

Modelexperimenten betreffende de verwijdering en inactivatie van botulinum toxinen tijdens de produktie van drinkwater

1. Inleiding

Sinds het begin van de jaren zeventig wordt Nederland regelmatig geconfronteerd met het probleem van botulisme bij watervogels (Haagsma, 1973; Van der Geld, 1975). Botulisme wordt veroorzaakt door toxinen die door *Clostridium botulium* kunnen worden geproduceerd. *C. botulinum* is een anaeroob groeiende, sporenvormende bacterie die, afhankelijk van het toxine dat ze produceren, in een aantal typen (A t/m F) kan worden ingedeeld.

In een tweetal voorgaande artikelen in dit



DR. IR. S. NOTERMANS
Laboratorium voor Zoönosen en
Levensmiddelenmicrobiologie,
Rijksinstituut voor de
Volksgezondheid, Bilthoven



J. DUFRENNE
Laboratorium voor Zoönosen en
Levensmiddelenmicrobiologie,
Rijksinstituut voor de
Volksgezondheid, Bilthoven



P. KOOY
Gemeentewaterleidingen
(Amsterdam)



DR. IR. J. SCHELLART
Gemeentewaterleidingen
(Amsterdam)

tijdschrift (Notermans en Van Noorle Jansen, 1978; Notermans en Dufrenne, 1979) werd aandacht besteed aan het voorkomen van de kiem in waterwingebieden en de verwijdering door een aantal belangrijke processtappen bij de drinkwaterbereiding. Uit de onderzoeken bleek dat de waterwingebieden in hoge mate met *C. botulinum* besmet zijn, waarbij zowel *C. botulinum* type B, C, D als E konden worden aangetoond. Ondanks het frequent voorkomen van *C. botulinum* in de waterwingebieden bleek, dat de toegepaste zuiveringstechnieken beletten dat de kernen in het drinkwater terecht komen. In dit artikel worden de resultaten beschreven van onderzoek dat uitgevoerd werd betreffende de verwijdering en de inactivatie van botulinum toxinen. Onderzocht werd de stabiliteit van de voor de mens gevaarlijke botulinum toxinen type A, B en E in water. Verder werden experimen-

ten uitgevoerd om na te gaan of zuivere botulinum toxinen door geringe hoeveelheden chloor, toegediend in de vorm van natriumhypochloriet, worden geïnactiveerd. Soortgelijke experimenten werden uitgevoerd met ozon. Ook werd nagegaan of botulinum toxinen worden verwijderd door coagulatie. Tenslotte werd de effectiviteit van actief poederkool bepaald om botulinum toxinen uit het water te verwijderen.

2. Literatuurgegevens

Quortrup en Sudheimer (1942) vermeldden dat botulinum toxine type C in oppervlaktewater niet stabiel is. Graham en Smith (1978) toonden aan dat botulinum toxine type C ook in bodemslib wordt geïnactiveerd. Gegevens over de stabiliteit van botulinum toxinen in oppervlaktewater en het daaruit bereide drinkwater zijn, voor zover dit in de literatuur nagegaan kon worden, niet bekend.

Bij de produktie van drinkwater uit oppervlaktewater wordt meestal chloor aan het water toegevoegd dat na een contacttijd een oxiderende en desinfecterende werking heeft. Toevoeging van chloor aan water vindt voornamelijk plaats aan het eind van de zuivering (zgn. 'veiligheidschlooring'). Er wordt meestal zoveel chloor aan het water toegevoegd dat na een contacttijd van minimaal 20 minuten 0,2 - 0,5 mg vrij chloor per liter water aanwezig is. Een aantal onderzoekers (Markarjan e.a., 1960; Radosavljevic en Ilic, 1970; Radosavljevic en Ilic, 1971; Stannikov en Morozow, 1977) vonden dat dergelijke chloorconcentraties botulinum toxinen nauwelijks inactiveren. Morozow (1970) en Brazis e.a. (1959) toonden aan dat chloordioxide in hoeveelheden van 0,2 - 0,6 mg actief chloor/liter, botulinum toxinen wel snel inactiverde. Eén van de belangrijkste zuiveringsstappen bij de produktie van drinkwater uit oppervlaktewater is het verwijderen van niet opgeloste zwevende bestanddelen door coagulatie met behulp van bijv. FeCl_3 . Of door deze behandeling botulinum toxinen ook verwijderd worden is in de literatuur niet bekend.

Een andere zuiveringsstap die bij sommige bedrijven wordt toegepast is behandeling van het oppervlaktewater met ozon, waarbij tal van organische stoffen worden geoxideerd. Het is zeer aannemelijk dat door behandeling van het water met ozon ook botulinum toxinen worden afgebroken. Gegevens hierover ontbreken echter in de literatuur.

Bij de produktie van drinkwater uit oppervlaktewater wordt meestal ook een behandeling met poederkool toegepast om smaakstoffen uit het water te verwijderen. Het is niet bekend in welke mate botulinum

toxinen aan actief kool worden geadsorbeerd. Slechts Markarjan e.a. (1960) vermelden dat 80 gram actief kool per liter water voldoende is om een niet aangegeven hoeveelheid botulinum toxinen 'volledig' te verwijderen.

