oorontsteking veroorzaken, aanwezig kunnen zijn.

In de zomer van 2005 is op twee officiële Nederlandse zwemlocaties, Katwijk-Noord (zoutwater) en de Vinkeveenseplassen bij eiland 1 (zoetwater), onderzoek naar de aanwezigheid van (potentieel) pathogene micro-organismen gedaan. De aan- of afwezigheid van pathogene micro-organismen werd gerelateerd aan de aan- of afwezigheid van de fecale indicatoren uit zowel de huidige als de herziene Europese Zwemwaterrichtlijn, bovendien werden voor de parameters uit de herziene Zwemwaterrichtlijn zowel membraanfiltratie als MPN-methoden toegepast. Beide methoden worden in de herziene Zwemwaterrichtlijn voorgeschreven en mogen naar keuze worden toegepast. In deze studie zijn minder metingen per locatie uitgevoerd (n=6) dan er normaliter gedurende een badseizoen in het kader van de huidige Zwemwaterrichtlijn uitgevoerd worden (n=11-12). Bovendien zijn per locatie zes in plaats van 16 waarnemingen getoetst aan de normen uit de herziene Zwemwaterrichtlijn en werden geen waarnemingen uit voorgaande badseizoenen meegenomen omdat dergelijke gegevens niet aanwezig waren.

Alle monsters op beide locaties voldeden aan de richtwaarden voor de parameters uit de huidige Zwemwaterrichtlijn, maar de streefwaarden voor totale en fecale coliformen werden in enkele monsters uit de Vinkeveenseplassen bij eiland 1 overschreden. De waterkwaliteit bij Katwijk-Noord werd als 'uitstekend' beoordeeld, terwijl deze op locatie Vinkeveenseplassen bij eiland 1 als 'goed' beoordeeld werd.

Voor de parameters uit de herziene Zwemwaterrichtlijn bestond er verschil tussen het aantal positief gevonden monsters met de verschillende methoden alsook in de met deze methoden gedetecteerde aantallen. Als gevolg hiervan resulteerde toetsing van de membraanfiltratie data aan de criteria uit de herziene Zwemwaterrichtlijn volgens de daarin voorgeschreven toetsingsmethodiek in de beoordeling 'goed' voor locatie Katwijk-Noord, terwijl toetsing van de MPN-data resulteerde in de beoordeling 'aanvaardbaar'. De zwemwaterkwaliteit op locatie Vinkeveenseplassen bij eiland 1 werd zowel op basis van de membraanfiltratie data als op basis van de MPN-data als 'slecht' beoordeeld.

In zwemwater wat voldeed aan de normen voor microbiologische kwaliteit uit de huidige Zwemwaterrichtlijn 76/160/EEG werden (potentieel) pathogene micro-organismen

aangetroffen. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio*, *Cryptosporidium* en *Giardia* werden op beide locaties aangetroffen. *Campylobacter* werd niet gevonden bij Katwijk-Noord, maar wel in de Vinkeveenseplassen bij eiland 1. *Salmonella*, norovirus en enterovirus werden op geen van beide locaties aangetroffen. Rotavirus werd in één monster, genomen bij Katwijk-Noord, aangetoond terwijl adenovirus eenmaal in de Vinkeveenseplassen werd aangetoond. Hiermee werd bevestigd dat de indicatoren voor fecale verontreiniging uit deze richtlijn onvoldoende informatie geven over de aanwezigheid van pathogene micro-organismen en de bader onvoldoende bescherming bieden tegen infectieziekten zoals gastro-enteritis, oorontsteking en wondinfecties. Op basis van de strengere normen uit de herziene Zwemwaterrichtlijn werd zwemwater wat aan de eisen uit de huidige Zwemwaterrichtlijn voldeed, minder gunstig beoordeeld. Deze beoordeling lijkt beter te relateren aan de aanwezigheid van pathogene micro-organismen.

Uit deze studie, die echter slechts op twee locaties werd uitgevoerd, worden aanwijzingen verkregen dat de beoordeling van de waterkwaliteit op Nederlandse zwemlocaties afhankelijk is van de toegepaste detectiemethode (membraanfiltratie of MPN) voor de parameters uit de herziene Zwemwaterrichtlijn. In een vervolgstudie in Nederland dienen deze aanwijzingen uitgebreider onderzocht te worden zodat een goed onderbouwde keuze voor een methode (mogelijk per parameter of watertype) gemaakt kan worden.

1. Inleiding

1.1 De Europese Zwemwaterrichtlijn

Zwemmen in oppervlaktewater kan als gevolg van een onvoldoende waterkwaliteit negatieve effecten op de gezondheid van de zwemmer hebben (Gezondheidsraad, 2001; Schets en De Roda Husman, 2004, 2005a; Craun *et al.*, 2005). Vervuiling van oppervlaktewater is tevens ongunstig voor het milieu. In 1976 trad de Europese Zwemwaterrichtlijn 76/160/EEG (Anonymous, 1976) in werking met als doel verbetering van de waterkwaliteit alsmede bescherming van de volksgezondheid tegen mogelijke risico's ten gevolge van zwemmen in oppervlaktewater. Aan alle EU lidstaten werd opgelegd de kwaliteit van het water op officiële zwemlocaties te monitoren en te voldoen aan de in de richtlijn gestelde kwaliteitseisen. De microbiologische parameters totale coliformen en fecale coliformen dienen met een tweewekelijks interval gemeten te worden, terwijl fecale streptococci, *Salmonella* en enterovirussen slechts gemeten hoeven te worden indien het vermoeden bestaat dat deze op de betreffende zwemlocatie aanwezig zijn.

1.2 Herziening Europese Zwemwaterrichtlijn

De Commissie van de Europese Gemeenschappen is al jaren bezig met de voorbereiding van een herziene Zwemwaterrichtlijn die de richtlijn uit 1976 zal gaan vervangen (Anonymous, 2002a). Het is de bedoeling een richtlijn op te stellen die gebaseerd is op de huidige kennis en ervaring met betrekking tot de bescherming van de volksgezondheid. Bovendien moet de nieuwe richtlijn verenigbaar zijn met de Kaderrichtlijn Water 2000/60/EG (Anonymous, 2000a). Deze richtlijn geeft aan dat een goede ecologische toestand van alle wateren nagestreefd dient te worden en dat de bevolking toegang moet hebben tot informatie aangaande deze wateren. Waterrecreatie bestaat tegenwoordig niet alleen meer uit zwemmen. Vele vormen van waterrecreatie, zoals windsurfen, waterskiën en kanoën, waarbij nauw contact met het water optreedt, hebben enorm aan populariteit gewonnen en worden veelvuldig beoefend. Daarom is besloten het toepassingsgebied van de herziene richtlijn uit te breiden. De nieuwe vormen van waterrecreatie worden niet opgenomen in de definitie van zwemwater, maar de herziene richtlijn geeft wel aan dat het geven van relevante voorlichting aan het publiek gewenst is. Voor locaties die zijn aangewezen als officiële zwemlocaties dient tevens een zwemwaterprofiel opgesteld te worden. Hierin worden fysische, geografische en hydrologische kenmerken van het zwemwater beschreven en worden alle potentiële verontreinigingsbronnen aangegeven. Naast het opstellen van zwemwaterprofielen betreft de herziening van de Zwemwaterrichtlijn met name veranderde microbiologische normstelling.

Over de herziene Zwemwaterrichtlijn is op 28 juni 2004 in de Milieuraad een politiek akkoord bereikt. Op 12 oktober 2005 is over deze herziene Europese Zwemwaterrichtlijn

overeenstemming bereikt tussen het Europese Parlement en de Europese Commissie (Anonymous, 2005). Dit werd in februari 2006 gevolgd door publicatie van de herziene richtlijn (Anonymous, 2006).

