

Rapport

DNA bronopsporing voor RWS op tien zwemwaterlocaties in 2021

KWR 2021.103

Datum

7 december 2021

Opdrachtgever

RWS-WVL

Meer informatie

dr.ir. M.J.M. Hootsmans

T 0622951843

Auteur(s)

M.J.M. Hootsmans

Opdrachtnummer

403814

E michiel.hootsmans@kwrwater.nl

Kwaliteitsborger(s)

L. Heijnen (gedelegeerd namens G. Medema)

Projectmanager

M.J.M. Hootsmans

Pagina

1/23

Inhoud

1	Inleiding	3
2	Methode en aanpak	4
2.1	Verzamelen van watermonsters	4
2.2	Filtratie	4
2.3	Keuze van te analyseren monsters	4
2.4	Interpretatie van de analyseresultaten	5
2.5	DNA analyse	5
3	Resultaten en discussie	6
3.1	De opbrengst van de inhibitie en rendementscontrole	6
3.2	Resultaten DNA analyse en kweek	6
3.2.1	De Oude Pol	6
3.2.2	Strandbad Edam	9
3.2.3	Andijk Zwemstrand	10
3.2.4	't Kleine Zeetje	12
3.2.5	Rhederlaag Giese Kop	13
3.2.6	Rhederlaag Noordoever	14
3.2.7	Zeestrand Eemshotel, Delfzijl	16
3.2.8	Scheveningen Zwarte Pad	17
3.2.9	Monster Ter Heijde	19
3.2.10	Den Haag Kijkduin	20
4	Conclusies	21
5	Referenties	22

1 Inleiding

In het beheergebied van RWS liggen diverse zwemwaterlocaties. De zwemwaterkwaliteit van deze locaties valt niet altijd in de categorie 'uitstekend' of 'goed' zoals vastgelegd in de Europese zwemwaterrichtlijn. Voor de waterbeheerder is het van belang om de belangrijkste bronnen die bijdragen aan de overschrijdingen in concentraties *E. coli* en intestinale enterococcen in beeld te krijgen. Deze indicatorbacteriën komen algemeen voor in darmen van warmbloedige dieren en de concentratie van deze bacteriën in oppervlaktewater geeft daarom een indruk van de concentratie fecaal materiaal in het water en daarmee van de potentiële aanwezigheid van ziekteverwekkende micro-organismen, zoals virussen en bacteriën.

Fecale verontreiniging in oppervlaktewater kan afkomstig zijn van een heel scala aan bronnen. Te denken valt aan de aanwezigheid van (water)vogels, vervuiling door recreanten, afspoeling van agrarisch gebied, effluentlozing door RWZI's, overstorten uit rioolwater- of hemelwaterriolering, aanwezigheid van wilde fauna en afspoeling van honden- en/of paardenfeces. Welk van dergelijke bronnen bijdraagt aan de verminderde (zwem)waterkwaliteit is op basis van alleen de indicator bacteriën (*Escherichia coli* en intestinale enterococcen) niet te achterhalen. Sinds enkele jaren maakt men daarvoor gebruik van specifieke DNA-methoden. Met dergelijke technieken is onderscheid te maken tussen diergroepspecifieke bacteriën met fecale herkomst en/of het DNA uit dierlijke cellen waarvan in de feces hoge concentraties aanwezig zijn (Heijnen & Learbuch 2013, Heijnen et al. 2014, Becker et al. 2017). Met behulp van DNA technieken (qPCR) kunnen dergelijke bacteriën of dierlijke cellen gedetecteerd en gekwantificeerd worden. De meest relevante diergroepen die momenteel in het laboratorium van KWR met DNA merkers onderscheiden kunnen worden zijn: fecale bacteriën van mensen, vogels, varkens, herkauwers (als groep), runderen (uit de groep van herkauwers) en paarden, en DNA uit cellen van honden en de bruine rat. In het vervolg zal korthedshalve worden gesproken over 'DNA merkers' voor de verschillende groepen.

De potentiële bronnen van fecale verontreiniging zijn met de bestaande zwemwaterprofielen redelijk in beeld. Met de resultaten van de DNA analyse in de hand kan de (water)beheerder gericht maatregelen nemen. Deze zijn erop gericht om de invloed van aangetoonde bronnen te minimaliseren en zo de (zwem)waterkwaliteit te verbeteren dan wel te garanderen. Het doel van dit DNA-onderzoek is om te achterhalen wat in 2021 de voornaamste bron van fecale verontreiniging is die bijdraagt aan overschrijdingen van de fecale parameters *E. coli* en intestinale enterococcen gedurende het zwemwaterseizoen in zes zwemwaterlocaties gelegen in zoetwater (De Oude Pol, Strandbad Edam, Andijk Zwemstrand, 't Kleine Zeetje, Rhederlaag Giese Kop, Rhederlaag Noordoever), en vier zwemwaterlocaties in zeewater (Zeestrand Eemshotel te Delfzijl, Monster Ter Heijde, Den Haag Kijkduin en Scheveningen Zwarte Pad).

2 Methode en aanpak

2.1 Verzamelen van watermonsters

Op de onderzochte zwemwaterlocaties is tijdens de reguliere bemonstering in het zwemseizoen 2021 voor de bepaling van indicator bacteriën (*E. coli* en intestinale enterococcen) steeds ook extra water verzameld voor de DNA bronanalyse. In totaal ging het om 6-13 monsterdatums voor de bovengenoemde locaties (inclusief eventuele herhalingsmonsterdatums). Alle geanalyseerde monsters zijn binnen 48 uur afgeleverd bij de voor de filtratie en conservering door KWR ingeschakelde laboratoria (Intertek, WLN en KWR zelf). De filtratie en aansluitende conservering vond plaats volgens de hiervoor door KWR gehanteerde en met Intertek en WLN gedeelde procedure. Om een goede vergelijking van DNA-resultaten met kweekgegevens van *E. coli* en intestinale enterococcen mogelijk te maken, hebben de hiervoor door RWS-WVL ingeschakelde laboratoria Intertek, Eurofins Omegam en waterschap Hunze en Aa's parallel aan de watermonsters voor DNA analyse ook monsters verzameld en geanalyseerd op deze zwemwaterparameters. Deze gegevens zijn door RWS-WVL aan KWR aangeleverd.

2.2 Filtratie

Binnen 48 uur na monsternamen is een volume van 50-450 ml van een monster, onder vacuüm, gefiltreerd over een polycarbonaat (PC) membraanfilter (Track-edge filters, Sartorius) met een poriegrootte van 0,2 µm en een doorsnede van 4,5 cm. Het gefiltreerde monstervolume was afhankelijk van de filterbaarheid van het water. Bij elke monsternameronde is tevens een blanco filter (in alle gevallen 100 ml DNA vrij water) geprepareerd om daarmee het optreden van eventuele contaminaties of vals-positieve reacties vast te kunnen stellen. Na het filtreren van het monster is het filter gespoeld door filtratie met 10 ml van een 0,5 M ammonium-oxalaat oplossing om ijzer te onttrekken uit ijzerhoudende monsters. Dit verbetert het rendement van de DNA extractie van dergelijke monsters aanzienlijk. Na filtratie met ammonium-oxalaat zijn de filters nagespoeld met 20-30 ml PBS oplossing (fosfaat gebufferde fysiologisch zoutoplossing, Gibco – Life Technologies) om restanten ammonium-oxalaat te verwijderen en de pH te neutraliseren.

Gedurende de monsternamercampagne zijn de filters ingevroren in lysis buffer totdat de verdere DNA analyses plaatsvonden.

2.3 Keuze van te analyseren monsters

Uit de per locatie beschikbare watermonsters zijn er een tot drie gekozen voor de DNA analyse. Deze keuze is in overleg met RWS-WVL gemaakt en is met name bepaald door de resultaten van de analyses voor fecale indicatorbacteriën (zowel *E. coli* als de intestinale enterococcen) zoals die gedurende het zwemseizoen verkregen werden met de MPN-methode (hierna uitgedrukt als kolonievormende eenheden (kve) per 100 ml). Bij de selectie van de te analyseren monsters is in principe gekozen voor tenminste één datum met verhoogde waarden van fecale indicatoren, en één datum met lage waarden (als referentie voor de waarden van de DNA merkers bij lage bacteriewaarden). Om reden van kostenbesparing is door RWS-WVL besloten om in 2021 voor een aantal locaties geen referentie monster te bewerken, maar gebruik te maken van DNA merker referentiegegevens uit meetcampagnes van eerdere jaren. Dit betekent dat voor de betreffende locaties niet is uit te sluiten dat in 2021 mogelijk andere DNA merker referentiewaarden zouden kunnen zijn opgetreden. Het gaat om de locaties

Zeestrand Eemshotel (referentie uit 2015), De Oude Pol (referentie uit 2019), Strandbad Edam (referentie uit 2019 en 2020), Andijk Zwemstrand (referentie uit 2019), en 't Kleine Zeetje (referentie uit 2020). Voor de drie onderzochte badstranden in de regio Den Haag is door RWS-WVL in overleg met KWR besloten om de referentie waarde van locatie Scheveningen Zwarte Pad in 2021 als referentie voor al deze drie locaties te gebruiken.

2.4 Interpretatie van de analyseresultaten

Bij de vergelijking van DNA merker resultaten voor een monster met lage concentratie en een monster met hoge concentratie fecale indicatorbacteriën is de verwachting dat de concentratie DNA merkers in het monster met hoge concentratie informatie geeft over de verontreinigingsbron(nen) die op dat moment verantwoordelijk is voor de verhoogde concentratie fecale indicatorbacteriën. Deze verwachting gaat uit van een goede relatie tussen de concentratie van DNA merkers en de concentratie fecale indicatororganismen. Door verschillende omstandigheden kan deze relatie niet in alle gevallen goed zijn:

- Door het toepassen van verschillende detectietechnieken (qPCR/kweek) kunnen er verschillen optreden. Met de kweek zullen alleen de indicatororganismen, die in staat zijn tot vermeerdering in een selectief kweekmedium, worden gedetecteerd terwijl met qPCR DNA wordt aangetoond. Dit betekent dat DNA-merkers over een langere periode in water detecteerbaar kunnen zijn dan kweekbare indicatorbacteriën.
- Van *E. coli* en enterococci is bekend dat er situaties zijn waarbij deze ook in het milieu kunnen overleven en vermeerderen zodat deze niet altijd een goede indicatie zijn voor de aanwezigheid van fecaal materiaal (en dus van mogelijke ziekteverwekkers).
- De gemiddelde concentraties DNA-merkers en fecale indicatororganismen zijn hoog in feces waarbij de concentratie DNA merkers gemiddeld hoger zijn dan de concentratie indicatororganismen. Er zijn echter grote variaties in de concentraties van beide parameters in individuele fecesmonsters mogelijk (Heijnen, 2015).