Uit het bovenvermelde literatuuronderzoek blijkt dat slechts weinig bekend is over de stabiliteit en de mogelijkheden tot inactivatie van botulinum toxinen in oppervlaktewater. Wel is een groot aantal onderzoeken uitgevoerd met betrekking tot inactivatie van botulinum toxinen door middel van chloor. De resultaten van genoemde onderzoeken stemmen echter niet met elkaar overeen. Een verklaring hiervoor is waarschijnlijk het feit dat de desbetreffende onderzoekers hun experimenten met niet gezuiverde botulinum toxinen hebben uitgevoerd. Hierdoor kan het organisch stofgehalte van het water drastisch worden verhoogd met als gevolg dat de hoeveelheden vrij chloor welke resteren voor inactivering van het botulinum toxine te laag kunnen zijn. Bovendien werd in voornoemde onderzoeken het chloor in verschillende chemische vormen aan het water toegediend. Tenslotte zijn de uitkomsten van de experimenten niet alleen afhankelijk van de aard en de hoeveelheid organische stof in het water doch ook van de temperatuur.

3. Materiaal en methoden

De proeven werden uitgevoerd met behulp van zuivere botulinum toxinen. De botulinum toxinen werden geproduceerd en gezuiverd zoals beschreven door Kozaki e.a. (1977), Suggii e.a. (1975) en Sakaguchi e.a. (1966).

Voor de bereiding van zuiver toxine A werd uitgegaan van *C. botulinum* type A, stam 62A. Voor de bereiding van zuiver botulinum toxine B-L en B-M werd uitgegaan van *C. botulinum* type B, stam Okra. Zuiver toxine type E werd bereid met behulp van *C. botulinum* type E, stam RIV 1. In enkele experimenten werden niet gezuiverde botulinum toxinen toegepast. In deze gevallen werd cultuurfiltraat van bovengenoemde stammen gebruikt. De hoeveelheid aanwezige botulinum toxinen werd bepaald met behulp van de muis-bio-assay. Hiertoe werden van de te onderzoeken monsters 1 : 3 verdunningen gemaakt. Als verdunningsvloei-stof werd 0,05 M fosfaatbuffer (pH 6,0) gebruikt waaraan 2 g/l gelatine was toegevoegd. Van de verkregen verdunningen werd 0,5 ml intraperitoneaal (i.p.) toegediend aan resp. 2 muizen met een gewicht van 18-20 gram. De muizen werden vervolgens gedurende 5 dagen geobserveerd en

gecontroleerd op sterfte onder specifieke verschijnselen.

Bij de bepaling van toxine type B en type E werd ter activering van het toxine, alvorens verdunningen werden gemaakt, trypsine (10 mg/ml) aan het monster toegevoegd dat vervolgens 30 minuten bij 37 °C werd geïncubeerd.

3.1. Inactivatie in drinkwater

Het gebruikte oppervlaktewater (plassenwater) was afkomstig uit de Loenderveense plas. Verder werd water genomen na de sneffiltratie te Loenen, na ozonbehandeling, coagulatie en na de langzame zandfiltratie te Weesperkarspel. De pH van het gebruikte water varieerde van 7,9 - 8,0. Het totaal organische koolstofgehalte (TOC) bedroeg na de eerste sneffiltratie 5,9 mg/l. Na de langzame zandfiltratie was dit gedaald tot 4,2 mg/l. Het in de experimenten gebruikte gedestilleerd water had een pH van 8,0. Ook werden experimenten uitgevoerd waarbij bovengenoemd oppervlaktewater werd gepasteuriseerd (60 minuten 70 °C) en werd gefiltreerd (Millipore filter met poriëndiameter van 0,2 µm).

Tenslotte werden enkele experimenten uitgevoerd met water afkomstig uit de verzamelkolom van het drinkwaterproductiebedrijf te Leiduin. De proeven werden uitgevoerd door aan porties van 1 liter water ca. 1000 intraperitoneale (i.p.) muis LD₅₀ zuiver botulinum toxine per ml toe te voegen. De diverse porties werden in het donker bij kamertemperatuur bewaard. Na verschillende bewaartijden werd de concentratie van aanwezige toxinen met behulp van de muisbio-assay bepaald.

3.2. Inactivatie met behulp van chloor

De proeven werden uitgevoerd door aan een fosfaatbuffer (0,005 M) pH 7,8, bereid met gedestilleerd water, ca. 2000 i.p. muis LD₅₀ zuiver botulinum toxine per ml toe te voegen. Aan porties van 1 liter werden verschillende hoeveelheden chloor, in de vorm van een oplossing van NaOCl in een 0,1 n natriumhydroxide-oplossing, toegevoegd. Na 0, 5, 10, 20, 30, 60 en 120 seconden werden monsters van 5 ml genomen die onmiddellijk overgebracht werden in 5 ml fosfaatbuffer (0,05 Mol/l), pH 6,5, waaraan 0,2 % gelatine (g/g) en 0,1 natriumthiosulfaat (g/g) was toegevoegd. Van de op deze wijze verkregen porties werd de i.p. muis LD₅₀ aan botulinum toxinen bepaald.