1.3 Microbiologische indicator parameters in de Europese Zwemwaterrichtlijn

Uit monitoring is gebleken dat microbiologische verontreiniging de grootste beperking is voor het bereiken van een goede zwemwaterkwaliteit. Indien 80 % van de monsters zwemwater genomen tijdens het badseizoen aan de grenswaarden voor de parameters uit Zwemwaterrichtlijn 76/160/EEG (Tabel 1) voldoet, bestaat er een gezondheidsrisico van 12 tot 15 % (Anonymous, 2002a). De microbiologische parameters uit Zwemwaterrichtlijn 76/160/EEG, totale coliformen, fecale coliformen en fecale streptococci zullen bij inwerkingtreding van de herziene richtlijn vervallen. In de herziene Europese Zwemwaterrichtlijn zullen intestinale enterococci en *Escherichia coli* als microbiologische parameters worden opgenomen. Uit een aantal grote epidemiologische studies is gebleken dat deze herziene parameters een betere koppeling geven tussen fecale verontreiniging van zwemwater en gezondheidseffecten dan de huidige parameters (Kay *et al.*, 1994; Fleisher *et al.*, 1996; Van Asperen *et al.*, 1998; Wiedenmann *et al.*, 2002). De normen die voor de nieuwe parameters zullen worden opgenomen zijn gebaseerd op deze studies waarin het verband tussen de kwaliteit van het zwemwater en het optreden van gezondheidsklachten (met name gastro-enteritis en acute febrile respiratory illness (AFRI)) is onderzocht.

Tabel 1 Normen voor indicatoren voor fecale verontreiniging opgenomen in Europese Zwemwaterrichtlijn 76/160/EEG

parameter	streefwaarde	richtwaarde
	kve*/ 100 ml	kve*/ 100 ml
totale coliformen	500	10.000
fecale coliformen	100	2000
fecale streptococci	100	

* kolonievormende eenheid

In de herziene Zwemwaterrichtlijn wordt onderscheid gemaakt tussen binnenwateren enerzijds en kust- en overgangswateren anderzijds, bovendien dienen per beoordelingsperiode 16 monsters per locatie in beschouwing genomen te worden. Deze bestaan uit één waarneming voorafgaand aan het badseizoen en minimaal vier waarnemingen tijdens het badseizoen aangevuld met waarnemingen uit voorgaande badseizoenen. Wanneer de 95 percentielscore van de waarnemingen op een zwemlocatie voldoet aan de voorgestelde grenswaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci (Tabel 2) is de kwaliteit van het

zwemwater volgens de richtlijn 'goed'. Wordt echter voldaan aan de richtwaarden voor deze parameters (Tabel 2), dan is de kwaliteit van het zwemwater 'uitstekend' en bedraagt het gezondheidsrisico 8 %. Bovendien wordt een klasse 'aanvaardbaar' ingesteld waarin de 90 percentielscore van de onderzochte monsters op een locatie aan de eisen (Tabel 2) moet voldoen en het gezondheidsrisico 11 % bedraagt.

Ondanks de verbetering die bij inwerking treden van de herziene Zwemwaterrichtlijn optreedt, is echter bekend dat ook de herziene indicatoren voor fecale verontreiniging de gezondheid van de zwemmer onvoldoende beschermen omdat er geen eenduidige relatie bestaat tussen de aanwezigheid van deze fecale indicatoren en de aanwezigheid van pathogene micro-organismen in het water (Wade *et al.*, 2003). In zwemwater wat op basis van de fecale indicatoren aan de Europese normen voldoet zijn mogelijk toch pathogene bacteriën, protozoa of virussen aanwezig.

Tabel 2 Normen voor indicatoren voor fecale verontreiniging opgenomen in de herziene Europese Zwemwaterrichtlijn 2006/7/EC

watertype	parameter	uitstekende kwaliteit kve*/100 ml	goede kwaliteit kve*/100 ml	aanvaardbare kwaliteit kve*/100 ml
binnenwateren	<i>Escherichia coli</i>	500**	1000**	900***
	intestinale enterococcen	200**	400**	330***
kustwateren en overgangswateren	<i>Escherichia coli</i>	250**	500**	500***
	intestinale enterococcen	100**	200**	185***

* kolonievormende eenheid

** beoordeling op 95-percentiel

*** beoordeling op 90-percentiel

1.4 Enumeratie van indicator parameters

Tellingen van micro-organismen in water zijn afhankelijk van de hiervoor gebruikte methoden; selectiviteit, specificiteit en rendement spelen een belangrijke rol. Het al of niet voldoen van de zwemwaterkwaliteit aan de eisen uit de Zwemwaterrichtlijn wordt dan ook beïnvloed door de gebruikte methoden. Om te komen tot een zo goed mogelijke vergelijkbaarheid van analyseresultaten gegenereerd door de verschillende laboratoria in Nederland, is het van belang dat monsterneming en analyses worden uitgevoerd volgens ISO, CEN of NEN normen. Voor de bepaling van intestinale enterococcen en *E. coli* is zowel een

membraanfiltratie (Anonymous, 2000b; Anonymous, 2000c) als een Most Probable Number (MPN) (Anonymous, 2000d; Anonymous, 2000e) methode beschikbaar. In de herziene Zwemwaterrichtlijn zullen beide methoden worden opgenomen; de controlerende laboratoria in de verschillende EU lidstaten kunnen per parameter kiezen welke analyse methode wordt toegepast.

Het is niet bekend hoe de huidige en herziene parameters zich tot elkaar verhouden en wat het overstappen op andere parameters betekent voor het al dan niet goedkeuren van de waterkwaliteit op zwemlocaties (Schets en De Roda Husman, 2005b). Tevens zijn onvoldoende gegevens beschikbaar over de toepasbaarheid van de herziene methoden; het is niet duidelijk of zowel membraanfiltratie als MPN-methoden gebruikt kunnen worden voor verschillende watertypen en of op deze manier eenduidige resultaten worden verkregen die resulteren in dezelfde beoordeling van de waterkwaliteit en indeling in de klassen uitstekend, goed, aanvaardbaar of slecht.

1.5 Pathogene micro-organismen in zwemwater

Campylobacter en *Salmonella* zijn belangrijke bacteriële veroorzakers van gastro-enteritis bij de mens. In Nederland werden van 1984 tot 2001 *Salmonella* Typhimurium en *Salmonella* Enteritidis het meest aangetroffen in humane klinische monsters (Van Duijkeren *et al.*, 2002). De voor de mens belangrijkste pathogene *Campylobacter* soorten zijn *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* en *C. upsaliensis* (Havelaar, 2001/2002). Ook noro-, entero-, rota- en adenovirussen veroorzaken hoofdzakelijk symptomen van gastro-enteritis, zoals diarree, braken en koorts. Wateroverdraagbare enterovirussen kunnen ook ernstigere klachten veroorzaken zoals hersenvliesontsteking (Hauri *et al.*, 2005). Naast gastro-enteritis kan een infectie met adenovirussen ook conjunctivitis en/of faryngitis tot gevolg hebben. *Cryptosporidium*, en *Giardia* zijn parasitaire veroorzakers van gastro-enteritis bij de mens (Fayer *et al.*, 2004). De voor de mens meest relevante soorten zijn *C. hominis*, *C. parvum* en *G. lamblia*. Oppervlaktewater kan op verschillende manieren besmet raken met deze veroorzakers van gastro-enteritis en andere infectieziekten. De belangrijkste besmettingsbron is rioolwater waarin deze micro-organismen door besmette personen worden uitgescheiden en wat al dan niet gezuiverd op het oppervlaktewater wordt geloosd. Andere bronnen voor microbiologische verontreiniging van oppervlaktewater zijn lozingen van ongezuiverd rioolwater door de beroepsvaart, de pleziervaart en woonboten. Bovendien kunnen directe fecale besmettingen door geïnfecteerde waterrecreanten en watersporters optreden (Craun *et al.*, 2005). Afspoeling van dierlijke mest en directe inbreng van dierlijke fecaliën kan ook een bron van besmetting van oppervlaktewater zijn (Medema *et al.*, 2001; Schijven *et al.*, 2004). Leden van het geslacht *Vibrio* komen van nature voor in mariene milieus en riviermondingen, maar ook in de ingewanden van mariene dieren (WHO, 2003). Van de 12 humaan pathogene *Vibrio*-soorten zijn *V. cholerae* (serogroep O1 of O139), *V. parahaemolyticus* en *V. vulnificus* de belangrijkste veroorzakers van gastro-enteritis bij de mens. *V. parahaemolyticus* en *V. vulnificus* zijn daarnaast ook geassocieerd met wondinfecties. Het voorkomen en de dichtheid

van *Vibrio* species in water hangen sterk samen met de omgevingstemperatuur, de hoogste aantallen worden gevonden bij hoge zeewatertemperaturen.