Door bovenstaande punten kunnen er situaties optreden waarin geen fecale indicatororganismen worden aangetoond en wel DNA merkers; en soms ook omgekeerd. Deze situaties worden vooral waargenomen in monsters met verhoogde concentraties fecale indicatorbacteriën waarbij de signaalwaarden voor overschrijding van het acute risico niet worden overschreden. Hoewel door deze verschillen niet altijd een directe relatie kan worden gelegd tussen de concentraties indicatorbacteriën en de concentratie DNA merkers geven de metingen van DNA merkers ook in deze situaties inzicht in de herkomst van fecale verontreinigingen op de bemeeten locatie.

2.5 DNA analyse

De DNA-analyse is op te splitsen in een aantal stappen: DNA-isolatie, DNA-analyse (met behulp van qPCR) en kwaliteitscontrole. Zowel voor de DNA-isolatie als voor de qPCR-analyses is gebruik gemaakt van KWR-werkvoorschriften.

Voor dit onderzoek is op verzoek van RWS-WVL voor de locaties De Oude Pol, Strandbad Edam en Zeestrand Eemshotel gebruik gemaakt van de DNA merkers gericht op de detectie van de bronnen mens, hond, rund, vogel en herkauwer. Voor de zeven overige locaties zijn eveneens de merkers voor mens, hond, vogel en herkauwer gebruikt, maar is de merker rund vervangen door de merker voor de bron paard.

Voor het bepalen van het voorkomen van DNA indicatief voor bronnen afkomstig van mens, paard, herkauwer en rund is gebruik gemaakt van groepspecifieke bacteriën uit de bacteriegroep *Bacteroides*. Voor het opsporen van verontreinigingen van vogels is gebruik gemaakt van de, veelvuldig in vogel uitwerpselen voorkomende,

Helicobacter bacterie. Voor het aantonen van fecale verontreiniging van honden is een methode gebruikt die zich richt op DNA uit hondencellen in plaats van fecaal gerelateerd bacterie materiaal. Fecaliën van honden bevatten veel van dergelijke cellen afkomstig van de darmwand. De resultaten worden hierna weergegeven op een loglineaire schaal als DNA-kopieën/l.

De kwaliteitscontrole bevat drie onderdelen:

- In de analyse wordt gebruik gemaakt van een interne controle zodat zicht ontstaat op het rendement van de DNA-extractie en het verloop de qPCR-analyse.
- De analyse van een blanco monster om inzicht te krijgen in het eventueel optreden van contaminaties.
- Een controle van de juistheid van alle gerapporteerde uitkomsten door een collega-laborant.

3 Resultaten en discussie

3.1 De opbrengst van de inhibitie en rendementscontrole

Om te bepalen of alle oppervlaktewatermonsters geschikt waren voor qPCR-analyses is de DNA opbrengst van de interne controle (IC) bepaald in elk monster. Door het toevoegen van een bekende hoeveelheid IC-DNA kan men aan de hand van de hoeveelheid DNA die men na DNA extractie en analyse terugmeet berekenen hoe goed de isolatie van IC-DNA en de qPCR analyses zijn verlopen: het rendement. Het rendement wordt uitgedrukt als percentage van de bekende hoeveelheid IC-DNA die aan de monsters toegevoegd is. Dit rendement wordt gebruikt om de gevonden hoeveelheden van het target DNA te kunnen corrigeren. Rendementen kunnen negatief beïnvloed worden door de aanwezigheid van stoffen die extractie of de PCR reactie verstoren, dat noemen we remming van de PCR analyse.

De rendementen van de DNA-extracties (zie de tabellen per locatie) bleken voor alle geanalyseerde monsters + de blanco's goed (rendement van 20% of hoger). Deze uitkomst geeft aan dat de watermonsters afkomstig van deze zwemwaterlocaties zich goed lieten behandelen. In geen van de blanco monsters werden DNA merkers aangetroffen, zodat er naar alle waarschijnlijkheid geen kruisbesmettingen tussen monsters zijn opgetreden. In het blanco monster voor de Oude Pol van 24 augustus is abusievelijk de DNA merker rond niet getest. Dit heeft geen gevolgen voor de conclusies omdat deze merker niet is aangetroffen in het veldmonster van deze datum.

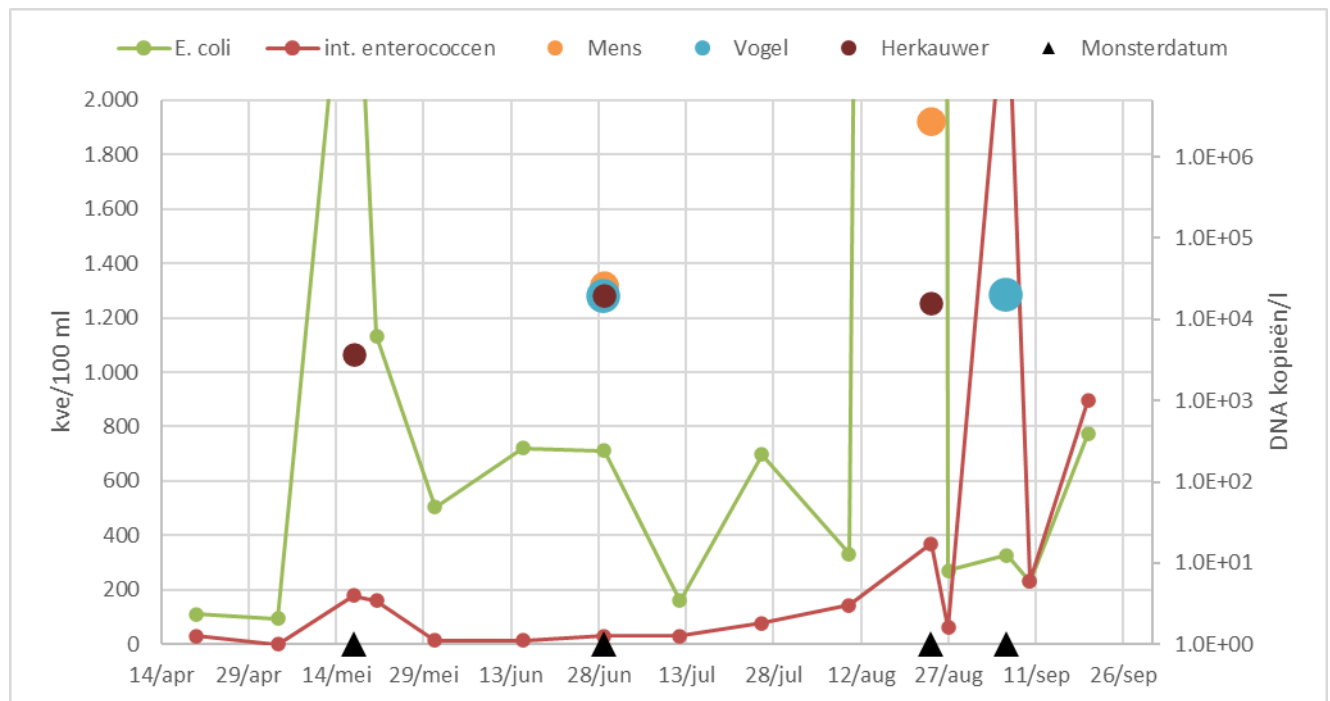
3.2 Resultaten DNA analyse en kweek

3.2.1 De Oude Pol

De zwemwaterlocatie Oude Pol heeft al meerdere jaren geen goede zwemwaterkwaliteit. Bij de Oude Pol is het vermoeden dat de Bijsselsche beek een belangrijke aanvoer van verontreinigingen is. Dit jaar zijn daarom extra monsters genomen waar de Bijsselsche beek uitmondt in het Veluwemeer nabij zwemlocatie de Oude Pol. De volledige naam van de nu onderzochte locatie is De Oude Pol Extra meetpunt B, Bijsselsche beek. In Tabel 1 zijn de DNA concentraties van de onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven voor deze locatie.

Tabel 1. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor de vier onderzochte veldmonsters van de locatie De Oude Pol meetpunt B en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens. NA=niet geanalyseerd

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	rund	vogel	herkauwer
LMB-131297-OW	17 mei 100 ml	De Oude Pol meetpunt B	44,6	<2,2E+03	<2,2E+03	<2,2E+03	<1,1E+04	3,7E+03
LMB-131294-UW	100 ml	Blanco	51,4	<1,9E+03	<1,9E+03	<1,9E+03	<9,7E+03	<1,9E+03
LMB-131303-OW	29 juni 100 ml	De Oude Pol meetpunt B	48,0	2,7E+04	<2,1E+03	<2,1E+03	1,9E+04	2,0E+04
LMB-131302-UW	100 ml	Blanco	40,7	<2,5E+03	<2,5E+03	<2,5E+03	<1,2E+04	<2,5E+03
LMB-134236-OW	24 aug 100 ml	De Oude Pol meetpunt B	20,5	2.8E+06	<4,9E+03	<4,9E+03	<2,4E+04	1.6E+04
LMB-131312-UW	100 ml	Blanco	36,2	<2,8E+03	<2,8E+03	NA	<1,4E+04	<2,8E+03
LMB-131319-OW	6 sep 100 ml	De Oude Pol meetpunt B	36,3	<2,8E+03	<2,8E+03	<2,8E+03	2,0E+04	<2,8E+03
LMB-131318-UW	100 ml	Blanco	41,5	<2,4E+03	<2,4E+03	<2,4E+03	<1,2E+04	<2,4E+03



Figuur 1. Meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci op de locatie De Oude Pol meetpunt B in 2021 en de op vier momenten vastgestelde DNA-resultaten van potentiële fecale bronnen. *E. coli* en intestinale enterococci zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopie aantallen/l. De vier datums met DNA analyses zijn weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as. Op 17 mei is de waarde voor *E. coli* 2929 kve/100ml; op 24 augustus is dat 34.659 kve/100ml. Op 6 september is de waarde voor intestinale enterococci 2496 kve/100ml.

In Figuur 1 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococcon gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie. Ook de resultaten voor de op de drie geanalyseerde datums vastgestelde DNA waarden voor de fecale merkers voor mensen, vogels en herkauwers worden hier weergegeven. Conform de Europese zwemwaterrichtlijn is voor de zwemwaterkwaliteitsklasse ‘goed’ de bovengrenswaarde voor *E. coli* 1000 kve/100 ml, voor intestinale enterococcon is dit 400 kve/100 ml. In Nederland wordt de grens van 1800 kolonievormende eenheden (kve)/100 ml met betrekking tot *E. coli* aangehouden als signaalwaarde voor overschrijding van het acute risico (Stuurgroep Water, 2013). Voor intestinale enterococcon ligt die grens bij 400 kve /100 ml.

De meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococcon vertonen gedurende het seizoen diverseverhoogde waarden. De signaalwaarde wordt op 17 mei en 24 augustus fors overschreden. De signaalwaarde voor intestinale enterococcon wordt overschreden op 6 en 20 september. Bij *E. coli* correspondeert de hoge waarde op 17 mei met een signaal voor herkauwers; op 29 juni worden merkers voor herkauwers, mensen en vogels gevonden, en op 6 september is bij de dan sterk verhoogde waarde intestinale enterococcon de merker voor vogels gedetecteerd. Overigens kan een verschil in concentraties tussen verschillende DNA merkers op een bepaalde datum of tussen datums niet worden geïnterpreteerd als een verschil in relatieve bijdrage van de betreffende bronnen op dat moment. Daarvoor verschillen de correlaties tussen individuele DNA merkers en de fecale indicator bacteriën in feces teveel (Heijnen, 2015). Er kan alleen worden vastgesteld dat verschillende bronnen op deze locatie een bijdrage leveren. In 2019 werden in het als referentie gekozen monster geen van de nu gebruikte merkers aangetroffen (Hootsmans, 2019).

Op 22 augustus is er behoorlijk wat neerslag gevallen in het gebied van de Bijsselsche beek. Volgens gegevens van van KNMI weerstation Lelystad viel er op 22 augustus 21,1 mm; in de dagen daarna regende het niet. Neerslaggegevens van amateurweerstation 't Harde (wow.knmi.nl/#949846001) voor 22 augustus geven een waarde van 16 mm. Dit kan hebben geleid tot verhoogde oppervlakkige afstroming en wellicht ook tot riooloverstorten in het gebied. En dat kan verklaren waarom op 24 augustus de DNA merkers voor herkauwers en mens worden gedetecteerd.

De in 2021 verzamelde DNA gegevens wijzen dus op mensen, herkauwers en vogels als mogelijke bronnen bij De Oude Pol meetpunt B. Bij eerder onderzoek met DNA merkers werden voor dezelfde locatie mens en vogel als regelmatig voorkomende bron aangewezen; in 2015 en 2016 kwam ook herkauwer voor (zie Tabel 2; Kardinaal & Heijnen, 2014, 2015, 2016). In 2019 kon geen voornaamste bron worden aangeduid (Hootsmans, 2019). Het beeld is over de jaren niet constant. Het zwemwaterprofiel voor de eigenlijke zwemwaterlocatie De Oude Pol (RWS MN, 2020a) wijst als mogelijke bronnen eveneens op mensen, herkauwers en vogels, en incidenteel honden.

Tabel 2. Overzicht van de bronnen zoals gemeten in de periode 2014 t/m 2016, 2019 en 2021 op locatie Oude Pol extra meetpunt B Bijsselse beek. De **vetgedrukte tekst** in de kolommen geeft aan welke bron in een meetjaar als voornaamste aangemerkt is.

omschrijving	Aangetoonde fecale verontreinigingsbronnen				
	2014	2015	2016	2019	2021
De oude Pol extra meetpt B	mens	vogel, mens, herkauwer, hond	mens, herkauwer, vogel	mens, hond, vogel	mens, herkauwer, vogel

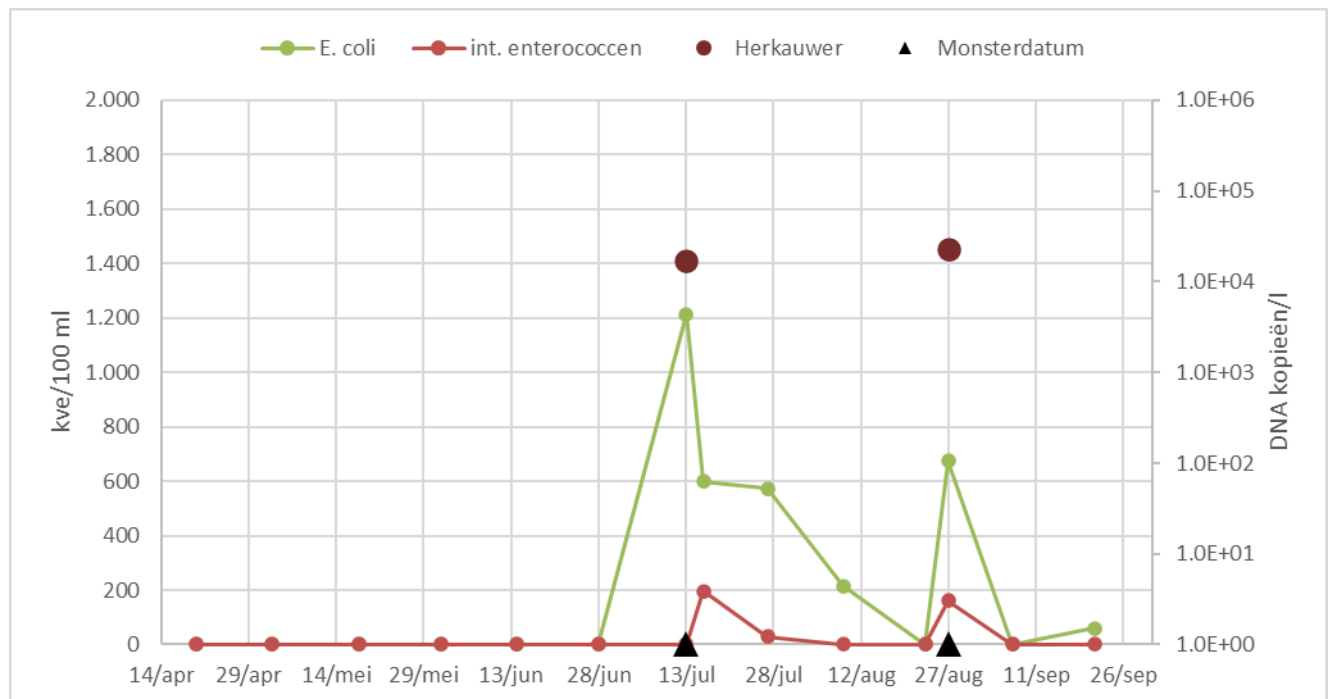
3.2.2 Strandbad Edam

De zwemwaterlocatie Strandbad Edam heeft al meerdere jaren geen goede zwemwaterkwaliteit. In Tabel 3 zijn de DNA concentraties van de hier in 2021 onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven. Beide veldmonsters zijn positief, en wel voor DNA merkers afkomstig van herkauwers.

Tabel 3. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor de twee onderzochte veldmonsters van de locatie Strandbad Edam en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens.

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	rund	vogel	herkauwer
LMB-131305-OW	13 juli 100 ml	Strandbad Edam	48,1	<2,1E+03	<2,1E+03	<2,1E+03	<1,0E+04	1,7E+04
LMB-131304-UW	100 ml	Blanco	39,2	<2,6E+03	<2,6E+03	<2,6E+03	<1,3E+04	<2,6E+03
LMB-131316-OW	17 aug 100 ml	Strandbad Edam	44,5	<2,2E+03	<2,2E+03	<2,2E+03	<1,1E+04	2,3E+04
LMB-131315-UW	100 ml	Blanco	23,4	<4,3E+03	<4,3E+03	<4,3E+03	<2,1E+04	<4,3E+03

In Figuur 2 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococci gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie. Ook de resultaten voor de op de twee geanalyseerde datums vastgestelde DNA waarden voor de fecale marker voor herkauwers worden hier weergegeven.



Figuur 2. Meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci op de locatie Strandbad Edam in 2021 en de op twee momenten vastgestelde DNA-resultaten van potentiële fecale bronnen. *E. coli* en intestinale enterococci zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopie aantallen/l. De twee datums met DNA analyses zijn weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as.

Er zijn duidelijk verhogingen zichtbaar voor *E. coli* in juli en op 27 augustus. Voor de intestinale enterococci blijft dit beperkt tot twee licht verhoogde waarden (16 juli en 27 augustus). De signaalwaarden worden in 2021 niet overschreden. De verhoogde waarden voor *E. coli* corresponderen met detectie van de DNA merker voor herkauwers. In 2019 en 2020 werden in het als referentie gekozen monster geen van de nu gebruikte markeringen aangetroffen (Hootsmans, 2019, 2020).

Bij eerder onderzoek met DNA markeringen werden voor dezelfde locatie naast herkauwers ook wel mensen, honden en vogels als bron aangewezen (zie Tabel 4; Kardinaal & Heijnen, 2016; Kardinaal, 2017, 2018; Hootsmans, 2019, 2020). Het zwemwaterprofiel uit 2020 (RWS MN, 2020b) wijst mede op basis van de eerdere DNA analyses geen eenduidige fecale bron aan. Het beeld blijkt over de jaren niet constant wat wijst op meerdere fecale verontreinigingsbronnen die invloed kunnen hebben op de waterkwaliteit.

Tabel 4. Overzicht van de bronnen zoals vastgesteld in de periode 2016 t/m 2021 op locatie Strandbad Edam. De **vetgedrukte** tekst in de kolommen geeft aan welke bron in een meetjaar als voornaamste aangemerkt is.

omschrijving	Aangetoonde fecale verontreinigingsbronnen					
	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Badstrand Edam	mens , hond, vogel	mens , herkauwer	vogel , herkauwer, hond, mens	hond	mens	herkauwer

3.2.3 Andijk Zwemstrand

De zwemwaterlocatie Andijk Zwemstrand heeft al meerdere jaren geen goede zwemwaterkwaliteit. In Tabel 5 zijn de DNA concentraties van de hier in 2021 onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven. De veldmonsters van 13 juli en 23 augustus zijn positief, en wel voor DNA afkomstig van respectievelijk mensen en vogels.