3.3. Verwijdering uit het water door middel van coagulatie met behulp van ijzerchloride
Het in de experimenten gebruikte water

werd betrokken van het drinkwaterleidingbedrijf te Weesperkarspel alwaar het voor de coagulatie werd afgetapt. Het TOC-gehalte van het water varieerde van 5,9 - 6,8 mg/l. De pH bedroeg 7,8. De absorptie bij 254 nm varieerde van 0,070 tot 0,075 per cm. De proeven werden uitgevoerd door aan het water ca. 1000 i.p. muis LD₅₀ aan botulinum toxinen per ml toe te voegen. Porties van 1 liter water werden op een temperatuur van 15 °C gebracht waarna verschillende hoeveelheden Fe³⁺ in de vorm van FeCl₃ werden toegevoegd. Na mengen (10 sec.; toerental 400 omwentelingen per min.) werd de pH op 8 gesteld waarna gedurende 30 minuten langzaam werd geroerd (45 omwentelingen per minuut). Na bezinking van de vlokken (30 minuten zonder roeren) werd 5 ml van de bovenstaande heldere vloeistof overgebracht in 5 ml 0,05 M fosfaatbuffer pH 6,5, waaraan 0,2 % gelatine (g/g) was toegevoegd. Van dit mengsel werd de i.p. muis LD₅₀ aan toxine bepaald.

3.4. Inactivatie met behulp van ozon

In deze experimenten werd water gebruikt, afkomstig van het drinkwaterleidingbedrijf te Weesperkarspel, alwaar het voor de ozonisatie werd afgetapt. Het TOC-gehalte van het water varieerde van 5,9 - 6,8 mg/ml. De pH bedroeg 7,8. De proeven werden uitgevoerd door aan bovengenoemd water ca. 1000 i.p. muis LD₅₀ aan zuiver botulinum toxine per ml toe te voegen. Aan flessen met 1,2 liter water werden verschillende hoeveelheden ozon gedoseerd. Vervolgens werd het ozon-water mengsel gedurende 2 minuten geschud. Na deze behandeling werden

monsters van 5 ml genomen en overgebracht in 5 ml fosfaatbuffer (0,05 Mol/l), pH 6,5, waaraan 2,0 % gelatine (g/g) en 0,1 % natriumthiosulfaat (g/g) was toegevoegd. Van dit mengsel werd de i.p. muis LD₅₀ aan toxine bepaald.

3.5. Verwijdering uit drinkwater door middel van poederkool

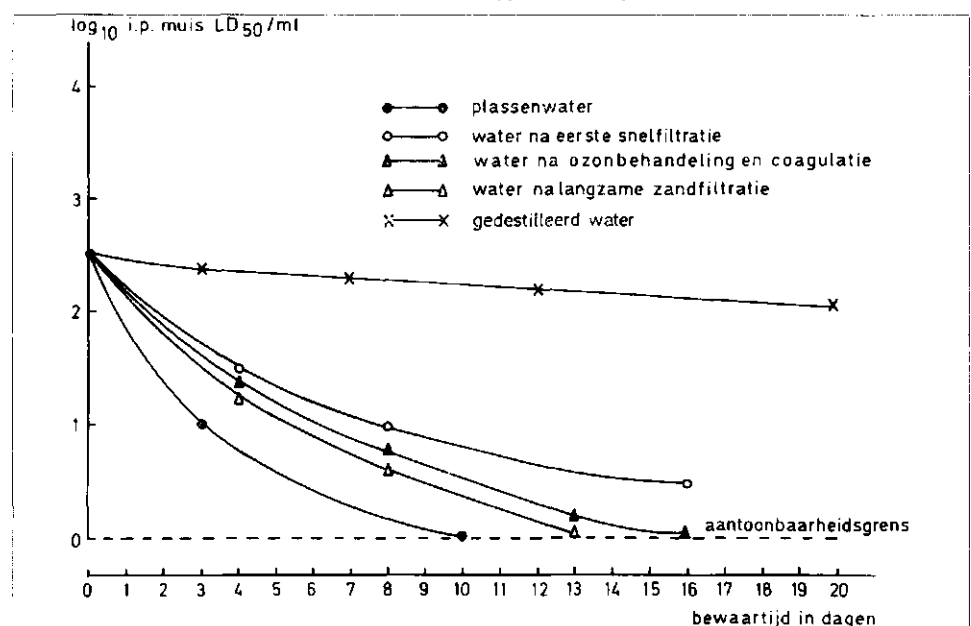
De proeven werden uitgevoerd door aan een 0,001 M fosfaatbuffer, bereid met gedestilleerd water, pH 7,0, ca. 1000 i.p. muis LD₅₀ aan zuiver botulinum toxinen per ml toe te voegen. Aan porties van 100 ml werden verschillende hoeveelheden actief kool toegevoegd. De suspensies werden gedurende 5 minuten intensief gemengd waarna de kool gedurende 30 min. de gelegenheid kreeg te bezinken. Vervolgens werd 10 ml van de bovenstaande heldere vloeistof gepipetteerd en gecentrifugeerd (10.000 g gedurende 10 minuten). Van het supernatant werd de i.p. muis LD₅₀ aan botulinum toxine bepaald.