Pseudomonas aeruginosa komt in veel natuurlijke habitats voor (Gezondheidsraad, 2001). De bacterie wordt aangetroffen in water, bodem en op vegetatie en groenten. *P. aeruginosa* wordt geassocieerd met ziekenhuisinfecties, het betreft dan longontstekingen, urineweginfecties, wondinfecties na operaties en bacteremie. De bacterie sterft snel af op een droge huid, maar wanneer de huid langdurig nat is neemt de koloniseringsfrequentie snel toe. In relatie tot oppervlaktewaterrecreatie is *P. aeruginosa* een belangrijke veroorzaker van buitenoorontsteking (Van Asperen *et al.*, 1995). Pseudomonaden hebben weinig voedingsstoffen nodig om te groeien en kunnen zich dan ook goed vermenigvuldigen in waterige milieus wanneer de watertemperatuur hoger dan 18 °C is.

Staphylococcus aureus komt van nature voor op de menselijke huid en in slijmvliezen (Balows, 1991). De bacterie kan ziekte veroorzaken wanneer hij het lichaam kan binnendringen; er kunnen huid- en wondinfecties, longontstekingen, urineweginfecties en bacteremie ontstaan. *S. aureus* kan ook voedselvergiftiging veroorzaken. Dit gebeurt wanneer voedsel wordt gegeten waarin de bacterie toxinen heeft geproduceerd. Besmettingen van recreatiewater met *S. aureus* worden veroorzaakt door baders die de bacterie op hun huid dragen (Yoshpe-Purer en Golderman, 1987).

1.6 Onderzoek in 2005

In de zomer van 2005 is op twee officiële Nederlandse zwemlocaties onderzocht of de potentieel pathogene micro-organismen *Campylobacter*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, norovirus, enterovirus, rotavirus en adenovirus zich in het water bevonden. Het betrof de zoutwaterlocatie Katwijk-Noord en de zoetwaterlocatie Vinkeveenseplassen bij eiland 1. De aan- of afwezigheid van pathogene micro-organismen werd gerelateerd aan de aan- of afwezigheid van de indicatoren uit zowel de huidige als de herziene Europese Zwemwaterrichtlijn. Voor de parameters uit de herziene Zwemwaterrichtlijn werden zowel membraanfiltratie als MPN-methoden toegepast.

2. Materiaal en Methoden

2.1 Monsterlocaties

Tijdens het zwemseizoen van 2005 werden gedurende de maanden juli, augustus en september (week 27 tot en met 37) tweewekelijks monsters genomen op de officiële zwemlocaties Katwijk-Noord (coördinaten 087460 – 470000, 86 paal 1) en Vinkeveenseplassen eiland 1 (coördinaten 125.91 – 473.5). De waterkwaliteit op locatie Katwijk-Noord voldeed in 2001 en 2002 aan de verplichte richtwaarden voor de microbiologische kwaliteit uit de huidige Zwemwaterrichtlijn, maar niet aan de strengere streefwaarden (<http://www.europa.eu.int/water/cgi-bin/bw.pl?level=1&code=NL>). In 2000, 2003 en 2004 werd wel aan deze streefwaarden voldaan. De waterkwaliteit in de Vinkeveenseplassen bij eiland 1 voldeed van 2000 tot en met 2004 aan de verplichte richtwaarden, maar niet aan de strengere streefwaarden (<http://www.europa.eu.int/water/cgi-bin/bw.pl?level=1&code=NL>).

2.2 Monsterneming

Monsterneming vond plaats volgens NEN 6559 (Anonymous, 1992a) en NPR 6559 (Anonymous, 1992b). Monsters voor bacteriologische analyses werden in glazen flessen (1 L) genomen. Voor virologische en parasitologische analyses werden monsters in polypropyleen vaten (25 L) genomen. Deze monsters werden per locatie direct na elkaar op een vaste diepte (50 cm) onder het wateroppervlak genomen, met een emmer aan een ketting waarop een markering was aangebracht. Direct na monsterneming werden de monsters bestemd voor bacteriologische analyses in een koelbox met smeltend ijs geplaatst en naar het RIVM getransporteerd. De monsters bestemd voor virologische en parasitologische analyses werden bij omgevingstemperatuur getransporteerd. Analyses werden binnen 24 uur na monsterneming uitgevoerd.

2.3 Analyses

Alle monsters werden onderzocht op de aanwezigheid van de in Tabel 3 genoemde indicator parameters, gebruikmakend van de eveneens in deze tabel genoemde standaard methoden (NEN- of ISO-normen, Standard Operating Procedures (SOP's) van het Microbiologisch Laboratorium voor Gezondheidsbescherming (MGB)) en kweekmedia. Voor de MPN-methoden werd gebruik gemaakt van de miniaturized method van Bio-Rad en werd de gebruiksaanwijzing van de fabrikant gevolgd. De monsters werden verdund in Special

Microplate Diluent (SDM). Er werden 64 wells beënt met 1/2 verdunning en 32 wells met 1/20 verdunning.

Alle monsters werden tevens onderzocht op de aanwezigheid van de in Tabel 4 genoemde pathogenen, volgens de genoemde MGB SOP's, NEN- of ISO-normen of andere voorschriften. Van *Campylobacter*, *Salmonella* en *Vibrio* werd de aan- of afwezigheid in 1000 ml onderzocht. De aanwezigheid van *Vibrio* werd onderzocht volgens protocollen van het Centre for Environment Fisheries and Aquaculture Science (CEFAS) in Engeland. Deze protocollen worden omgezet in een MGB-voorschrift (SOP). De methode bestaat uit ophoping in alkalisch peptonwater gevolgd door selectieve kweek op thiosulfaat citraat bile sucrose agar. Van *P. aeruginosa* en *S. aureus* werd het voorkomen in 10-100 ml onderzocht. Van de genoemde virussen werd met behulp van de Polymerase Chain Reaction (PCR) de aanwezigheid in 10 L bepaald. Voor de detectie van adenovirus werd het PCR-protocol gevolgd dat binnen het EU project Virobathe (www.virobathe.org) werd ontwikkeld. Het voorkomen van *Cryptosporidium* en *Giardia* werd onderzocht in zo groot mogelijke volumes (minimaal 10 L, maximaal 40 L), maar er werd per monster slechts één Envirochek-filter gebruikt.

Op alle monsterlocaties werd ter plaatse bij elke monsterneming de temperatuur van het water gemeten. In het laboratorium werden geleidbaarheid (Handylab LF1 geleidbaarheidsmeter, SOP MGB/A036), pH (Sentron pH meter, SOP MGB/A904) en troebelheid (Hanna draagbare troebelheidsmeter, SOP MGB/A160) gemeten.

Tabel 3 Indicator parameters en toegepaste analysemethoden

parameter	norm	SOP MGB	methode	isolatie medium	bevestiging	onderzocht volume (ml)
totale coliformen	NEN 6571	M115	membraanfiltratie	Laurylsulfaat-Agar (LSA)	Briljantgroen-gal-lactose bouillon (BGLB)	1-10-100
fecale coliformen	NEN 6570	M117	membraanfiltratie	Laurylsulfaat-Agar (LSA)	Briljantgroen-gal-lactose bouillon (BGLB)	1-10-100
fecale streptococci	NEN 6274	M143	membraanfiltratie	Kenner Fecal Agar (KFA)	Gal Esculine Azide Agar (GEAA)	1-10-100
intestinale enterococci	NEN-EN-ISO 7899-2	M141	membraanfiltratie	Slanetz and Bartley Agar (S&B)	Gal Esculine Azide Agar (GEAA)	1-10-100
intestinale enterococci	NEN-EN-ISO 7899-1	geen	MPN	Microplaque enterocoque	geen	1/2 -1/20
<i>E. coli</i>	NEN 6261, (identiek aan Rapid Test uit NEN-EN-ISO 9308-1)	M119	membraanfiltratie	Trypton Soya Agar (TSA) en Trypton Bile Agar (TBA)	indol kleuring met James reages	1-10-100
<i>E. coli</i>	NEN-EN-ISO 9308-3	geen	MPN	Microplaque E.coli	geen	1/2 -1/20