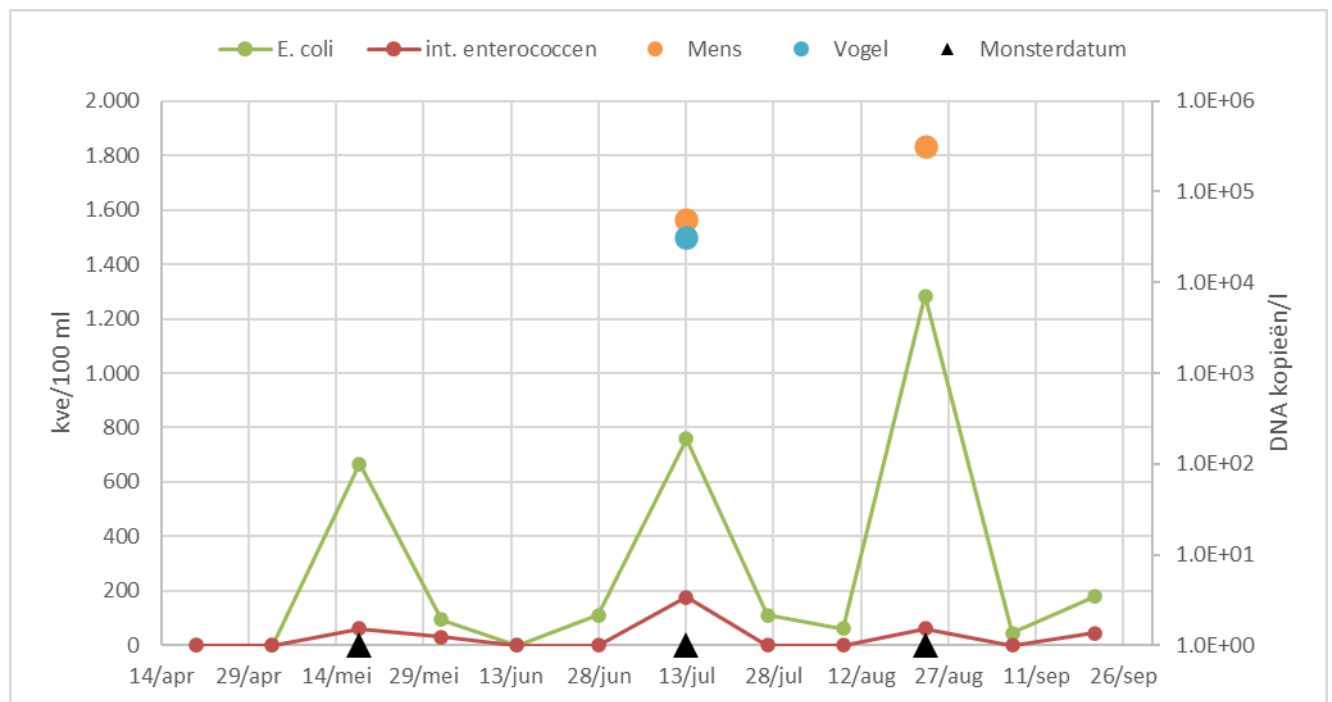
In Figuur 3 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococci gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie. Ook de resultaten voor de op de drie geanalyseerde datums vastgestelde DNA waarden voor de fecale merker voor mensen en vogels worden hier weergegeven. Conform de Europese zwemwaterrichtlijn is voor de zwemwaterkwaliteitsklasse 'goed' de

Tabel 5. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor de drie onderzochte veldmonsters van de locatie Andijk Zwemstrand en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens.

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	paard	vogel	herkauwer
LMB-131296-OW	18 mei 100 ml	Andijk Zwemstrand	47,9	<2,1E+03	<2,1E+03	<2,1E+03	<1,0E+04	<2,1E+03
LMB-131294-UW	100 ml	Blanco	51,4	<1,9E+03	<1,9E+03	<1,9E+03	<9,7E+03	<1,9E+03
LMB-131306-OW	13 juli 100 ml	Andijk Zwemstrand	46,3	5,0E+04	<2,2E+03	<2,2E+03	3,2E+04	<2,2E+03
LMB-131304-UW	100 ml	Blanco	39,2	<2,6E+03	<2,6E+03	<2,6E+03	<1,3E+04	<2,6E+03
LMB-131313-OW	23 aug 100 ml	Andijk Zwemstrand	38,7	3,2E+05	<2,6E+03	<2,6E+03	<1,3E+04	<2,6E+03
LMB-131312-UW	100 ml	Blanco	36,2	<2,8E+03	<2,8E+03	<2,8E+03	<1,4E+04	<2,8E+03

bovengrenswaarde voor *E. coli* 1000 kve/100 ml, voor intestinale enterococconen is dit 400 kve/100 ml. In Nederland wordt de grens van 1800 kolonievormende eenheden (kve)/100 ml met betrekking tot *E. coli* aangehouden als signaalwaarde voor overschrijding van het acute risico (Stuurgroep Water, 2013). Voor intestinale enterococconen ligt die grens bij 400 kve /100 ml.

De meetwaarden voor intestinale enterococconen waren gedurende het seizoen laag. Voor *E. coli* zijn er een aantal verhoogde waarden waarden zichtbaar op 18 mei, 13 juli en 23 augustus. Op 18 mei werden geen DNA merkers aangetoond. Voor een algemeen overzicht van mogelijke oorzaken hiervoor wordt verwezen naar paragraaf 2.4. De verhoging op 13 juli correspondeert met een verhoogde waarde voor de DNA merker voor mensen en vogels. Op 23 augustus werd de merker voor mensen aangetroffen. In 2019 werden in het als referentie gekozen monster de DNA merkers voor mensen en honden aangetroffen (Hootsmans, 2019). De toen gevonden waarde voor de DNA merker voor mensen lag een factor 10 tot 100 lager dan de nu gevonden waarden voor deze merker.



Figuur 3. Meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococconen op de locatie Andijk Zwemstrand in 2021 en de op drie momenten vastgestelde DNA-resultaten van potentiële fecale bronnen. *E. coli* en intestinale enterococconen zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopie aantallen/l. De drie datums met DNA analyses zijn weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as.

Bij eerder onderzoek met DNA merkers op deze locatie werden in 2014 mens en vogels als voornaamste bron aangewezen (Kardinaal & Heijnen, 2014). In 2019 kon geen duidelijke bron worden vastgesteld voor een overschrijding van de signaalwaarde voor intestinale enterococconen (gebruikte merker set: mens, hond, rund, vogel, herkauwer; het vermoeden ging uit naar hond; Hootsmans, 2019). Het zwemwaterprofiel uit 2018 (RWS MN, 2018) geeft nog geen aanwijzing voor mogelijke bronnen; de locatie is pas in 2017 een officiële zwemwaterlocatie geworden. De tot nu toe verzamelde DNA gegevens wijzen vooralsnog op mensen en vogels als mogelijke bronnen bij Andijk Zwemstrand.

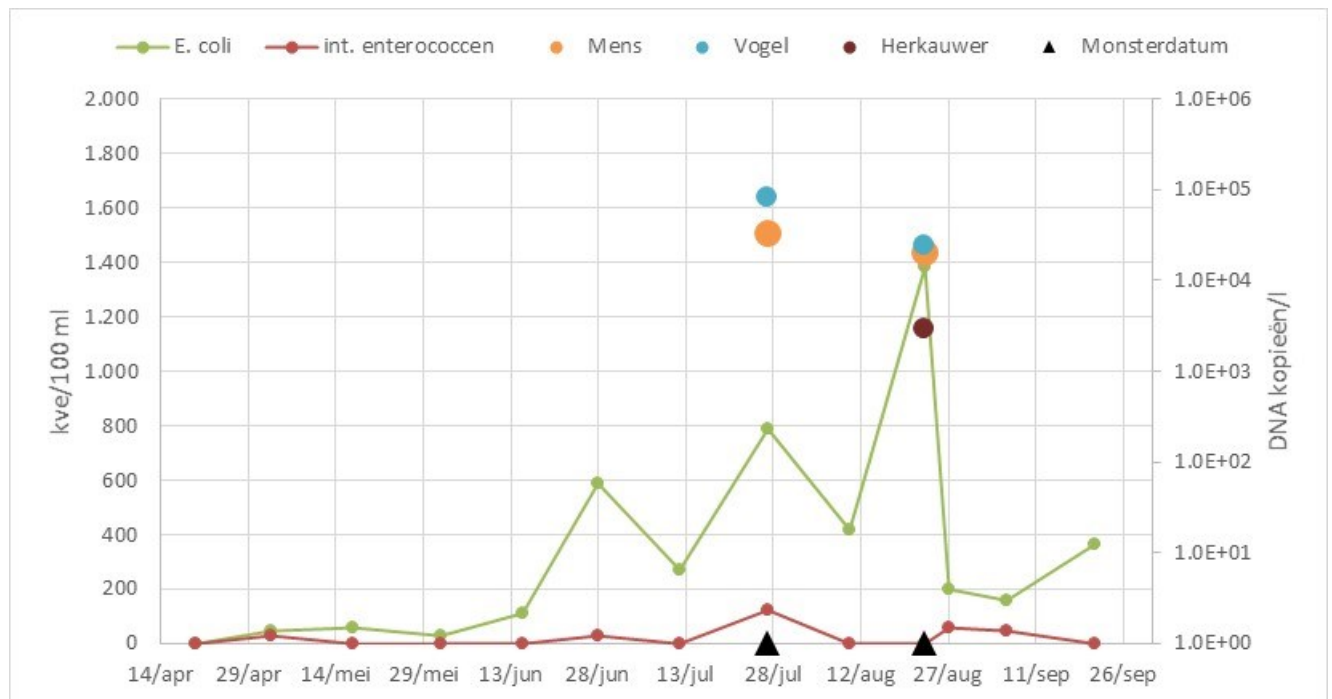
3.2.4 't Kleine Zeeetje

De zwemwaterlocatie 't Kleine Zeeetje heeft al meerdere jaren geen goede zwemwaterkwaliteit. In Tabel 6 zijn de DNA concentraties van de hier in 2021 onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven. Op beide meetdatums werden DNA merkers aangetoond.

In Figuur 4 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococci gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie. Ook de resultaten voor de op de twee geanalyseerde datums vastgestelde DNA waarden voor de fecale merker voor mensen, vogels en herkauwers worden hier weergegeven.

Tabel 6. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor de twee onderzochte veldmonsters van de locatie 't Kleine Zeeetje en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens.

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	paard	vogel	herkauwer
LMB-131308-OW	27 juli 100 ml	't Kleine Zeeetje	41,2	3,4E+04	<2,4E+03	<2,4E+03	8,1E+04	<2,4E+03
LMB-131307-UW	100 ml	Blanco	46,4	<2,2E+03	<2,2E+03	<2,2E+03	<1,1E+04	<2,2E+03
LMB-131314-OW	23 aug 100 ml	't Kleine Zeeetje	36,5	2,1E+04	<2,7E+03	<2,7E+03	2,4E+04	2,9E+03
LMB-131312-UW	100 ml	Blanco	36,2	<2,8E+03	<2,8E+03	<2,8E+03	<1,4E+04	<2,8E+03



Figuur 4. Meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci op de locatie 't Kleine Zeeetje in 2021 en de op twee momenten vastgestelde DNA-resultaten van potentiële fecale bronnen. *E. coli* en intestinale enterococci zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopie aantallen/l. De twee datums met DNA analyses zijn weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as.

Voor *E. coli* zijn een aantal verhoogde waarden zichtbaar, maar niet boven de signaalwaarde, op 28 juni, 27 juli, en op 23 augustus. Voor de intestinale enterococci zijn de waarden laag. De verhoging op 27 juli en op 23 augustus correspondeert met een verhoogde waarde voor de DNA merker voor mensen en vogels. Op 23 augustus werd daarnaast ook de merker voor herkauwers aangetroffen. In 2020 werden in het als referentie gekozen monster geen DNA merkers aangetroffen (Hootsmans, 2020). In 2014 werden DNA merkers voor herkauwers, vogels en mensen gevonden; in 2015 betrof het vogels, honden en mensen. (Kardinaal & Heijnen, 2014, 2015). In de periode 2016 tot en met 2019 zijn geen DNA metingen gedaan. In 2020 werden geen DNA merkers gedetecteerd (Hootsmans, 2020).