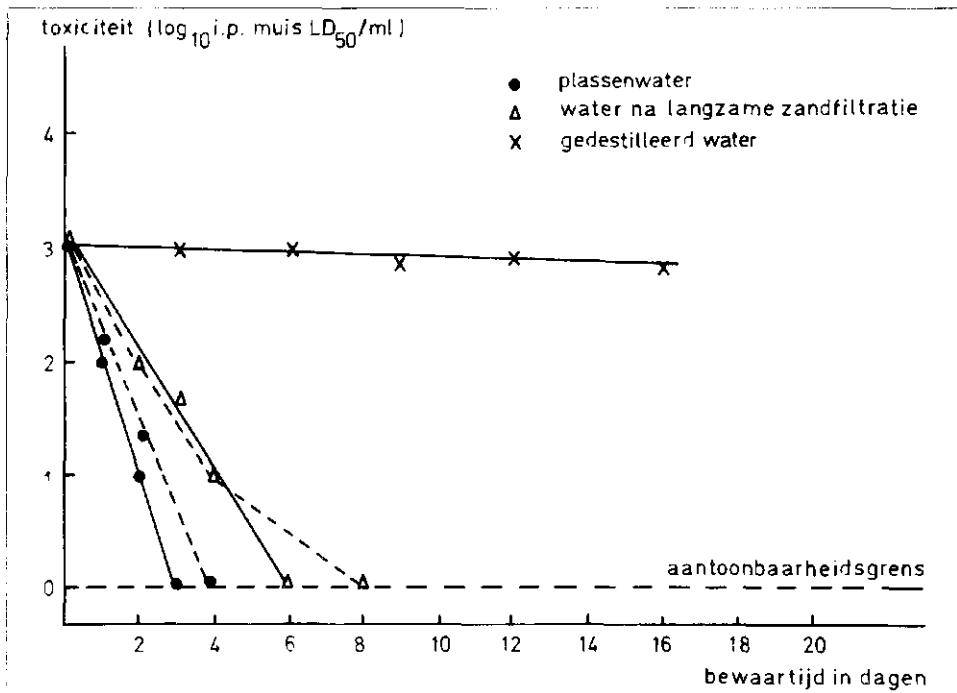
4. Resultaten

4.1. Inactivatie in drinkwater

De inactivatie van botulinum toxine type A in het oppervlaktewater afkomstig uit de Loenderveense plas en het water na verschillende zuiveringsstappen staat in afb. 1a weergegeven. Botulinum toxine type A wordt in het plassenwater het snelst geïnactiveerd. Binnen vijf dagen is meer dan 99 % van het toxine geïnactiveerd. Een 99 % inactivatie in het gezuiverde water vergt ca. 9 dagen. In gedestilleerd water blijkt het toxine A redelijk stabiel te zijn. De inactivatie van botulinum toxine B-M

Afb. 1a - Inactivatie van zuiver botulinum toxine type A in te produceren drinkwater.





Afb. 1b - Inactivatie van zuiver botulinum toxine type B-M (—) en zuiver botulinum toxine type E (---) in te produceren drinkwater.

E staat in afb. 1b weergegeven. Ook hier werden de experimenten uitgevoerd met water uit de Loenderveense plas en het productiebedrijf te Weesperkarspel. Zowel het botulinum toxine B-M als E worden in het oppervlaktewater snel geïnactiveerd. Binnen 3 dagen is meer dan 99 % van het toxine geïnactiveerd. In het water na de langzame zandfiltratie duurt het 4 dagen alvorens 99 % van het toxine geïnactiveerd is. Het botulinum toxine type B-M blijkt in gedestilleerd water echter zeer stabiel te zijn.

In het water afkomstig uit de verzamelkom van het productiebedrijf te Leiduin werd voor de botulinum toxinen type A, B-M en E eenzelfde inactivatie waargenomen als in het water uit de Loenderveense plas. Het verwijderen of vernietigen van micro-organismen uit het oppervlaktewater, door resp. filtratie en pasteurisatie, verminderde de inactivatiesnelheid van de toxinen met een factor 2.

4.2. Inactivatie met behulp van chloor

In afb. 2 is de decimale detoxificatiesnelheid in seconden (tijd die nodig is om 90 % van het toxine te inactiveren) van botulinum toxine type B-L en type E uitgezet tegen de toegevoegde hoeveelheid chloor. De decimale detoxificatiesnelheid werd uit de afzonderlijke experimenten bepaald. Uit de resultaten blijkt dat wanneer meer dan 0,3 mg chloor per liter water wordt toegevoegd botulinum toxinen bijzonder snel worden geïnactiveerd. Hogere chloorconcentraties hebben nauwelijks een sneller inactiverend

effect. Er werd geen verschil gevonden in de inactiveringsnelheid tussen toxine B-M en B-L. Toxine type E wordt iets sneller geïnactiveerd dan de zuivere B-toxinen.