Tabel 4 Pathogenen en toegepaste analysemethoden

pathogeen	norm/ voorschrift	SOP MGB	methode	isolatiemedium	onderzocht volume (ml)
bacteriën					
<i>Campylobacter</i>	NEN 6269	M128	membraanfiltratie/ ophoping	Preston/Karmali	1000
<i>Salmonella</i>	ISO 6579	M125	selectieve ophoping	BPW/RV/BGA	1000
<i>P. aeruginosa</i>	NEN 6573	M145	membraanfiltratie	mPA-D/skim milk	10-100
<i>S. aureus</i>		M127	membraanfiltratie	Baird Parker+RPF	10-100
<i>Vibrio</i>	CEFAS	concept	membraanfiltratie/ ophoping	ABPW/ TCBS/VM	1000
virussen					
enterovirus		M156, M158, M602, M053	concentratie, DNA-extractie, RT-PCR		10.000
norovirus		M156, M158, M602, M052	concentratie, DNA-extractie, RT-PCR		10.000
rotavirus		M156, M158, M601, M055	concentratie, DNA-extractie, RT-PCR		10.000
adenovirus	Virobathe	M156, M158, M602, concept	concentratie, DNA-extractie, PCR		10.000
protozoa					
<i>Cryptosporidium</i> en <i>Giardia</i>	ISO/DIS 15553	M003, M004, M193	Envirochek filtratie, IMS zuivering, IF detectie		10.000 tot 40.000

2.4 Onderzoek relatie oorklachten en aanwezigheid *Pseudomonas aeruginosa*

Tijdens het zwemseizoen van 2004 werd er een verhoging waargenomen van het aantal patiënten met oorklachten dat zich bij de huisartsen rondom de Vinkeveenseplassen meldde (Schets en De Roda Husman, 2004). Een relatie met recreatie in de Vinkeveenseplassen werd vermoed, maar kon niet vastgesteld worden. Om vast te stellen of gedurende de zomer van 2005 weer een verhoogd aantal patiënten met oorklachten de huisartsenpraktijken bezocht werd, in samenwerking met GGD Midden-Nederland, een twintigtal huisartsen in De Ronde Venen en Abcoude benaderd. In een brief (Bijlage 1) werd de huisartsen gevraagd een korte vragenlijst (Bijlage 2) in te vullen wanneer zich een patiënt met oorklachten in de praktijk meldde.

3. Resultaten

3.1 Indicatoren voor fecale verontreiniging

Op beide locaties werden de indicatoren voor fecale verontreiniging uit de huidige Zwemwaterrichtlijn, totale coliformen, fecale coliformen en fecale streptococci, in alle monsters aangetroffen (Tabel 5). Alle monsters op beide locaties voldeden aan de richtwaarden voor deze parameters. De streefwaarden voor totale coliformen en fecale coliformen werden echter op locatie Vinkeveenseplassen bij eiland 1 in respectievelijk twee en drie van de zes monsters overschreden (Tabel 5).

De parameters uit de herziene Zwemwaterrichtlijn werden in de meeste monsters aangetroffen, maar er bestond wel verschil tussen het aantal positief gevonden monsters met de membraanfiltratie methoden en de MPN-methoden (Tabel 6) alsook in met deze methoden gedetecteerde aantallen.

Op basis van de parameters totale coliformen en fecale coliformen uit de huidige Zwemwaterrichtlijn kon het water op locatie Katwijk-Noord als 'uitstekend' beoordeeld worden, terwijl de zwemwaterkwaliteit op locatie Vinkeveenseplassen bij eiland 1 als 'goed' beoordeeld werd (Tabel 5). Er dient hierbij wel opgemerkt te worden dat er in deze studie minder metingen per locatie uitgevoerd zijn (n=6) dan er normaliter gedurende een geheel badseizoen uitgevoerd worden (n=11-12). Bepaling van de concentratie fecale streptococci, *Salmonella* en enterovirussen hoeft volgens deze richtlijn slechts plaats te vinden wanneer bij controle van de zwemlocatie aanwijzingen worden verkregen dat deze micro-organismen mogelijk aanwezig zijn. De waterkwaliteit op beide locaties voldeed aan de voor fecale streptococci gestelde streefwaarde van 100 kve/100 ml en aan de voor *Salmonella* en enterovirussen gestelde richtwaarden van respectievelijk 0 kve/L en 0 plaque forming units (pfu)/ 10 L. Toetsing van de verkregen data aan de criteria uit de herziene Zwemwaterrichtlijn volgens de daarin voorgeschreven toetstingsmethodiek resulteerde voor de zwemwaterkwaliteit op locatie Katwijk-Noord in de beoordeling 'goed' wanneer de membraanfiltratie-resultaten in beschouwing werden genomen. Echter, wanneer de MPN resultaten werden getoetst was de beoordeling van de waterkwaliteit 'aanvaardbaar' (Tabel 6). De zwemwaterkwaliteit op locatie Vinkeveenseplassen bij eiland 1 werd zowel op basis van de membraanfiltratie-resultaten als op basis van de MPN-resultaten als 'slecht' beoordeeld (Tabel 6). Ook hier dient opgemerkt te worden dat er per locatie zes waarnemingen, verkregen tijdens het badseizoen van 2005, zijn getoetst en dat er geen waarnemingen uit voorgaande badseizoenen zijn meegenomen bij de toetsing. Bepaling van de parameters uit de herziene Zwemwaterrichtlijn is in voorgaande badseizoenen niet uitgevoerd.

Tabel 5 Indicatoren voor fecale verontreiniging uit Zwemwaterrichtlijn 76/160/EEG

datum	Vinkeveenseplassen eiland 1			Katwijk-Noord		
	totcol*	fcoll**	fstrep***	totcol*	fcoll**	fstrep***
	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml
4-7-2005	1400	396	77	68	17	5
18-7-2005	323	200	6	5	11	47
1-8-2005	800	632	50	75	48	3
15-8-2005	182	68	7	70	16	2
29-8-2005	109	27	6	50	80	21
12-9-2005	327	98	22	70	48	20
beoordeling per parameter	goed	goed	uitstekend	uitstekend	uitstekend	uitstekend
beoordeling totaal	goed			uitstekend		

* totale coliformen, ** fecale coliformen, *** fecale streptococci

Tabel 6 Indicatoren voor fecale verontreiniging uit de herziene Zwemwaterrichtlijn 2006/7/EC

datum	Vinkeveenseplassen eiland 1				Katwijk-Noord			
	EC*	IE**	EC*	IE**	EC*	IE**	EC*	IE**
	MF [#]	MF [#]	MPN [@]	MPN [@]	MF [#]	MF [#]	MPN [@]	MPN [@]
	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml	n / 100 ml
4-7-2005	933	195	457	77	50	13	15	0
18-7-2005	368	15	232	15	40	54	94	30
1-8-2005	714	59	480	30	20	5	30	0
15-8-2005	145	32	192	0	16	0	15	15
29-8-2005	118	25	0	15	205	44	15	272
12-9-2005	468	41	46	30	40	13	77	0
95-percentiel	1411	180	3082	134	183	128	90	271
90-percentiel	1037	131	1429	86	132	74	123	130
beoordeling per parameter	slecht	uitstekend	slecht	uitstekend	uitstekend	goed	uitstekend	aanvaardbaar
beoordeling totaal	slecht		slecht		goed		aanvaardbaar	

* *E. coli*, ** intestinale enterococci, # membraanfiltratie, @ most probable number methode

3.2 Pathogene micro-organismen

Staphylococcus aureus werd in alle monsters, genomen uit de Vinkeveenseplassen (eiland 1) en bij Katwijk-Noord, aangetroffen, de concentraties varieerden van 30 tot 18.000 kolonievormende eenheden (kve) per 100 ml in de Vinkeveenseplassen (eiland 1) en van 140 tot 5400 kve/100 ml bij Katwijk-Noord (Tabel 7). Ook *Pseudomonas aeruginosa* werd in de Vinkeveenseplassen (eiland 1) regelmatig aangetroffen, drie van de zes monsters waren positief. De gedetecteerde concentraties varieerden van 2 tot 9 kve/100 ml (Tabel 7). *P. aeruginosa* werd daarentegen slechts in één van de zes monsters genomen bij Katwijk-Noord aangetroffen (Tabel 7).