Het zwemwaterprofiel uit 2019 (RWS MN, 2019) wijst met name op vogels als mogelijke bron, en daarnaast op mensen (recreatievaart) en mogelijk lokaal honden en paarden. Herkauwers worden niet benoemd als mogelijke bron.

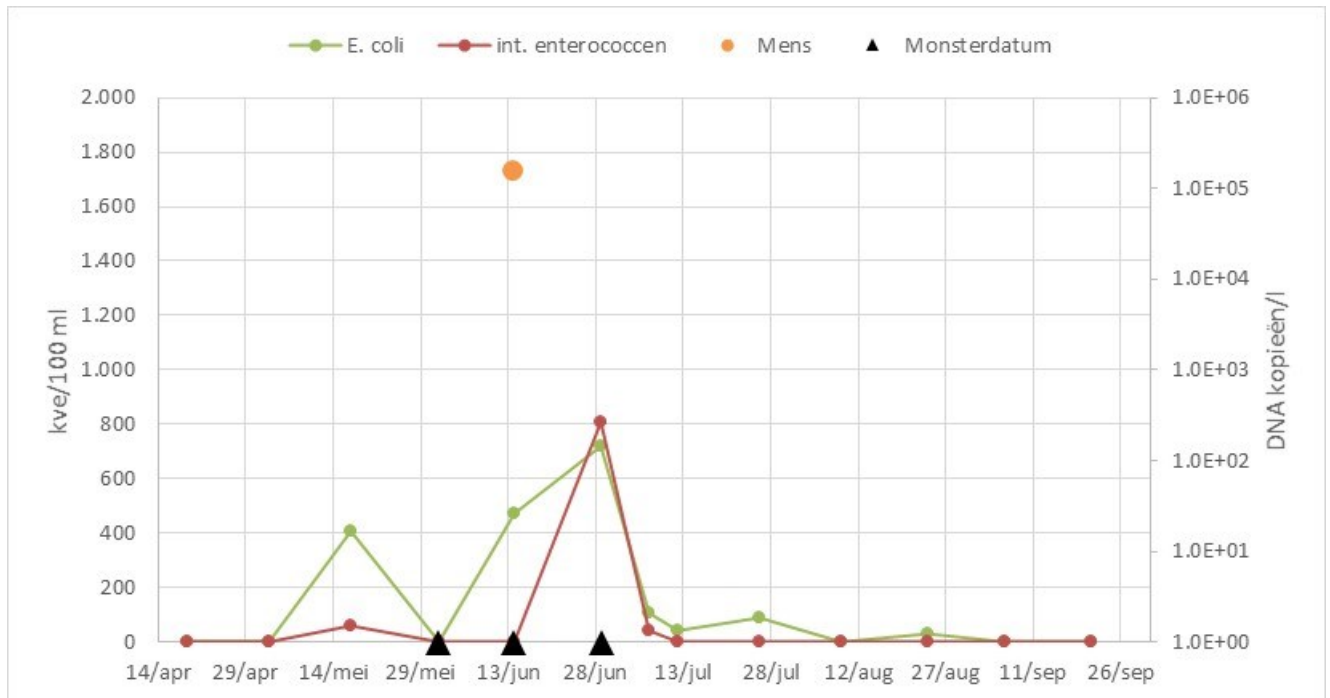
3.2.5 Rhederlaag Giese Kop

Bij Rhederlaag Giese Kop verslechterde in 2020 plotseling de zwemwaterkwaliteit. Er werd geconstateerd dat de vuilwaterinnamepunten in drie jachthavens niet functioneerden. Op 8 juni en 21 juli 2020 zijn handhavingssacties bij de drie jachthavens nabij de zwemwaterlocatie uitgevoerd. Daarbij bleek dat de vuilwaterinnamepunten niet functioneerden. De jachthavens zijn gemaand om dit in orde te maken. Op 7, 14 en 15 september zijn de jachthavens opnieuw bezocht en is geconstateerd dat de innamepunten weer functioneerden. Afgesproken is dat de jachthavens geen vergoeding meer vragen voor gebruik van de vuilwaterinnamepunten. Vóór het badseizoen 2021 werd door toezichthouders van de provincie vastgesteld dat alle innamepunten in plas Rhederlaag nog steeds correct functioneerden. Zowel voor Giese Kop als voor Noordoever wordt in 2021 ook met DNA bronopsporing onderzocht of de beschikbare vuilwaterinzameling inderdaad weer effectief is. In Tabel 7 zijn de DNA concentraties van de hier in 2021 onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven. Op 14 juni werd de DNA merker voor mensen aangetoond.

Tabel 7. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor de drie onderzochte veldmonsters van de locatie Rhederlaag Giese Kop en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens.

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	paard	vogel	herkauwer
LMB-122078-OW	1 juni 450 ml	Rhederlaag Giese Kop	39,8	<560	<560	<560	<2,8E+03	<560
LMB-122080-UW	100 ml	Blanco	33,5	<3,0E+03	<3,0E+03	<3,0E+03	<1,5E+04	<3,0E+03
LMB-123084-OW	14 juni 450 ml	Rhederlaag Giese Kop	44,2	1,5E+05	<500	<500	<2,5E+03	<500
LMB-123088-UW	100 ml	Blanco	26,0	<3,8E+03	<3,8E+03	<3,8E+03	<1,9E+04	<3,8E+03
LMB-124023-OW	29 juni 300 ml	Rhederlaag Giese Kop	58,4	<570	<570	<570	<2,9E+03	<570
LMB-124024-UW	100 ml	Blanco	47,4	<2,1E+03	<2,1E+03	<2,1E+03	<1,1E+04	<2,1E+03

In Figuur 5 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococci gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie. Ook de resultaten voor de op de drie geanalyseerde datums vastgestelde DNA waarden voor de fecale merker voor mensen worden hier weergegeven.



Figuur 5. Meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci op de locatie Rhederlaag Giese Kop in 2021 en de op drie momenten vastgestelde DNA-resultaten van potentiële fecale bronnen. *E. coli* en intestinale enterococci zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopieën/l. De drie datums met DNA analyses zijn weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as.

Voor intestinale enterococci is een verhoogde waarde zichtbaar, boven de signaalwaarde, op 29 juni. Voor *E. coli* zijn de waarden wat verhoogd op 17 mei, en 14 en 29 juni. De verhoging op 14 juni correspondeert met een verhoogde waarde voor de DNA merker voor mensen. Het ontbreken van een DNA merker op 29 juni kan wijzen op de mogelijkheid van het optreden van 'intestinale' enterococci van natuurlijke herkomst. Deze kunnen net als intestinale enterococci worden gevonden met de kweekmethode. De NEN-ISO 7899 methode voor detectie van intestinale enterococci vermeldt dit ook als een niet te voorkomen mogelijke foutenbron. Om hier onderscheid in te maken zouden deze enterococci tot op soort kunnen worden geïdentificeerd (Wubbels et al., 2014). Maar ook een van de in 2.4 genoemde oorzaken kan hieraan ten grondslag liggen.

Het zwemwaterprofiel uit 2019 (RWS ON, 2019) wijst niet op duidelijke bronnen van fecale verontreiniging.

3.2.6 Rhederlaag Noordoever

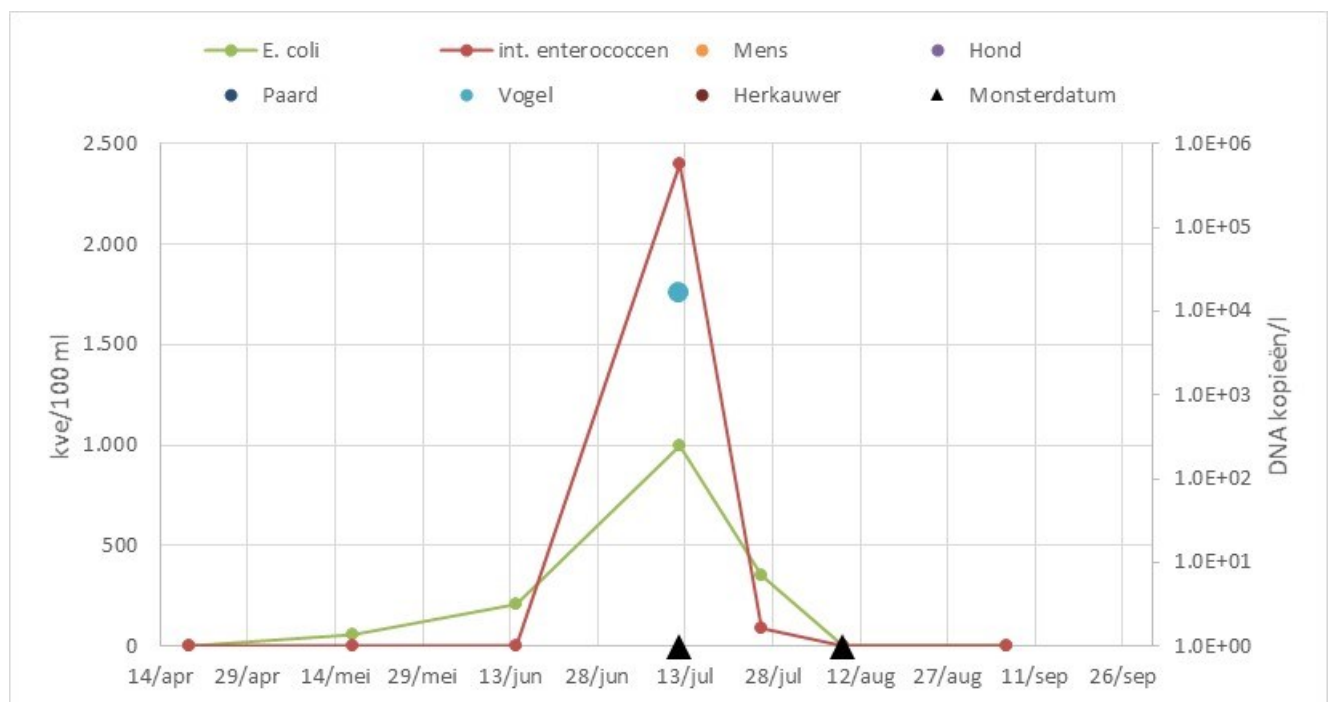
Bij de naburige zwemwaterlocatie Rhederlaag Giese Kop verslechterde in 2020 plotseling de zwemwaterkwaliteit. Er werd geconstateerd dat de vuilwaterinnamepunten in drie jachthavens niet functioneerden. Op 8 juni en 21 juli 2020 zijn handhavingsacties bij de drie jachthavens nabij de zwemwaterlocatie uitgevoerd. Daarbij bleek dat de vuilwaterinnamepunten niet functioneerden. De jachthavens zijn gemaand om dit in orde te maken. Op 7, 14 en 15 september zijn de jachthavens opnieuw bezocht en is geconstateerd dat de innamepunten weer functioneerden. Afsproken is dat de jachthavens geen vergoeding meer vragen voor gebruik van de vuilwaterinnamepunten. Vóór het badseizoen 2021 werd door toezichthouders van de provincie vastgesteld dat alle innamepunten in plas Rhederlaag nog steeds correct functioneerden. Zowel voor Giese Kop als voor Noordoever wordt in 2021 ook met DNA bronopsporing onderzocht of de beschikbare vuilwaterinzameling inderdaad weer effectief is. In Tabel 8 zijn

de DNA concentraties van de onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven voor de zwemwaterlocatie Rhederlaag Noordoever Kop. Op 12 juli werd de DNA merker voor vogels aangetoond.