4.3. Verwijdering uit het water door middel van coagulatie met behulp van ijzerchloride

In afb. 3 zijn de resultaten van het onderzoek weergegeven. Uit de gegevens blijkt dat botulinum toxinen tijdens de coagulatie uit het water verdwijnen. Botulinum toxine

type A, B en E worden door eenzelfde hoeveelheid ijzerchloride ongeveer in dezelfde mate verwijderd. Voor toxine type A en B werd geen verschil in verwijdering geconstateerd tussen de zuivere toxinen en de toxinen die als cultuurfiltraat aan het te coaguleren water werden toegevoegd. Door toevoeging van cultuurfiltraat werd het organisch stofgehalte van het water met ca. 50 mg per liter verhoogd. Toevoeging van zuivere toxine verhoogde het organisch stofgehalte slechts met 40 ng. Om 90 % toxine A, toxine B en toxine E te verwijderen moest resp. 8,5, 7,0 en 7,0 mg FeCl_3 per liter water worden toegevoegd.

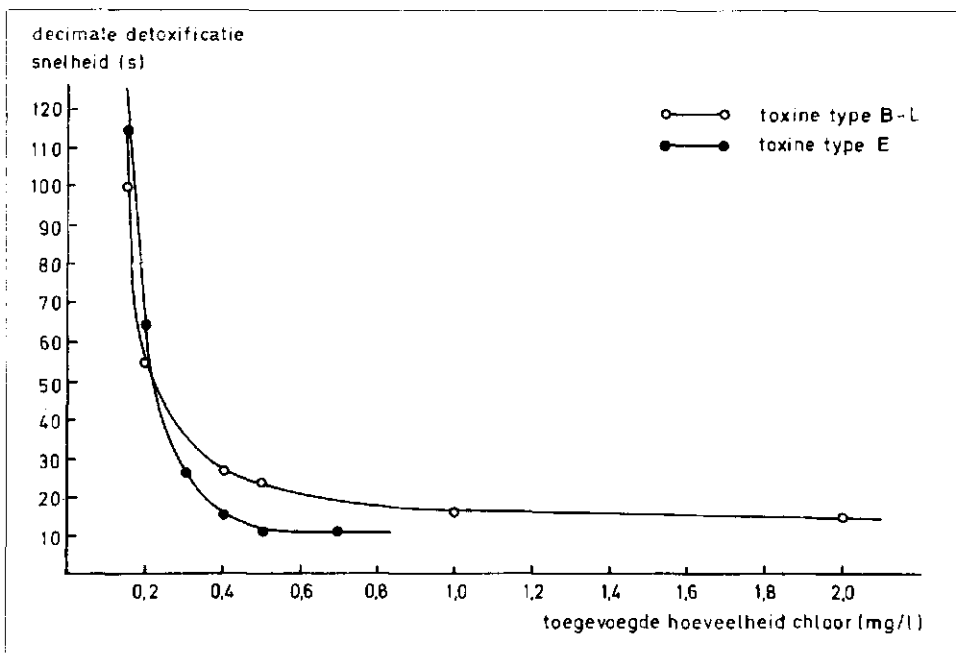
4.4. Inactivatie met behulp van ozon

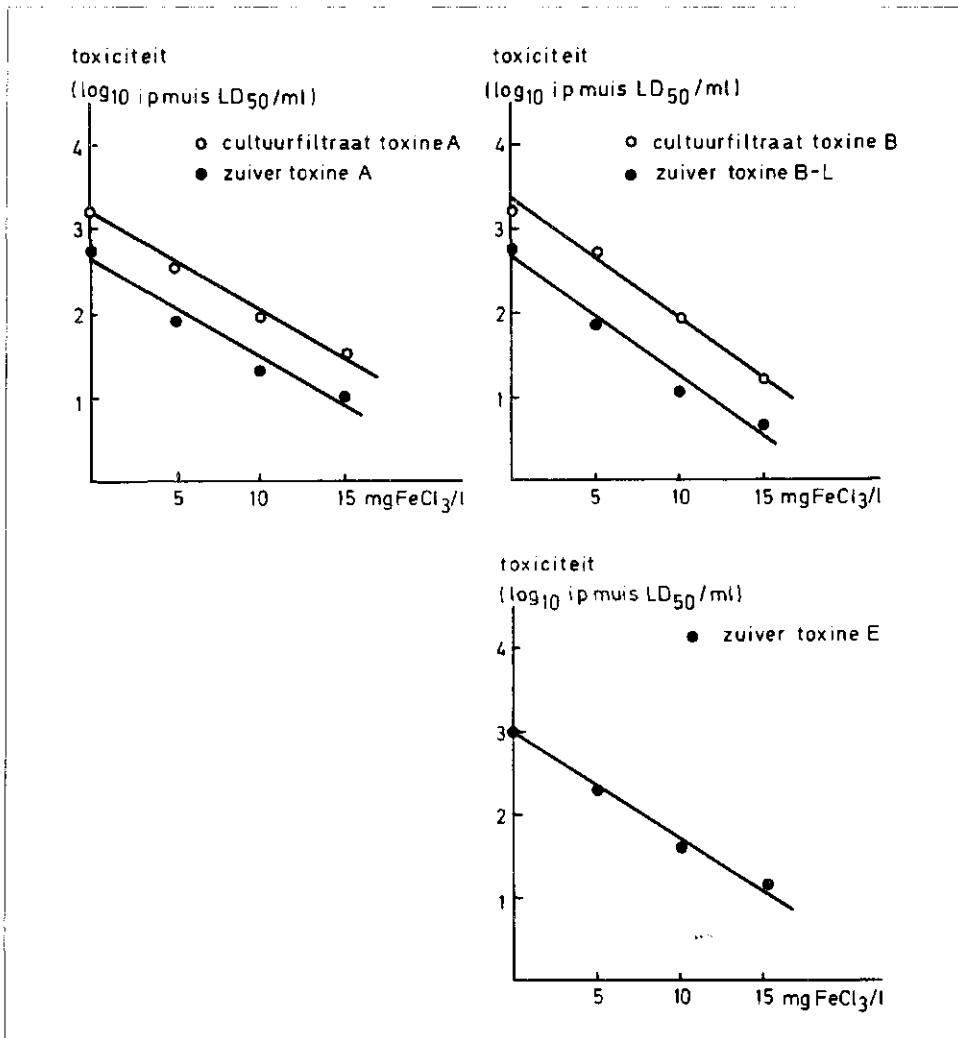
De inactivatie van botulinum toxine type A en B-M door ozon staat in afb. 4 weergegeven. Beide toxinen worden door ozon snel geïnactiveerd. Bij een dosering van 1 mg ozon/l water wordt ca. 99 % van het aanwezig botulinum toxine A geïnactiveerd. Voor botulinum toxine type B-M was zelfs minder dan 1 mg per liter voldoende voor een reductie van 99 %.

4.5. Verwijdering uit drinkwater door middel van poederkool

In afb. 5 zijn de resultaten van het onderzoek weergegeven. Uit de gegevens blijkt dat actief kool in staat is botulinum toxinen uit het water te verwijderen. Om toxine A te verwijderen is meer actief kool nodig dan voor toxine B. Om 99 % van het toxine A te verwijderen moet 8 gram actief kool per liter water worden toegevoegd. Om toxine

Afb. 2 - Effect van chloor op de inactivering van zuiver botulinum toxine type B-L en E in een fosfaatbuffer (5 mM) met een pH van 7,8.