Salmonella werd op geen van beide locaties aangetroffen in de zes onderzochte monsters van 1 L (Bijlage 3). *Campylobacter* werd niet gevonden in zes monsters van 1 L genomen bij Katwijk-Noord, maar wel in twee van de zes monsters uit de Vinkeveenseplassen (eiland 1) (Bijlage 3). *Vibrio* was op beide locaties aanwezig in alle zes onderzochte monsters van 1 L (Bijlage 3).

Norovirus en enterovirus werden op beide locaties in geen van de monsters gedetecteerd. Rotavirus werd in één monster genomen bij Katwijk-Noord aangetoond, terwijl adenovirus in één monster uit de Vinkeveenseplassen aanwezig was.

De parasitaire protozoa *Cryptosporidium* en *Giardia* werden op beide locaties regelmatig aangetroffen. Vijf van de zes monsters uit de Vinkeveenseplassen bij eiland 1 bevatte *Cryptosporidium*, de concentraties varieerden van 0,023 tot 0,114 oöcysten per L (Tabel 8). *Cryptosporidium* werd in drie van de zes monsters afkomstig van locatie Katwijk-Noord aangetroffen in concentraties die varieerden van 0,029 tot 0,371 oöcysten per L (Tabel 8). *Giardia* cysten werden in drie van de zes monsters uit de Vinkeveenseplassen bij eiland 1 aangetoond (0,028-0,272 cysten/L) en waren in vijf van de zes monsters genomen bij Katwijk-Noord aanwezig (0,026-0,371 cysten/L) (Tabel 8).

Tabel 7 *Staphylococcus aureus* en *Pseudomonas aeruginosa* in recreatiewater

datum	Vinkeveenseplassen eiland 1		Katwijk-Noord	
	<i>S. aureus</i> n / 100 ml	<i>P. aeruginosa</i> n / 100 ml	<i>S. aureus</i> n / 100 ml	<i>P. aeruginosa</i> n / 100 ml
4-7-2005	30	5	270	0
18-7-2005	1130	2	320	5
1-8-2005	60	0	140	0
15-8-2005	18000	0	2273	0
29-8-2005	6300	0	5400	0
12-9-2005	1400	9	4600	0

Tabel 8 *Cryptosporidium* en *Giardia* in recreatiewater

datum	Vinkeveenseplassen eiland 1			Katwijk-Noord		
	onderzocht	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	onderzocht	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>
	volume			volume		
	L	n / L	n / L	L	n / L	n / L
4-7-2005	40,0	0,025	0,250	30,7	0,065	0,163
18-7-2005	35,2	0,057	0,028	38,8	0*	0,026
1-8-2005	35,0	0,114	0*	23,1	0,260	0,043
15-8-2005	44,1	0,091	0,272	29,0	0*	0,103
29-8-2005	41,1	0*	0*	35,0	0,029	0,371
12-9-2005	42,7	0,023	0*	30,5	0*	0*

* geen (oö)cysten aangetroffen in het totale onderzochte volume

3.3 Relatie oorklachten en aanwezigheid

Pseudomonas aeruginosa

Van de per brief benaderde huisartsen werden twee meldingen en ingevulde vragenlijsten ontvangen. De twee personen met oorklachten hadden in de Vinkeveenseplassen bij eiland 4 gezwommen. Voorts werd zowel door de GGD Midden Nederland als het RIVM een melding via de Provincie Utrecht ontvangen. Het betrof tien leden van een duikschool die oorklachten kregen nadat zij bij het duikersgedeelte bij eiland 4 in de Vinkeveenseplassen hadden gedoken. De melding werd op 1 september 2005 gedaan. Via de duikschool zijn van vijf personen met klachten ingevulde vragenlijsten ingestuurd. Drie van deze vijf personen bezocht een huisarts. Bij één duiker is een kweek afgenomen, hierin werden zowel *P. aeruginosa* als *S. aureus* aangetoond.

Naar aanleiding van de melding van het cluster van klachten onder leden van de duikschool is op 12 september 2005 een monster water van de Vinkeveenseplassen bij eiland 4 genomen en onderzocht op de aanwezigheid van *P. aeruginosa*. In het water werd geen *P. aeruginosa* aangetroffen. De zwemwaterkwaliteit in de Vinkeveenseplassen bij eiland 4 voldeed tijdens het badseizoen van 2005 aan de normen uit de huidige Zwemwaterrichtlijn.

4. Discussie

(Potentieel) humaan pathogene micro-organismen werden in oppervlaktewater op twee officiële zwemlocaties in Nederland aangetroffen. De waterkwaliteit op deze locaties voldeed aan de normen uit de huidige Zwemwaternrichtlijn 76/160/EEG. De humaan pathogene bacteriën *Staphylococcus aureus* en *Pseudomonas aeruginosa* en potentieel humaan pathogene bacteriën uit het geslacht *Vibrio* werden zowel in de Vinkeveenseplassen bij eiland 1 als bij Katwijk-Noord aangetroffen. De potentieel humaan pathogene bacterie *Campylobacter* werd alleen in de Vinkeveenseplassen (eiland 1) gevonden. De genera *Vibrio* en *Campylobacter* bevatten species die pathogeen zijn voor de mens, hoewel niet alle species ziekte bij de mens kunnen veroorzaken (WHO, 2003; Havelaar, 2001/2002; zie paragraaf 1.5). Typering van isolaten dient uitsluitend te geven over de aanwezigheid van humaan pathogene soorten. In het kader van dit beperkte onderzoek is typering echter niet uitgevoerd. *Salmonella* en de gastro-enteritis veroorzakende noro- en enterovirussen werden op geen van de twee locaties aangetroffen, terwijl rotavirus RNA alleen bij Katwijk-Noord en adenovirus RNA alleen in de Vinkeveenseplassen werd gevonden. Met behulp van PCR wordt geen informatie verkregen over het al of niet infectieus zijn van de aangetoonde virusdeeltjes. Dergelijke informatie kan met behulp van bijvoorbeeld celkweek-assays verkregen worden, echter deze assays zijn (nog) niet voor alle relevante virussen beschikbaar. Ook de parasitaire protozoa *Cryptosporidium* en *Giardia* werden aangetroffen. Binnen deze genera zijn eveneens niet alle soorten pathogeen voor de mens (Fayer *et al.*, 2004) terwijl het bovendien mogelijk is dat microscopisch aangetoonde (oö)cysten niet (meer) infectieus zijn. Typering en onderzoek naar de infectiviteit van (oö)cysten kunnen hierover informatie geven, maar zijn in deze studie niet uitgevoerd.

Het risico op het oplopen van een infectie bij blootstelling aan recreatiewater wordt binnen de Europese Zwemwaternrichtlijn bepaald op basis van fecale indicatoren. Wanneer wordt voldaan aan de normen voor de fecale parameters uit de huidige Zwemwaternrichtlijn 76/160/EEG, bedraagt het risico op het oplopen van een maagdarminfectie bij blootstelling aan recreatiewater 12 tot 15 % (Anonymous, 2002a). Aanscherping van de normen en veranderde fecale indicator parameters in de herziene Europese Zwemwaternrichtlijn leiden er toe dat bij voldoen aan de nieuwe normen een risico op gezondheidsklachten van 7,5 tot 8 % bestaat (Anonymous, 2005).

In deze studie zijn minder metingen per locatie uitgevoerd (n=6) dan er normaliter gedurende een badseizoen in het kader van de huidige Zwemwaternrichtlijn uitgevoerd worden (n=11-12). Bovendien zijn per locatie zes in plaats van 16 waarnemingen getoetst aan de normen uit de herziene Zwemwaternrichtlijn en werden geen waarnemingen uit voorgaande badseizoenen meegenomen omdat dergelijke gegevens niet aanwezig waren. Uit de beperkte gegevens bleek dat het aanscherpen van de normen als gevolg kan hebben dat de waterkwaliteit op sommige locaties wel voldoet aan de eisen uit de huidige Zwemwaternrichtlijn, maar niet aan de eisen uit de herziene Zwemwaternrichtlijn.