In Figuur 6 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococcon gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie. Ook de resultaten voor de op de twee geanalyseerde datums vastgestelde DNA waarden voor de fecale merker voor vogels worden hier weergegeven.

Tabel 8. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor de drie onderzochte veldmonsters van de locatie Rhederlaag Noordoever en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens.

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	paard	vogel	herkauwer
LMB-125024-OW	12 juli 350 ml	Rhederlaag Noordoever	42,1	<680	<680	<680	1,6E+04	<680
LMB-125026-UW	100 ml	Blanco	37,0	<2,7E+03	<2,7E+03	<2,7E+03	<1,4E+04	<2,7E+03
LMB-126973-OW	9 aug 200 ml	Rhederlaag Noordoever	52,9	<940	<940	<940	<4,7E+03	<940
LMB-126976-UW	100 ml	Blanco	46,8	<2,1E+03	<2,1E+03	<2,1E+03	<1,1E+04	<2,1E+03



Figuur 6. Meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococcon op de locatie Rhederlaag Noordoever in 2021 en de op twee momenten vastgestelde DNA-resultaten van potentiële fecale bronnen. *E. coli* en intestinale enterococcon zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopie aantallen/l. De beide datums met DNA analyses zijn weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as.

Voor intestinale enterococcon wordt op 12 juli de signaalwaarde overschreden. Op diezelfde datum laat ook *E. coli* een verhoogde waarde zien. De verhoging op 12 juli correspondeert met een verhoogde waarde voor de DNA

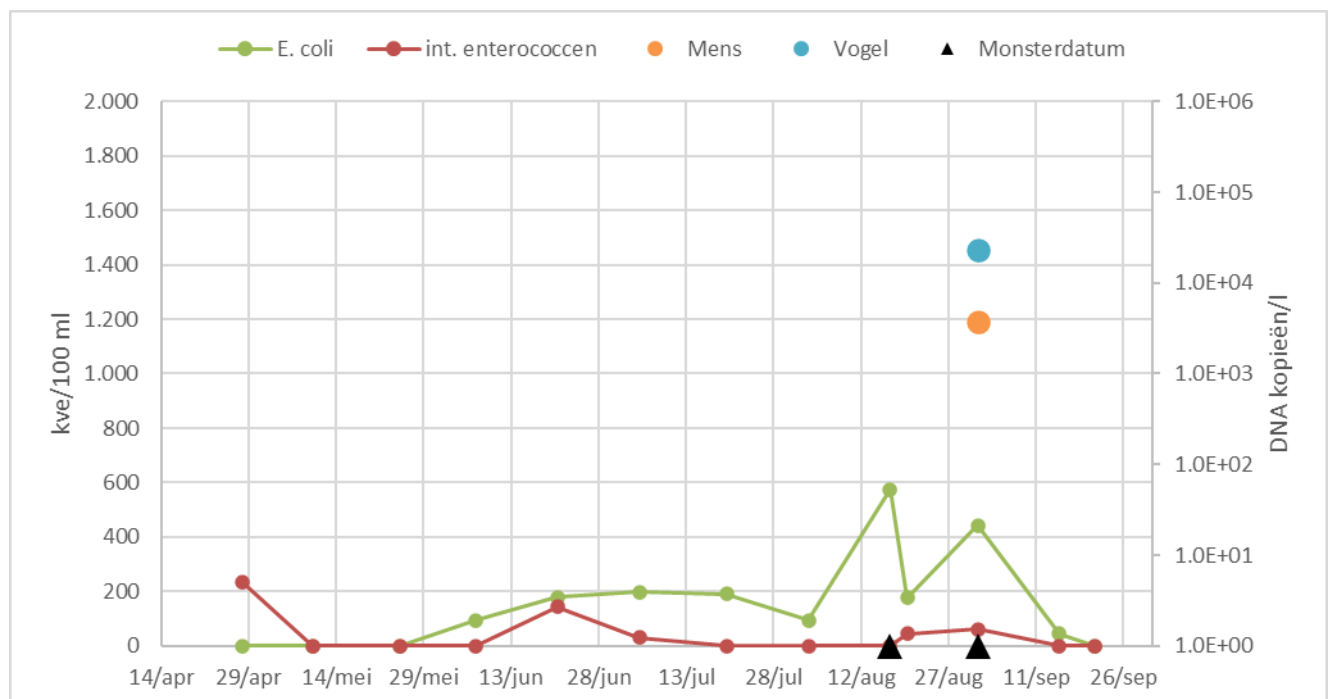
merker voor vogels. Het zwemwaterprofiel uit 2017 (RWS ON, 2017) wijst op ganzen als mogelijke bron van fecale verontreiniging.

3.2.7 Zeestrand Eemshotel, Delfzijl

De zwemwaterlocatie Zeestrand Eemshotel Delfzijl heeft al meerdere jaren geen goede zwemwaterkwaliteit. In Tabel 9 zijn de DNA concentraties van de hier in 2021 onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven. Van de beide veldmonsters is alleen het monster van 1 september positief, en wel voor DNA afkomstig van mensen en vogels.

Tabel 9. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor de twee onderzochte veldmonsters van de locatie Zeestrand Eemshotel en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens.

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	rund	vogel	herkauwer
LMB-131333-OW	17 aug 50 ml	Zeestrand Eemshotel	31,4	<6,4E+03	<6,4E+03	<6,4E+03	<3,2E+04	<6,4E+03
LMB-131334-UW	100 ml	Blanco	22,6	<4,4E+03	<4,4E+03	<4,4E+03	<2,2E+04	<4,4E+03
LMB-131335-OW	1 sep 100 ml	Zeestrand Eemshotel	40,9	3,8E+03	<2,4E+03	<2,4E+03	2,3E+04	<2,4E+03
LMB-131336-UW	100 ml	Blanco	26,6	<3,8E+03	<3,8E+03	<3,8E+03	<1,9E+04	<3,8E+03



Figuur 7. Meetwaarden voor E. coli en intestinale enterococci op de locatie Zeestrand Eemshotel in 2021 en de op twee momenten vastgestelde DNA-resultaten van potentiële fecale bronnen. E. coli en intestinale enterococci zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopie aantallen/l. De twee datums met DNA analyses zijn weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as.

In Figuur 7 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococci gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie. Ook de resultaten voor de op de twee geanalyseerde datums vastgestelde DNA waarden voor de fecale merkers voor mensen en vogels worden hier weergegeven. Conform de Europese zwemwaterrichtlijn is voor de zwemwaterkwaliteitsklasse 'goed' voor kust- en overgangswateren de bovengrenswaarde voor *E. coli* 500 kve/100 ml, voor intestinale enterococci is dit 200 kve/100 ml. In Nederland wordt de grens van 1800 kolonievormende eenheden (kve)/100 ml met betrekking tot *E. coli* aangehouden als signaalwaarde voor overschrijding van het acute risico (Stuurgroep Water, 2013). Voor intestinale enterococci ligt die grens bij 400 kve /100 ml.

De bacteriewaarden voor intestinale enterococci zijn over het algemeen laag. *E. coli* vertoont twee wat hogere waarden, maar de signaalwaarde wordt niet overschreden. Op 17 augustus zijn geen DNA merkers aangetroffen. Op 1 september correspondeert de verhoging van *E. coli* met het aantonen van de DNA merker voor mensen en vogels. In 2015 werden in het referentie monster geen DNA merkers aangetroffen (Kardinaal & Heijnen, 2015).

Bij eerder onderzoek met DNA merkers werden voor dezelfde locatie eveneens mensen als bron aangewezen, in 2014 ook herkauwers (zie Kardinaal & Heijnen, 2014, 2015).

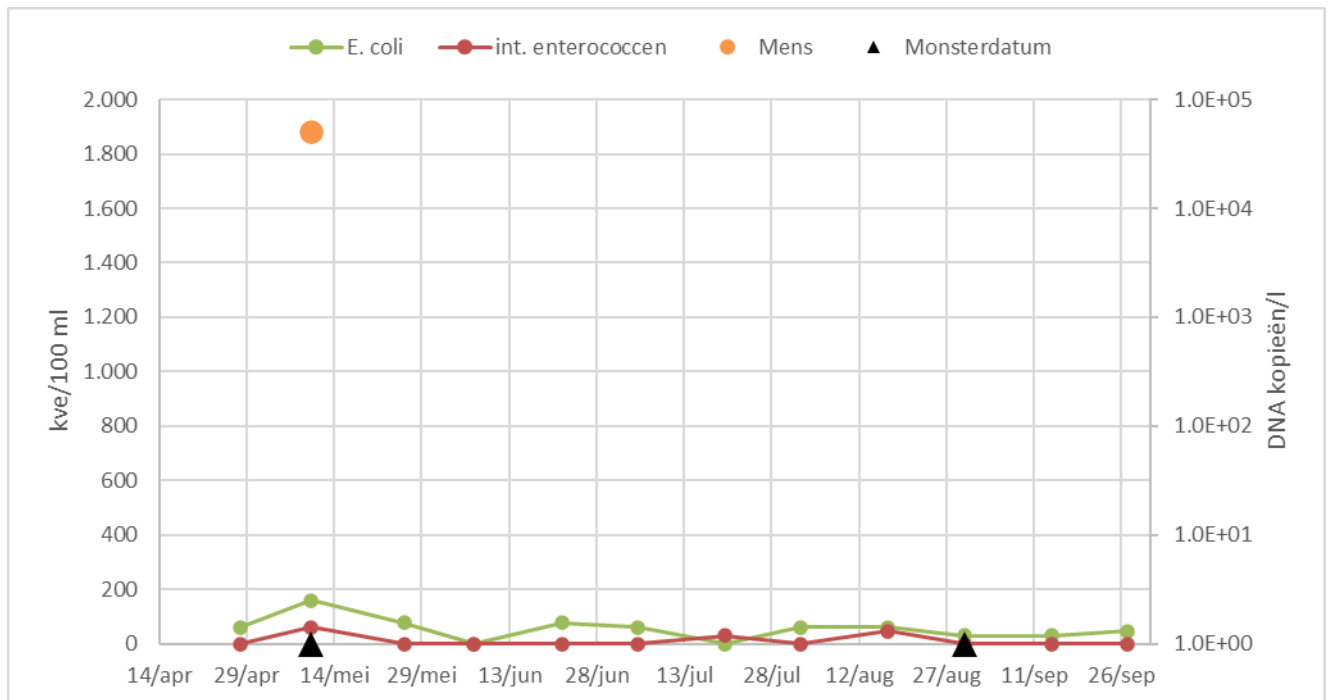
Het zwemwaterprofiel (RWS NN, 2020) wijst geen duidelijke bronnen aan maar suggereert wel vogels als groot risico voor intestinale enterococci. Daarnaast worden ook zeehonden genoemd als mogelijke bron.