Afb. 3 - Invloed op de verwijdering van botulinum toxinen (type A, B en E) door toevoeging van FeCl₃ bij de coagulatie van water.

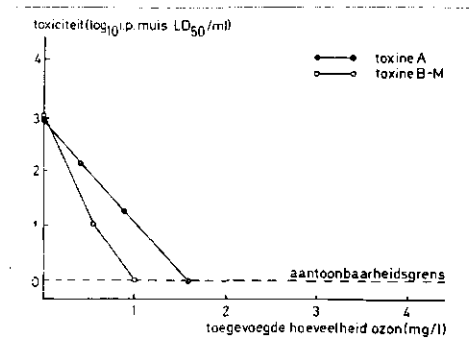
B-L te verwijderen moet 5,5 gram actief kool per liter water worden toegevoegd. Voor toxine B-M is dit 3,4 g.

5. Discussie

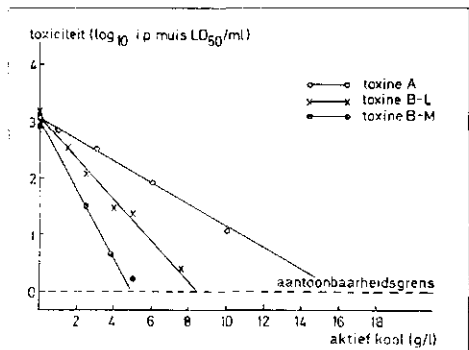
Bij de produktie van drinkwater uit oppervlaktewater worden verschillende op elkaar volgende zuiveringsprocessen toegepast. Door de meeste zuiveringen worden botulinum toxinen verwijderd of geïnactiveerd. Van de toegepaste processen blijkt behandeling van het water met chloor of ozon zeer effectief te zijn om botulinum toxinen te inactiveren. De benodigde hoeveelheden chloor en ozon zijn daarbij gering. Concentraties van 0,3 - 0,4 mg chloor per liter water inactiveren botulinum toxinen binnen 30 seconden met een factor tien. In het hier beschreven onderzoek werd in plaats van drinkwater gedestilleerd water genomen. De reden was dat botulinum toxinen in gedestilleerd water stabiel zijn dan in drinkwater. Een nadeel is echter dat in drinkwater organische stoffen voorkomen

die de activiteit van het chloor om botulinum toxinen te kunnen inactiveren verminderen. Drinkwaterbedrijven doseren meestal echter zoveel chloor dat het vrij chloorgehalte in het eindprodukt 0,2-0,5 mg chloor/l bedraagt. Aangenomen mag worden dat indien botulinum toxinen aanwezig zijn deze hierdoor volledig worden geïnactiveerd. Een hoeveelheid van 1 mg ozon/l water inactieveert botulinum toxinen voor ca. 99 %. Drinkwaterleidingbedrijven met een ozoninstallatie doseren ca. 3 mg ozon/l. Het is dan ook te verwachten dat door een dergelijke behandeling eventueel aanwezige botulinum toxinen volledig worden geïnactiveerd.