Op zoetwaterlocatie Vinkeveenseplassen bij eiland 1 wordt het zwemwater in het badseizoen 2005 volgens de huidige Zwemwaterrichtlijn goedgekeurd, terwijl het volgens de herziene Zwemwaterrichtlijn zou worden afgekeurd. De waterkwaliteit in het badseizoen 2005 op zoutwaterlocatie Katwijk-Noord wordt volgens beide richtlijnen in orde bevonden, maar is echter volgens de huidige Zwemwaterrichtlijn 'uitstekend', terwijl volgens de herziene strengere normen, afhankelijk van de toegepaste analysemethode het oordeel 'goed' of 'aanvaardbaar' gegeven zou worden. De aangetoonde aanwezigheid van (potentieel) ziekteverwekkende micro-organismen in het zwemwater op beide locaties lijkt een afkeuring of een minder goede beoordeling, zoals deze tot stand komt volgens de herziene Zwemwaterrichtlijn te rechtvaardigen.

Er bestaat echter geen eenduidige relatie tussen de aanwezigheid en de concentratie van fecale indicatoren en de aanwezigheid en concentratie van verschillende humaan pathogene micro-organismen. Ook voorspelt de aanwezigheid van fecale indicatoren niet in alle typen zwemwater het optreden van ziekte bij mensen die in dat water hebben gezwommen (Wade *et al.*, 2003). Om vast te stellen of er een risico op ziekte bestaat bij blootstelling aan zwemwater zal een risicoschatting moeten worden uitgevoerd. Voor een dergelijke risicoschatting zijn gegevens over de gedetecteerde pathogenen zoals aantal, soort, levensvatbaarheid en infectiviteit, maar ook informatie over blootstelling van recreanten onontbeerlijk. Het opstellen van zwemwaterprofielen, wat wordt voorgeschreven in de herziene Zwemwaterrichtlijn en waarbij potentiële verontreinigingsbronnen in kaart worden gebracht vormt een nuttige aanvulling op de voor een risicoschatting benodigde informatie. Bovendien kunnen op basis van informatie betreffende de bronnen van specifieke pathogene micro-organismen preventieve maatregelen worden genomen.

In de herziene Zwemwaterrichtlijn worden voor elk van de twee nieuwe parameters voor fecale verontreiniging, *E. coli* en intestinale enterococci, twee analysemethoden voorgeschreven. De controlerende instantie (in Nederland de provincie) is vrij om een keuze tussen deze methoden, membraanfiltratie of MPN, te maken. Het in deze studie gerealiseerde aantal waarnemingen is volgens ISO 17994 (Anonymous, 2004b) te gering om een betrouwbare vergelijking tussen de verschillende methoden uit te voeren. De verkregen resultaten lijken echter conclusies uit eerdere studies die in Europees verband werden uitgevoerd en waarin de twee mogelijke analysemethoden per parameter werden vergeleken, te bevestigen (Schets en De Roda Husman, 2005b): de membraanfiltratie en MPN methoden leveren afwijkende resultaten op, waardoor de beoordeling van de waterkwaliteit verschillend kan zijn. Op zoetwaterlocatie Vinkeveenseplassen (eiland 1) werd de waterkwaliteit onafhankelijk van de toegepaste methode als 'slecht' beoordeeld. Dit oordeel werd bepaald door het aantal gedetecteerde *E. coli* in de monsters, wat niet voldeed aan de eisen voor de verschillende waterkwaliteitscategorieën. Het aantal gedetecteerde intestinale enterococci voldeed aan de eisen voor uitstekende zwemwaterkwaliteit. In vijf van de zes monsters werden hogere aantallen *E. coli* met de membraanfiltratie methode dan met de MPN-methode gedetecteerd. Bij toetsing volgens de in de herziene Zwemwaterrichtlijn voorgeschreven methodiek bleek dat de spreiding binnen de MPN-waarnemingen veel groter was dan binnen de membraanfiltratie-waarnemingen. Hierdoor waren, ondanks de lagere aantallen, de met de

MPN-methoden verkregen percentielscores hoger en vond op basis van beide methoden afkeuring plaats. Op zoutwaterlocatie Katwijk-Noord hadden de membraanfiltratie en MPN-methoden een verschillende beoordeling tot gevolg; op deze locatie werd het uiteindelijke oordeel bepaald door de parameter intestinale enterococci. Voor deze parameter werden in vier van de zes monsters hogere aantallen met membraanfiltratie dan met de MPN-methode aangetoond. Ook hier bleek bij toetsing de spreiding in de MPN-waarnemingen groter te zijn dan in de membraanfiltratie-waarnemingen, waardoor hogere percentielscores voor de MPN-methode werden verkregen. Deze voldeden niet aan de eisen voor goede zwemwaterkwaliteit maar wel voor aanvaardbare zwemwaterkwaliteit. Op basis van de parameter *E. coli* zou de zwemwaterkwaliteit op deze locatie als 'uitstekend' beoordeeld zijn.

Hoewel de waterkwaliteit op een zwemlocatie beoordeeld dient te worden aan de hand van twee microbiologische parameters, suggereren de verkregen resultaten dat *E. coli* in zoetwater een betere indicator is, terwijl intestinale enterococci in zoutwater een betere indicator voor microbiologische verontreiniging zijn. In zoetwater (Vinkeveenseplassen eiland 1) waarin (potentieel) pathogene micro-organismen werden aangetoond, werd de waterkwaliteit op basis van *E. coli* afgekeurd, terwijl deze op basis van intestinale enterococci als 'uitstekend' beoordeeld zou zijn. In zoutwater (Katwijk-Noord) waarin (potentieel) pathogene micro-organismen werden aangetoond, werd de waterkwaliteit op basis van intestinale enterococci, afhankelijk van de toegepaste analysemethode, als 'goed' of 'aanvaardbaar' beoordeeld, terwijl deze op basis van *E. coli* als 'uitstekend' beoordeeld zou zijn. Deze bevindingen bevestigen gelijksoortige bevindingen uit een eerder gepubliceerde studie waarin uit de datasets van 27 epidemiologische studies het relatieve risico op gastro-enteritis in relatie tot waterkwaliteitsparameters werd berekend (Wade *et al.*, 2003).

Het wordt aanbevolen om een goed onderbouwde keuze te maken voor een analysemethode teneinde binnen Nederland tot een gelijke beoordeling van de waterkwaliteit op alle zwemlocaties te komen. Ter onderbouwing van de keuze kunnen de in deze studie verkregen aanwijzingen in vervolgonderzoek uitgebreider worden onderzocht omdat mogelijk ook andere, locatiespecifieke, factoren een rol spelen.

Onderzoek naar de aanwezigheid van *P. aeruginosa* in de Vinkeveenseplassen bij eiland 4 kon om logistieke redenen pas ruim een week na melding van oorklachten bij duikers plaatsvinden. Op dat moment werd geen *P. aeruginosa* in het genomen monster water bij eiland 4 aangetroffen. Wel werd deze bacterie gevonden in de kweek die uit het oor van een van de duikers werd gemaakt. In drie van de zes monsters die uit de Vinkeveenseplassen bij eiland 1 gedurende het badseizoen werden genomen (inclusief de datum waarop bij eiland 4 werd bemonsterd) werd wel *P. aeruginosa* aangetroffen. Gezien de ligging van de eilanden in de Vinkeveenseplassen is het aannemelijk dat *P. aeruginosa* op meerdere plaatsen in de Vinkeveenseplassen voorkomt en ook bij de duikers voor oorklachten heeft gezorgd. Het verdient aanbeveling bij stijgende watertemperatuur de zwemmers erop attent te maken dat er een risico bestaat op het oplopen van een oorinfectie ten gevolge van *P. aeruginosa*.

5. Conclusies

- In zwemwater wat voldeed aan de normen voor microbiologische kwaliteit uit de huidige Zwemwaterrichtlijn 76/160/EEG werden de (potentieel) pathogene micro-organismen *Campylobacter*, *Vibrio*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, rotavirus en adenovirus aangetroffen. Hiermee werd bevestigd dat de indicatoren voor fecale verontreiniging uit deze richtlijn onvoldoende informatie geven over de aanwezigheid van pathogene micro-organismen en de bader onvoldoende bescherming bieden tegen gezondheidsklachten zoals gastro-enteritis, oorontsteking en wondinfecties.
- Op basis van de strengere normen uit de herziene Zwemwaterrichtlijn 2006/7/EC werd zwemwater wat aan de eisen uit de huidige Zwemwaterrichtlijn voldeed minder gunstig beoordeeld. Deze beoordeling lijkt beter te relateren aan de aanwezigheid van pathogene micro-organismen.
- Uit deze studie, die op twee locaties werd uitgevoerd, worden aanwijzingen verkregen dat de beoordeling van de waterkwaliteit op Nederlandse zwemlocaties afhankelijk is van de toegepaste detectiemethode (membraanfiltratie of MPN) voor de parameters uit de herziene Zwemwaterrichtlijn.
- In een vervolgstudie dienen deze aanwijzingen uitgebreider onderzocht te worden zodat een goed onderbouwde keuze voor een methode (mogelijk per parameter of watertype) gemaakt kan worden. In een dergelijke studie zullen internationaal vastgestelde protocollen voor het vergelijken van microbiologische methoden gevolgd dienen te worden.