3.2.8 Scheveningen Zwarte Pad

Langs de Zuid-Hollandse kust verslechtert de zwemwaterkwaliteit de laatste jaren (met name bij Scheveningen Zwarte Pad en Monster Ter Heijde, zeer incidenteel bij Den Haag Kijkduin). Hier kunnen riooloverstorten vanuit het achterland de oorzaak zijn. In Tabel 10 zijn de DNA concentraties van de onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven voor de zwemwaterlocatie Scheveningen Zwarte Pad. Het DNA monster van 10 mei is positief voor DNA afkomstig van mensen.

Tabel 10. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor de twee onderzochte veldmonsters van de locatie Scheveningen Zwarte Pad en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens.

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	paard	vogel	herkauwer
LMB-131293-OW	10 mei 100 ml	Scheveningen Zwarte Pad	48,0	5,0E+04	<2,1E+03	<2,1E+03	<1,0E+04	<2,1E+03
LMB-131292-UW	100 ml	Blanco	44,1	<2,3E+03	<2,3E+03	<2,3E+03	<1,1E+04	<2,3E+03
LMB-131317-OW	30 aug 100 ml	Scheveningen Zwarte Pad	41,3	<2,4E+03	<2,4E+03	<2,4E+03	<1,2E+04	<2,4E+03
LMB-131315-UW	100 ml	Blanco	23,4	<4,3E+03	<4,3E+03	<4,3E+03	<2,1E+04	<4,3E+03



Figuur 8. Meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci op de locatie Scheveningen Zwarte Pad in 2021 en de op twee momenten vastgestelde DNA-resultaten van potentiële fecale bronnen. *E. coli* en intestinale enterococci zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopie aantallen/l. De twee datums met DNA analyses zijn weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as.

In Figuur 8 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococci gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie. Ook de resultaten voor de op de twee geanalyseerde datums vastgestelde DNA waarden voor de fecale marker voor mensen worden hier weergegeven. Het monster van 30 augustus is in overleg met RWS-WVL gebruikt als referentie monster voor deze locatie en voor de locaties Monster Ter Heijde en Den Haag Kijkduin. Deze liggen zuidelijk ten opzichte van de locatie Scheveningen Zwarte Pad. De verwachting is, gezien de overheersende noordelijke kuststroom, dat eventuele achtergrondsignalen vanaf die locaties mee stromen langs locatie Scheveningen Zwarte Pad. Op deze manier is bespaard op referentie monsters voor de locaties Monster Ter Heijde en Den Haag Kijkduin.

De bacteriewaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci zijn laag en de signaalwaarden worden in 2021 niet overschreden. De vastgestelde DNA marker voor mensen op 10 mei valt niet samen met een sterk verhoogde bacteriewaarde. Op deze locatie werd in het referentiemonster van 2020 ook de DNA marker voor mensen gevonden, maar wel een orde van grootte lager dan de op 10 mei 2021 aangetroffen waarde (Hootsmans, 2020). Het signaal in de referentie van 2020 en nu op 10 mei 2021 kan een na-ijl effect zijn geweest van een kort voor de monsternamen opgetreden verhoging van de concentratie fecale indicatorbacteriën. De bacteriële DNA merkers zijn namelijk langer in water detecteerbaar dan dat de fecale indicator bacteriën met kweek aantoonbaar zijn (Heijnen, 2015). Voor een nadere toelichting wordt weer verwezen naar paragraaf 2.4. In 2020 werden voor Scheveningen Zwarte Pad mensen en vogels als mogelijke oorzaken van de toen geconstateerde overschrijding van de signaalwaarde voor *E. coli* vastgesteld (Hootsmans, 2020).

Het zwemwaterprofiel uit 2020 (RWS ZD, 2020c) geeft geen aanknopingspunten voor de meest waarschijnlijke bronnen als reden voor verhoogde bacteriewaarden in de periode 2017-2019, of voor de eenmalige overschrijding van de signaalwaarden in 2019.

3.2.9 Monster Ter Heijde

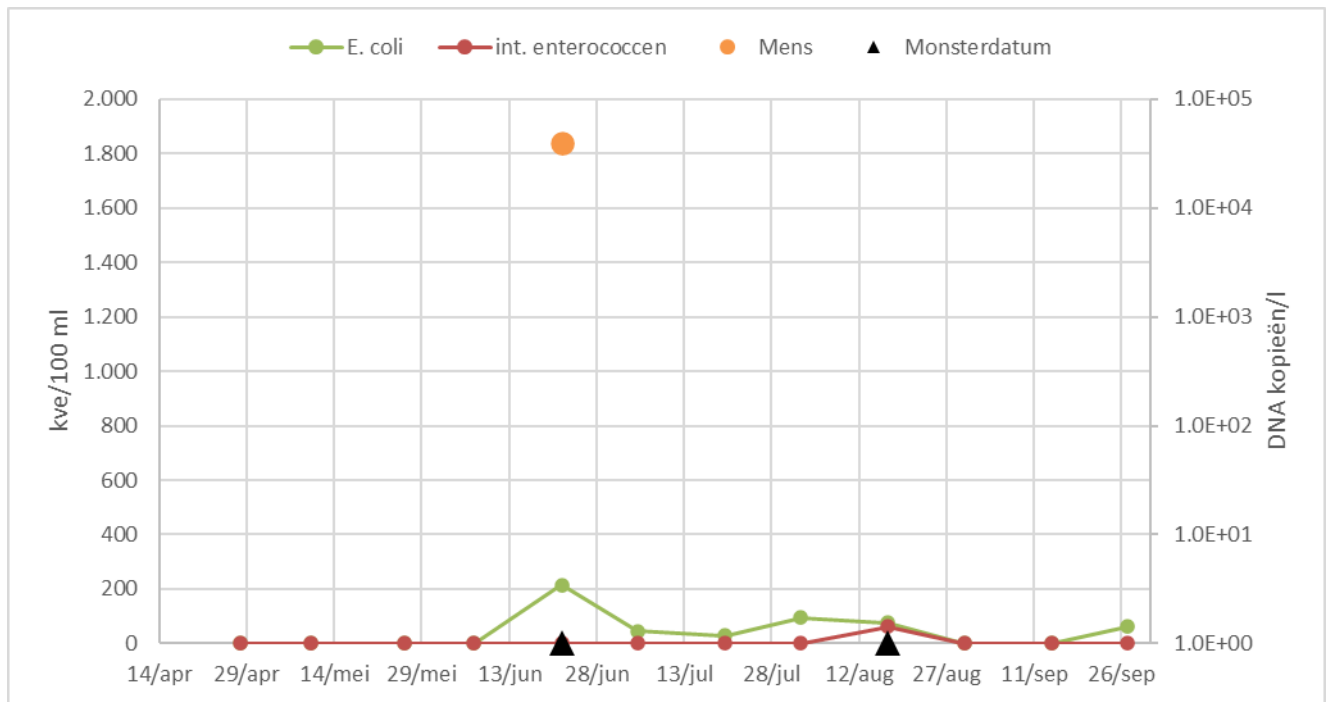
Langs de Zuid-Hollandse kust verslechtert de zwemwaterkwaliteit de laatste jaren (met name bij Scheveningen Zwarte Pad en Monster Ter Heijde, zeer incidenteel bij Den Haag Kijkduin). Hier kunnen riooloverstorten vanuit het achterland de oorzaak zijn. In Tabel 11 zijn de DNA concentraties van de onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven voor de zwemwaterlocatie Monster Ter Heijde. In het veldmonster van 22 juni is de DNA merker voor mensen gedetecteerd.

Tabel 11. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor de twee onderzochte veldmonsters van de locatie Monster Ter Heijde en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens.

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	paard	vogel	herkauwer
LMB-107873-OW	22 juni	Monster Ter Heijde	51,8	4,0E+04	<1,9E+03	<1,9E+03	<9,7E+03	<2,1E+03
LMB-107872-UW	100 ml	Blanco	47,6	<2,1E+03	<2,1E+03	<2,1E+03	<1,1E+04	<2,3E+03
LMB-107881-OW	17 aug 100 ml	Monster Ter Heijde	40,1	<2,5E+03	<2,5E+03	<2,5E+03	<1,2E+04	<2,4E+03
LMB-107880-UW	100 ml	Blanco	34,8	<2,9E+03	<2,9E+03	<2,9E+03	<1,4E+04	<2,4E+03

In Figuur 9 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococci gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie. Ook de resultaten van de voor 22 juni en 17 augustus vastgestelde DNA waarden voor de fecale merkers voor mensen worden hier weergegeven.

De signaalwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci worden in 2021 niet overschreden. Er is een licht verhoogde waarde zichtbaar voor *E. coli* op 22 juni. Op deze datum werd ook de DNA merker voor mensen vastgesteld. Het als referentie gebruikte monster uit 2021 voor de locatie Scheveningen Zwarte Pad liet geen DNA merkers zien. Op diezelfde locatie werd in het referentiemonster van 2020 de DNA merker voor mensen gevonden (maar wel een orde van grootte lager dan de nu aangetroffen waarde).



Figuur 9. Meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci op de locatie Monster Ter Heijde in 2021 en de op twee momenten vastgestelde DNA-resultaten van potentiële fecale bronnen. *E. coli* en intestinale enterococci zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopie aantallen/l. De twee datums met DNA analyses zijn weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as.

Het zwemwaterprofiel uit 2020 (RWS ZD, 2020a) wijst geen duidelijke fecale bronnen aan die ondanks reeds uitgevoerde beheersmaatregelen tot zorg leiden.