Zuiveringsprocessen, waarbij toxinen worden verwijderd, zijn onder andere coagulatie van het water met behulp van Fe³⁺ en toevoeging van poederkool. Bij de verwijdering van de toxinen door coagulatie speelt de belasting van het water met overig organisch materiaal waarschijnlijk geen grote rol. Wel is de hoeveelheid Fe³⁺ die



Afb. 4 - Effect van ozon op de inactivering van zuiver botulinum toxine type A en B-M in een fosfaatbuffer (5 mM) met een pH van 7,8.



Afb. 5 - Verwijdering van botulinum toxinen uit water door middel van actief kool.

aan het water wordt toegevoegd van belang. In drinkwaterbedrijven wordt meestal 4-15 mg Fe³⁺ per liter te coaguleren water toegevoegd. Door deze hoeveelheid verdwijnt met de vlok 75 - 90 % van mogelijk in het water aanwezige botulinum toxinen. Coagulatie alleen is dan ook onvoldoende om botulinum toxinen uit oppervlaktewater te verwijderen.

Om botulinum toxinen met behulp van poederkool uit water te verwijderen, zijn vrij grote hoeveelheden poederkool nodig. De benodigde hoeveelheid kool is onder andere afhankelijk van de molecuulgrootte. Zo is voor de verwijdering van botulinum toxine type A (Mw = 900.000) meer actief kool nodig dan voor de verwijdering van botulinum toxine type B-L (Mw = 600.000) (8 g/l t.o.v. 5,4 g/l voor een verwijdering van 99 %). Voor het nog kleinere toxine B-M (Mw = 300.000) is nog minder nodig (3,4 g/l). Deze hoeveelheden zijn nodig om de toxinen uit water te verwijderen waarin geen overig organisch materiaal aanwezig is. Wanneer dit wel het geval is, zoals voor drinkwater, dan zullen naar alle waarschijnlijkheid grotere hoeveelheden poederkool toegevoegd moeten worden om een reductie van 99 % te verkrijgen. Echter de door drinkwaterleidingbedrijven aan het water toegevoegd hoeveelheid poederkool bedraagt in het algemeen slechts 1-5 mg/l, waarmee eventueel in het

water aanwezige toxinen vrijwel niet verwijderd worden. Naast de inactivering en verwijdering van botulinum toxinen door verschillende zuiveringsprocessen blijkt dat toxinen in het oppervlaktewater en in het daaruit geproduceerde drinkwater spontaan hun activiteit verliezen. Een verklaring hiervoor is moeilijk te geven aangezien botulinum toxinen in gedestilleerd water wel stabiel zijn.

Samengevat kan dan ook gesteld worden dat mede door de geringe stabiliteit van botulinum toxinen in oppervlaktewater de kans klein is dat toxinen via het oppervlaktewater in het drinkwater terecht komen. Wanneer bovendien tijdens het productieproces ozon en/of chloor aan het water worden gedoseerd, is deze kans zelfs nihil.

6. Samenvatting

Onderzocht werd de stabiliteit van botulinum toxinen in oppervlaktewater en in het daaruit geproduceerd drinkwater. Bovendien werd de invloed van diverse zuiveringsprocessen nagegaan op de verwijdering en inactivatie van botulinum toxinen.

Botulinum toxinen verliezen in oppervlaktewater en in het daaruit geproduceerde drinkwater spontaan hun activiteit. Een 99 % inactivering van de toxinen vergt 5 à 8 dagen.

Door zowel chloor als ozon worden botulinum toxinen geïnactiveerd. In experimenten waarbij aan gedestilleerd water zuivere botulinum toxinen werden toegevoegd bleek dat chloordoseringen van 0,3 - 0,4 mg per liter (toegediend in de vorm van NaOCl) binnen 60 seconden een inactivering van 99 % bewerkstelligt. Soortgelijke experimenten uitgevoerd met ozon toonden aan dat ozonconcentraties van 1 mg/l 99 % van de eventueel aanwezige botulinum toxinen inactiverden. Door coagulatie van water met behulp van Fe^{3+} (toegediend in de vorm van $FeCl_3$) worden botulinum toxinen eveneens verwijderd. Bij een dosering van ca. 7 - 9 mg $FeCl_3$ per liter water wordt 90 % van de mogelijk aanwezige toxinen verwijderd. Ook is mogelijk om met behulp van poederkool botulinum toxinen uit het water te verwijderen. De hoeveelheid kool die nodig is om 99 % van het toxine te verwijderen bedraagt 4 tot 8 g/l.