Dankwoord

De auteurs zijn Mw. G.M. van der Oord van GGD Midden-Nederland zeer erkentelijk voor haar hulp bij het onderzoek naar de relatie tussen oorklachten en de aanwezigheid van *P. aeruginosa* in zwemwater.

Literatuur

- Anonymous. Richtlijn 76/160/EEG van de Raad van 8 december 1975 betreffende de kwaliteit van zwemwater, PB L 31 van 5.2.1976.
- Anonymous. NEN 6570 Bacteriologisch onderzoek van oppervlaktewater – Kwantificeren van thermotolerante bacteriën van de coligroep met behulp van membraanfiltratie. NNI, Delft, 1982a
- Anonymous. NEN 6571 Bacteriologisch onderzoek van oppervlaktewater – Kwantificeren van bacteriën van de coligroep met behulp van membraanfiltratie. NNI, Delft, 1982b
- Anonymous. NEN 6573 Bacteriologisch onderzoek van water – Onderzoek met behulp van membraanfiltratie naar de aanwezigheid en het aantal kolonievormende eenheden (KVE) van *Pseudomonas aeruginosa*. NNI, Delft, 1987.
- Anonymous. NEN 6261 Bacteriologisch onderzoek van water – Onderzoek met behulp van membraanfiltratie naar de aanwezigheid en het aantal kolonievormende eenheden (KVE) van *Escherichia coli*. NNI, Delft, 1990
- Anonymous. NEN 6559 Bacteriologisch onderzoek van water – Monsterneming en conservering. NNI, Delft, 1992a
- Anonymous. NPR 6569 Bacteriologisch onderzoek van water – Toelichting bij monsterneming en conservering volgens NEN 6559. NNI, Delft, 1992b
- Anonymous. NEN 6274 Bacteriologisch onderzoek van water – Kwantificeren van fecale streptococci door membraanfiltratie. NNI, Delft, 1995
- Anonymous. NEN 6269 Bacteriologisch onderzoek van water. Onderzoek naar de aanwezigheid en/of het meest waarschijnlijke aantal van thermofiele *Campylobacter*-bacteriën. NNI, Delft, 1996.
- Anonymous. Richtlijn 2000/60/EG van het Europese Parlement en de Raad van 23 oktober 2000 tot vaststelling van een kader voor communautaire maatregelen betreffende het waterbeleid, PB L 327 van 22.12.2000, 2000a
- Anonymous. NEN-EN-ISO 7899-2 Water – Detectie en telling van enterococci - Deel 2: Membraanfiltratiemethode. NNI, Delft, 2000b
- Anonymous. NEN-EN-ISO 9308-1 Water – Detectie en enumeratie van *Escherichia coli* en bacteriën van de coligroep- Deel 1: Methode met membraanfiltratie, NNI, Delft, 2000c
- Anonymous. NEN-EN-ISO 7899-1 Water – Bepaling en telling van enterococci in oppervlaktewater en afvalwater - Deel 1: Geminiaturiseerde methode (meest waarschijnlijke aantal) door enting in een vloeibaar medium. NNI, Delft, 2000d
- Anonymous. NEN-EN-ISO 9308-3 Water – Detectie en enumeratie van *Escherichia coli* en bacteriën van de coligroep in oppervlaktewater en afvalwater - Deel 3: Geminiaturiseerde methode (meest waarschijnlijke aantal) door enting in een vloeibaar medium, NNI, Delft, 2000e
- Anonymous. Voorstel voor een richtlijn van het Europese parlement en de raad betreffende de kwaliteit van het zwemwater, COM (2002) 581 definitief, 2002/0254 (COD), 24.10.2002, 2002a.

- Anonymous. ISO 6579 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization, Geneva, 2002b.
- Anonymous. ISO/DIS Water quality – Isolation and identification of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water. International Organisation for Standardisation, Geneva, 2004a.
- Anonymous. ISO 179945 Water quality - Criteria for establishing equivalence between microbiological methods. International Organization for Standardization, Geneva, 2004b.
- Anonymous. Environment: Commissioner Dimas welcomes conciliation agreement on revised bathing water directive, Brussel, 12 oktober 2005, IP/05/1264, 2005.
- Anonymous. Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC. Official Journal of the European Union L64: 37-51, 4.3.2006.
- Asperen IA van, de Rover CM, Schijven JF, Oetomo SB, Schellekens JFP, van Leeuwen NJ, Collé C, Havelaar AH, Kromhout D, Sprenger MWJ. Risk of otitis externa after swimming in recreational fresh water lakes containing *Pseudomonas aeruginosa*. *British Medical Journal* 1995; 311: 1407-1410.
- Asperen IA van, Medema GJ, Borgdorff MW, Sprenger MJW, Havelaar AH. Risk of gastroenteritis among triathletes in relation to faecal pollution of fresh waters. *International Journal of Epidemiology* 1998;27: 309-315.
- Balows A, editor in chief. *Manual of Clinical Microbiology*, 5^e druk, 1991, American Society for Microbiology, Washington, pp. 222-237.
- Craun GF, Calderon RL, Craun MF. Outbreaks associated with recreational water in the United States. *International Journal of Environmental Health Research* 2005; 15 (4): 243-262.
- Duijkeren E van, Wannet WJB, Houwers DJ, van Pelt W. Serotype and phage type distribution of *Salmonella* strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 40 (11): 3980-3985.
- Fayer R, Dubey JP, Lindsay DS. Zoonotic protozoa: from land to sea. *TRENDS in Parasitology* 2004; 20 (11): 531-536.
- Fleisher JM, Kay D, Wyer MD, Salmon RL, Jones F. Non-enteric illnesses associated with bather exposure to marine waters contaminated with domestic sewage: the results of a series of four intervention follow-up studies. *American Journal of Public Health* 1996; 86: 1228-1234.
- Gezondheidsraad. Microbiële risico's van zwemmen in de natuur. Publicatie nr. 2001/25. Gezondheidsraad, Den Haag, 2001.
- Hauri AM, Schimmelpfennig M, Walter-Domes M, Letz A, Diedrich S, Lopez-Pila J, Schreier E. An outbreak of viral meningitis associated with a public swimming pond. *Epidemiology and Infection* 2005; 133 (2): 291-298.
- Havelaar AH. Campylobacteriose in Nederland. Risico's en interventiemogelijkheden. RIVM rapport 250911001. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven, 2001/2002