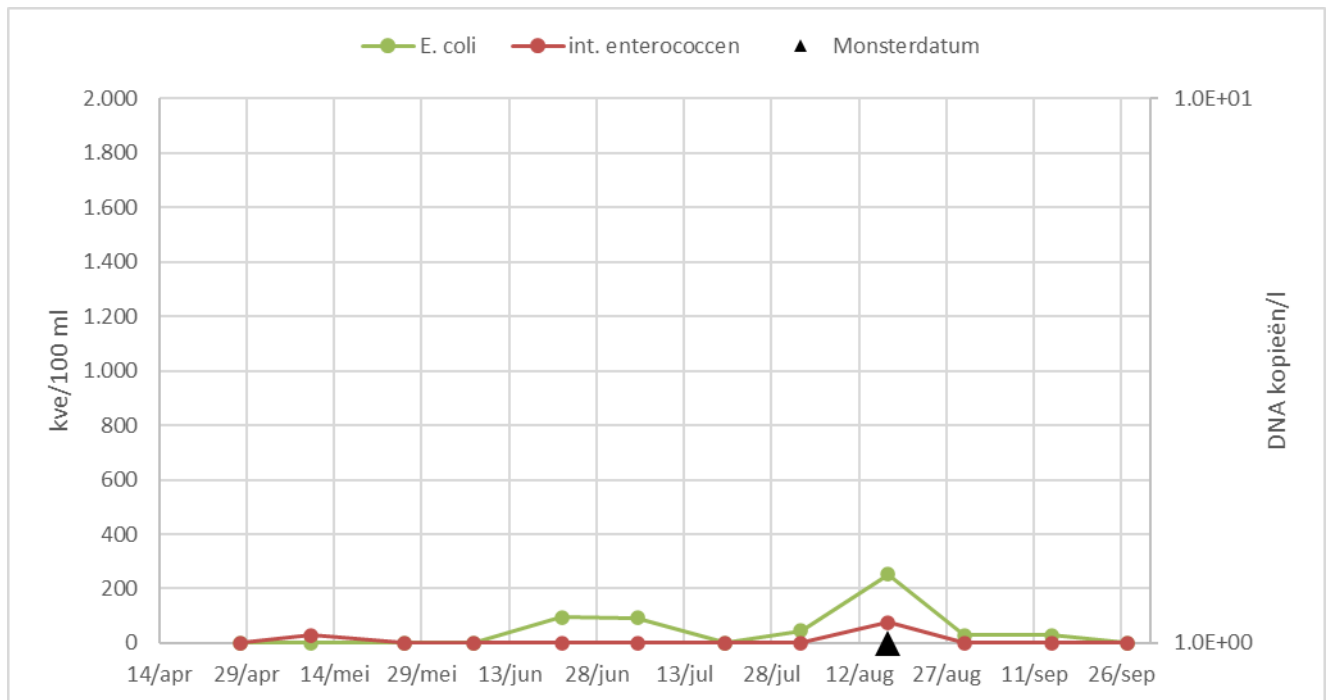
3.2.10 Den Haag Kijkduin

Langs de Zuid-Hollandse kust verslechtert de zwemwaterkwaliteit de laatste jaren (met name bij Scheveningen Zwarte Pad en Monster Ter Heijde, zeer incidenteel bij Den Haag Kijkduin). Hier kunnen riooloverstorten vanuit het achterland de oorzaak zijn. In Tabel 12 zijn de DNA concentraties van de onderzochte bronnen van fecale herkomst aangegeven voor de zwemwaterlocatie Den Haag Kijkduin. In het onderzochte veldmonster van 17 augustus zijn geen van de onderzochte DNA merkers aangetroffen.

In Figuur 10 zijn de resultaten weergegeven voor de met kweek bepaalde waarden voor *E. coli* en intestinale enterococci gedurende het zwemseizoen 2021 op deze locatie.

Tabel 12. DNA concentraties (kopieën/l) zoals gedetecteerd voor het onderzochte veldmonster van de locatie Den Haag Kijkduin en bijbehorende blanco's. Gegevens met een '<' betreffen waarden beneden de detectiegrens.

monster code	datum / volume	omschrijving	rendement (%)	DNA kopieën/l				
				mens	hond	paard	vogel	herkauwer
LMB-131310-OW	17 aug 100 ml	Den Haag Kijkduin	37,2	<2,7E+03	<2,7E+03	<2,7E+03	<2,7E+03	<1,1E+04
LMB-131309-UW	100 ml	Blanco	34,8	<2,9E+03	<2,9E+03	<2,9E+03	<2,9E+03	<1,6E+04



Figuur 10. Meetwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci op de locatie Den Haag Kijkduin in 2021. Geen van de gebruikte DNA merkers is op de meetdatum vastgesteld. *E. coli* en intestinale enterococci zijn uitgedrukt in een lineaire schaal in kve (kolonievormende eenheden) per 100 ml; de DNA-merkers zijn uitgedrukt op een loglineaire schaal in DNA-kopieën/l. De datum met DNA analyses is weergegeven met een zwarte driehoek op de horizontale as.

De signaalwaarden voor *E. coli* en intestinale enterococci worden in 2021 niet overschreden. Er is een licht verhoogde waarde zichtbaar voor *E. coli* op 17 augustus. Een verklaring van het bij deze vrij lage waarden niet detecteren van één van de gebruikte DNA merkers is gegeven in paragraaf 2.4. In het als referentie gebruikte monster uit 2021 voor de locatie Scheveningen Zwarte Pad werden geen DNA merkers gedetecteerd.

Het zwemwaterprofiel uit 2020 (RWS ZD, 2020b) wijst geen duidelijke fecale bronnen aan die ondanks reeds uitgevoerde beheersmaatregelen tot zorg leiden.

4 Conclusies

De DNA-analyses zijn naar behoren verlopen, zonder enige indicatie van remming die van invloed zou kunnen zijn op de betrouwbaarheid van de hier gerapporteerde DNA merker resultaten.

Voor de Oude Pol extra meetpunt B kunnen de bronnen mens, herkauwer en vogel worden geïdentificeerd als de meest waarschijnlijke oorzaken voor de gemeten verhoogde bacteriewaarden in 2021.

Bij Strandbad Edam kunnen de verhoogde waarden voor *E. coli* worden gekoppeld aan de verhoogde waarde voor de DNA merker voor herkauwers. Het beeld voor mogelijke bronnen bij Strandbad Edam is over de jaren duidelijk niet constant. De DNA merker voor mensen is net als in 2019 niet aangetroffen. Wellicht is deze bron beter onder controle dan in de periode voor 2019 (maar hij trad in 2020 nog wel op).

Voor Andijk Zwemstrand kunnen mensen en vogels in 2021 als meest waarschijnlijke fecale bron worden aangewezen voor de verhoogde waarden voor *E. coli*.

Voor 't Kleine Zeetje werden DNA merkers van mensen, vogels en herkauwers aangetoond.

Bij Rhederlaag Giese Kop kunnen mensen als waarschijnlijke fecale bron worden aangewezen. Bij Rhederlaag Noordoever lijken vogels de meest waarschijnlijk bron van de geconstateerde overschrijding van de signaalwaarde voor intestinale enterococci op 12 juli.

Voor Zeestrand Eemshotel, Delfzijl werden de DNA merkers van mensen en vogels vastgesteld.

Bij Monster Ter Heijde en Scheveningen Zwarte Pad, kon een lichte verhoging (van *E. coli*) worden gerelateerd aan de DNA merker voor mensen. Voor de locatie Den Haag Kijkduin werd bij een eveneens lichte verhoging van *E. coli* geen DNA merker vastgesteld.

5 Referenties

Becker, E., Ruiter, H., Ahmed, A., Goris, M., Wullings, B.A., Kardinaal, W.E.A., (2017). Nieuw DNA-instrument voor opsporen van ziekte van Weil bacteriën en de bron in oppervlaktewater. *WaterMatters* (2017) 2, pp.28-31.

Heijnen, L., (2015). Eigenschappen van DNA-merkers voor fecale verontreiniging. KWR BTO rapport 2015.023.

Heijnen, L., & Learbuch, K., (2013). Ontwikkeling en toepassing van kwantitatieve PCR methoden voor het identificeren van de bron van fecale besmettingen BTO rapport 2013.014.

Heijnen, L., Learbuch, K., Kardinaal, E., Rotteveel, S., Ruiter, H., & Leenen, I., (2014). Fecale verontreiniging in zwemwater identificeren met DNA-merkers. H2O April 2014.

Hootsmans, M.J.M., (2019). DNA bronopsporing op vier zwemwaterlocaties in Midden-Nederland in 2019. Rapport KWR 2019.104.

Hootsmans, M.J.M., (2020). DNA bronopsporing voor RWS op zes zwemwaterlocaties in 2020. Rapport KWR 2020.132

Kardinaal, E., (2017). Bronopsporen fecale verontreiniging in zwemwater 2017. Rapport KWR 2017.077.

Kardinaal, E., (2018). Bronopsporen fecale verontreiniging in Rijkswateren 2018. Rapport KWR 2018.129.

Kardinaal, E., & Heijnen, L., (2014). Bronopsporen fecale verontreiniging in zwemwater 2014. Rapport KWR 2014.098.

Kardinaal, E., & Heijnen, L., (2015). Bronosporen fecale verontreiniging in zwemwater 2015. Rapport KWR 2015.079.

Kardinaal, E., & Heijnen, L., (2016). Bronosporen fecale verontreiniging in zwemwater 2016. Rapport KWR 2016.118.

RWS MN, (2018). Zwemwaterprofiel Andijk Zwemstrand.

RWS MN, (2019). Zwemwaterprofiel 't Kleine Zeetje.

RWS MN, (2020a). Zwemwaterprofiel De Oude Pol.

RWS MN, (2020b). Zwemwaterprofiel Strandbad Edam.

RWS NN, (2020). Zwemwaterprofiel Zeestrand Eemshotel, Delfzijl.

RWS ON, (2017). Zwemwaterprofiel Rhederlaag Noordoever.

RWS ON, (2019). Zwemwaterprofiel Rhederlaag Giese Kop.

RWS ZD, (2020a). Zwemwaterprofiel Monster Ter Heijde.

RWS ZD, (2020b). Zwemwaterprofiel Kijkduin.

RWS ZD, (2020c). Zwemwaterprofiel Scheveningen Zwarte Pad.

Stuurgroep Water, (2013). Beslisnotitie werkwijze individuele metingen en meetfrequentie microbiologische parameters zwemwaterrichtlijn, vastgesteld op 14 maart 2013.

Wubbels, G., Veenendaal, G., Schaap, M., Lijzenga, T. & Douma, A., (2015). Snelle analyse van fecale verontreiniging in drinkwater. H2O-Online (2 januari 2015).

Jaar van publicatie
2021

Meer informatie
dr.ir. Michiel Hootsmans
T 0622951843
E michiel.hootsmans@kwrwater.nl

Groningenhaven 7
Postbus 1072
3430 BB Nieuwegein

T +31 (0)30 60 69 511
F +31 (0)30 60 61 165
E info@kwrwater.nl
I www.kwrwater.nl

KWR 2021.103 | 7 december 2021 ©KWR

Alle rechten voorbehouden aan KWR. Niets uit deze uitgave mag - zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van KWR - worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier.

Keywords

fecale verontreiniging, DNA bronopsporing,
zwemwater