Literatuur

1. Brazis, A. R., Bryant, A. R., Leslie, J. E., Woodward, R. L. en Kabler, P. W. *Effectiveness of Halogens or halogen compounds in detoxifying Clostridium botulinum toxins*. Journ. AWWA 51, 902-912, 1959.
2. Geld, J. van der, *Tallose dode vogels in de polder zuidelijk Flevoland*. Het vogeljaar, 19; 601, 1971.

3. Graham, J. M. en Smith, G. R. *Avian botulism in winter and spring and the stability of Clostridium botulinum type C toxine*. The Vet. Rec. 102, 40-41, 1978.

4. Haagsma, J., *De etiologie en epidemiologie van botulisme bij watervogels in Nederland*. Dissertatie R.U. Utrecht, 1973.

5. Kitamura, M., Sakaguchi, S., en Sakaguchi, G., *Significance of 12S toxine of Clostridium botulinum type E*. J.Bacteriol. 98: 1173-1178, 1969.

6. Kozaki, S., Sakaguchi, S. en Sakaguchi, G., *Purification and some properties of progenitor toxins of Clostridium botulinum type B*. Infect. Immun. 10, 750-756, 1974.

7. Markarjan, M. K., Ryshow, N. V. en Stannikov, J. V., *Sanierung von mit Botulinustoxinen verunreinigtem Wasser*. Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology. 4, 358-389, 1960.

8. Morozow, Y. M., *Use of chlorin dioxide for the detoxification of botulinum toxin in water*. Tr. Saratov. Med. Inst. 73, 40-43, 1970.

9. Notermans, S. en Noorle Jansen, Lucretia van, *Het voorkomen van Clostridium botulinum en indicatorkiemen in drinkwaterwingebieden en drinkwaterproductiebedrijven*. H₂O, 11: 344-347, 1978.

10. Notermans, S. en Dufrenne, J., *Het voorkomen van Clostridium botulinum in drinkwaterwingebieden en drinkwaterproductiebedrijven*. H₂O, 12: 260, 1979.

11. Quortrup, E. R. en Sudheimer, R. L., *Transactions of the 7th North American Wildlife Conference*. 284, 1942.

12. Radosavljevic, M. K. en Ilic, M., *Neutralisanje toksina Clostridium botulinum tipa A hlornim perparatina*. Mikrobiologija, 8, 219-225, 1971.

13. Radosavljevic, M. K. en Ilic, M., *Uticao Kalcijmhipohlorita na toksin Clostridium botulinuma tipa C*. Vojnosanitetski Pregled, 27, 274-276, 1970.

14. Sakaguchi, G., Sakaguchi, S. en Karashimada, T., *Molecular size of Clostridium botulinum type E toxin*. Japan J.Med.Sci.Biol., 19, 201-107, 1966.

15. Stannikov, E. U. en Morozow, Y. M., *Hygienic problems of water decontamination from toxic substances by means of chlorine compounds*. Gigiena i Sanitariya 42, 20-24, 1977.

16. Sugii, S. en Sakaguchi, G., *Molecular construction of Clostridium botulinum type A toxins*. Infect. Immun. 12, 1262-1270, 1975.



1. Inleiding

Desinfectiemiddelen worden in badinrichtingen toegepast ter bescherming van de zwemmers. Juist in zwembadwater kunnen besmettingen optreden door het contact dat de gebruikers indirect met elkaar hebben, niet alleen via het water, maar ook via de vloeren.

Voor de desinfectie van zwembaden worden in het algemeen middelen op basis van chloor gebruikt.

In Nederland wordt een chloorgehalte (aktief chloor) aangeraden van 0,3 mg/liter.



G. VAN DE HAAR
Keuringsdienst van Waren
te Groningen



MEVR. F. M. PIJPER-
NOORDHOFF
Keuringsdienst van Waren
te Groningen



K. STRIKWERDA
Keuringsdienst van Waren
te Groningen

Het meeste zwembadwater in Nederland wordt gechloreerd met hypochlorigzuur, hetzij via Cl_2 of natriumhypochloriet. Het grootste probleem dat optreedt bij het gebruik van natriumhypochloriet is de geringe stabiliteit hiervan o.i.v. zonlicht. Isocyanuraten kunnen op twee manieren worden toegepast bij de desinfectie van zwembadwater.

In de eerste plaats kunnen gechloreerde isocyanuraten, bijv. natriumchloorisocyanuraat (afb. 1) worden ingezet.

In het water ontlede de gechloreerde isocyanuraten volgens het onderstaand evenwicht tot isocyaanuurzuur en hypochlorigzuur.



De ontleding van chloor-isocyanuraten wordt bepaald door de behoefte aan chloor en niet door zonlicht beïnvloed.

Een nadeel is echter, dat de concentratie van het na verbruik overblijvende isocyaanuurzuur oploopt en een zgn. 'chlorine lock' kan veroorzaken, d.w.z. verdere toevoeging van natriumchloorisocyanuraat heeft nauwelijks invloed op het chloorgehalte.

De stabiliteit van gechloreerde isocyanura-