- Kay D, Fleisher JM, Salmon RL, Jones F, Wyer MD, Godfree AF, Zelenauch-Jacquotte Z, Shore R. Predicting the likelihood of gastroenteritis from sea bathing; results from a randomized exposure. *Lancet* 1994; 344: 905-909.
- Medema GJ, Ketelaars HAM, Hoogenboezem W. *Cryptosporidium* en *Giardia*: voorkomen in rioolwater, mest en oppervlaktewater met zwem- en drinkwaterfunctie. RIZA rapport 2000.035, 2001.
- Schets FM, de Roda Husman AM. Gezondheidsklachten in relatie tot recreatie in oppervlaktewater in de zomer van 2003. *Infectieziekten Bulletin* 2004; 15 (10): 380-386.
- Schets FM, de Roda Husman AM. Gezondheidsklachten in relatie tot recreatie in oppervlaktewater in de zomer van 2004. *Infectieziekten Bulletin* 2005a; 16 (10): 372-377.
- Schets FM, de Roda Husman AM. Meetmethoden in de Europese zwemwaterrichtlijn – Literatuuroverzicht en evaluatie van eerder onderzoek. RIVM briefrapport 142/05 ARH/np, 2005b.
- Schijven JF, Bradford SA, Yang S. Release of *Cryptosporidium* and *Giardia* from dairy cattle manure: physical factors. *Journal of Environmental Quality* 2004; 33; 1499-1508.
- SOP MGB/A036- Voorschrift Schott Handylab LF11 draagbare geleidbaarheidsmeter
- SOP MGB/A160 – Bedieningsvoorschrift HANNA HI 93703 draagbare troebelheidsmeter
- SOP MGB/A904 – Werkvoorschrift voor een Sentron 2001-008 pH-meter
- SOP MGB/M052 - Detectie van norovirussen m.b.v. reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)
- SOP MGB/M053 - Detectie van enterovirussen m.b.v. reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)
- SOP MGB/M055 - Detectie van rotavirussen m.b.v. reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)
- SOP MGB/M156 - Methode voor de concentratie van enteric virussen in volumina van 10 liter water
- SOP MGB/M158 - Methode voor de concentratie van enteric virussen in water; tweede stap: ultrafiltratie
- SOP MGB/M601 - Total nucleic acids isolation using nuclisense reagents
- SOP MGB/M602 - Total nucleic acids isolation using nuclisense magnetic extraction reagents
- Wade TJ, Pai N, Eisenberg JNS, Colford Jr JM. Do U.S. Environmental Protection Agency quality guidelines for recreational waters prevent gastrointestinal illness? A systematic review and meta-analysis. *Environmental Health Perspectives* 2003; 111 (8): 1102-1109.
- WHO. Free-living micro-organisms. In: *Guidelines for safe recreational water environments - Volume 1: coastal and fresh waters*. World Health Organization, Geneva, 2003, pp.102-106.
- Wiedenmann A, Krüger P, Gommel S, Hirlinger M, Eissler M, Paul A, Jüngst K, Brockmann S, Dietz K, López-Pila J, Szwezyk R, Botzenhart K. A randomized epidemiological study on health risks from bathing in German fresh water bathing sites. Paper MV075 presented at the IWA conference, Melbourne, april 2002.
- Yoshpe-Purer Y, Golderman S. Occurrence of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in Israeli costal water. *Applied and Environmental Microbiology* 1987; 53 (5): 1138-1141.

Bijlage 1 Brief aan huisartsen

Aan de huisartsen in De Ronde Venen en Abcoude

Kenmerk : 2005-AGZ/IZB/MR
Bijlagen : Vragenlijst
Datum : 22 juli 2005
Onderwerp : Zwemwater gerelateerde oorklachten

Geachte collega ,

Sinds 2003 loopt bij het Microbiologisch laboratorium voor Gezondheidsbescherming (MGB) van het RIVM het project PLONZ (Project Landelijk Onderzoek Zwemwaterklachten). In het kader van dat project vraagt het RIVM aan de Provincies en GGD-en om meldingen van watergerelateerde gezondheidsklachten direct door te geven. Deze aanpak maakt het mogelijk om uitbraken van watergerelateerde gezondheidsklachten nader te onderzoeken, door bijvoorbeeld wateronderzoek of het versturen van vragenlijsten aan de betrokken patiënten.

In de zomer van 2004 hebben wij aan het RIVM gemeld dat bij enkele huisartsenpraktijken in de omgeving van de Vinkeveenseplassen een verhoogd aantal patiënten met oorklachten op het spreekuur verscheen. Bij navraag achteraf kon echter geen duidelijk verband met de Vinkeveenseplassen worden gelegd.

Gedurende de zomer van 2005 voert het RIVM twee wekelijks waterkwaliteitsmetingen uit op een aantal locaties, waaronder de Vinkeveenseplassen (eiland 1). Naast een aantal andere micro-organismen wordt het water ook onderzocht op *Pseudomonas aeruginosa*. Het RIVM zou daarom graag willen weten of er deze zomer weer een verhoogd aantal patiënten met oorklachten de huisartsenpraktijken bezoekt en of er mogelijk een verband is met recreatie in de Vinkeveenseplassen. Hiervoor vragen wij voor de periode vanaf heden tot en met 30 september uw medewerking.

Zou u, indien zich bij u een patiënt met oorklachten meldt, een korte vragenlijst in willen vullen (zie bijlage) en deze willen opsturen aan de GGD Midden Nederland, ter attentie van de afdeling infectieziekten.

Hiervoor zijn een aantal antwoordenvoloppen bijgevoegd. Indien u meer antwoordenvoloppen nodig heeft vragen wij u dit kenbaar te maken via onze secretaresse: tel.nummer 030-6086089. U kunt ook mailen aan de afdeling infectieziekten:

infectie@ggdmn.nl

Indien het uw voorkeur heeft, is het mogelijk om een digitale versie van de vragenlijst te ontvangen.

U kunt deze ook via bovengenoemd telefoonnummer of emailadres opvragen.

Mede namens het RIVM, bij voorbaat hartelijk dank voor uw medewerking.

Met vriendelijke groeten,

Bijlage 2 Vragenlijst voor huisartsen

Onderzoek Otitis externa / oorklachten na het zwemmen in oppervlaktewater RIVM/GGD

Naam	:	_____
Adres	:	_____
Postcode	:	_____
Woonplaats	:	_____
Geboortedatum	:	_____
Gezwommen in oppervlaktewater	:	Ja / nee *
Locatie waar gezwommen is (graag locatie zo exact mogelijk omschrijven)	:	_____ _____ _____
Datum waarop gezwommen is	:	_____
Datum eerste klachten	:	_____
Omschrijving klachten	:	_____ _____ _____
Is er een kweek afgenomen?	:	Ja / nee *
Behandeling	:	_____ _____ _____
* doorhalen wat niet van toepassing is		

Bijlage 3 Ruwe data

De tabel met ruwe data is horizontaal afgedrukt op de volgende pagina.

Toelichting bij de tabel:

VV = Vinkeveenseplassen (eiland 1)

KW = Katwijk-Noord

MF = membraanfiltratie

MPN = most probable number

nd = niet uitgevoerd

PA = presence/absence = aan- of afwezigheid

	monster code	VV 05-121	KW 05-122	VV 05-129	KW 05-128	VV 05-136	KW 05-135	VV 05-143	KW 05-142	VV 05-145	KW 05-144	VV 05-149	KW 05-148
	datum	4-7-05	4-7-05	18-7-05	18-7-05	1-8-05	1-8-05	15-8-05	15-8-05	29-8-05	29-8-05	12-9-05	12-9-05
totaal coliformen	(n/100mL)	1400	68	323	5	800	75	181,8	70	109,1	50	327,3	70
fecale coliformen	(n/100mL)	396	17	200	11	632	48	68	16	27	80	98	48
fecale streptococcen	(n/100mL)	77	5	6	47	50	3	7	2	6	21	22	20
intestinale enterococcen MF	(n/100mL)	195	13	15	54	59	5	32	0	25	44	41	13
intestinale enterococcen MPN	(n/100mL)	77	0	15	30	30	0	0	15	15	272	30	0
E. coli MF	(n/100mL)	933	50	368	40	714	20	145	16	118	205	468	40
E. coli MPN	(n/100mL)	457	15	232	94	480	30	192	15	0	15	46	77
Staphylococcus aureus	(n/100mL)	30	270	1130	320	60	140	18000	2273	6300	5400	1400	4600
Pseudomonas aeruginosa	(n/100mL)	5	0	2	5	0	0	0	0	0	0	9	0
Campylobacter	(PA/L)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Salmonella	(PA/L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio	(PA/L)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cryptosporidium	(n/L)	0,025	0,065	0,057	0	0,114	0,260	0,091	0	0	0,029	0,023	0
Giardia	(n/L)	0,250	0,163	0,028	0,026	0	0,043	0,272	0,103	0	0,371	0	0
norovirus		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
enterovirus		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
rotavirus		-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
adenovirus		-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
temperatuur	°C	21,4	18,1	22,5	20,2	19,2	17,3	17,6	16,7	18,6	18,5	19,1	19
pH		7,99	8,15	8,06	8,11	8,2	7,8	8,25	8,11	8,2	8,3	8,1	7,9
troebelheid	FTU	4,35	10,49	1,94	58	1,92	105	1,06	15,65	2,18	17,94	1,27	10,67
geleidbaarheid	µS/cm	9,49	217	nd	nd	10,08	235	8,95	207	8,89	164,6	10,69	245